

**AGOMELATİN'İN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN
AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Nevin Tuğçe KARTAL

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Elif ÇADIRCI**

Yüksek Lisans Tezi-2013

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

**AGOMELATİN'İN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN
AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Nevin Tuğçe KARTAL

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Elif ÇADIRCI

ERZURUM

2013

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

AGOMELATİN'İN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT
BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ecz. Nevin Tuğçe KARTAL

Tez Savunma Tarihi : 27.06.2013

Tez Danışmanı : Doç.Dr.Elif ÇADIRCI

Jüri Üyesi : Doç.Dr.Zekai HALICI

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Fehmi ODABAŞOĞLU

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Abdulmecit ALBAYRAK

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Emre KARAKUŞ

Onay

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

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Zehirlenmeler.....	3
2.2.Parasetamol.....	4
2.2.1.Tarihçe.....	4
2.2.2.Farmakolojik Özellikler.....	5
2.2.3.Farmakokinetik ve Metabolizma.....	7
2.2.4. Toksik Etkiler.....	9
2.2.4.1. Parasetamolün Karaciğer Toksisitesi.....	10
2.2.4.2. Parasetamolün Böbrek Toksisitesi.....	12
2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis.....	14
2.2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi.....	15
2.2.6.1. Aktif Kömür Uygulaması.....	16
2.2.6.2. N-asetilsistein.....	17
2.2.6.3. Metionin.....	19
2.2.6.4. Simetidin.....	19
2.3. Serbest Radikaller.....	20
2.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri.....	21
2.3.1.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri.....	21
2.3.1.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri.....	22
2.3.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	23
2.3.1.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	23
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	24
2.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar.....	25
2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	25
2.4.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	26
2.4.1.3. Glutasyon S-Transferaz (GST).....	26
2.4.1.4. Katalaz (CAT).....	26
2.4.1.5. Glutasyon (GSH).....	27
2.4.2. Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar.....	27
2.5. Melatonin.....	28
2.5.1. Melatonin analogu: Agomelatin.....	30
3. MATERYAL VE METOT.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Deney Hayvanları.....	32
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	32

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	33
3.2. Metot.....	33
3.2.1. Deney Planı.....	33
3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar.....	35
3.2.2.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler.....	35
3.2.2.2. Serumda Yapılan Analizler.....	40
3.3. İstatistik Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	42
5.TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR.....	57
EKLER.....	79
EK-1: ÖZGEÇMİŞ.....	79
EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU ONAY BELGESİ.....	80
EK-3: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURULU ONAY BELGESİ.....	81

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca öğrenciliğimde ve tezimin hazırlanmasında bilgi birikimini, deneyimlerini ve desteğini esirgemeyen; tez danışmanım, değerli hocam Doç.Dr.Elif ÇADIRCI'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerinden yararlandığım, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU'na, Anabilim Dalı Öğretim üyeleri kıymetli hocalarımdan Doç.Dr.Yasin BAYIR'a, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki tez çalışmalarım esnasında yardımcı olan Doç.Dr. Zekai Halıcı, Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Yrd. Doç. Dr. Beyzagül POLAT'a, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ve Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı asistanları'na, bu çalışmayı 2012/76 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, hayatımın her aşamasında hep yanımda olduklarını hissettiren sevgili Annem ve Babam'a, canım kardeşim meslektaşım Uzm.Ecz. Ş.Sezin PALABIYIK'a ve son olarak hayatıma girdiğim günden beri bana her zaman destek olan eşim A.Kadir KARTAL'a teşekkür ederim.

NEVİN TUĞÇE KARTAL

ÖZET

Agomelatin'in Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine

Etkilerinin Araştırılması

Amaç. Parasetamol supratherapötik dozlarda kullanıldığında böbreklerde hasara neden olabilmektedir. Melatonin çok güçlü bir serbest radikal süpürücü ve bir antioksidandır. Agomelatin ise melatonin reseptör analogu olan antidepresan etkili bir ilaçtır. Bu bilgiler ışığında Agomelatin'in yüksek doz parasetamol ile oluşturulan nefrotoksisite üzerine koruyucu etkisini biyokimyasal olarak belirlemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot. Çalışmamızda 42 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat; Kontrol, Parasetamol (2 g/kg), NAC+Parasetamol (140 mg/kg+2 g/kg), Agomelatin+Parasetamol (20 mg/kg+2 g/kg), Agomelatin+Parasetamol (40 mg/kg+2g/kg), Agomelatin (40 mg/kg), NAC (140 mg/kg) grupları olmak üzere 7 eşit gruba ayrıldı. Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra tüm gruplardan alınan doku ve kan örneklerinde biyokimyasal incelemeler yapıldı.

Bulgular. Yapılan biyokimyasal incelemede, parasetamol ile nefrotoksisite oluşturulmuş grupta üre ve kreatinin değerlerinin anlamlı şekilde yükseldiği, agomelatin ile tedavi edilen gruplarda ise; üre ve kreatinin serum seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Bu azalış miktarı, agomelatinin farklı dozlarında değişiklik göstermedi. Doku düzeyinde yapılan değerlendirmelerde de parasetamol ile nefrotoksisite oluşturulmuş grupta GSH ve SOD seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü ve MDA seviyesinin anlamlı şekilde yükseldiği, agomelatin ile tedavi edilen gruplarda ise; GSH ve SOD seviyesinin anlamlı olarak yükseldiği ve MDA seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi.

Sonuç. Sonuç olarak; yüksek doz parasetamolün neden olduğu nefrotoksisitenin önlenmesinde agomelatinin tedavi edici etkisinin olduğu biyokimyasal olarak gösterildi.

Bu sonuç, klinikte görülen parasetamol zehirlenmesinde agomelatin kullanılabileceği konusunda umut verici olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, böbrek, nefrotoksisite, parasetamol, rat

ABSTRACT

Investigation on Effects of Agomelatine on Paracetamol Induced Acute Kidney Toxicity

Aim. Supratherapeutic doses of paracetamol can cause toxicity on kidneys. Melatonin is a very potent free radical recipient and a general antioxidant. Agomelatine is a melatonin receptor agonist that used as an antidepressant. In the light of this knowledge we aimed to determine the protective effects of agomelatine on paracetamol induced nephrotoxicity biochemically.

Material and Method. In our study 42 adult male Sprague Dawley rats were divided equally into 7 groups as Healthy, Paracetamol (2 g/kg), NAC+Paracetamol (140 mg/kg+ 2 g/kg), Agomelatine+Paracetamol (20 mg/kg+2 g/kg), Agomelatine+Paracetamol (40 mg/kg+2 g/kg), Agomelatine (40 mg/kg) and NAC (140 mg/kg). 24 hours after paracetamol administration the tissue and blood samples were collected for biochemical examinations.

Results. In the biochemical examination, urea and creatinine levels were statistically higher in intoxication group than other groups and urea and creatinine levels were significantly decrease in groups treated with agomelatine. Decrease was not differentiated according to agomelatine doses. In the biochemical analyses on kidney tissue GSH and SOD levels were significantly decreased and MDA levels were significantly increased in intoxication group, while GSH and SOD levels were significantly increased, MDA levels were significantly decreased in rats treated with agomelatine.

Conclusion. Therapeutic effects of agomelatine on paracetamol induced nephrotoxicity

have been shown biochemically. This is a promising result suggesting potential clinical usage of agomelatine in paracetamol toxicity.

Key Words: Agomelatine, kidney, nephrotoxicity, paracetamol, rat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT2C	: 5-hidroksitriptamin 2C
AKY	: Akut karaciğer yetmezliği
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat amino transferaz
ATP	: Adenozin-trifosfat
CAT	: Katalaz
CMC	: Karboksimetil Selüloz
COX	: Siklooksijenaz
CYP	: Sitokrom
GR	: Glutasyon redüktaz
GSSG	: Okside glutasyon
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
INR	: Uluslararası Düzeltme Oranı
MDA	: Malondialdehit
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NAC	: N-asetil sistein
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
NSAII	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PGES	: Prostaglandin endoperoksidaz sentaz
PT	: Protrombin zamanı
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RibCys	: Riboz sistein
SOD	: Süperoksit dismutaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parasetamol'ün kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.2. Agomelatin'in kimyasal yapısı.....	30
Şekil 4.1. Gruplara göre serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 4.2. Gruplara göre serum üre düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.3. Gruplara göre böbrek SOD aktivitelerinin karşılaştırılması.....	45
Şekil 4.4. Gruplara göre böbrek GSH düzeylerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.5. Gruplara göre böbrek MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	47

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deney Planı.....	35
Tablo 4.1. Ortalama Kreatinin ve Üre Düzeyleri.....	42
Tablo 4.2. Ortalama SOD aktiviteleri ve GSH ile MDA seviyeleri.....	45

1. GİRİŞ

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

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

Aktif kömür, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda N-Asetilsistein (NAC) kullanımı ve destekleyici tedavi parasetamol toksisitesinin tedavisinde kullanılan yöntemlerdir.⁷ NAC, sisteinin öncü bir bileşiğidir ve karaciğerde eksilmiş glutatyon havuzunu tamamlayarak karaciğeri korur. Tedavi için klinikte en yaygın kullanılan ajandır. NAC oral veya intravenöz yolla verilebilir.^{8,9} Toksik dozda

parasetamol alan ve/veya Rumack-Matthew nomogramına göre olası hepatotoksisite riski olan hastalara NAC verilmelidir.

Agomelatin (N-(2-(7-metoksi-1-naftil) etil) asetamid) yapısı melatonin'e benzeyen naftalin türevidir. Çift kör ve randomize çalışmalar agomelatin'in etkili bir antidepresan olduğunu göstermiştir. Çalışmalar agomelatin'in sirkadyan ritmin yeniden düzenlenmesinde uyku düzenini ve kalitesinin iyileştirilmesinde melatoninin yaptığı gibi etkili olduğunu göstermiştir. Melatonin epifiz bezinde triptofan tarafından sentezlenir ve sirkadyan ritmin düzenlenmesinde ve kan düzeylerinde günlük nokturnal artış yoluyla omurgalı fizyolojisinde mevsimsel değişiklikleri düzenler. Matsura ve arkadaşları oral olarak uygulanan melatoninin parasetamol uygulaması ile indüklenen hepatik lipid peroksidasyonu önemli derecede azalttığını göstermiştir.¹⁰

Bu çalışmanın amacı; melatonin reseptör agonisti olan agomelatin'in parasetamol toksisitesine bağlı böbrek hasarında oksidatif stres parametreleri ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerini ortaya koymak ve agomelatin'in muhtemel koruyucu etkisini standart tedavi olarak bilinen NAC ile kıyaslamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zehirlenmeler

Zehirlenme bir maddenin vücut için zararlı olacak miktarının değişik yollarla vücuda girmesi sonucu organizmanın doğal işleyişinin bozulması olarak tanımlanmıştır.¹¹ İnsanoğlu günlük yaşamında pek çok kimyasal maddeye veya biyolojik etkene, başta diyet yoluyla olmak üzere tıbbi, çevresel, mesleki nedenlerle bilerek veya bilmeyerek akut veya kronik zehirlenmeye neden olabilecek pek çok ajana maruz kalır. Toksikite oluşumunda doz, temas süresi, temas yolu ve temas sıklığı son derece önemlidir.^{12,13} Tıbbi toksikoloji bilimindeki gelişmelere karşın, acil tıp uygulamalarında zehirlenme vakaları hala önemini korumaktadır. Zehirlenmelerde ölüm çoğunlukla akut olarak ortaya çıkmaktadır.¹¹ Türkiye’de en sık görülen akut zehirlenme etkenleri sırasıyla, ilaçlar (analjezik, antidepresan, antihistaminik, antihipertansif, antiepileptik vb.), tarım ilaçları ve böcek öldürücüler (organofosfatlı, karbamatlı, piretrin grubu vb.), ev içi kimyasallar (çamaşır suyu, lavabo açıcı, kireç çözücüler, deterjanlar, naftalin vb.), zehirli gazlar (karbonmonoksit, boğucu gazlar), diğer kimyasallar, bitki ve besinler (mantarlar, salon bitkileri, balık, delibal, kayısı çekirdeği, vb.) ve zehirli hayvan ısırma ve sokmaları (akrep, yılan, örümcek, arı vb.)’dir.³ Zehirlenmelere bağlı olarak gözlenen bazı belirti ve bulgulardan organlarda işlev bozukluklarına çok sık rastlanmaktadır ve hatta ölümlü sonuçlanan klinik tablolar da mevcuttur.¹¹

Zehirlenme vakalarının % 98’i akut zehirlenme vakası olup, % 92’sinin evde gerçekleştiği gözlenmiştir.¹⁴⁻¹⁶ Yapılan bir araştırmada acil servislere ilaç zehirlenmesi ile başvuran hastaların %43’ünün ağrı kesici kullanımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir.¹⁷ Yine yapılan bir araştırmaya göre çocuklardaki zehirlenmelerin nedenlerinin başında (%80) rastgele bırakılan ilaçlar ve kimyasallar gelmektedir.^{14, 16, 18}

Zehirlenmeye yol açan etkenin belirlenip toksisitesinin tam olarak saptanması zehirlenmenin başarı ile tedavi edilebilmesi için gereklidir. Ancak zehirlenme etkenlerinin oldukça az bir kısmına karşı spesifik antidot bulunduğundan, zehirlenme olaylarının bir çoğunda semptomatik tedavi ve genel tedavi yöntemleri uygulanmaktadır.¹⁹

2.2. Parasetamol

Para-aminofenol türevi olan parasetamol, asetaminofen ve N-Asetil-P-aminofenol olarak da bilinen yaygın bir şekilde kullanılan antipiretik ve analjezik bir ilaçtır.²⁰ Ülkemizde ağız ya da rektum yoluyla uygulanan, tek başına ya da başka ilaçlarla birlikte olan farmasötik biçimleri vardır.

2.2.1.Tarihçe

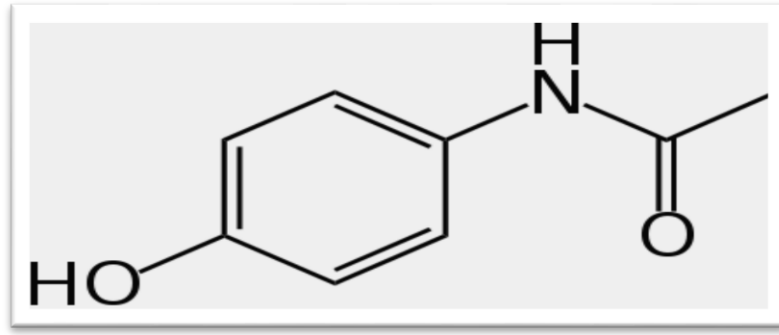
Orta çağlarda halk arasında geleneksel tedavi yöntemi olarak söğüt ağacı kabuğu ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktaydı. 17. Yüzyılda aynı amaçla kullanılan kınakına ağacı 1880'lerde zor bulunur hale gelince alternatif ilaçlar aranmaya başlandı.²¹ İlk defa 1877 yılında Harmon Northrop Morse, p-nitrofenol'ü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü sentezlemiştir. Ancak klinik kullanıma girmesi 1887'de Von Mering tarafından gerçekleştirilmiştir.²² 1948 yılında yapılan çalışmalarda Brodie ve Axelrod parasetamol'ün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmişlerdir.²³

1886'da antipiretik ajan olan asetanilid ve 1887'de ise fenasetin geliştirildi. Yine 1887 yılında fenasetin ve parasetamol Von Mering tarafından klinikte kullanıldı.²² Parasetamol'ün fenasetinden daha toksik olduğu düşünüldüğünden uzun bir süre kullanılmadı ancak 1948 yılında Brodie ve Axelrod parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirdiler.²³ Fenasetin'in ise methemoglobinemi ve analjezik nefropatiye yol açması 1950'lerde parasetamolün "yeniden keşfine" yol açtı. İlk kez Amerika Birleşik Devletleri'nde, 'Tylenol' adı altında, 1956 yılında ise İngiltere'de

'Panadol' ve çocukların kullanımı için 'Panadolelixir' ticari isimleriyle İngiltere'de piyasaya sürüldü. Sonraki yıllarda ise yan etkisi az olan bir analjezik olarak büyük popülarite kazandı.

