

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

**Muhammed YAYLA**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı:  
DOÇ.DR. ZEKAİ HALICI**

**Yüksek Lisans Tezi-2012**

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

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

**Muhammed YAYLA**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. ZEKAİ HALICI**

**ERZURUM**

**2012**

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

BOSENTANIN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT  
KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Muhammed YAYLA

Tez Savunma Tarihi :14.08.2012

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fatma GÖÇER (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

Onay

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



Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM - 2012

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VII
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	IX
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	XI
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	XII
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	4
2.1. Zehirlenmeler .....	4
2.2. Karaciğer Histolojisi .....	4
2.3. Akut Karaciğer Toksisitesi .....	5
2.4. Parasetamol (Asetaminofen) .....	6
2.4.1 Parasetamol'ün Tarihçesi .....	6
2.4.2. Farmakokinetik ve Metabolizma .....	7
2.4.3. Farmakolojik Etkileri.....	8
2.4.4. Yan Etkileri .....	9
2.5. Parasetamol Toksisitesi .....	10
2.5.1. Klinik Bulgular .....	12
2.5.2. Teşhis.....	13
2.5.3. Tedavi .....	14
2.5.3.1. N-Asetil Sistein (NAC) .....	14
2.5.3.2. Aktif Kömür Uygulaması.....	16
2.5.3.3. Simetidin .....	16
2.5.3.4. Dializ .....	16
2.5.3.5. Karaciğer Transplantasyonu .....	17
2.5.4. Prognoz.....	17
2.6. Endotelinler .....	18
2.6.1. Endotelinin Karaciğerdeki Yeri .....	19
2.6.2. Endotelin Reseptörleri .....	20
2.6.3. Endotelin-1 Reseptör Antagonistleri .....	21
2.7. Bosentan .....	21
2.7.1 Bosentanın Farmakokinetiği .....	21

2.7.2. Bosentanın Endikasyonları ve Yan Etkileri .....	22
2.8.Serbest Radikaller .....	23
2.8.1. Serbest Radikallerin Etkileri .....	23
2.9. Oksidatif Stress .....	24
2.10. Antioksidanlar .....	24
2.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	25
2.10.2. Glutasyon(GSH) .....	26
2.11. Biyokimyasal Parametreler .....	26
2.11.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT).....	26
2.11.2. Alanin Aminotransferaz ( ALT, SGPT) .....	27
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>29</b>
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Deney Hayvanları .....	29
3.1.2. Kullanılan İlaçlar .....	29
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar .....	30
3.2. Metot.....	31
3.2.1. Deney Planı .....	31
3.2.2. Histolojik Çalışmalar .....	32
3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop .....	33
3.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar .....	34
3.2.3.1. Parafin Kesitlerde İmmünohistokimyasal Işık Mikroskop .....	34
3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar .....	35
3.2.4.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler .....	35
3.2.4.2. Serumda Yapılan Analizler .....	38
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	41
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>43</b>
4.1. Histopatolojik Bulgular .....	43
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular .....	46
4.3.1.Biyokimyasal Bulgular .....	48
4.3.1.1.ALT, AST ve TNF-alfa Analizleri .....	48
4.3.1.2.SOD aktivitesi, GSH, MDA Analizleri .....	52
<b>5.TARTIŞMA .....</b>	<b>56</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>67</b>

<b>KAYNAKLAR</b> .....	69
<b>EKLER</b> .....	91
<b>EK-1: ÖZGEÇMİŞ</b> .....	91
<b>EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU ONAY BELGESİ</b> .....	92
<b>EK-3: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURULU ONAY BELGESİ</b> .....	93

## TEŞEKKÜR

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

Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim çok değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Fatma GÖÇER hocama,

Ayrıca yüksek lisans eğitimim süresince, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim çok değerli Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Bünyami ÜNAL hocama,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki çalışmalarımda yol gösterici olan Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN, Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Elif ÇADIRCI, Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Yrd. Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK hocalarıma, bölüm personeliyle birlikte, sevgili asistan arkadaşlarıma; birlikte paylaştığımız sıcak çalışma ortamı ve dostlukları için de teşekkür ederken, bana her zaman destek ve yardımcı olan çok değerli amcam Mustafa TAŞAR'a, babam Veyis YAYLA'ya, annem Şerife YAYLA'ya ve kardeşlerime sabırları ve fedakârlıkları için şükranlarımı iletirim.

## ÖZET

### Bosentanın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksikitesi Üzerine

#### Etkilerinin Araştırılması

**Amaç.** Parasetamol, ilaç intoksikasyonlarında hepatik hasara neden olan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Ancak parasetamol'un karaciğer hasarını nasıl oluşturduğu henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda Endotelin-1 (ET-1)'in, karaciğer, böbrek, beyin ve kalp gibi organlardaki çeşitli hastalıkların patofizyolojisine katkı sağladığının gösterilmesi çalışmaları üzerine çekmiştir. Bizde parasetamole bağlı karaciğer hasarında ET-1'in rolü olabileceğini aynı zamanda non-selektif ET-1 reseptör antagonisti bosentan ile karaciğer hasarını önleyebileceğimizi düşündük.

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

**Bulgular.** Yapılan ölçümlerde serum TNF-alfa, ALT, AST seviyeleri parasetamol grubunda artarken, bosentan verilen gruplarda bu parametreler düzelme eğilimine girdi. Parasetamol grubunda, karaciğerde ölçülen SOD aktivitesi ve GSH miktarları azalma gösterirken, Bosentan bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzeltti. Aynı zamanda karaciğer dokusunda MDA miktarları parasetamol grubunda yükselirken, bosentan uygulanan gruplarda artmış olan MDA miktarları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. Histopatolojik bulgularda parasetamol karaciğerde hasara neden olurken, bosentan bu etkiyi önledi.



**Sonuç.** Tüm bu sonuçlar ET-1'in parasetamole bağlı karaciğer hasarında rol oynadığını ve ekspresyonunun artması bu hasarın Őiddetlendiėini göstermektedir. Aynı zamanda bosentan uygulaması, karaciğerde deneysel olarak indüklenen parasetamol toksisitesine karşı koruyucu etki göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bosentan, endotelin-1, karaciğer, parasetamol, toksisite.

## ABSTRACT

### **Investigation on Effects of Bosentan on Paracetamol Induced Acute Liver Toxicity**

**Aim.** Paracetamol is one of the first rank drugs which cause hepatic damage during drug intoxications. However the mechanism of paracetamol induced liver damage has not been understood yet. Recently, Endothelin (ET-1) has been shown to contribute in the pathophysiology of various diseases of liver, kidney, brain and hearth. So, we hypothesized that ET-1 can have a role in paracetamol induced liver damage and also bosentan, a nonselective ET-1 receptor antagonist, can prevent liver damage.

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

**Results.** While serum TNF-alpha, ALT and AST levels were increased in paracetamol group, these parameters were improved in bosentan groups. Paracetamol administration decreased SOD activity and GSH content of liver; however bosentan administration significantly improved these parameters. Also the increased levels of MDA in paracetamol group have been significantly decreased by bosentan administration. In histopathological analyses, paracetamol caused liver damage and bosentan prevented this effect.

**Conclusion.** All these results suggest that ET-1 has role in paracetamol induced liver damage and the increase in ET-1 expression aggravates liver damage. Also bosentan, exerted protective effects against experimentally induced paracetamol toxicity in liver.

**Key Words:** Bosentan, endothelin-1, liver, paracetamol, toxicity.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>AHH</b>	: Akut hepatik hasar
<b>AKY</b>	: Akut karaciğer yetersizliği
<b>ALT</b>	: Alanin amino transferaz
<b>APAP</b>	: N-asetil-Paraaminofenol
<b>AST</b>	: Aspartat amino transferaz
<b>ATADEM</b>	: Atatürk üniversitesi deney hayvanları araştırma uygulama merkezi
<b>BOS</b>	: Bosentan
<b>cGMP</b>	: siklik Guanozin mono fosfat
<b>CMC</b>	: Karboksi Metil Selüloz
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz enzimi
<b>CYP</b>	: Sitokrom P450 enzim ailesi
<b>DNA</b>	:Deoksiribo nükleik asit
<b>ECE</b>	: Endotelin Konverting enzim
<b>ET</b>	: Endotelin
<b>FDA</b>	: Food and drug administration
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>HCO<sub>3</sub></b>	: Bikarbonat
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>INR</b>	: Internasyonel normalize oranı
<b>IP3</b>	: İnozitol 3 fosfat
<b>KCH</b>	: King College Hospital
<b>MDA</b>	: Malon dialdehid

<b>MFO</b>	: mixed-functionoksidaz= karma fonksiyonlu oksidaz sistemi
<b>NAC</b>	: N-asetilsistein
<b>NADPH</b>	: indirgenmiş Nikotinamid adenin dinükleotit
<b>NAPQI</b>	: N-asetil-p-benzokinonimin
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NSAİİ</b>	: Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
<b>OTC</b>	: Over the counter (Tezgah üstü)
<b>PAH</b>	: Pulmoner arterial hipertansiyon
<b>PBS</b>	: Phosphate buffer saline
<b>PG</b>	: Prostaglandin
<b>PT</b>	:Protrombin zamanı
<b>RNA</b>	:Ribo nükleik asit
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit
<b>TGF</b>	: Transforming growth faktör
<b>TNF</b>	: Tümör nekrotizan faktör