2.2.2. Farmakolojik Özellikler

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



Şekil 2.1. Parasetamol'ün kimyasal yapısı

Beyaz, kokusuz, hafif acı bir tadı olan kristal toz yapısındadır.²⁴ Erime noktası 170 °C, yoğunluğu 21 °C'de 1.293 g/cm³'dür.²⁵ Su ve eterde az çözünürken metanol ve etanol gibi organik çözücülerde çözünür. Doymuş çözeltisinin pH aralığı 5.5-6.5 arasındadır. Asidik ve alkali ortamlarda yavaşça asetik asit ve p-aminofenole dönüşür.²⁶

Parasetamolün endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nefralji, nefrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlardan veya yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır.²⁷ Romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda diğer antiinflamatuvar ajanlarla birlikte ek tedavi olarak kullanılabilir.²⁸ Kullanımı yaygın olan parasetamol ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda parasetamol'ün merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve

serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki ettiğine inanılmaktadır.²⁷ Analjezi amacı ile kullanılan salisilatların gastrointestinal rahatsızlıklara veya alerjik reaksiyonlara yol açtığı durumlarda parasetamol tercih edilir. Bunun yanında aspirin alımından sonra akut bronkospazm gelişen ve hemofili veya peptik ülser öyküsü olan hastalarda da parasetamol tercih edilir. Ürik asit itrahinı etkilemez ve ürikozürük ilaçların etkinliğini azaltmaz ve gut tedavisinde probenesid ile birlikte kullanılır. Çocuklarda viral enfeksiyon gözleendiği durumlarda aspirine tercih edilir.²⁸

Lim ve arkadaşları,²⁹ yaptıkları bir çalışmada, köpeğin dalağına enjekte ettikleri bradikininin ağrı yapıcı etkisinin parasetamol'ün ağrı kesici etkisinin santralde değil de periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğu etki ile yaptığı gösterilmiştir.

Milton ve Wendlant kedilerde endotoksin kaynaklı madde enjekte ederek oluşturdukları ateşi parasetamolün engellediğini fakat enjekte edilen prostaglandin E1 kaynaklı ateşi etkilemediğini bildirmişler.³⁰ Daha sonra yapılan çalışmalarda parasetamol'ün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin benzeri maddeleri inhibe ederek ateşi düşürdüğü gösterilmiştir.³¹

Parasetamol santral etkili bir ilaçtır. Prostaglandin sentezini ve sinir sisteminde COX enzimini selektif olarak inhibe eder. Analjezik ve antipiretik etkilerini, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.³² Yine beyindeki COX inhibisyonunun parasetamolün antipiretik etkisini açıklayabileceği düşünülmektedir.³³ Santral analjezik etkisi beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları inhibe etmesi rol oynar.³² Yapılan son çalışmalar parasetamol'ün MSS'de tespit edilen COX-1 ve COX-2'den farklı olarak COX-3 olarak adlandırılan enzimi selektif olarak bloke ettiği düşünülmektedir.³⁴ Köpeklerde rastlanan bu variantın insan beyinde olup olmadığı

veya inhibisyonunun parasetamolün insanlardaki etkinliğiyle ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir.^{33,35} Bununla birlikte COX-3 ile ilgili literatürde kesin bir bilgi bulunmamaktadır.³⁶

Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksitten zengin ortamda siklooksijenazı inhibe edememesi ve prostaglandin sentezi üzerinde etkisi olmadığından antiinflamatuvar etkili olduğu düşünülmemektedir.^{22,32} Antitrombotik etkinliği de zayıftır.³²

Analjezik etkisi aspirin ile eşit ve antipiretik etkisi de onunkine yakın güçtedir. Antiinflamatuvar etkisi ise aspirinden farklı olarak oldukça düşüktür ve antiinflamatuvar etkinlik gerektiren endikasyonlarda kullanılmaz. Antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini arttırmak için kullanılabilir. Solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi olmamakla birlikte midede irritasyon ve kanama yapmaz. Protrombin sentezi üzerine etkisi yoktur. Oral antikoagülanlarla belirgin bir etkileşme göstermez ve plazma proteinlerine fazla bağlanmaz.³²

2.2.3. Farmakokinetik ve Metabolizma

Parasetamol toksisitesini anlayabilmek için farmakokinetik ve metabolizasyonunun bilinmesi gerekmektedir. Oral yoldan alındığında parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen emilir ve mükemmel bir biyoyararlanıma sahiptir, etkisi erken başlar.²³ Doruk plazma konsantrasyonuna 30 ile 60 dakika içinde erişir. Yarılanma ömrü iki saattir. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Parasetamolün büyük kısmı karaciğerde glukuronik asitle ve sülfatla konjüge edilir ve böbreklerden bu şekilde itrah edilir. Olağan dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2.4 saattir; non-lineer eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle aşırı dozda 7.3 saate kadar çıkabilir. Gastrointestinal toksisitesinin düşüklüğü nedeniyle tam dozda, antiinflamatuvar analjeziklerin düşük dozları ile kombine edilebilir.³²

Parasetamol bütün vücut sıvılarına nispeten eşit olarak dağılır. Plazma proteinlerine bağlanması nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlardan daha azdır. Parasetamolün terapötik serum konsantrasyonu yaklaşık 10-20 µg/mL'dir. Analjezik ve antipiretik etkisini sırası ile 10 µg/ml ve 18 µg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonlarında gösterir. Yemek ile beraber veya tok karnına alınması biyoyararlanımı belirgin şekilde değiştirdiğinden aç karnına alınması önerilir. Opioidler ve antikolinerjik ilaçlar kan pik düzeyine ulaşma süresini geciktirir. Parasetamol'ün erişkin ve adölesanlarda oral dozu 500-1000 mg'dır ve günlük en yüksek dozu 4 g olarak kabul edilir. Böbrek yetmezliği varsa veya alkolik ise doz azaltılmalıdır.³⁷ Çocuklarda, hepatotoksisite potansiyeli düşük olduğundan Dünya Sağlık Örgütü bir defada verilebilecek dozu 10 mg/kg ve 6-12 yaşlar arasındaki çocuklarda ise bir defalık dozun ise 20-30 mg/kg'a çıkartılabileceğini bildirmiştir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir.^{37,38}

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman %90-95 oranında 24 saat içerisinde karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (%60 kadarı), sülfoniltransferaz enzimi yardımıyla sülfürik asitle (%35 kadarı) veya yaklaşık %3'ü sistein (az miktarda) ile konjuge edilmiş olarak idrarla atılır. %2'lik kısmı ise idrardan değişmeden atılmaktadır.³⁹ Çok az miktarda da hidrosillenmiş ve deasetillenmiş metabolitleri atılır.

Çocuklar yetişkinlere göre daha az glukuronidasyon yapabilme kapasitesine sahiptirler. Parasetamol küçük bir oranda hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona uğrar ve oldukça reaktif bir ara ürün olan NAPQI'i oluşturur.^{40,41} Bu metabolit diğer intrasellüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir ve fizyolojik koşullarda glutatyondaki (GSH) sülfidril grupları ile reaksiyona girerek zarar vermeden merkaptürik asit ve sistein

konjugatları olarak idrarla atılır.^{5, 6, 40, 42} Bu metabolitin karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamol yüksek dozlarda alınması gerekir ki bu durumda bu reaktif ürün hepatik GSH depolarını tüketerek karaciğer hasarı oluşturur.⁴³ Parasetamol hepatotoksitesindeki asıl mekanizmanın bu yoldan olduğu düşünülmektedir.⁵

Parasetamol böbreklerde ise deasetillenerek bir nefrotoksin olan ve renal kortikal nekroz oluşturan p-aminofenol metabolitine dönüşür. Terapötik dozlarda oluşan p-aminofenol karaciğerde NAPQI metabolitine benzer şekilde glutatyonla konjuge edilerek inaktif glutatyon konjugatları şeklinde atılır. Bunun yanında parasetamolün böbrek korteksinde de sitokrom p450 sistemi ile oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif ara ürünler böbrek korteksinde hasar oluşturabilmektedir.⁴⁴

2.2.4. Toksik Etkiler

Terapötik dozlarda alındığında gözlenen karaciğer enzimlerindeki hafif artış geri dönüşümlü olup ilaç kesilince ortadan kalkar. Yüksek dozlarda baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğu yapabilir. Methemoglobinemi ve hemolitik anemi çok nadir görülen advers olaylardır.³⁸

Nadirde olsa deride döküntü ve kaşıntı ve benzeri alerjik reaksiyonlar meydana gelir. Alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar (nötropeni, trombositopeni ve pansitopeni), hipoglisemik koma ve renal tübüler nekroz gibi yan etkiler görülmektedir.⁴⁵

Aşırı dozda alındığında öldürücü akut karaciğer nekrozu yapar. İlaça bağlı fatal akut karaciğer nekrozu olgularının en başta gelen nedenidir. Karaciğer hasarının erken dönem belirtileri 24 saat içerisinde bulantı, kusma ve karın ağrısı ile gözlenir. 2-3 gün sonra sarılık ve diğer karaciğer yetmezliği belirtileri ortaya çıkmaya başlar. Tek dozda 10 g ve daha yüksek dozlarda alındığında akut karaciğer nekrozu oluşur. Tek dozda 20

g üzerinde alınması ölüme sonuçlanabilir. Yine günde 5-8 g dozunda birkaç hafta alınması karaciğer nekrozu ve onu takiben ölüme neden olabilir.³²

Yüksek dozda parasetamol alımı sonucu aşırı miktarda oluşan NAPQI detoksifikasyon kapasitesinin dışında kalır. Bu durumda, glutatyon açığa çıkan fazla miktardaki NAPQI molekülünü bağlayamaz. Karaciğerde oluşan oksidasyon ürünü NAPQI karaciğer dokusunda hasarlanmaya yol açar ve hepatotoksik etki gösterir.⁴⁶ Hücrel proteinler ile kovalent bağlanabilen bu metabolit proteinlerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Oluşan bu hücrel bozukluklar, kalsiyum ATPaz aktivitesinde azalmaya ve sitozolik kalsiyum düzeylerinde artışa yol açar. Hücrel kalsiyum homeostazındaki anormallik, hücrenin geçirgenliğini değiştirebilir ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir.^{30,31} Yapılan çalışmalarda NAPQI'nın NADH (Nikotinamid adenin dinükleotit) fonksiyonunu ve süksinat dehidrogenaz fonksiyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir.⁴⁷

2.2.4.1. Parasetamolün Karaciğer Toksisitesi

Parasetamol metabolizması sonucu oluşan NAPQI karaciğer hasarına neden olarak akut karaciğer yetmezliğine neden olabilir. Akut karaciğer yetmezliği (AKY) herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, hepatik ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur.^{48, 49} AKY'nin etiyolojisi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir. İngiltere'de akut karaciğer yetersizliğinin % 70'inden, ABD'de de % 20'inden parasetamol toksisitesi sorumludur.^{50, 51}

Akut karaciğer yetmezliğinin klinik belirtileri hafif gastrointestinal bozukluktan halsizlik ve konfüzyona kadar değişkenlik gösterir.^{52,53} Tanı koymak için hasta anamnezi çok önemlidir. Fiziksel muayene kronik karaciğer yetmezliği ve ensefalopati

varlığını saptayıp değerlendirmek için faydalı olabileceği gibi karaciğer hasarının altında yatan sebepleri hakkında ipuçları sunmada da faydalı olabilir.^{54, 55}

Akut karaciğer yetmezliği başlangıçta bulantı, kusma ve halsizlik gibi nonspesifik semptomlarla kendini gösterir. Bilirubin eliminasyonu bozulması ile sarılık gözlenir. Pıhtılaşma faktörlerinin sentezi azalır ve tüketiminin artması kompleks koagulopatiye neden olur. Glikoz sentezinin azalması, intraselüler laktat üretiminin artışı ve laktatın karaciğere alımının azalması metabolik asidoza ve hipoglisemiye neden olur. Hipoglisemi bozulmuş glukoneogenezin ve dolaşımdaki artmış insülinin bir göstergesidir. Akut karaciğer yetmezliğine sahip hastaların % 30 ila 40'ında böbrek fonksiyon bozukluğu ve bununla ilişkili olarak azotemi ve oligüri görülür.^{56, 57}

Hastanın mental durumu, nörolojik durum hızla değişebildiğinden ve hasta komaya kadar gidebileceğinden dikkatli bir şekilde gözlenmeli ve değerlendirilmelidir. Karaciğer hasarı olmasına rağmen karaciğer fonksiyonları korunmuş olabileceğinden bilirubin seviyesi yükselmeyebilir bu nedenle sarılık ilk başlarda belirgin olmayabilir. Karaciğer metabolizmasının yetersizliği nedeniyle serum bilirubin seviyesi daha sonra yükselir. Abdominal muayenede karında hassasiyet gözlenebilir. Aspartat amino transferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviyelerinin yükselmesi kaçınılmazdır. AST ve ALT, 10000 IU/L ve 1000 IU/L seviyelerini aşar. Alkalen fosfataz seviyesinde gözlenen artış ise daha azdır. Total bilirubin seviyesi 4 mg/dL düzeyine ulaşır. Protrombin zamanı (PT) ve Uluslararası Düzeltme Oranı (INR) seviyelerindeki belirgin artışla ciddi koagülasyon bozuklukları gözlenir. Karaciğer biyopsisi, histopatoloji steatoz ve hafif inflamatuvar infiltrat olmadan geniş sentrizonal nekrozu gösterir.⁵⁸ Akut karaciğer yetmezliği multisistemiktir ve nörolojik bozukluk, hematolojik bozukluklar ve metabolik bozukluklar ile ilişkili olabilir.^{52, 59}

2.2.4.2. Parasetamolün Böbrek Toksisitesi

Yapılan araştırmalarda yüksek doz parasetamolün insanlarda ve deney hayvanlarında renal kortikal nekroza neden olduğu tespit edilmiştir. Sitokrom p450 enzim sistemi, prostaglandin sentaz ve N-deasetilasyon enzim sistemlerini içeren yollar renal toksisite mekanizmalarında rol almaktadırlar. Oluşan hücresel hasar özellikle proksimal tübülde hasara ve glomerüler filtrasyon hızının düşmesine neden olmaktadır. Karaciğerde olduğu gibi renal mikrozoamlarda p450 enzim sistemi ile parasetamolu okside ederler. Bu parasetamole bağlı akut böbrek hasarı da karaciğerde olduğu gibi biyokimyasal mekanizmalarla gerçekteştiğini göstermektedir. Parasetamol böbreklerde nefrotoksik etkili p-aminofenole deasetillenir. Kronik karaciğer yetmezliği, cinsiyet ve p450 enzim sistemini etkileyebilecek durumlar renal toksisiteyi etkileyebilmektedir.⁶⁰

Sitokrom p450 mikrozomal enzim sistemi hem böbrek hem karaciğerde bulunmaktadır. Renal hasarın şiddeti ve dokulardaki reaktif katım ürünleri bu enzim sisteminin aktivitesine bağlıdır. Aktiviteyi arttıran durumlar parasetamol toksisitesinin şiddetini de arttırmaktadır. Örneğin kronik alkol kullanımı ve bu enzim sistemi ile metabolize olan antikonvülsanlarla birlikte alınması toksisitenin şiddetini arttırabilmektedir.⁶¹ böbreklerde daha fazla bulunan sitokrom p450 izozimi CYP2E1 enzimi testosteron ile indüklenbilmesi cinsiyete bağlı olarak parasetamol toksisitesinin farklılık gösterebileceğini de göstermektedir.⁶²

Parasetamol toksisitesi ile ilişkili olduğu düşünölen diğer bir enzim sistemi prostaglandin endoperoksidaz sentaz (PGES)'dir. Daha çok parasetamolün kronik toksisitesi ile ilişkilidir. Böbreklerde bulunan PGES parasetamolün başta NAPQI olmak üzere toksik metabolitlere dönüşümünü aktive eder. Bu metabolizma böbreğin medullasında gerçekteşirken sitokrom p450 enzimi ile metabolizma böbrek korteksinde

önemli rol alır. Toksik metabolitlerin oluşması hücrel proteinlere kovalan bağlarla bağlanmaya ve bunu takiben hücre ölümü ve dokuda nekroza neden olur. Bu mekanizma hem insanlarda hem de hayvan modellerinde gösterilmiştir. Kronik parasetamol toksisitesinde ise terapötik dozlarda bile PGES parasetamole yüksek affinite ile bağlanarak reaktif metabolitlerin oluşmasına neden olarak etki gösterir.⁶³

Böbrek korteksinde N-asetilasyon sonucu oluşan NAPQI ve p-aminofenol glutatyon depolarının tükenmesi sonucu birikebilir. NAPQI membranlara ve sülfidril proteinlere bağlanarak böbrek hasarı oluşturur. Ayrıca p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalan bağlarla bağlanarak böbrek hasarı yapar.⁶³

Çok nadir yapılsa da parasetamol toksisitesi nedeniyle yapılan renal biyopsinin ışık mikroskopunda incelenmesi tübüllerin hem proksimal hem distal kısımlarında tübüler epitel hücrelerde nekroz gözlenmiştir.⁶⁴ Parasetamol ile indüklenmiş renal yetmezlik akut tübüler nekroz (ATN) ile ilişkilidir. İdrar analizleri renal yetmezliğin diğer nedenlerini bu durumdan ayırt etmek için kullanılabilir. ATN sırasında idrar sedimentasyonu hematüri ve piyüri ile birlikte artmıştır. Diğer renal toksisite durumlarında akut üriner sedimentasyon daha az yükselir. İdrar sodyum ve osmolalitesi de ek bilgi verebilir. ATN'de idrar sodyum düzeyi >20 mmol/L olur. Bunun yanında böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için serum üre ve kreatinin düzeyleri de parasetamol toksisitesi nedeni ile böbrekte oluşacak hasarı değerlendirmede kullanılabilir.^{60,65}

Renal yetmezlik zehirlenmeyi takiben 1-8 gün arasında gözlenebilmektedir. Pekçok vaka raporu zehirlenmeyi takiben 2-5 günde gözlendiğini bildirmiştir. Serum kreatinin düzeyleri zehirlenmeyi takiben ortalama 7.günde pik düzeylerine ulaşır. Renal fonksiyonlar tedavi sonrası 1 ay içinde düzelir. Hastaların yaklaşık %1'i zaman kazanmak amacıyla diyalize alınır.⁶⁶

2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis

Parasetamol toksisitesinde ki semptom ve bulgular ilaç alımın süresine bağlı olarak farklılık gösterebildiğinden klinik bulguları alımından itibaren zamana dayalı olarak 4 aşamaya ayrılabilir. Bu nedenle semptomları süreye bağlı olarak değerlendirmenin daha doğru bir davranış olacağı ve yanlış teşhis ve tedaviyi en aza indireceği düşünülmektedir.^{58, 67, 68}

1. Evre (0-24 saat): Karın ağrısı, diare, iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, letarji, genel kırıklık ve terleme görülür. Laboratuvar sonuçları (karaciğer fonksiyon testleri gibi) normaldir veya değerler minimum düzeyde bozulmuştur.⁶⁹

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

3. Evre (72-96 saat veya daha uzun): Hepatotoksisite pik yapar ve karaciğer enzim anomalileri bu safhada en üst seviyeye çıkmış olup oligoüri ve akut tübüler nekroz da görülebilmektedir. Gastrointestinal semptomlar yeniden başlar, kusma yeniden ortaya çıkar veya daha da kötüleşir. Bu belirtilere halsizlik, fiziki muayenede rahatlıkla tespit edilir hale gelen sarılık ve konfüzyon, uyku hali veya koma gibi santral sinir sistemi bulguları ortaya çıkar ki bu bulgular faz 3'ün önemli bulgularıdır ve çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösterir. Hepatoselüler hasar ve parasetamole bağlı ölüm en sık bu safhada görülmektedir.^{39, 70}

4. Evre (96 saatten 14 güne kadar): Karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin eski haline geldiği iyileşme evresidir. Semptomların ve karaciğer fonksiyon

enzimlerinin yavaş yavaş düzeldiği gözlenir ancak tam düzelme 3 ay kadar sürebilmektedir. Akut karaciğer hasarı gözlenen hastaların %70'i faz 4' e girerek tamamen düzelir.^{39, 70, 71}

Yüksek doz parasetamol alımında metabolik asidoz gözlenebilir. Oluşan metabolik asidozun nedeni ilk 15 saat içerisinde laktik asit alımı ve metabolizmasının inhibisyonu ile ve karaciğer fonksiyonlarının da daha kötüleşmesi ile laktik asidin hepatic klerensinin bozulmasıdır.⁵⁶ Metabolik asidoz yanında hipofosfatemi ve hipoglisemi gibi metabolik bozukluklarda gözlenebilir. Hipofosfatemi parasetamolün doz aşımında hepatotoksisite olmasa bile belirgin bir işarettir. Oluşan hipofosfateminin derecesi doz aşımı hakkında fikir verebilir.^{56,72} Tedavi edilmeyen hastaların %1-2'si ölümcül karaciğer yetmezliğine girer. Doz aşımında herhangi bir müdahale yapılmazsa 4-18 gün içerisinde ölüm meydana gelir.^{39, 58, 68}

Parasetamol'ün toksisite riski 1975 yılında geliştirilen Rumack-Matthew nomogram ile gösterilebilir. Bu nomogram parasetamol alımından sonra geçen saatler ve serum parasetamol düzeyini baz alarak toksisite riskini tahmin eder.⁷³ Ancak yine de teşhiste tercih edilen ve en etkili olan yol kandaki parasetamol seviyesine bakmaktır.

2.2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

Bütün zehirlenme tedavilerinde olduğu gibi prensip olarak öncelikle hastanın havayolu açıklığının sağlanması, solunum ve dolaşım fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve desteklenmesi gerekir. Parasetamolün emilimini azaltmak, kandaki düzeyini uygun düzeye indirmek, toksik metabolit miktarını azaltmak ve/veya toksik metaboliti detoksifiye etmek ve itrahını arttırmaktır. Parasetamol alımından sonra kısa bir süre geçmişse emilimi azaltmakla başlamak en uygun tedavi yaklaşımı iken eğer alımından sonra uzun bir süre geçmişse toksik metabolitin atılımı ve detoksifikasyonunu sağlamaya başlamak daha uygun bir çözüm olacaktır. Bu nedenle

hangi tedavi yöntemi ile başlanacağı geçen zamana göre değişiklik gösterecektir. Gastrik dekontaminasyon ve aktif kömür uygulaması ilk birkaç saat içinde yapılan ve absorpsiyonu önlemede fayda sağlayan bir yöntem olup hayat kurtarıcı olabilmektedir.⁷⁴⁻⁷⁶ eğer parasetamolün alımını takiben 8 içinde hastanede parasetamol düzeyi belirlenebilirse klinisyen ölçülen düzeyi nomogram üzerinden değerlendirerek NAC tedavisinin gerekliliğine karar verir. Aksi halde NAC'ın ilk dozu ampirik şekilde uygulanır ve parasetamol düzeyi belirlendiğinde ek NAC tedavisine ihtiyaç olup olmadığını değerlendirmek için parasetamol düzeyi nomogram üzerinde değerlendirilmelidir. Ancak parasetamol alımını takiben 24 saatten fazla zaman geçen hastalarda ise gastrointestinal dekontaminasyonun gerekliliği, serum parasetamol düzeyi ve karaciğer fonksiyon testleri değerlendirilmelidir. 10 mcg/ml'den fazla olan serum parasetamol düzeyi, yükselmiş karaciğer fonksiyon enzimleri hastanın hepatotoksisite gelişimi açısından riskli olabileceğini gösterir. Bu durumda sürekli NAC tedavisi gereklidir. Eğer parasetamol düzeyi düşük ve AST ile ALT düzeyleri yükselmişse NAC tedavisi sonradan kesilebilir. NAC tedavisi tamamlanana kadar hastalar hastanede gözetim altında tutulmalıdırlar.⁷ Bunun yanında simetidin kullanımının da sitokrom p450 enzimini inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti NAPQI dönüşümünü azaltır. Ancak yapılan çalışmalar simetidin ile birlikte NAC kullanımının yararlı bir etki göstermediği tespit edilmiştir.⁷⁷

2.2.6.1. Aktif Kömür Uygulaması

Oral aktif kömür uygulaması, parasetamol aldığı bilinen hastalarda ilk 4 saat içerisinde uygulanır ise NAC tedavisinden bile önce gelen ilk basamak tedavi olarak tavsiye edilir.^{52, 78} 20 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulamalarından aktif kömürün kan parasetamol düzeyini diğer girişimlere göre anlamlı bir şekilde azalttığını göstermiştir.⁷⁹ Oral aktif kömür tek doz

olarak 1 g/kg olarak verilir. Yapılan çalışmalar yüksek doz parasetamol alımından sonra ilk bir saatte uygulanmasını desteklemektedir.^{80, 81} Bazı çalışmalar aktif kömürün NAC emilimini azaltarak onun antidotal etkinliğini azalttığını ileri sürse de yapılan hayvan deneylerine ve retrospektif klinik çalışmalara göre bu hipotez desteklenmemiştir.⁸¹⁻⁸³

2.2.6.2. N-asetilsistein

L-sisteinin amino grubuna asetil eklenmesiyle oluşan bir aminoasit türevidir. İlk olarak 1960'larda mukolitik bir ajan olarak tanımlanmıştır. NAC'ın parasetamol toksisitesinde kullanılabileceği ilk olarak 1974 yılında Prescott ve Matthew tarafından gösterilmiştir.^{84, 85}

NAC; bronşitli ve kistik fibrozisli hastalarda, pnömoni ve sinüzit tedavisinde, kronik obstrüktif akciğer hastalığında mukolitik olarak, ağır metal zehirlenmelerinin tedavisinde, siklofosamid ve diğer kemoteropatik ajanların neden olduğu hemorajik sistit tedavisinde ve romatoid artrit tedavilerinde yer almaktadır. Bunların yanında antiinflamatuvar ve antioksidan olarak fonksiyon gösterir. Parasetamol başta olmak üzere çeşitli ilaçların oluşturduğu hepatotoksistide ise antidot olarak kullanılmaktadır.^{86,87} NAC'ın birkaç koruyucu mekanizma aracılığı ile etki ettiği düşünülmektedir. Lokal nitrik oksit (NO) konsantrasyonunu arttırarak kan akımı üzerinde yaptığı vazodilatör etki ile periferel dokulara lokal oksijen dağılımını arttırır. Bu etkisi ile belirlenmiş bir hepatoksisite olsa bile mortalite ve morbiditede bir azalma görülür.^{88, 89} NAC'ın glutasyon miktarını arttırarak hepatotoksik etkiden sorumlu NAPQI'nın detoksifikasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Dolayısıyla NAC, hücre içi glutasyon miktarını artırarak veya potansiyel toksik ajanlar ile spontan konjugasyon ve/veya redüksiyon ile doğrudan reaksiyona girerek hücresel bütünlüğü koruyabilir Ayrıca sülfat prekürsörü olarak da rol oynaması parasetamol'ün sülfat konjugasyonunu arttırarak bu yolağın doymasını önler.^{9, 76, 88, 90, 91} NAC toksik doz parasetamol alımında seçkin bir

antidot olarak bilinmektedir.⁹² 1985 yılında oral NAC, 2004 yılında ise intravenöz NAC parasetamolün toksik dozda alımı sonrası karaciğer hasarını azaltmak için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır.^{93, 94}

Parasetamol alımından sonraki 8 saat içinde alınmaya başlanan NAC'ın hepatotoksisite gelişimini önlemede neredeyse %100 etkilidir. 8 saati geçen durumlarda hepatotoksisite gelişme riski artar. Ancak yine de 24 saat geçse dahi NAC tedavisine başlanması normale göre daha düşük bir hepatotoksisite riski ile sonuçlanır.⁹³ Parasetamol toksisitesinde oluşan hasarı önleyebilmek için NAC'ın ilk 8-10 saat içinde 140 mg/kg %5 solüsyon içerisinde oral olarak verilmeye başlanması gerekmektedir. Takiben her 4 saatte bir 70 mg/kg oral olarak verilmeli ve bu en az 17 kez tekrarlanmalıdır. Oral olarak verilememesi durumunda %5 dekstroz içinde 150 mg/kg 15 dakikada verildikten 4 saat sonra %5 dekstroz içinde 50 mg/kg NAC verilmesini takiben 16. saatte 1 mg/kg verilerek tedavi sonlandırılır.^{52, 95, 96}

Yan etkilerin en belirginini parenteral uygulamada nadiren gözlenen anaflaktik reaksiyondur. Kızarıklık, ürtiker, kaşıntı, bronkospazm, anjiödem, hipotansiyon ve taşikardi oluşabilir. Oral uygulamada ise karın ağrısı, kusma, diare ve döküntü görülebilmektedir.^{7-9, 79, 97} Etkinlik bakımından karşılaştırıldıklarında ise bir farklılık olmaması ile birlikte parenteral uygulamada hastanede kalım süresinin daha kısa olmasının tercih edilme nedeni olabileceği düşünülmektedir. Hastanın anaflaktik reaksiyon hikayesi ise oral NAC tedavisinin tercih edilmesine nedenidir.⁹⁸

Akut alımı takiben antidotal tedaviye başlama kararı serumdaki parasetamol konsantrasyonuna bağlıdır. Rumack-Matthew nomogramı yardımıyla alımdan sonra geçen zaman ve parasetamol konsantrasyonu karşılaştırılır ve antidotal tedavi için karar verilir.⁹³ Toksisitenin şiddetini gösteren arterial, pH, PT, serum kreatinin, hemoglobin

ve serum amilaz seviyeleri NAC tedavisinin başlamasında ve sonlandırılmasında önemli birer ölçüttür.⁹⁸

Farmakokinetik özellikleri iyi bilinmemekle birlikte toksisitesi düşüktür. Oral yolla 100-600 mg verilmesinden sonra emilimi oldukça hızlıdır. İntravenöz uygulamayı takiben eliminasyon yarı ömrü 2-6 saattir ve %20-30'u değişmeden atılır.⁸⁶ Yapısında sülfidril grupları içeren bir bileşik olan NAC sindirim sistemi ve karaciğerde deasetile edilerek disülfid protein peptidaz ile birleşir. %83 oranında proteinlere bağlanır ve yaklaşık bir saatte zirve plazma seviyesine ulaşır.⁹⁹

Parasetamol toksisitesinde kullanılan NAC, metiyonin ve sistiaminin karşılaştırıldığı klinik çalışmada her 3 maddenin de hepatotoksisiteyi engellemesine rağmen metiyonin ve sistiaminin kullanımında daha fazla yan etki gözlenmiştir. Bu nedenle akut karaciğer hasarında parasetamol toksisitesinde kullanılacak en iyi antidot olarak NAC seçilmiştir.⁷⁴

2.2.6.3. Metionin

Hücre içi glutatyonun yenilenmesinde etkili olan metionin de parasetamol zehirlenmesinde etkili ilaçlardan biridir. Son ürünü glutatyon olan transsülfürasyon yolağının prekürsörü metionindir.¹⁰⁰⁻¹⁰² Oral olarak kullanılır. Aktif kömürle birlikte verildiğinde ve hastanın kusmaları olduğunda etkinliği azalır. Hücrede NAC'e benzer şekilde koruyucu mekanizmalarda rol oynar. Zehirlenmeyi takiben on saati geçmişse etkinliği azalır.⁸⁶

2.2.6.4. Simetidin

CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olan parasetamol ve simetidin beraber alındığında simetidin CYP2E1 enzimini kompetitif inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'in üretimini azaltacaktır.^{77,103} Parasetamol intoksikasyonunda simetidin koruyucu rolü yıllardır tartışılmaktaysa da yapılan çalışmalarda bu etkisi

gösterilmiştir.^{87,104} Al-Mustafa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NAC ve simetidin'in birlikte kullanılmasının her iki ilacın da hepatoprotektif özelliklerinin arttığı ve aditif etki gösterdiği görülmüştür.¹⁰⁵ Ancak Slattery ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise parasetamol alımından sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini azaltmadığını göstermiş olup bu da simetidin uygulamasının daha erken başlaması gerektiğini göstermektedir.^{77, 103}

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren, yüksek enerjili, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküllerdir. Elektron çiftlemek için diğer moleküller ile reaksiyona girme eğiliminde olmaları, serbest radikalleri oldukça reaktif bir hale getirir. Yapısındaki çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır.^{106, 107}

Aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilen serbest radikallere karşılık, antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir.¹⁰⁸ Oksidatif stres, oksidan/antioksidan dengenin antioksidan lehine bozulması olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin protein, lipid ve nükleik asit gibi makro moleküller ile etkileşmeleri sonucu hücre yapısı ve fonksiyonlarında önemli değişiklikler gerçekleşmektedir.^{106, 109}

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

singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidroksil ($\cdot\text{OH}$), peroksi ($\text{ROO}\cdot$) ve alkoksi ($\text{RO}\cdot$) radikalleri gibi serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır.^{110, 111} Oksijen merkezli ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olarak sınıflandırılabilen serbest radikaller yanında H_2O_2 gibi radikal olmayan fakat etkileri ve sonuçları sebebiyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri de vardır.¹⁰⁹