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Parasetamolün Moleküler Yapısı.....	6
Şekil 2.2.	Bosentan ve iki metabolitinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 4.1.	Işık Mikroskopik Kesitler.....	45
Şekil 4.2.	İmmunohistokimyasal Işık Mikroskopik Kesitler.....	46
Şekil 4.3.	ALT miktarının grafikte gösterilmesi.....	50
Şekil 4.4.	AST miktarının grafikte gösterilmesi.....	51
Şekil 4.5.	TNF-alfa miktarının grafikte gösterilmesi.....	51
Şekil 4.6.	SOD miktarının grafikte gösterilmesi.....	54
Şekil 4.7.	GSH miktarının grafikte gösterilmesi.....	54
Şekil 4.8.	MDA miktarının grafikte gösterilmesi.....	55

## TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 3.1.</b>	Deney Planı.....	32
<b>Tablo 4.1.</b>	ALT, AST ve TNF-alfa Miktarları.....	49
<b>Tablo 4.2.</b>	SOD aktivitesi, GSH ve MDA Seviyeleri.....	53

# 1. GİRİŞ

İlaç intoksikasyonlarında en sık rastlanan problemler arasında akut karaciğer yetmezliği (AKY) gelmektedir.<sup>1</sup> Akut karaciğer yetersizliği; önceden herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden, tam veya tama yakın bir şekilde kaybıyla kendini gösteren, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek olan bir klinik sendromdur.<sup>1</sup> Akut karaciğer yetersizliğinin etiyolojisi coğrafik bölgelere göre büyük değişiklikler göstermektedir. Nitekim İngiltere’de akut karaciğer yetersizliğinin %70’inden, ABD’de ise %20’sinden parasetamol toksisitesi sorumludur.<sup>2,3</sup>

Parasetamol 1893 yılından beri bilinen, son 50 yıldır sıklıkla kullanılan antipiretik ve analjezik ilaç olup antiinflamatuvar etkisi yok denecek kadar az olan bir ilaçtır. Parasetamol kullanımı o kadar yaygın bir hale gelmiştir ki artık marketlerin raflarında bile görülmesi şaşırtıcı değildir. Bu kadar sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması toksisite riskini de doğal olarak artırmaktadır. Tedavi dozlarının üzerinde kullanılması (çocuklarda tek seferde 150 mg/kg, erişkinlerde ise 7.5 g’ın üzerinde alınması<sup>4</sup> veya 24 saat içinde çocuklarda 250 mg/kg, yetişkinlerde ise 12 g’ın üzerinde alınması)<sup>5, 6</sup> parasetamol toksisitesine neden olmaktadır. Parasetamol toksisitesi asemptomatik olabileceği gibi ilaçla indüklenen hepatotoksisiteye veya daha ağır ve fatal seyreden akut hepatik hasara (AHH) neden olduğu 1960’ların başında gösterilmiştir.<sup>7</sup>

Terapötik dozlarda alınan parasetamol’ün yalnız küçük bir bölümü sitokrom p450 enzimi (CYP) ile oldukça reaktif bir ürün olan N-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşür. Bu metabolit oldukça reaktif elektrofilik bir molekül olup diğer intrasellüler proteinlere kovalent bağlanarak zarar verir. NAPQI fizyolojik koşullarda glutasyon ile reaksiyona girerek zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır.<sup>8, 9</sup> Ancak



yüksek dozlarda alınması ile bu reaktif ürün GSH depolarını bitirerek karaciğer hasarı oluşturur. Parasetamol'ün hepatotoksisitedeki asıl mekanizmasının bu yolla olduğu düşünülmektedir.<sup>8</sup>

Parasetamol toksisitesinin tedavisinde kullanılan yöntemler arasında; nazogastrik tüp ya da oral yolla uygulanan aktif kömür, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda N-Asetilsistein (NAC) kullanımı ve destekleyici tedavi bulunmaktadır.<sup>10</sup> NAC, sisteinin öncü bir bileşigidir ve tedavi için klinikte en yaygın kullanılan ajandır. İn vitro ve in vivo çalışmalar NAC'ın bir glutatyon prekürsörü olarak rol oynadığını göstermiştir. NAC hastalara intravenöz ya da oral yolla verilebilir.<sup>11, 12</sup> Ancak tam bir tedavi sağlanamamaktadır.

Yukarıda bahsettiğimiz aşırı parasetamol alımının oluşturduğu toksik etkiye karşı geliştirilen tedavi basamaklarının bulunmasına rağmen parasetamol'ün toksik etkiyi nasıl oluşturduğunun mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu yüzden sürekli olarak yeni çalışmalar sürdürülmekte ve bu yeni gelişmeler sayesinde parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarını önleyici ve tedavi edici yeni ilaçlar denenmektedir. Özellikle son zamanlarda yapılan çalışmaların bazılarında endotelinin, karaciğer hastalıklarının etyolojisine katkıda bulunduğu inanılmaktadır.