2.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin DNA, lipid, protein, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır. Serbest radikallerden süperoksit ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonu başlatarak membran permeabilitesini arttırır. Proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest radikallerin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı oluşur. Serbest radikaller farklı mekanizmalar ile hücreye zarar vermektedir. Bu mekanizmalar aşağıdaki başlıklar halinde incelenebilirler.¹¹²

2.3.1.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri

Membran üzerindeki birçok bileşik ve molekül serbest radikallerden etkilenir. Ancak biyomoleküllerin serbest radikallerin etkilerine en hassas olanı lipidlerdir. Serbest radikaller hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerini üzerine etki ederek lipid peroksidasyonu (LPO) başlatırlar. Biyolojik sistemlerde doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile bir zincir reaksiyonuna girdikten sonra okside olup oksidatif degradasyona uğramasına “lipid peroksidasyon” adı verilir. LPO çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Bu zincir reaksiyonlar daha sonra protein oksidasyonuna neden olur. Membranlarda oluşturduğu yıkıcı etki, genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan hidroksil radikalının

membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur.¹¹³ Membran hasarının oluşturduğu etki ile hücre elemanlarına zarar verir. Lipidlerin, araşidonik asid metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise, “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” adı verilir. Sonuçta hücre membranından sızma ve hücre ölümüne kadar giden bir dizi reaksiyon gerçekleşirken çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehit yapısında ürünler ortama çıkar. Aldehitler katım ürünü oluşturabilen reaktif türlerdir. Bu bileşikler ya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar veya hücre düzeyinde metabolize edilirler. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.^{111, 112,}
¹¹⁴ Yapılan birçok araştırmada MDA’in proteinleri modifiye ettiği ve DNA ile reaksiyona girerek deoksiguanozin ve deoksiadenin ile katım ürünleri oluşturduğu gösterilmiştir.¹¹⁵⁻¹¹⁷ Ölçümü spektrofotometrik, spektrofotometrik veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi çeşitli yöntemlerle yapılabilen MDA günümüzde lipidlerin oksidatif hasarının geçerli bir biyogöstergesi olarak kullanılmaktadır.¹¹⁸

2.3.1.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikal etkisine karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az etkilenirler. Serbest radikaller, DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazlar dahil birçok proteini de hedef alabilir veya dolaylı olarak lipid peroksidasyon oluşturarak protein hasarına neden olabilir.¹¹⁹ Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu immünoglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran

proteinlerin tersiyer yapıları bozular, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir.^{111, 120-122}

2.3.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

UV-A, UV-B, iyonize radyasyon gibi eksojen faktörler ve ya endojen prosesler sonucunda DNA molekülünde oluşabilen değişikliklere DNA hasarı adı verilir. DNA hasarının ROS ile indüklenen hücrel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir. “Oksidatif DNA Hasarı” serbest radikallerin DNA’da oluşturduğu hasardır ve genelde onarılır. Ancak bazı durumlarda özellikle son derece reaktif bir bileşik olan hidroksil anyonunun etkisi ile DNA’da gerçekleşen oksidatif hasar onarılamaz. Onarılamayan hasar sonucunda mutagenез, karsinogenез veya yaşlanma olayları ortaya çıkar.¹²¹⁻¹²⁴ Lipid peroksidasyon sonucu oluşan MDA’nın da DNA’da mutasyona sebep olarak kansere ve bazı genetik hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir.¹²⁵

Hidroksil radikalının DNA’nın yakınlarında oluşması bu radikalın deoksiriboz ve bazlarca kolayca reaksiyona girmesi sonucu mutasyonlar oluşmasına neden olabilir. Bu etkilerini nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarma veya çift bağlara katma reaksiyonları ile DNA hasarı oluşturarak gösterirler.¹²⁶

2.3.1.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Serbest radikaller, monosakkaritlerin oto oksidasyonuna uğratması ile hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehytler oluşur. Bunlar özellikle diabet ve sigara içimi ile ilişkili patolojilerde rol alırlar. Okzaldehytler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki ile kanser ve yaşlanma olaylarında önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi

olan hiyalüronik asitin oksidatif hasar sonucu parçalanması bol bulunduğu sinoviyal sıvı nedeniyle inflamatuvar eklem hastalıkları veya gözün vitröz hümöründe bulunması nedeniyle katarakt oluşması radikallerin karbonhidratlar üzerine etkisine bir örnektir.^{121,}

122

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

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

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

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

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

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

4) Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.¹²⁷

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılırlar.

2.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen, hücrel savunma sisteminin önemli bir enzimidir. Sellüler bölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar. SOD aktivitesi yaş ilerledikçe artar ve hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Memelilerde üç tip SOD bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD), extraselüler etki gösteren EC SOD ve mitokondride bulunan tetrametrik Mn ihtiva eden izomer (Mn-SOD)'dir. Demir ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dir.^{128, 129} Sitozolik Cu-Zn SOD siyanidle inhibe edilirken, mitokondrial Mn-SOD inhibe olmaz.¹¹¹ Mn-SOD sitokinlerle ileri derecede indüklendiği gibi deprese de edilir, ancak oksidanlardan orta derecede etkilenir. EC-SOD ise intertisyel boşluklarda bulunur ve plazma, lenfler ve sinoviyal sıvıdaki majör SOD aktivitesini sağlayan enzimidir.^{130, 131} SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır.¹¹¹ Süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD'un, canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.¹³² Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde, SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir.¹³³

2.4.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan, tetramerik, 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. İntrasellüler mesafede lipitleri peroksidasyonundan koruyan bu enzim böylelikle hücre yapısını ve fonksiyonunu korur.¹³⁴ Hidroperoksitlerin redükte olmasıyla meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutasyon (GSH)'a dönüşür. Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.¹³⁵

2.4.1.3. Glutasyon S-Transferaz (GST)

“Selenyuma bağlı olmayan GPx” olarak bilinen GST’lar, ilaçlar, karsinojenler, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünleri gibi endojen ve eksojen hidrofobik elektrofilik grupları içeren bileşikleri sülfidril grubu üzerinden konjuge etme yeteneğine sahip olan enzimlerdir. 1961 yılında tanımlanan bu enzimler üzerinde yapılan yoğun çalışmalar sonucu her geçen gün yeni izoenzim tipleri bulunmaktadır. GST’lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Detoksifikasyon yapmalarının yanında hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır.¹³⁶

2.4.1.4. Katalaz (CAT)

Katalaz, tüm canlı hücre çeşitlerinde farklı miktarlarda bulunan 4 tane hem grubuna sahip bir hemoproteindir. Oksijene maruz kalan hemen tüm organizmalarda peroksidomlarda bulunan bir enzimdir. Görevi, hidrojen peroksit ile etkin bir reaksiyona girerek hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya kataliz etmektir. Bir molekül CAT milyonlarca molekül hidrojen peroksiti parçalayabilir.¹³⁷

2.4.1.5. Glutasyon (GSH)

Glutasyon, γ -L-glutamil-L-sisteinil yapısında atipik bir tripeptiddir. Atipik olmasının nedeni sisteinin amin grubuyla yan zincirindeki karboksil grubu arasındaki γ bağıdır. Hücre redoks dengesinin sağlanmasında ve oksidatif strese karşı cevap verilmesinde temel role sahip bir tiyoldür.¹³⁸ Enzim olmayan endojen antioksidanlar sınıfında olan glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. GSH'daki sisteinin tiyol grubu reaktif oksijen bileşikleri gibi stabil olmayan molekülleri redükleyebilir. Bu durumda kendisi de reaktif hale gelir ve iki reaktif glutasyon birleşerek glutasyon disülfiti (GSSG) oluştururlar. GSSG daha sonra glutasyon redüktaz (GR) ile tekrar GSH'a dönüşür.¹³⁹ GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önlemede rol alır.¹⁰⁷ Ciddi oksidan stres altında hücrenin GSSG'yi GSH'a indirgeme özelliği azalır ve böylece GSSG hücrede akümüle olur. Artmış GSSG/GSH oranı oksidatif stresin göstergesidir. GSH, GPx enzimi katalizörlüğünde H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir ve H_2O_2 'yi alyuvarlardan uzaklaştırır.¹⁰⁷

2.4.2. Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin E (α -tokoferol), β -karoten, askorbik asit (vitamin C) ve folik asit (folat) vitamin eksojen antioksidan grubundadırlar. Vitaminlerin bir bölümü biyokimyasal olayların düzenlenmesinde görev alırken A,C ve E vitaminleri serbest radikallerin hücrelerde meydana getirebileceği oksidatif hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmelerini sağlayarak etki gösterirler. Hücrelerin dış yüzeyinde β -karoten nöbet tutarken, hücre dışından içeri girmek isteyen saldırganlara karşı

savunmayı ise selenyum yardımıyla E vitamini üstlenmiştir. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırırken E vitamini ise lipitleri oksidatif hasardan korur.^{140, 141}

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

2.5. Melatonin

Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin, epifiz bezinin pineolasit adı verilen hücrelerinden salgılanan metoksiindol analogudur.¹⁴² Giderek artan araştırmalar melatonin'in insanlarda oldukça faydalı etkileri olduğunu göstermektedir. Melatonin pineolasitlerde triptofan'dan sentezlenir, karanlıkta salgınır ve gece boyunca en yüksek seviyelere ulaşır, tam tersi olaylar ise gün içinde gerçekleşir. Melatonin reseptörleri hücre yüzeyinde olduğu tespit edilmiştir.¹⁴³ İnsanlarda melatonin reseptörleri retina, beyin, suprakiazmatik nükleus, pars tuberalis, overler, serebral ve periferik arterler, böbrek, pankreas, adipositler ve immün hücrelerde tespit edilmiştir.¹⁴⁴ Melatonin, MSS'de etkilerini G proteinlerine bağlı membran reseptörleri olan MT₁ ve MT₂ reseptörleri üzerinden oluşturur.¹⁴⁵

Melatonin organizmanın ışık-karanlık döngüsüne uyum sağlamasında görev aldığı düşünülmektedir. Vücudun biyolojik saatini koruyup ritmini ayarlamaktadır.¹⁴⁶ Melatonin hormonunun uygulanması insanlarda transatlantik uçuşlar sonrası gözlenen jet lag da etkili olmaktadır.¹⁴⁷ Hormon aynı zamanda immün sistemin düzenlenmesine katkıda bulunur¹⁴⁸ ve güçlü bir antioksidandır.¹⁴⁹ DNA bütünlüğünün korunmasına

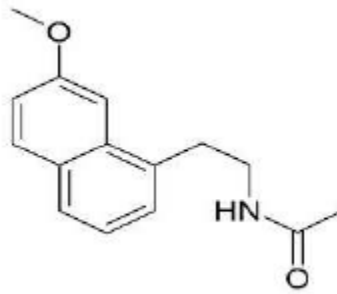
katkıda bulunabilir ve bu nedenle kanserin önlenmesinde etkili olabilir. Diğer araştırma verileri malign tümörlerin gelişimini önlemek dahil doğal bir onkostatik ajan olarak etkili olduğunu göstermektedir. Kanser tedavisinde ve antikanser tedavinin yan etkilerini önlemede klinik uygulamaları bulunabilmektedir.

Melatonin çok güçlü bir serbest radikal süpürücü ve bir antioksidandır. Antioksidan olarak melatonin toksik hidroksil ve peroksid radikallerine etkili bir şekilde bağlanır. Melatoninin antioksidan özellikleri homojenize dokuda ve canlı organizmalarda kanıtlanmıştır.¹⁴⁹⁻¹⁵² Melatonin antioksidan aktivitesini tek başına veya metabolitleri ile gösterir.¹⁴⁹ Tek başına ve metabolitleri yoluyla antioksidan etki gösteren melatonin'in özelliği çok düşük konsantrasyonlarda bile orgnizmanın oksidatif stresden korunmasında etki göstermesidir. Yoğun oksidatif stres sonucunda tüketiminin sonucu olarak dolaşımdaki melatonin akut olarak azalması antioksidan olarak tüketilmesinin bir sonucudur.¹⁵² Japonyadaki son felaket sırasında da iyonize radyasyon ile indüklenen hasarın önlenmesinde melatonin kullanılmıştır.¹⁵³

Melatonin insomnia gibi çeşitli uyku bozukluklarının tedavisinde kullanılabilir.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ Melatonin uygulaması uykunun kalitesini ve süresini iyileştirebilmektedir.^{155, 156} Ancak melatoninin yarı ömrü kısadır ve hipnotik etkisi zayıftır. Bu nedenle sirkadin, tasimelton, ramelton ve agomelatin gibi birçok melatonin analogu geliştirilmiştir.¹⁵⁵ Agomelatin, suprakiazmatik nükleusdaki MT1 ve MT2 melatonin reseptörlerine oldukça yüksek affinitesi vardır ve aynı zamanda seratonin antagonistidir. Hipnotik ve antidepresan etkisi vardır. Bu analoglardan biri olan ve tedaviye girme şansı elde eden ve bu tez kapsamında parasetamol'ün böbrek üzerinde oluşturduğu toksisiteye karşı kullanılan agomelatin hakkında kısa bir bilgi verilmiştir.

2.5.1. Melatonin analogu: Agomelatin

Agomelatin (N-[2-(7-metoksinaftalen-1yl)etil]acetamid) molekülü 2000’li yıllarda Fransa’da antidepresan olarak sentezlenmiştir. Molekül formülü Şekil 2.2’de verilmiştir. Melatonin hormonunun sentetik analogudur. Melatoninden kimyasal yapı olarak farkı indol grubu yerine bir naftalen bioestere grubu ve NH grubu olan yerde HC=CH grubu içermesidir.¹⁵⁷



Şekil 2.2. Agomelatin’in kimyasal yapısı

Yapılan deneysel çalışmalar diğer antidepresanlardan farklı olarak agomelatinin MT1 ve MT2 reseptörleri melatonerjik reseptörlerle etkileşerek beyin melatonin sistemini modüle ettiği gösterilmiştir. Bu reseptörler sirkadiyen ritimin düzenlenmesinde görev alırlar.¹⁵⁸ Agomelatinin MSS’deki antidepresan etkisi ve diğer psikotrop etkileri MT1 ve MT2 üzerindeki güçlü agonist etkisi, serotonin 5-hidroksitriptamin 2C (5-HT2C) reseptör antagonize edici etki ve beyin nöroplastisitesini düzenleyici etkilerinin birlikte oluşturduğu düşünülmektedir.¹⁵⁹⁻¹⁶¹ Agomelatinin bilişsel işlevler, öğrenme ve bellek üzerine etkilerini araştıran kısıtlı sayıdaki çalışmalar agomelatinin özellikle bellek işlevleri üzerine bazı olumlu etkilerine işaret etmektedir.^{162, 163} Ancak kesin bir kanıya varmak için daha çok çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir. Agomelatinin antidepresan etkinliği ve çeşitli tip anksiyete

bozukluklarının tedavisinde de etkili bir ilaç olduğu hem deney hayvanlarında hem de insanlarda yapılan çalışmalarda net bir şekilde gösterilmiştir.¹⁶⁴⁻¹⁶⁶

Oral yoldan alınan agomelatin gastrointestinal kanaldan hızla emilerek 45-90 dakika arasında plazma doruk konsantrasyonuna ulaşır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %90'dan fazladır. Eliminasyon yarı ömrü 2 saat civarındadır. Karaciğerde ilk geçiş biyotransformasyonuna uğrar. İlaç CYP1A2 ve CYP2C9 enzimleri ile metabolize edilir. Major metaboliti olan 3-hidroksi-7-desmetil agomelatinin serotonin ve melatonin reseptörlerine çok düşük bir afinite gösterirken diğer metabolitleri farmakolojik olarak inaktiftir. Oluşan metabolitleri glukronid konjugasyonu ile suda çözünür bileşikler haline gelerek idrarla vücuttan atılır.¹⁶⁷⁻¹⁶⁹

Agomelatinin serotonerjik, noradrenerjik, dopaminerjik, kolinerjik ve histaminerjik yan etkileri yoktur. Bundan dolayı cinsel işlev bozukluğu, psikomotor ajitasyon, vücut ağırlığında artış ve serotonin sendromu gibi diğer antidepresanlarla gözlenen yan etkiler gözlenmez. Bu özellikleri sayesinde hastanın tedaviye uyumu artmaktadır.¹⁶⁹ Tedavinin ani kesilmesi sonrası kesilme semptomları görülmez.^{167,168} Klinikte en sık görülen yan etkileri baş ağrısı, bulantı, diare ve kabızlık, sırt ağrısı ve halsizliktir. Bu yan etkileri diğer antidepresanlara karşı üstünlük sağlasa da karaciğer üzerindeki etkisi kullanımını kısıtlamaktadır. Karaciğer enzimlerinde yükselmelere neden olabildiğinden karaciğer hastalığı olan veya karaciğer işlev bozukluğu olan kişilerde kullanımı kontrendikedir.^{167, 168, 170}

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 42 adet ve ağırlıkları 240-260 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22⁰C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu “Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Etik Kurulu” tarafından verilen 8 Mayıs 2012 tarihli ve 2012.2.1 numaralı karar ile ve “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 24 Şubat 2012 tarihli ve B.30.2.ATA.023.85-30 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Parasetamol (Doğa İlaç Hammaddeleri Ticaret Ltd. Şti.): Çalışmada, PBS (fosfattamponsolüsyonu) içinde %1 lik CMC (Karboksimetil Selüloz) içinde 2 gr çözülerek ve hafif sıcaklıkta karıştırılarak kullanıldı.

Agomelatin (VALDOXAN® 25 mg tablet, Servier): Çalışmada, %0.9 luk NaCl çözeltisinde 25 mg tek tablet çözülerek kullanıldı. Her hayvana 1ml de kg başına 20 veya 40 mg agomelatin olacak şekilde hesaplama yapıldı.

N-Asetil Sistein (NAC) (Asist 200 mg kapsül, Hüsnü Arsan İlaç): Çalışmada, %0.9 luk NaCl çözeltisinde 600 mg tek tablet NAC çözülerek kullanıldı.

Tiyopental Sodyum (İE ULAGAY): Çalışmada i.p. olarak ötenazi için 50 mg/kg olarak verildi.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Deneyle esnasında kullanılan tüm aletler aşağıda gösterilmiştir.

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 (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus
Oto analizör	Cobas C-501

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 6 deney grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere toplam 7 grup oluşturuldu. Her bir grupta 6 adet olmak üzere toplam 42 adet sıçan kullanıldı. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı. Deney planı, Tablo 3.1'de verilmiştir.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

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

Grup II (Agomelatin 40 mg/kg): 40 mg/kg Agomelatin i.p. yoldan verildi.

Grup III (NAC): 140 mg/kg N-Asetil Sistein oral yoldan verildi.

Grup IV (Parasetamol): 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup V (Parasetamol + NAC): 140 mg/kg N-Asetil Sistein oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 gr/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup VI (Parasetamol + AGO 20 mg/kg): 20 mg/kg Agomelatin i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup VII (Parasetamol + AGO 40 mg/kg): 40 mg/kg Agomelatin i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.^{171, 172} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem verildi.

Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra yüksek 50 mg/kg dozda tiyopental ile ötenazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların kan örnekleri toplandı ve böbrekleri alındı. Alınan böbreklerin biyokimyasal analiz için ayrıldı ve -80 °C'de saklandı. Toplanan kanlar -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

Tablo 3.1. Deney Planı

Gruplar	Hayvan sayısı	Tedavi	Doz
I	6	Kontrol	2 ml PBS
II	6	Agomelatin	40 mg/kg
III	6	NAC	140 mg/kg
IV	6	Parasetamol	2 g/kg
V	6	Parasetamol + NAC	140 mg/kg +2g/kg
VI	6	Parasetamol + AGO 20 mg/kg	20 mg / kg+2 g/kg
VII	6	Parasetamol + AGO 40 mg/kg	40 mg / kg+2 g/kg

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.2.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -80°C’de saklandı. Her ratın 100 mg 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 ve MDA ile GSH seviyeleri sırasıyla özellikle rat dokusu için 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 (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleriyle her bir rat böbreği ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm böbrek süpernatantlarında bütün veriler her mg protein için ort ± standart sapma olarak gösterildi.

Protein tayini

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

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

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokularımızı homejenize edildi.
3. 70mM sükroz, 210mM mannitol ve 1mM 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 derecede muhafaza edildi.
5. +4 derecede 1,500 x g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

6. Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Çalışma 96 kuyucuklu plate lerde gerçekleştirildi.

1. Örnek Kuyularına 20 µl örnek ve Standart'lardan eklendi.

2. 200 µl seyreltilmiş radikal detektör tüm kuyulara eklendi ve 10 dk. karıştırıcıya konuldu.

3. Reaksiyonu başlatmak için 20µl seyreltilmiş Xantin Oksidaz eklendi.

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

Oda sıcaklığında 20dk boyunca inkübe edildikten sonra 460 nm'de Elisa okuyucuda okutuldu.

SOD aktivitesinin hesaplanması:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_K - A_N) / A_K \times 100$$

A_K: Kör absorbansı

A_N: Numune absorbansı

%50'lik inhibisyona 1 U denildiği için

$$\text{Aktivite (U/ml)} = [(\% \text{ inhibisyon} / 50) \times (1/0.1)] \text{ ml}$$

Spesifik aktivite (U/ mg protein) = [U/ml/mg/ml protein]. Sonuçlar, U/mg protein olarak ifade edildi.

Total Glutatyon (GSSG/GSH) Tayini

Kullanılan reaktifler: Glutathione reductase, Chromogen, Assay buffer,

Metaphosphoric asid, Glutathione disulfide, NADPH

Deneyin prensibi: Cellbiolabs'ın oxiselect Glutatyon kiti ile deney yapıldı.

GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px 'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir.

GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 405 nm'de okunmasıyla hesaplanır.

Enzim ünitesi; birim zamanda okside olan mikromol NADPH miktarıdır.

Deneyin yapılışı: Dalga boyu 405 nm'ye ayarlanan ELISA cihazında numunelerin absorbans değerleri 10 dakika boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı.

Doku homojenizasyonu:

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokularımızı 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 C° de 12000 Rpm de santrifüjlenip süpernatantları ölçüm için toplandı.
2. 96 kuyuluk plate'e 25 µl 1X glutatyon redüktaz herbir kuyuya eklendi.
3. 1X NADPH solüsyonundan 25 µl her kuyuya eklendi.
4. Hazırlanan glutatyon standartlarından veya örneklerden 190 µl her kuyuya eklendi. Plate okuyucu kinetik ölçüm için ayarlanmalıdır ve 405 nm de okumaya ayarlanmalıdır. 1X kromojenden 50 µl eklenip ve karıştırıldı. Hızlı bir şekilde 10 dk boyunca 1 dk aralıklarla 405 nm de absorbans okundu.

GSH-Px aktivitesinin hesaplanması:

$$IU/L = [(AA/t) / 6.22 \times 10^{-6}] \times (1/0.02)$$

$$\text{Spesifik aktivite IU/L mg protein} = (IU/L) / (1000 \times W)$$

W: gram protein miktarı

Tiyobarbitürük Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Miktarının Tayini

Kullanılan reaktifler: MDA standart (malondialdehide bis), Thiobarbituric acid (TBA), Sds lysis solution, TBA acid diluent, Sodyum hidroxide solüsyonu, BHT solüsyonu (İçerisinde % 5'lik butylated hydroxytoluene)

Deneyin prensibi: Cellbiolabs'ın oxiselect MDA quantitation ile deney yapıldı. En çok kullanılan lipid peroksidasyon tayin yöntemidir. Asidik ortamdaki tiyobarbitürük asit ile 90-95 C° de reaksiyona giren MDA ve diğer TBARS, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm de spektrofotometrik olarak okundu.

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı
2. Daha sonra sıvı azot altında dokularımız homejenize edildi.
3. Homojenize dokulardan 100'er mg tartılarak tüplere konuldu. Her tüpe hazırladığımız 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 ettiğimiz 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 solutionunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100'er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dk. İnkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapacağımız her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Tüplerin ağzını kapatıp 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 well e 200 µl) ve 532 nm Abs de okutuldu.

Hesaplanması:

20 mM/L stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak TBARS miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı.

3.2.2.2. Serumda Yapılan Analizler

Serum Üre ve Kreatinin Düzeylerinin Ölçülmesi

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

3.3. İstatistiksel Analiz

Biyokimyasal çalışmaların istatistik analizi IBM SPSS Statistics 20 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi.

Parametrik verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve post-hoc testlerinden "Duncan" tekniği kullanılmıştır. Elde edilen değerler, ortalama ±

standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistik açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi intakt sıçanların serumlarındaki kreatinin ve üre düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 0.29 ± 0.06 U/L ve 47.55 ± 10.77 U/L iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 0.56 ± 0.12 U/L ve 81.15 ± 21.39 U/L olarak tespit edildi. Sadece NAC verilen kontrol grubunda ise kreatinin ve üre düzeyleri sırasıyla 0.30 ± 0.04 U/L ve 48.80 ± 6.81 U/L olarak belirlendi. Parasetamol+NAC verilen sıçanlardaki kreatinin ve üre düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 0.36 ± 0.08 U/L ve 57.23 ± 9.21 U/L olarak ölçüldü. Parasetamol+20 mg/kg Agomelatin verilen grupta ise kreatinin ve üre düzeyleri sırasıyla 0.38 ± 0.09 U/L ve 52.21 ± 6.58 U/L; parasetamol+40 mg/kg Agomelatin verilen grupta sırasıyla; 0.36 ± 0.07 U/L ve 46.48 ± 8.70 U/L olarak ölçüldü.

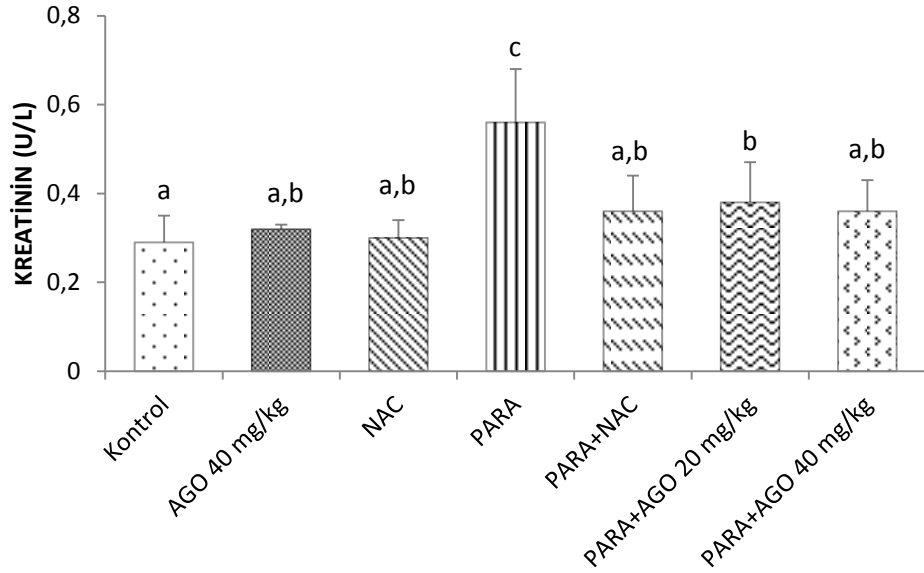
Tablo 4.1. Ortalama Kreatinin ve Üre Düzeyleri

	Kreatinin (U/L)	Üre (U/L)
Kontrol	0.29 ± 0.06^a	47.55 ± 10.77^a
AGO 40 mg/kg	$0.32\pm 0.01^{a,b}$	$43.83\pm 3.16^{a,b}$
NAC	$0.30\pm 0.04^{a,b}$	$48.80\pm 6.81^{a,b}$
PARA	0.56 ± 0.12^c	81.15 ± 21.39^c
PARA+NAC	$0.36\pm 0.08^{a,b}$	57.23 ± 9.21^b
PARA+AGO 20 mg/kg	0.38 ± 0.09^b	$52.21\pm 6.58^{a,b}$
PARA+AGO 40 mg/kg	$0.36\pm 0.07^{a,b}$	$46.48\pm 8.70^{a,b}$

***AGO:Agomelatin, PARA: Parasetamol. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT \pm SD)

Parasetamol grubunda kreatinin değerinin önemli derecede yüksek olduğu ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. Para+NAC grubunda kreatinin değerinin parasetamol grubuna göre düşük olduğu ve Para+AGO 20

mg/kg ve Para+AGO 40 mg/kg gruplarıyla yaklaşık olarak aynı kreatinin değerlerine sahip olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.1. Gruplara göre serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

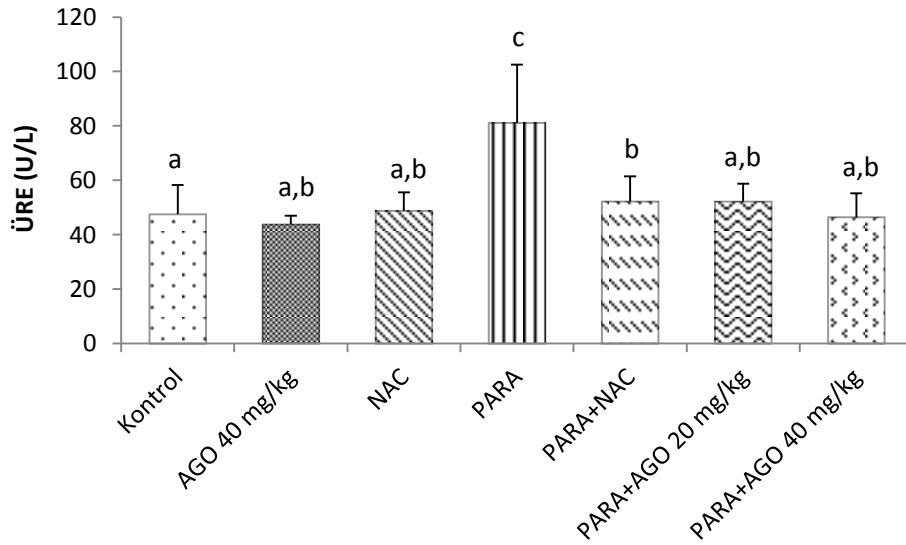
Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).

*** AGO: Agomelatin, PARA: Parasetamol

Üre düzeylerine bakıldığında parasetamol grubunda bu değer oldukça yükselmiş olduğu ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi. Para+NAC, Para+AGO 20 mg/kg ve Para+AGO 40 mg/kg grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da üre değerlerindeki en iyi düzelme Para+AGO 40 mg/kg grubunda gözlemlendi.

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi intakt sıçanların böbrek dokusunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 37.35±10.01 U/mg protein, 2.32±0.38 nmol/mg protein ve 38.43±23.07 µg/mg protein iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 22.52±6.14 U/mg protein, 1.69±0.66 nmol/mg protein ve 137.57±45.26 µg/mg protein olarak tespit edildi. NAC grubunda bu değerler

sırasıyla 34.78 ± 10.91 U/mg protein, 2.54 ± 0.60 nmol/mg protein ve 76.70 ± 27.69 μ g/mg protein olarak ölçüldü. Agomelatin 40 mg/kg grubunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 36.49 ± 13.22 U/mg protein, 2.29 ± 0.56 nmol/mg protein ve 47.71 ± 20.20 μ g/mg protein olarak tespit edildi.



Şekil 4.2. Gruplara göre serum üre düzeylerinin karşılaştırılması

Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farklı olduğunu ifade etmektedir. ($P < 0.05$).