Endotelin (ET), damar düz kaslarındaki endotelde yapılan, parakrin ve otokrin etki gösteren, 21 amino asitli, bilinen en potent vasokonstriktör polipeptiddir.<sup>13</sup> Vücudumuzda Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2) ve Endotelin- 3 (ET-3) sentez edilmektedir.<sup>14</sup> Başlıca iki reseptörü vardır. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B).<sup>15</sup>

ET-1 vasküler endotel sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gibi<sup>16</sup> fibrozis ve inflamasyona da katkıda bulunur.<sup>17, 18</sup> Çeşitli hastalıkların fizyolojisinde rol alan endotelinlerin karaciğerdeki varlığı ilk kez Gandhi ve arkadaşları tarafından

gösterilmiştir.<sup>19</sup> Bu durum portal hipertansiyonda endotelinin görevi olabileceği düşüncesiyle hepatologlar arasında büyük ilgi uyandırmıştır.<sup>19</sup> Pulmoner hipertansiyon tedavisinde endotelin reseptör antagonistleri denenmiş ve her iki reseptörde bloke eden bosentan güçlü pulmoner vazodilatasyon yaptığı için kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca bazı karaciğer hastalıklarında (örn: siroz<sup>20</sup>) da endotelin ekspresyonunun arttığının gösterilmesi sonucu parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarını önleyici ve koruyucu etki elde etmek için ET-1 reseptör antagonistlerinin kullanılabilceğini düşündürmüştür.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; ratlarda parasetamolle oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde ET-1 reseptörlerinin rolünü incelemektir. Aynı zamanda ET-1 reseptör antagonisti bosentanın; parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarında oksidatif stres parametreleri ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Zehirlenmeler

Zehirlenmeler acil servislere yapılan başvuruların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.<sup>21</sup> İlaçlar, endüstri, tarım ve diğer iş kollarında çalışanların maruz kaldığı çeşitli kimyasal bileşikler insanda zehirlenmelere neden olabilirler.<sup>21</sup> Zehirlenme vakalarına bakılacak olursa en sık neden olarak intihar, keyif sağlama ve başka bir kişiye zarar verme amaçlı, şehven veya kaza sonucu ve kronik ilaç kullanımı sırasında şekillendiği bildirilmektedir.<sup>22</sup>

Zehirlenmenin başarı ile tedavi edilebilmesi için zehirlenmeye yolaçan etkenin belirlenip toksisitesinin tam olarak saptanması gerekir. Ancak zehirlenme yapan etkenlerin oldukça az bir kısmına karşı spesifik antidot bulunduğundan, zehirlenme olgularının birçoğunda genel tedavi yöntemlerinin uygulanması ve semptomatik tedavi yapılması zorunluluğu vardır.<sup>23</sup> Yapılan bir araştırmada<sup>22</sup> acil servislere başvuran hastaların %59.6'sının ilaç zehirlenmeleri olduğu, bunların ise %43 ağrı kesici ilaç kullanımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Bunların haricinde temizlik maddeleri (%26.2), hidrokarbonlar (%7.3), besinler (%7), insektisitler (%6.7), karbonmonoksit (%1.7) ve diğer maddeler (%5.9) de sık zehirlenme nedenleri arasında sayılabilir.

### 2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer ağırlığı yaklaşık 1.5 kg olan metabolizmanın önemli bir organıdır. Organa kanın %70-80'i portal venden, geri kalan bölümü hepatik arterden gelir. Karaciğerin temel yapı elemanı, karaciğer epitel hücreleri olan hepatositlerdir. Bu epitel hücreleri, birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplandırılmışlardır. Işık mikroskobu kesitlerinde, "karaciğer lobülü" olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilir. Parankimde hepatositlerin dışında kupffer hücreleride (sinüzoidal makrofajlar) bulunmaktadır.<sup>24</sup> Karaciğer parankimi yapısal olarak kanlanma ve metabolik aktiviteye

göre “karaciğer asinüsü” olarak adlandırılan alanlara ayrılır. Karaciğer asinüsündeki hepatositler buldukları yere göre 3 eliptik zonal bölgeye ayrılır.

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

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

Zon 3: Terminal hepatik ven (santral ven ) çevresindeki bölgeyi kapsar. <sup>25</sup>