*** AGO: Agomelatin, PARA: Parasetamol

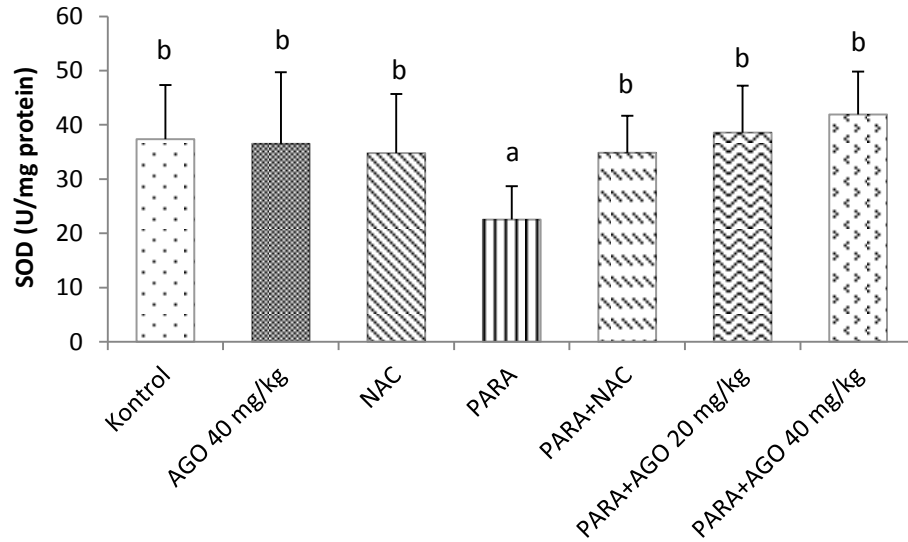
Para+NAC grubunda bu değerler sırasıyla 34.84 ± 6.85 U/mg protein, 2.38 ± 0.21 nmol/mg protein ve 95.44 ± 17.97 μ g/mg protein olarak ölçülmüşken Para+AGO 20 mg/kg grubunda 38.56 ± 8.69 U/mg protein, 2.20 ± 0.36 nmol/mg protein, 61.90 ± 32.40 μ g/mg protein olarak, Para+AGO 40 mg/kg grubunda 41.90 ± 7.90 U/mg protein, 2.28 ± 0.24 nmol/mg protein, 57.20 ± 10.30 μ g/mg protein olarak tespit edildi. Parasetamol grubunda SOD aktivitesinin diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ve bu değerlerin önemli derecede düşmüş olduğu gözlemlendi. Para+AGO 20 mg/kg ve PARA+AGO 40 mg/kg grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı fakat Para+NAC grubuna göre bu gruplardaki SOD aktivitesi daha yüksekti.

Ayrıca bu gruplarda SOD aktivitesinin NAC ile tedavi edilen gruba göre daha çok arttığı tespit edildi.

Tablo 4.2. Ortalama SOD aktivitesi ve GSH ile MDA seviyeleri

	SOD (U/mgprotein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (ug/mg protein)
Kontrol	37.35±10,01 ^b	2.32±0.38 ^b	38.43±23.07 ^a
AGO 40 mg/kg	36.49±13,22 ^b	2.29±0.56 ^b	47.71±20.20 ^{a,b}
NAC	34.78±10,91 ^b	2.54±0.60 ^b	76.70±27.69 ^{b,c}
PARA	22.52±6.14 ^a	1.69±0.66 ^a	137.57±45.26 ^d
PARA+NAC	34.84±6.85 ^b	2.38±0.21 ^b	95.44±17.97 ^c
PARA+AGO 20 mg/kg	38.56±8.69 ^b	2.20±0.36 ^b	61.90±32.40 ^{a,b}
PARA+AGO 40 mg/kg	41.90±7.90 ^b	2.28±0.24 ^b	57.20±10.30 ^{a,b}

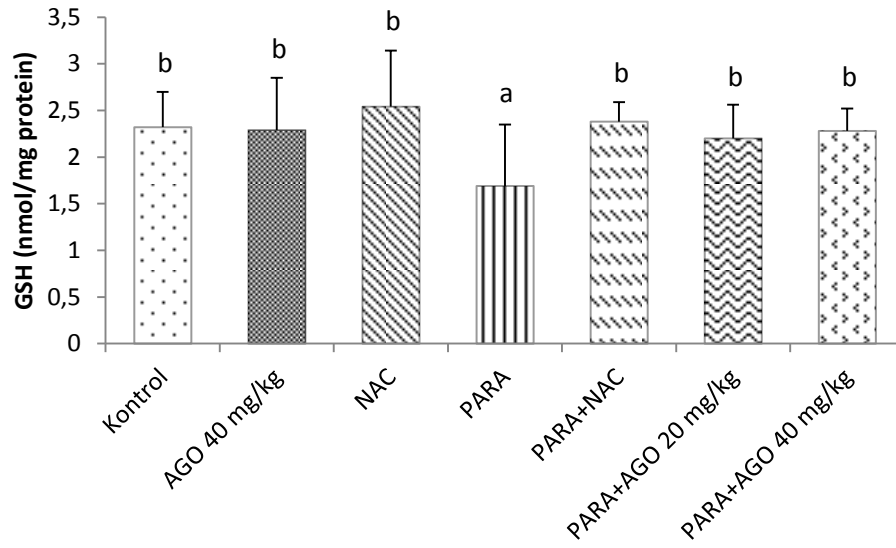
***AGO: Agomelatin, PARA: Parasetamol. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT ±SD)



Şekil 4.3. Gruplara göre böbrek SOD aktivitesinin karşılaştırılması.

Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***AGO:Agomelatin, PARA: Parasetamol

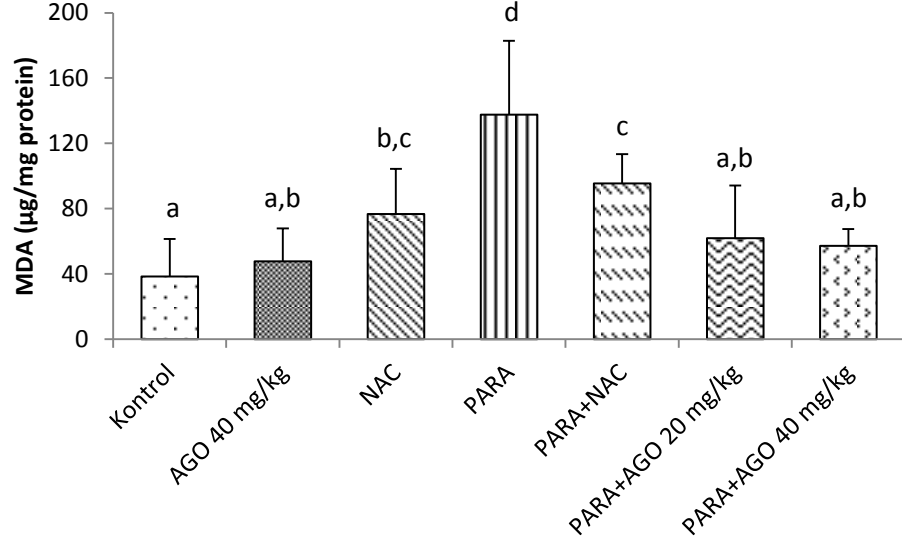
Parasetamol grubunda ölçülen GSH değerleri diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşüktü. Agomelatin'in iki farklı dozu arasında GSH seviyelerini yükseltme açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bütün tedavi gruplarında GSH seviyesinde gözlenen yükseliş paralellik göstermekteydi. Anlamlı bir fark olmasa da NAC uygulamasının GSH düzeylerini yükseltmede agomelatine göre daha etkili olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.4. Gruplara göre böbrek GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***AGO: Agomelatin, PARA: Parasetamol

Şekil 4.5’de görüldüğü gibi MDA parasetamol grubunda anlamlı olarak yükseldiği gözlemlendi. Agomelatin ve NAC tedavi gruplarında MDA düzeylerinin anlamlı olarak iyileşme gösterdiği gözlemlendi. Agomelatin ile yapılan tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemesine rağmen MDA seviyesi açısından en fazla iyileşme Para+AGO 20 mg/kg grubuna aitti. Bunların yanında NAC ile tedavi edilen grupta MDA seviyesi açısından iyileşme Agomelatin ile yapılan tedavi gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti.



Şekil 4.5. Gruplara göre böbrek MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir (P<0.05).***AGO: Agomelatin, PARA: Parasetamol

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada ratlarda böbreklerinde deneysel olarak oluşturulan parasetamol toksisitesinde melatonin reseptör analogu olan agomelatinin etkileri gösterildi.

Parasetamol terapötik dozlarda alındığında çok az yan etkileri olan ve dünya çapında yaygın olarak kullanılan ağrı kesici ve ateş düşürücü bir ilaçtır. Parasetamol Amerika Birleşik Devletleri'nde en yaygın olarak kullanılan ilaçlardan biridir ve tüketimi dünya çapında hızla artmaktadır. İngiltere, ABD, Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde kişi başına düşen yıllık tüketim 8 gramdan az olmasına rağmen bazı gelişmiş ülkelerde bu oran kişi başı 20 gramdan fazladır.^{2, 173} Bu kadar sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması nedeniyle toksisite riski de yüksektir.

Tedavi edici dozlarda tüketildiğinde makul bir güvenlik profiline sahiptir fakat supratherapötik dozlarda kullanıldığında ciddi hepatotoksisiteye ve nefrotoksisiteye neden olmaktadır. Terapötik dozlarda parasetamol glukronil transferaz enzimi tarafından glukuronik aside çevirilir (% 60), sülfonil transferaz enzimi tarafından ise sülfirik aside çevirilir (% 35) veya sisteine dönüştürülüp idrar ile atılır.³⁹ Alınan parasetamolün %2'si ise idrarla değişmeden atılır. Yine de küçük bir miktar parasetamol sitokrom P-450 enzimi tarafından reaktif bir metabolit olan NAPQI'ya çevrilir. Bu metabolit reaktif elektrophilik bir molekül olup intraselüler proteinlerin üzerindeki sistein kısımlarına kovalent bağla bağlanarak 3-(cysteine-S-yl) şelatları oluşturur ve bu da doku hasarını başlatır.⁶ Normal koşullarda NAPQI glutatyon ile reaksiyona girer ve safra yolu ile atılır.^{5, 6} Fakat çok yüksek dozlarda NAPQI karaciğerdeki glutatyon depolarını tüketir. Serbest kalan NAPQI intraselüler proteinlere bağlanır ve hepatotoksisite oluşur. Bu mekanizma parasetamol ile indüklenen hepatotoksisite için ana yolak olarak kabul görür.⁵ Böbrek korteksinde de N-asetilasyon sonucu oluşan NAPQI ve p-aminofenol glutatyon depolarının tükenmesi sonucu

birikebilir. NAPQI membranlara ve sülfidril proteinlere bağlanarak böbrek hasarı oluşturur. Ayrıca p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalan bağlarla bağlanarak böbrek hasarı yapar.⁶³

Parasetamol toksisitesi nedeniyle hastaneye başvuran hastaların tedavisinde bu maddenin spesifik antidotu olan NAC kullanılmaktadır. NAC deney hayvanlarında da benzer etkiyi göstermektedir.⁸⁶ Bizim çalışmamızda da pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Parasetamol ile deneysel olarak oluşturulan hasarların önlenmesinde NAC dışında çeşitli antioksidan ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında melatonin, vitamin E, *Bosentan*, *infxsimab*, gibi çok çeşitli ajanlar gösterilebilir. Aynı şekilde böbrek dokusunu parasetamol toksisitesinden önlemede vitamin C, zencefil gibi çeşitli ajanlar kullanılmaktadır.¹⁷⁴⁻¹⁷⁶

Bizim çalışmamızda kullandığımız antioksidan madde olan agomelatin, melatonin reseptör analogudur. Agomelatin serotonin 5-HT_{2C} reseptörlerinde antagonist ve daha yüksek afinite ile ise melatonin MT₁ ve MT₂ reseptörlerinde agonist etki gösterir.^{158, 177} Melatonin immünomodülatör,¹⁷⁸ onkostatik,¹⁷⁹ antiaging¹⁸⁰ ve antioksidan¹⁸¹ olmak üzere pek çok özellik gösterir. Melatonin için dört farklı etki mekanizması tanımlanmıştır: (a) membran reseptörleri ile etkileşme;¹⁸² (b) nükleer reseptörlere bağlanma;¹⁸³ (c) sitoplazmik proteinlerle etkileşme;¹⁸⁴ ve radikal süpürücü özelliği de kapsayan antioksidan aktivite.¹⁸⁵ Melatoninin farelerde parasetamol ile indüklenmiş hepatotoksisiteyi lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu da kapsayan oksidatif stresi inhibe ettiği rapor edilmiştir.¹⁸⁶ Melatoninin GSH sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan c-glutamilsistein sentetaz enzimini indükleyerek insan vasküler endotel hücrelerinde hücreSEL GSH konsantrasyonlarını arttırdığı bilinmektedir.¹⁸⁷ In vivo çalışmalar melatonin parasetamol toksisitesine karşı hepatoprotektif etkilerini hem oksidatif stresi hem de inflamasyonu azaltarak

gerçekleştirdiğini göstermiştir.^{186,188} Daha yakın zamanlarda primer fare hepatosit kültürü ile yapılan in vitro çalışmalar lipid peroksidasyonu takiben ROS (reaktif oksijen bileşikleri) oluşumu parasetamol uygulaması ile hepatositlerde oluşmuş ve melatoninin önceden uygulanması ile hepatositlerde ROS üretimi ve lipid peroksidasyon oluşumunun baskılandığı rapor edilmiştir.¹⁸⁸ Bu hepatoprotektif etkisi agomelatin ile redox basamağında stabilizasyonun ve antioksidan kapasitenin devam ettirilmesinin bir sonucu olabilir. Bu aynı zamanda agomelatinin melatonin reseptör aktivitesi üzerindeki etkisinden de kaynaklanabilir.

Parasetamol karaciğerde metabolize olduktan sonra böbrekler aracılığı ile atılmaktadır. Bu nedenle yüksek dozda uygulanan parasetamolün karaciğerin yanı sıra böbrekte de hasar oluşturduğu bilinmektedir. Çekmen ve arkadaşları bu amaçla 1000 mg/kg parasetamol vererek böbrek hasarı oluşturdukları deneylerinde 200 mg/kg zerdeçalın etkilerini incelediklerinde Üre ve kreatinin değerlerinin parasetamol grubunda kontrole kıyasla yükselirken parasetamol+zerdeçal grubunda ise bu değerlerin kontrol grubundaki değerlere yaklaştığını gözlemişlerdir. Parasetamol uygulanan grubun ışık mikroskopik incelemesinde tübül epitelinde dejenerasyon, vakuolizasyon, hücre dökülmeleri ve özellikle proksimal tübül hasarı izlenmiş, kortikal intersitisyel damar konjesyonu sadece parasetamol grubunda görülmüştür. Parasetamol + zerdeçal grubunda ise hafif derecede tübüler dejenerasyon ve proksimal tübülde epitel vakuolizasyonu gözlense de, hücre dökülmeleri minimum derecede olup glomerüllerin yapısının kontrol grubuna benzer özellikte olduğu belirtilmiştir.¹⁸⁹ Lucas ve arkadaşlarının riboz sistein'in (RibCys) böbrek hasarındaki koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmalarında, parasetamol uygulanan grupta koagulatif proksimal tübüler nekroz, karyoreksis ve piknotik çekirdek gibi oluşumlar gözlenirken, belirteç olarak kullanılan Üre değerinin kontrol grubuna kıyasla parasetamol grubunda arttığı

görülmüştür. RibCys uygulanan gruplarda ise nekrotik bulgulara rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalarda hücre içi GSH miktarı ve kovalent bağlanma ile toksisite oluşumu arasında bir bağ olduğu ileri sürülmektedir. RibCys'nin GSH sentezini tetiklemesi ve parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'nın GSH'a kovalent bağ ile bağlanarak NAPQI'nın böbrekte bulunan hücrel proteinlere bağlanmasını engellediğinden toksisiteyi önlediği belirtilmektedir.¹⁹⁰ Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon) böbrek proksimal tübüllerinde gerçekleşmektedir. Buna bağlı olarak proksimal tübül hücrelerinde oluşan bir hasarın kreatinin ve üre seviyelerini değiştirebileceği bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da parasetamol uyguladığımız grupta gelişen böbrek hasarı kaynaklara uyumlu olarak Üre ve Kreatinin seviyesini yükselttiğini, bunun yanı sıra agomelatin uygulamasının ise yükselen bu değerlerin kontrol grubuna yakın değerlere düşürdüğünü gördük.