### **2.3. Akut Karaciğer Toksisitesi**

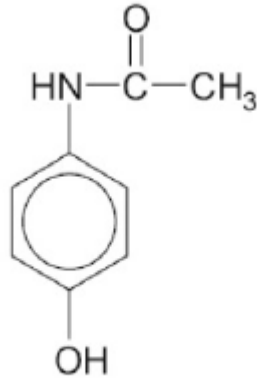
Herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden, tam veya tama yakın bir şekilde kaybıyla karakterize, hepatik ensefalopatinin eşlik ettiği akut karaciğer yetersizliği (AKY)'nin <sup>1</sup> mortalitesi karaciğer transplantasyonunun keşfinden önceki dönemde %80'nin üzerinde iken<sup>26</sup>, günümüzde posttransplant dönemde sürveyi'nin %65'in üzerinde olduğu bilinmektedir. <sup>27</sup> 1946 yılında Luke ve Mallory ABD ordusunda ortaya çıkan sarılık salgınlarında görülen fulminan seyirli olguları incelemiş ve hızla ölümle sonuçlanan akut tip ve daha yavaş seyirli ancak oldukça kötü prognoza sahip olan subakut tip olmak üzere hastalığın iki klinik tipini tarif etmişlerdir <sup>28</sup>. Fulminan karaciğer yetersizliği deyimini ilk kez 1970 yılında Trey ve Davidson tarafından kullanılmış ve öncesinde herhangi bir karaciğer hastalığı olmaksızın, ağır karaciğer hasarı sonucu, semptomların başlamasından itibaren 8 hafta içinde hepatik ensefalopatinin gelişmesiyle karakterize tablo fulminan karaciğer yetersizliği olarak tanımlanmıştır.<sup>29</sup> Bernuau ve arkadaşları sarılığın ortaya çıkışından itibaren hepatik ensefalopati gelişene dek geçen süre; 2 hafta ise fulminan karaciğer yetersizliği, 2-12 hafta arasında ise subfulminan karaciğer yetersizliği olarak tanımlamışlardır.<sup>30</sup> Gimson ise, 8-24 hafta arasında ensefalopati gelişen olguları geç başlangıçlı karaciğer yetersizliği şeklinde tanımlamıştır.<sup>31</sup> 1993'te King's Collage grubu konuyu 3 kategoride ele alarak yeni bir sınıflama önermiştir: hiperakut, akut ve subakut karaciğer yetersizliği. Süperinfeksiyonlar ve taşıyıcılık zemininde spontan veya

değişik nedenlere bağlı reaktivasyonlar (kortikosteroid kullanımı, antiviral kesilmesi veya direnci vb.) sonucu AKY gelişebilmektedir. Mortalite ise % 3.7-60 arasında değişmektedir.<sup>32</sup>

AKY'nin etiyojisi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir. İngiltere'de akut karaciğer yetersizliğinin % 70'inden, ABD'de de % 20'inden asetaminofen toksisitesi sorumludur<sup>2, 3</sup>.

#### 2.4. Parasetamol (Asetaminofen)

Para-aminofenol türevi olan parasetamol aynı zamanda asetaminofen ve N-asetil-P-aminofenol (APAP) olarak da bilinmektedir (şekil 2.1.) ve yaygın bir şekilde ağrı kesici ve ateş düşürücü bir ajan olarak kullanılmaktadır.



P-Hydroxyacetanilide (Parasetamol)

Şekil 2.1. Parasetamolün Moleküler Yapısı.<sup>33</sup>

##### 2.4.1 Parasetamol'ün Tarihçesi

Harmon Northrop Morse 1877 yılında p-nitrofenol'ü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü ilk sentezleyen kişidir, fakat parasetamol'ün klinik kullanıma girmesi 1887'de Von Mering tarafından gerçekleştirilmiştir.<sup>33</sup> Brodie ve Axelrod 1948 yılında yapmış oldukları çalışmalarda parasetamol'ün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmişlerdir.<sup>34</sup> İlk kez 1955 de 'Tylenol' adı altında ABD'de (Amerika Birleşik Devletleri), 1956 yılında ise 'Panadol' ve çocukların kullanımı için 'Panadolelixir' ticari isimleriyle İngiltere'de piyasaya sürülen parasetamol ağrı kesici ve

ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. Yan etki bakımından oldukça güvenli olması ise bu ilacın kullanılabilirliğini artırmaktadır.

Günümüzde parasetamol kullanımı o kadar artmıştır ki artık marketlerin raflarında bile görmek şaşırtıcı olmaktan çıkmıştır. İngiltere’de 7000 anne üzerinde yapılan bir çalışma %84’ünün yeni doğan çocuklarına ilk 6 ayda parasetamol verdiğini göstermiştir.<sup>35</sup> ABD’de 100 milyon insan senede en az bir kez parasetamol almakta, 50 milyon insan ise haftada birkez parasetamol içeren ürün kullanmaktadır. Bu ürünlerin %70’i tezgâhüstü yani OTC (over the counter) olarak satılmaktadır. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi bir ilacın yaygın olarak kullanılması aklımızda zehirlenmeler ve toksisite gibi bazı soru işaretleri bırakmaktadır.

#### **2.4.2. Farmakokinetik ve Metabolizma**

Parasetamol toksisitesini anlayabilmek için bu ilacın farmakokinetik ve metabolizasyonunda bilinmesi gerekmektedir. Parasetamol oral alındığı zaman gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen emilir ve biyoyararlanımı % 79-89 arasında değişmektedir.<sup>36</sup> Yarılanma ömrü 2 saat olan parasetamol, kan pik düzeyini 2. saatte elde eder.<sup>37</sup> Ancak açlık ve tokluğa bağlı olarak emilimi değişeceği için bu süre 4. saate kadar uzayabilmektedir. Parasetamol plazma proteinlerine zayıf bağlanırken (% 25) birçok vücut sıvısına yaygın şekilde dağılmaktadır.