Melatonin reseptörlerinin parasetamol toksisitesindeki rolünü ve melatonin reseptör antagonisti olan agomelatinin parasetamol toksisitesine etkilerini incelemek amacıyla parasetamol toksisitesinde çok önemli olan oksidatif stress parametreleri üzerine agomelatinin etkilerini inceledik. Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı doku hasarına neden olan en önemli mekanizmalardan biridir ve serbest oksijen radikallerine bağlı olarak ortaya çıkar. Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerine etkisi sonucu başlar. Lipit peroksidasyonunun oksidatif stres altında bulunan dokulardaki hücre fonksiyon kaybında majör bir rolü olduğu rapor edilmiştir. 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.¹⁹¹

Yapar ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada farelerde parasetamol ile

karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve L-Karnitin'in hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır ve bu çalışmada parasetamol uygulamasından 24 saat sonra alınan kan örneklerinde MDA değerleri, toksisite oluşturulan grupta artarken L-Karnitin verilen gruplarda azalmıştır.¹²¹ Cheng-chin ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada farelerde parasetamol ile intraperitoneal olarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve S-allyl ile S-propyl'in koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada MDA'nın parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta sağlıklı gruba göre arttığı ve tedavi ile bu artışın düzeldiği tespit edilmiştir.¹²² Literatüre baktığımızda bunlar ve bunlara benzer birçok deneysel çalışmada parasetamol toksisitesinin MDA değerlerini artırdığı, başarılı olan tedavi yöntemlerinin ise MDA değerlerini azaltarak parasetamol toksisitesini engellediği gösterilmiştir. Karakus ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada agomelatin kullanıldıklarında karaciğer lipid peroksidasyonunda azalma olduğu kaydetmiştir.¹⁹² Çalışmamızda, benzer şekilde böbrek dokusunda MDA değerinin, toksisite oluşturulan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu saptandı. Bu sonuç da lipid peroksidasyonunun parasetamole bağlı doku hasarı ile yakın ilişkili olduğunu göstermektedir. Zhao ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada ratlarda parasetamolle hepatik ve renal hasar oluşturulmuş ve oluşan biyokimyasal değişikliklere karşı Rhein'nin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Kan MDA değerleri parasetamol verilen grupta kontrol grubuna göre artış göstermiş, Rhein ile tedavi verilen grupta bu yüksek değerlerde azalma saptanmıştır.¹⁹³ Agomelatinin parasetamolle indüklenen karaciğer hasarında karaciğer lipid peroksidasyon seviyelerinde gösterdiği azaltıcı etki de çalışmamızla örtüşmektedir.¹⁹² Biz de agomelatin uygulaması sonrasında parasetamol grubunda artmış olan MDA düzeylerinin anlamlı şekilde düzeldiğini gösterdik. Böylece agomelatinin parasetamole bağlı gelişen oksidatif hasar sonucu artan

MDA seviyesinde düzelme sağlayarak parasetamole bağlı böbrek toksisitesinde koruyucu etkisinin olduğunu gösterdik.

GSH, kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli moleküllerden biridir. Glutasyon redükte ve okside durumlarda bulunur. Redükte formunda, sisteinin thiol grubu reaktif oksijen ürünleri gibi stabil olmayan moleküllere, indirgeyici ekuvalanları verebilme yeteneğindedir. Bu mekanizma ile koruyucu etki ortaya koyar. GSH enzimatik olmayan antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır. Azalmış hücrel GSH düzeyleri ve GSH sentez kapasitesi gibi durumlarda hücreler radyasyona ve bazı ilaçlara duyarlı hale gelir. Parasetamol'ün yeterli derecede yüksek dozlarında oksidatif stresin bir mediatörü olarak NAPQI'nın, GSH düzeylerinde azalmaya ve bu azalmaya bağlı olarak lipit peroksidasyonunda artmaya yol açtığı bilinmektedir. Bu toksik metabolit kritik hücrel proteinlere bağlanarak hepatik nekroza yol açar.⁹

Manda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kan GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış, verilen β -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir.¹⁹⁴ Yapar ve arkadaşlarınca yapılan benzer bir çalışmada parasetamolle indüklenen toksisitede serum GSH değerleri azalmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile bu azalmış GSH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.¹²¹ Karakuş ve arkadaşlarının çalışmasında karaciğerde parasetamol uygulaması ile azalmış olan GSH seviyelerinin agomelatin uygulaması ile yeniden artırıldığı gösterilmiştir.¹⁹² Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da böbrek GSH değerinin parasetamolle indüklenen hepatotoksisitede azaldığı tespit edildi. Biz de çalışmamızda parasetamol toksisitesi oluşturulan ratların böbrek dokularında GSH değerlerindeki azalmanın agomelatin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını tespit ettik. Bu

sonuç da agomelatinin parasetamole bağlı böbrek toksisitesinde antioksidan sistem üzerine olumlu etkilerini desteklemektedir.

SOD süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksidedismutasyonunu katalizleyen bir enzim ailesidir. Bu nedenle oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Süperoksit hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve bu nedenle SOD anahtar bir antioksidan olarak rol oynar. Katalaz ve SOD gibi antioksidan enzimler lipit peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri tarafından kolayca inaktive olurlar ve bu nedenle parasetamol toksisitesinde bu enzim aktivitesinde azalmalar saptanır.¹⁹⁵

Hua ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada farelere parasetamol verilerek akut karaciğer hasarı oluşturulmuş ve Picoside II verilerek bu maddenin mitokondriyal koruyucu etkileri incelenmiştir. Farelerden elde edilen serumda yapılan ölçümlerde parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta SOD aktivitesinde azalma izlenmiş, daha sonra giderek artan dozlarda Picoside II verilerek bu düşük SOD aktivitesinde artan dozla doğru orantılı şekilde artış saptanmıştır.¹⁹⁶ Xin ve arkadaşlarınca yapılan diğer bir çalışmada Cu, Zn-süperoksid dismutaz yetersizliği olan farelerde, parasetamol toksisitesine karşı olan dirençleri araştırılmıştır. Farelerden elde edilen kan rneklelerinde yapılan çalışmada serum SOD aktivitesinin parasetamol ile toksisite oluşturulan farelerde azaldığı belirlenmiştir.¹⁹⁷ Bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol grubunda SOD aktivitesinde diğer tüm gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı.

Karakuş ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada agomelatin kullanıldıklarında SOD aktivitesinde düzelme görüldüğü ve lipit peroksidasyonunun ise azaldığı kaydedilmiştir.¹⁹² çalışmamızda toksisite oluşturulan grupta SOD enzim aktivitesindeki azalmanın, uygulanan agomelatin ile anlamlı derecede düzelme

eğilimine girdiğini gösterdik. Bu sonuç da agomelatinin parasetamol toksisitesinde antioksidan enzim sistemi üzerinden olumlu etkisinin olduğunu desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Agomelatinin parasetamolle oluşturulan akut böbrek toksisitesi üzerine etkilerinin incelediğimiz bu çalışmanın sonuçları umut vericidir.

Parasetamol aşırı doz alımında mevcut antidotal tedavide NAC kullanılmaktadır. Bu yüzden üzerinde çalıştığımız agomelatinin etkilerini, NAC tedavisi ile karşılaştırdık. Deneysel çalışmalar sonucunda;

Böbrek hasarının önemli göstergesi olan serum Üre ve Kreatin seviyelerinde agomelatin grubunda NAC grubuna benzer düzelme göstermiştir. Doku hasarının primer öncüsü olan MDA seviyeleri üzerine agomelatinin etkileri NAC'a göre daha iyi olarak gözlenmiştir. Antioksidan sistem (SOD ve GSH) parametreler üzerinde ise agomelatin ve NAC'ın etkileri birbirine yakın seviyede görülmüştür.

Tüm bu sonuçlarda; melatonin reseptörlerinin parasetamole bağlı oluşan böbrek hasarında rolü olabileceği; bir melatonin reseptör analogu olan agomelatin uygulanarak gösterilmiştir. Parasetamol uygulanmasına bağlı olarak artmış olan böbrek MDA, serum üre ve kreatin seviyeleri agomelatin uygulaması ile azalmış, böbrek SOD aktivitesi ve GSH seviyeleri anlamlı bir şekilde düzelme eğilimine girmişlerdir.

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen verilerin, ileri araştırmalarla desteklenmesi durumunda, agomelatinin parasetamol zehirlenmelerinde kullanılabilecek yeni bir antioksidan ajan olabileceğini göstermesi açısından bilime katkı sağladığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Lewis RK, Paloucek FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical Pharmacology*, 1991, 10:765-74.
2. Spooner JB, Harvey JG. The history and usage of paracetamol. *The Journal of International Medical Research*, 1976, 4:1-6.
3. T.C. Sağlık Bakanlığı Birinci Basamağa Yonelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri, 1.Baskı, Ekim 2007:1-75
4. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *British Medical Journal*, 1966, 2:497-499.
5. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31:55-138.
6. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular Pharmacology*, 1980, 18:536-542.
7. Oliver L. Acetaminophen. In: Judith E, Tintinalli JE, Gabor D, Kelen J, Stapczynski S (eds). *Emergency Medicine : A Comprehensive Study Guide*. 6thed. McGraw-Hill, 2004:1088-1094.
8. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2006, 63:1821-1827.
9. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*, 2007, 7:355-359.
10. Matsuura T, Yukimura T, Kim S, Miura K, Iwao H. Selective blockade of endothelin receptor subtypes on systemic and renal vascular responses to endothelin-1

and IRL1620, a selective endothelin ETB-receptor agonist, in anesthetized rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1996, 71:213-222.

11. Hocaoglu N, Kalkan S, Akgun A, Capar S, Tuncok Y. A retrospective evaluation of analgesic exposures from Izmir, Turkey. *Human and Experimental Toxicology*, 2007, 26:629-636.

12. Riordan M, Rylance G, Berry K. Poisoning in children 1: general management. *Archives of Disease in Childhood*, 2002, 87:392-396.

13. Timbrell J. *Introduction to toxicology*. 3rd ed. New York, Informa Healthcare, 2009.

14. Bicer S, Sezer S, Cetindag F, Kesikminare M, Tombulca N, Aydoğan G, Aldemir H. Acil Çocuk Kliniği 2005 Yılı Akut Zehirlenme Olguların Değerlendirilmesi. *Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (Marmara Medical Journal)*, 2007, 20:7-14.

15. Gunduz A, Kesen J, Topbaş M, Narci H, Yandı M. İntihar Amaçlı Zehirlenme Nedeniyle Acil Servise Başvuran Hastaların Analizi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bulteni*, 2004, 3:234-242.

16. Yılmaz A, Kukul GFM, Korkmaz İ, Karabulut S. Acil Serviste Akut Zehirlenmelerin Retrospektif Analizi. *C. U. Tıp Fakültesi Dergisi*, 2006, 28:21-26.

17. 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 (Phila)*, 2005, 43:105-109.

18. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Haber DA, Bronstein AC, Wruk KM. 2005 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' national poisoning and exposure database. *Clinical Toxicology (Phila)*, 2006, 44:803-932.

19. M. L, Rumley W. Medical Emergencies: In: Dunagan WC, Rinder ML (eds). *Manuel of Medical Therapeutics*, 26th ed. Little, Brown and Company, Boston, 1989: 483-514.
20. Burke A, Smyth EM, Fitzgerald GA. Analgesic-antipyretic agents: pharmacotherapy of gout. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker K (eds). *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. New York, McGraw-Hill, 2006: 671-716.
21. Morse, HN. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* , 1878, 11: 232-233.
22. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reveiw*, 2006, 12:250-275.
23. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94:29-38.
24. Verschueren K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. 3rd ed. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1996: 1444.
25. Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics*. 78th ed. Boca, Raton, CRC Press, 1997: 3-4.
26. Fairbrother JE. Acetaminophen. In:Florey K (ed). *Analytical Profiles of Drug Substances*, 2nd ed. New York and London, Academic Press, 1974: 1-109.
27. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.
28. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th ed. New York, McGraw Hill Companies, 2007: 591-592.
29. 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.

30. 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.

31. 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.

32. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009: 850.

33. Ouellet M, Percival MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001, 387:273-80.

34. 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.

35. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *New England Journal of Medicine*, 2001, 345:1809-1817.

36. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB Journal*, 2004, 18: 790-804.

37. Kayaalp O. Non Steroidal antiinflamatuvar ilaçlar: para-aminofenol türevleri; Parasetamol. İçinde: *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. 849-850.

38. Katzung, B.G. *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying*

Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout: In: Bertram G. Katzung SBM, Anthony J. Trevor (eds). *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th ed. Bask1. McGraw-Hill Medical, 2009.

39. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinical Liver Disease*, 2007, 11: 525-48, vi.

40. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187:211-217.

41. Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81:1327-1331.

42. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187:195-202.

43. Hinson JA, Reid AB, McCullough SS, James LP. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metabolism Reviews*, 2004, 36:805-822.

44. Barile AF. *Clinical Toxicology Principles and Mechanisms*, 5th ed. Boca Raton, Florida, CRC Press LLC, 2004.

45. Gillman G. Analgesic-Antipyretic Agents; Pharmacotherapy Of Gout. In: Anne Burke ES, and Garret A. FitzGerald (eds). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics* 11th ed. 2006: 671-716.

46. Goldfrank R. *Toxicologic Emergencies*, 4th ed. International Edition Press. East Norwalk, Appleton and Lange, 1990: 183-185: 251-257.

47. Burcham PC, Harman AW. Acetaminophen toxicity results in site-specific

- mitochondrial damage in isolated mouse hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266:5049-5054.
48. Scherlock S DJ. *Disease of the Liver and Biliary System*. 10th ed. Oxford, Balckwell Scientific Publications, 1997: 103-117.
49. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97:439-445.
50. Mutimer DJ, Ayres RC, Neuberger JM, Davies MH, Holguin J, Buckels JA, Mayer AD, McMaster P, Elias E. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. *Gut*, 1994, 35:809-814.
51. Schiodt FV, Atillasoy E, Shakil AO, Schiff ER, Caldwell C, Kowdley KV, Stribling R, Crippin JS, Flamm S, Somberg KA, Rosen H, McCashland TM, Hay JE, Lee WM. Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States. *Liver Transplantation Surgery*, 1999, 5:29-34.
52. Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41:1179-1197.
53. Fontana RJ. Acute liver failure including acetaminophen overdose. *Medical Clinics of North America*, 2008, 92:761-794, viii.
54. Korman JD, Volenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Jr., Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology*, 2008, 48:1167-1174.
55. Castro MA, Fassett MJ, Reynolds TB, Shaw KJ, Goodwin TM. Reversible peripartum liver failure: a new perspective on the diagnosis, treatment, and cause of acute fatty liver of pregnancy, based on 28 consecutive cases. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1999, 181:389-395.

56. Makin AJ, Williams R. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: predisposing factors and treatments. *Advances in Internal Medicine*, 1997, 42:453-483.
57. Ring-Larsen H, Palazzo U. Renal failure in fulminant hepatic failure and terminal cirrhosis: a comparison between incidence, types, and prognosis. *Gut*, 1981, 22:585-591.
58. Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 1980, 78:382-392.
59. Fontana RJ. Acute liver failure. In: Feldman M, Friedman LS (eds). *Sleisenger and Fortran's Gastrointestinal and Liver Disease: pathophysiology, diagnosis, and management.*, 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2006: 837-847.
60. Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American Journal of Kidney Diseases*, 1996, 28:S3-6.
61. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Human and Experimental Toxicology*, 1992, 11:265-270.
62. Hu JJ, Lee MJ, Vapiwala M, Reuhl K, Thomas PE, Yang CS. Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1993, 122:16-26.
63. Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology Letters*, 1997, 93:15-22.
64. Bjorck S, Svalander CT, Aurell M. Acute renal failure after analgesic drugs including paracetamol (acetaminophen). *Nephron*, 1988, 49:45-53.
65. Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British Medical Journal*, 1982, 284:21-22.

66. von Mach MA, Hermanns-Clausen M, Koch I, Hengstler JG, Lauterbach M, Kaes J, Weilemann LS. Experiences of a poison center network with renal insufficiency in acetaminophen overdose: an analysis of 17 cases. *Clinical Toxicology (Phila)*, 2005, 43:31-37.
67. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21:1045-1050.
68. Salgia AD, Kosnik SD. When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medical Journal*, 1999, 105:81-84.
69. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 2010, 77:19-27.
70. Chun LJ, Tong MJ, Busuttill RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2009, 43:342-349.
71. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *New England Journal of Medicine*, 2008, 359:285-292.
72. Jones AF, Harvey JM, Vale JA. Hypophosphataemia and phosphaturia in paracetamol poisoning. *Lancet*, 1989, 2:608-609.
73. Rumack BH, Matthew H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics*, 1975, 55:871-876.
74. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006: CD003328.
75. Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ipecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of Emergency Medicine*, 1990, 7:148-154.
76. Hung O, Nelson LS. Acetaminophen. In:Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski S

(eds). *Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide*, 4th ed. ABD, Mc Graw Hill 2000: 1125-1136.

77. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human and Experimental Toxicology*, 1995 Mar, 14(3):299-304.

78. Green R, Grierson R, Sitar DS, Tenenbein M. How long after drug ingestion is activated charcoal still effective? *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 2001, 39:601-605.

79. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006, 19:CD003328.

80. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2003, 24:154-157.

81. Christophersen AB, Levin D, Hoegberg LC, Angelo HR, Kampmann JP. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2002, 53:312-317.

82. Spiller HA, Krenzelok EP, Grande GA, Safir EF, Diamond JJ. A prospective evaluation of the effect of activated charcoal before oral N-acetylcysteine in acetaminophen overdose. *Annual of Emergency Medicine*, 1994, 23:519-523.