Parasetamol analjezik ve antipiretik etkisini sırası ile 10 µg/ml ve 18 µg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonlarında gösterir. Yemek ile beraber veya yemekten hemen sonra alınırsa biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır ve bu yüzden aç karna alınması önerilir. Ayrıca opioidler ve antikolinergik ilaçlarla birlikte alındıkları zaman kan pik düzeyine ulaşma süresi gecikir. Oral olarak kullanılan dozlarda rektal yoldan da verilebilir. Parasetamol’ün erişkinlerde ve adölesanlarda kullanımı ağızdan 500-1000

mg, günlük en yüksek dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir. Kişinin böbrek yetmezliği varsa veya alkolik ise kullanım sırasında doz azaltılmalıdır.<sup>38</sup>

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman %90 oranında karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (%60 kadarı), sülfoniltransferaz enzimi yardımıyla sülfürik asitle (%35 kadarı) veya sistein (az miktarda) ile konjuge olarak idrardan atılır. %2'lik kısmı ise idrardan değişmeden atılmaktadır.<sup>39</sup> Küçük ama yine de önemli bir miktarı hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona girerek oldukça reaktif bir ürün olan NAPQI dönüşür.<sup>40, 41</sup> Bu metabolit diğer intrasellüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir.<sup>42, 43</sup> Fizyolojik koşullarda NAPQI, glutatyon ile reaksiyona girerek zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır.<sup>8, 9</sup> Bu molekülün karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamol yüksek dozlarda alınması gerekir ki bu durumda bu reaktif ürün GSH depolarını bitirerek karaciğer hasarı oluşturur.<sup>44</sup> Parasetamol hepatotoksitesitesindeki asıl mekanizmanın bu yoldan olduğu düşünülmektedir.<sup>8</sup>

### **2.4.3. Farmakolojik Etkileri**

Piyasada satılan ticari ilaçların prospektüsünden de kolayca erişebileceğimiz parasetamolün endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nefralji, nefrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlardan veya yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır. Endikasyonlarından da anlaşılacağı gibi parasetamol yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden etki mekanizmasının da iyi bilinmesi gerekmektedir. Etki mekanizmasını anlamak için çalışmalar devam etsede henüz tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan bazı çalışmalarda parasetamol'ün merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki ettiğine inanılmaktadır.<sup>45</sup>

Lim ve arkadaşları<sup>46</sup>, yaptıkları bir çalışmada, köpeğin dalağına enjekte ettikleri bradikininin ağrı yapıcı etkisini parasetamolün engellediğini görmüştür. Yapılan bu çalışmada parasetamol'ün ağrı kesici etkisinin santralde değil de periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğu gösterilmiştir.

Parasetamolün ateş düşürücü etkisi hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Milton ve Wendlant kedilerin beyin ventriküllerine endotoksin kaynaklı maddeleri enjekte ederek oluşturdukları ateşi parasetamolün engellediğini fakat aynı yere enjekte edilen prostaglandin E1 (PGE1) kaynaklı ateşi etkilemediğini bildirmişler.<sup>47</sup> Daha sonra yapılan çalışmalarda parasetamol'ün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin (PG) benzeri maddeleri inhibe ederek ateşi düşürdüğü gösterilmiştir.<sup>48</sup>

Yapılan yeni çalışmalarda parasetamolün MSS'de tespit edilen COX-3 olarak adlandırılan yani bilinen COX (COX-1, COX-2 den farklı ) enzim varyantlarından farklı bir enzimi selektif olarak bloke ettiği düşünülmektedir.<sup>49</sup> Bu mekanizma üzerinde pek çok araştırmacı da hemfikir olmuştur.<sup>50, 51</sup>Bütün bunlara rağmen insanda bulunan COX enzim varyantlarından COX-3 ile ilgili literatürde kesin bir bilgi mevcut değildir.<sup>51, 52</sup>

Parasetamol inflamasyona sebep olan prostaglandin sentezini fazla etkilemediği için zayıf bir antiinflamatuvar olarak bile düşünülmemektedir.<sup>33, 53, 54</sup> Antitrombotik etkinliği zayıf olup kanama süresini değiştirmemektedir.<sup>53</sup>

#### **2.4.4. Yan Etkileri**

Parasetamol tedavi dozlarında kullanıldığında genellikle iyi tolere edilebilmektedir. Nadir de olsa alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi yan etkiler görülmektedir.<sup>55</sup> Bazen de karaciğer enzimlerinde ılımlı yükselmelere sebep olabilmektedir fakat bu durum geri dönüşümlüdür.



Daha yüksek dozlarda kullanıldığı zaman baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğuna yol açsa da parasetamol'ün toksik dozunda (en az 10-15 g) en ciddi yan etkisi ölümcül olabilen hepatik nekrozdur.<sup>56</sup> Bu durumda bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu etki normal kullanım sonrasında da çıkabilmektedir. Aspirinin yapmış olduğu hepatik hasara göre daha tehlikeli olup tedavisi daha da zordur.<sup>56</sup>

Parasetamolün kardiyovasküler, solunum sistem ve asit-baz dengesi üzerine belirgin etkileri yoktur. Gebelerde güvenlidir ve NSAİİ'lerin yaptığı fetal ductus arteriosus'un kapanmasını etkilemezler. Bunun yanında alkol kullanımı toksik etkiyi ciddi biçimde artırmaktadır. Oral antikoagülanlar ile birlikte kullanıldığı zaman belirgin etkileşme göstermemektedir.<sup>57</sup>

## **2.5. Parasetamol Toksisitesi**

1960'lardan bugüne kadar aspirinden daha az toksik olan parasetamol, analjezik ve antipiretik ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Marketlerde bile kolayca bulabileceğimiz bu ilacın intihara meyilli kişiler tarafından akla gelen ilaçlar arasında ilk sırada olmasından dolayı parasetamol aşırı alımına bağlı hepatotoksisite dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Amerikan Zehir Kontrol Veri Merkezi verilerine göre ölüm oranları 1997'den 2001'e kadar yaklaşık iki kat artmıştır ve her yıl parasetamol aşırı alımına bağlı olarak yaklaşık 458 ölüm meydana gelmiştir.<sup>58</sup> Bu yüzden bilim adamları parasetamole bağlı toksisiteyi önlemek için, toksisitenin oluşma mekanizması ile ilgili sürekli yeni çalışmalar denemektedirler. Ancak mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir.

İlaca bağlı hepatotoksisite intrinsik ve idiyosenkronotik olarak 2'ye ayrılmaktadır. İntrinsik hepatotoksisite; ilacın direkt kendisi veya metabolitinin doza bağlı olarak oluşturduğu hepatotoksisiteden bahsetmektedir. İşte parasetamole bağlı

oluşan hepatotoksisite de intrinsik nedenlere bağlı gelişen hepatotoksisite nedenleri arasında yer almaktadır.

Normal dozlarda alınan parasetamol'ün metabolize edilmesi sonucu oluşan NAPQI'yı vücut detoksifiye edebilir. Ancak yüksek dozlarda alındığı zaman NAPQI'nın detoksifiye edilme kapasitesi düşmektedir. Bu yüzden arta kalan NAPQI karaciğer hücresi proteinlerine kovalent olarak bağlanarak hepatik nekroza bağlı hasara yol açar.<sup>59</sup> Aynı zaman NAPQI'yı detoksifiye eden glutatyon'un %70 'in altına düşmesi de karaciğer hasarına yol açar ve hepatik nekroz oluşur.<sup>60, 61</sup>

Histolojik incelemelerin sonucunda hepatik nekrozun oluşma sıklığının daha çok P450-MFO (mixed-function oksidaz= karma fonksiyonlu oksidaz sistemi) aktivitesinin görüldüğü sentrolobüler bölgede olduğu görülmüştür.<sup>62</sup>

Pek çok laboratuvar çalışmalarında parasetamol toksisitesinde makrofaj hücrelerinin aktivasyonu çalışılmıştır.<sup>63</sup> Bilindiği gibi kupffer hücreleri karaciğerin fagositik hücreleridir. Kupffer hücreleri aktive oldukları zaman, hidrolitik enzimleri, eikozanoidleri, nitrik oksid ve süperoksidler de dahil pek çok sinyal molekülünü serbest bırakır.<sup>64</sup> Aynı zamanda kupffer hücreleri pek çok inflamatuvar sitokinleri (IL-1, IL-6 ve TNF-alfa dahil) serbest bırakırlar<sup>63</sup> ve özellikle çeşitli sitokinler parasetamol toksisitesinde salgılanırlar.<sup>63, 65-68</sup>

Laskin ve arkadaşları parasetamol hepatotoksisitesinde kupffer hücrelerinin rolünü göstermek için ön tedavi olarak ratlarda kupffer hücrelerinin fonksiyonlarını gadolinium chlorid ve dextran sülfat ile baskıladıklarında parasetamolün toksik etkilerinin çok az ortaya çıktığını ortaya koydular.<sup>63</sup> Yine bunu destekleyen pek çok çalışma yapılmıştır.<sup>63, 65, 69</sup>

Yapılan bazı çalışmalarda inflamatuvar sitokinlerin parasetamol toksisitesini artırdığı rapor edilmiştir. Blazka ve arkadaşları parasetamol toksisitesinde TNF-alfa ve