83. Spiller HA, Sawyer TS. Impact of activated charcoal after acute acetaminophen overdoses treated with N-acetylcysteine. *Journal of Emergency Medicine*, 2007, 33:141-144.

84. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2:432-434.

85. Prescott LF MH. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1:998.

86. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *American Journal of Medicine*, 1991, 91:131S-139S.
87. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1991, 13:79-82.
88. Bernard GR. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. *American Journal of Medicine*, 1991, 91:54S-59S.
89. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 1991, 91:31S-38S.
90. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM, Noonan D, Albini A. Multiple points of intervention in the prevention of cancer and other mutation-related diseases. *Mutation Research*, 2001, 480-481:9-22.
91. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Alfieri O, Pardini A, Marzollo P, Visioli O. Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. *American Journal of Medicine*, 1991, 91:95S-105S.
92. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 1998, 36:277-285.
93. Marzullo L. An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Current Opinion in Pediatrics*, 2005, 17:239-245.
94. Hendrickson RG. Acetaminophen In: Flomenbaum NE, Goldfrank LR, Hoffman RS (eds). *Toxicological Emergency*, 8th ed. New York, McGraw-Hill, 2006: 656-659.
95. Prescott LF. Treatment of severe acetaminophen poisoning with intravenous acetylcysteine. *Archives of Internal Medicine*, 1981, 141:386-389.

96. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JA, Stewart MJ, Adam RD, Proudfoot AT. Intravenous N-acetylcysteine: the treatment of choice for paracetamol poisoning. *British Medical Journal*, 1979, 2:1097-1100.
97. Utah Poison Control Center. Acetylcysteine For Acetaminophen Overdose. http://uuhsc.utah.edu/poison/healthpros/utox/Vol17_No1.pdf , 2005.
98. O'Grady JG. Paracetamol-induced acute liver failure: prevention and management. *Journal of Hepatology*, 1997, 26 Suppl 1:41-46.
99. Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1986, 31:217-222.
100. Stramentinoli G, Pezzoli C, Galli-Kienle M. Protective role of S-adenosyl-L-methionine against acetaminophen induced mortality and hepatotoxicity in mice. *Biochemical Pharmacology*, 1979, 28:3567-3571.
101. Bray GP, Tredger JM, Williams R. S-adenosylmethionine protects against acetaminophen hepatotoxicity in two mouse models. *Hepatology*, 1992, 15:297-301.
102. Carrasco R, Perez-Mateo M, Gutierrez A, Esteban A, Mayol MJ, Caturla J, Ortiz P. Effect of different doses of S-adenosyl-L-methionine on paracetamol hepatotoxicity in a mouse model. *Methods & Findings in Experimental & Clinical Pharmacology*, 2000, 22:737-740.
103. Slattery JT, McRorie TI, Reynolds R, Kalhorn TF, Kharasch ED, Eddy AC. Lack of effect of cimetidine on acetaminophen disposition in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1989, 46:591-597.
104. Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM. Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, 1983, 85:122-129.

105. Al-Mustafa ZH, Al-Ali AK, Qaw FS, Abdul-Cader Z. Cimetidine enhances the hepatoprotective action of N-acetylcysteine in mice treated with toxic doses of paracetamol. *Toxicology*, 1997, 121:223-228.
106. Bekerecioğlu M, Uğras S, Dilek ON, Tercan M, Ozyazgan I. Serbest Radikaller. *Sendrom*, 1998, 10:85-94.
107. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*, 26th ed. USA, McGraw-Hill Press, 2003: 88-622.
108. Elliott JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 1999, 53:46-48.
109. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *American Journal Surgery*, 1991, 161:488-503.
110. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201:875-880.
111. Akkus I. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1. Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 3-95.
112. Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, Jin HR, Joon Lee J, Nan JX. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2010, 17:475-479.
113. Davies KJ, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262:8220-8226.
114. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2005, 38:995-1014.

115. Nair V, Cooper CS, Vietti DE, Turner GA. The chemistry of lipid peroxidation metabolites: crosslinking reactions of malondialdehyde. *Lipids*, 1986, 21:6-10.
116. Marnett LJ. Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Scientific Publications*, 1999, 150:17-27.
117. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, 1999, 424:83-95.
118. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta*, 2007, 380:50-8.
119. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*, 1996, 313 (Pt 1):17-29.
120. Ozdemir R, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology*, 2006, 219:142-149.
121. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Citil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2007, 59:121-128.
122. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food&Chemical Toxicology*, 2006, 44:393-397.
123. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS)*, 2007, 115:81-103.
124. Xu H, Lin L, Yuan WJ. Antiarrhythmic effect of endothelin-A receptor antagonist

on acute ischemic arrhythmia in isolated rat heart. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2003, 24:37-44.

125. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181-182:219-22.

126. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal*, 2003, 17:1195-214.

127. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*, 2000, 5:467-471.

128. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268:416-420.

129. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006, 41:1338-1350.

130. Sandstrom J, Nilsson P, Karlsson K, Marklund SL. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269:19163-19166.

131. Marklund S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiologica Scandinavica Supplement*, 1980, 492:19-23.

132. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrome c reduction by a variety of electron carriers. *Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245:1374-1377.

133. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268:416-4120.

134. Tsai AC. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rats. *Journal of Nutrition*, 1975, 105:946-951.
135. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, 27:951-965.
136. Pickett CB, Lu AY. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function. *Annual Review of Biochemistry*, 1989, 58:743-764.
137. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81:4343-4347.
138. Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1 α and NF-kappa B redox sensitivity. Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275:21130-21139.
139. Haddad JJ, Harb HL. L-gamma-Glutamyl-L-cysteinyl-glycine (glutathione; GSH) and GSH-related enzymes in the regulation of pro- and anti-inflammatory cytokines: a signaling transcriptional scenario for redox(y) immunologic sensor(s)? *Molecular Immunology*, 2005, 42:987-1014.
140. Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*, 1988, 60:87-96.
141. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 1996, 96: 693-702.
142. Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacological Reports: PR*, 2009, 61:383-410.

143. Reiter RJ, Tan DX, Fuentes-Broto L. Melatonin: a multitasking molecule. *Progress in Brain Research*, 2010, 181:127-151.
144. Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, 2005, 27:101-110.
145. Uzbay Tİ. Agomelatin: Genel Bilgiler, Farmakolojisi ve Kullanım Güvenliği. *Klinik Psikiyatri*, 2012, 15:9-19.
146. Kostoglou-Athanassiou I, Treacher DF, Wheeler MJ, Forsling ML. Melatonin administration and pituitary hormone secretion. *Clinical endocrinology*, 1998, 48:31-37.
147. Herxheimer A, Petrie KJ. Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2002, 2:CD001520.
148. Giannoulia-Karantana A, Vlachou A, Polychronopoulou S, Papassotiriou I, Chrousos GP. Melatonin and immunomodulation: connections and potential clinical applications. *Neuroimmunomodulation*, 2006, 13:133-144.
149. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *Journal of Pineal Research*, 2007, 42:28-42.
150. Acuna Castroviejo D, Lopez LC, Escames G, Lopez A, Garcia JA, Reiter RJ. Melatonin-mitochondria interplay in health and disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2011, 11:221-240.
151. Reiter RJ, Coto-Montes A, Boga JA, Fuentes-Broto L, Rosales-Corral S, Tan DX. Melatonin: new applications in clinical and veterinary medicine, plant physiology and industry. *Neuro Endocrinology Letters*, 2011, 32:575-587.
152. Galano A, Tan D, Reiter R. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*, 2011, 51:1-16.
153. Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Manchester LC. The disaster in Japan: utility of

melatonin in providing protection against ionizing radiation. *Journal of Pineal Research*, 2011, 50:357-358.

154. Cardinali DP, Pagano ES, Scacchi Bernasconi PA, Reynoso R, Scacchi P. Disrupted chronobiology of sleep and cytoprotection in obesity: possible therapeutic value of melatonin. *Neuro Endocrinology Letters*, 32:588-606.

155. Hardeland R, Poeggeler B, Srinivasan V, Trakht I, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP. Melatonergic drugs in clinical practice. *Arzneimittelforschung*, 2008, 58:1-10.

156. Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Cardinali DP. Jet lag: therapeutic use of melatonin and possible application of melatonin analogs. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 2008, 6:17-28.

157. Tinant B, Declercq JP, Poupaert JH, Yous S, Lesieur D. N-[2-(7-Methoxy-1-naphthyl)ethyl]acetamide, a potent melatonin analog. *Acta Crystallographica*, 1994, C50:907-910.

158. Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, Dekeyne A, Newman-Tancredi A, Pasteau V, Rivet JM, Cussac D. The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003, 306:954-964.

159. Paizanis E, Renoir T, Lelievre V, Saurini F, Melfort M, Gabriel C, Barden N, Mocaer E, Hamon M, Lanfumey L. Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 13:759-774.

160. Hickie IB, Rogers NL. Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression. *Lancet*, 378:621-631.

161. Norman TR, Cranston I, Irons JA, Gabriel C, Dekeyne A, Millan MJ, Mocaer E. Agomelatine suppresses locomotor hyperactivity in olfactory bulbectomised rats: a comparison to melatonin and to the 5-HT(2c) antagonist, S32006. *European Journal of Pharmacology*, 674:27-32.
162. Conboy L, Tanrikut C, Zoladz PR, Campbell AM, Park CR, Gabriel C, Mocaer E, Sandi C, Diamond DM. The antidepressant agomelatine blocks the adverse effects of stress on memory and enables spatial learning to rapidly increase neural cell adhesion molecule (NCAM) expression in the hippocampus of rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2009, 12:329-41.
163. Bertaina-Anglade V, Drieu-La-Rochelle C, Mocaer E, Seguin L. Memory facilitating effects of agomelatine in the novel object recognition memory paradigm in the rat. *Pharmacology Biochemistry&Behavior*, 98:511-517.
164. Bourin M, Mocaer E, Porsolt R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2004, 29:126-133.
165. Singh SP, Singh V, Kar N. Efficacy of agomelatine in major depressive disorder: meta-analysis and appraisal. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2011, 23:1-12.
166. Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Dekeyne A. Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT_{2C} receptor blockade. *Psychopharmacology (Berl)*, 2005, 177:448-458.
167. Sansone RA, Sansone LA. Agomelatine: a novel antidepressant. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 2011, 8:10-14.
168. Manikandan S. Agomelatine: A novel melatonergic antidepressant. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2010, 1:122-123.

169. Hickie IB, Rogers NL. Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression. *Lancet*, 2011, 378:621-631.
170. Howland RH. A benefit-risk assessment of agomelatine in the treatment of major depression. *Drug Safety*, 2011, 34:709-731.
171. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 89:217-219.
172. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil in male Wistar rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1998, 53:223-229.
173. Newson RB, Shaheen SO, Chinn S, Burney PG. Paracetamol sales and atopic disease in children and adults: an ecological analysis. *The European Respiratory Journal*, 2000, 16:817-823.
174. Yayla M. Bosentan'ın parasetamolle indüklenen akut karaciğer toksisitesi üzerine etkilerinin araştırılması. Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2012.
175. Bektur NE. Silymarinin asetaminofen (Parasetamol) kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine iyileştirici etkisi. Histoloji ve Embriyoloji. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2012.
176. Ferah I, Halici Z, Bayir Y, Demirci E, Unal B, Cadirci E. The role of infliximab on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2013, 35:373-381.
177. Dolder CR, Nelson M, Snider M. Agomelatine treatment of major depressive disorder. *The Annals of Pharmacotherapy*, 2008, 42:1822-1831.

178. Guerrero JM, Reiter RJ. Melatonin-immune system relationships. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2002, 2:167-179.
179. Cos S, Fernandez R, Guezmes A, Sanchez-Barcelo EJ. Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Research*, 1998, 58:4383-4390.
180. Reiter RJ. The ageing pineal gland and its physiological consequences. *BioEssays : News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 1992, 14:169-175.
181. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*, 1998, 56:359-384.
182. Dubocovich ML. Melatonin receptors: are there multiple subtypes? *Trends in Pharmacological Sciences*, 1995, 16:50-56.
183. Wiesenberg I, Missbach M, Kahlen JP, Schrader M, Carlberg C. Transcriptional activation of the nuclear receptor RZR alpha by the pineal gland hormone melatonin and identification of CGP 52608 as a synthetic ligand. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23:327-333.
184. Benitez-King G, Huerto-Delgadillo L, Anton-Tay F. Binding of 3H-melatonin to calmodulin. *Life sciences*, 1993, 53:201-207.
185. Reiter RJ. Antioxidant actions of melatonin. *Advances in Pharmacology*, 1997, 38:103-117.
186. Sener G, Sehirli AO, Ayanoglu-Dulger G. Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study. *Journal of Pineal Research*, 2003, 35:61-68.
187. Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Iida T, Cho S, Honma K, Kondo T. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1

in human vascular endothelial cells. *Free Radical Biology&Medicine*, 1999, 27:838-847.

188. Kanno S, Tomizawa A, Hiura T, Osanai Y, Kakuta M, Kitajima Y, Koiwai K, Ohtake T, Ujibe M, Ishikawa M. Melatonin protects on toxicity by acetaminophen but not on pharmacological effects in mice. *Biological&Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 29:472-476.

189. Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. *Food&Chemical Toxicology*, 2009, 47:1480-1484.

190. Lucas AM, Hennig G, Dominick PK, Whiteley HE, Roberts JC, Cohen SD. Ribose cysteine protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Toxicologic Pathology*, 2000, 28:697-704.

191. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:1209-1214.

192. Karakus E, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Bayir Y, Kiki I, Cadirci E, Topcu A, Aksak S. Agomelatine: An antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Human Experimental Toxicology*, 2013 Apr 12.

193. Zhao YL, Zhou GD, Yang HB, Wang JB, Shan LM, Li RS, Xiao XH. Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Food&Chemical Toxicology*, 2011, 49:1705-1710.

194. Manda K BAL. Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*, 2003, 23:1097-1103.

195. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S,

Niumsakul S, Srichairat S. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 28:1165-1171.

196. Gao H, Zhou YW. Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picoside II. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11:3671-3674.

197. Lei XG, Zhu JH, McClung JP, Aregullin M, Roncker CA. Mice deficient in Cu,Zn-superoxide dismutase are resistant to acetaminophen toxicity. *Biochemical Journal*, 2006, 399:455-461.

EKLER**EK-1: ÖZGEÇMİŞ**

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: NEVİN TUĞÇE KARTAL
Doğum Tarihi	: 14.10.1987
Doğum Yeri	: ERZURUM
Medeni Hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi Eczane Birimi Ümraniye/İSTANBUL
Telefon	: 0 505 3442844
E-posta	: nevintugce@yahoo.com.tr
EĞİTİM	
Lise	: ERZURUM ANADOLU LİSESİ (2005)
Lisans	: ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ (2010)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: Orta derecede (ÜDS:52.5; Ekim 2011)
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Kitap okumak, seyahat, doğa yürüyüşü	

EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURUL BELGESİ



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



Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-30
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2012
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

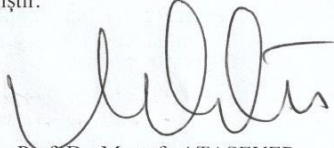
25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 23.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.22.02.02/142 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Elif ÇADIRCI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Biyokimya Anabilim Dalları Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Agomelatonin'in 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 19 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Sn. Yrd. Doç. Dr. E. Çadircıoğlu
27.02.2012


Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Başkan

Toplantı Tarihi : 24.02.2012

Toplantı Sayısı : 2

KARAR NO : 19- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Elif ÇADIRCI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Biyokimya Anabilim Dalları Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Agomelatonin'in Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 23.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.22.02.02/142 sayılı yazıları ile ekleri görüşüldü.

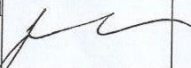
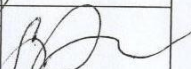
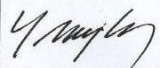
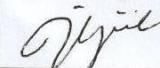
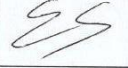
Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (Yönergenin 5/f maddesi gereğince, Yrd.Doç.Dr. Elif ÇADIRCI oylamaya katılmadı), karar verildi.

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

EK-3: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURULU ONAY BELGESİ

"2012. 2.1 "SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 08.05.2012

2/1-Enstitümüz Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nevin Tuğçe PALABIYIK' ın " Agomelatonin' in Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması" tez konusu görüşüldü; İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Doç. Dr. Ayşe OKANLI	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. Samih DIYARBAKIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr.Ahmet YILDIZ	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Doç. Dr.Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd.Doç.Dr.Engin SAYGIN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi ve Raportör	