IL1-alfa'nın salgılanmasının arttığını göstermiştir. <sup>63, 65, 69</sup> Buna ek olarak Blazka TNF-alfa ve IL1-alfa'nın her ikisinde selektif olarak kısmi immünonötralizasyonun periyodik olarak toksisiteyi azalttığını göstermiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda NAPQI'nın mitokondriye kovalent olarak bağlanması ile mitokondrial solunumun inhibisyonunu gerçekleştirebileceği gösterilmiştir. <sup>70-73</sup> Bu fonksiyonel bozukluğun, hasar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>74</sup> Aynı zamanda NAPQI'nın hem NADH hem de süksinat dehidrogenaz fonksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>70</sup> KC'nin homeostazının bozulmasında da parasetamolün hepatotoksik etkisinde rol oynayabilir.<sup>75</sup> Kalsiyumu ( $Ca^{+2}$ ) dengesini düzenleyen proteinlerin bozulması sonucu hücre içi  $Ca^{+2}$  düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bu yüzden hücre ölümüne neden olan katabolik enzimler artmaktadır. Reaktif oksijenler, nitrik oksid, lipid peroksidasyonu ve apopitozis karaciğer toksisitesinde rol oynar. <sup>74, 76</sup>

Parasetamole bağlı gelişen hepatotoksistede kronik kullanılan diğer ilaçlarında aditif etkilerinin olduğu yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilaçlar arasında antikolülsan ilaçlar<sup>77</sup>, antitüberküloz ilaçlar özellikle de izoniazid ilk sıralarda yer almaktadır. Ayrıca antiviral ilaçlar (zidovudin ve lansoprazol) da<sup>78</sup> toksistede aditif etkileşme yapabilmektedirler.

Uzun süre aç kalımı glutasyon depolarını boşaltarak ve CYP2E1 aktivitesini artırarak parasetamole bağlı gelişebilecek hepatotoksistenin şiddetlenmesine veya erkenden oluşabilmesine neden olabilmektedir.<sup>79</sup> Aynı şekilde kronik alkol alımı da CYP2E1 aktivitesini artırarak ve glutasyon depolarını tüketerek kişilerin parasetamol hepatotoksisitesine duyarlılığını artırabilmektedir.<sup>80</sup>

### **2.5.1. Klinik Bulgular**

Parasetamol genellikle baş, diş, sırt ağrısı, akciğer hastalıkları ve karın ağrılarında kullanılmaktadır. Toksikiteye bağlı olan bulantı, kusma ve ağrı gibi

abdominal şikayetleri, hastanın geçirmiş olduğu soğuk algınlığı ve baş ağrısı ile ilgili olabileceğini düşündürerek tanıda gecikmeye yol açmaktadır. Böyle bir durumda hasarı biyokimsal olarak tanılamaya çalışsak bile 24-36 saate kadar anormal bulgular görülmeyebilir. Bu yüzden parasetamolün aşırı doz alınması durumunda semptom ve bulgu beklenmeden antidotal tedaviye başvurulmalıdır.

### **2.5.2. Teşhis**

Parasetamol toksisitesinde ki semptom ve bulgular ilaç alımın süresine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle semptomları süreye bağlı olarak faz 1 (ilk 24 saat), faz 2 (24-72 saat) ve faz 3 (72-96 saat) olarak değerlendirmek daha doğru bir davranış olacaktır ve yanlış teşhis ve tedaviyi en aza indireceği düşünülmektedir. Faz 1'de karın ağrısı, diare, iştahsızlık, kusma ve letarji görülürken faz 2'de semptomlar kaybolmakta ve biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu biyokimyasal değişiklikler içinde ise en önemlileri transaminaz ve bilirubinlerin yükselmesi iken ayrıca uzamış protrombin zamanı da önemlidir. Faz 2'nin sonlarına doğru ise hepatomegali ve sağ üst kadranda yerleşmiş ağrı dikkati çeker. Faz 3'de ise kusma yeniden ortaya çıkar veya daha kötü hal alır, sarılık fizik muayenede rahatlıkla tespit edilir hale gelirken santral sinir sistemi bulguları ortaya çıkar ki bu bulgular faz 3'ün önemli bulguları olup bu noktadan sonra çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösteren önemli bir aşamadır. SSS bulguları içinde konfüzyon sommolans ve koma bulunmaktadır. Parasetamole bağlı ölüm genellikle bu safhada görülmektedir. Karaciğer enzim anomalileri bu safhada en üst seviyeye çıkmış olup oligüri ve akut tübüler nekroz da görülebilmektedir. Faz 4 ise karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin eski haline geldiği dönem olup tam düzelmeye 3 ay kadar sürebilmektedir. Akut karaciğer hasarı gelişmiş hastaların % 70'i faz 4'e girerek tamamen iyileşir.<sup>63, 81, 82</sup>

### 2.5.3. Tedavi

Parasetamolün aşırı dozda alınımından sonra yapılması gerekenlere bakarsak ilk işlemler standart zehirlenmelerde yapılacak işlemlerden bir farklılık göstermemektedir. Prensip olarak öncelikle parasetamolün emilimini azaltmak, kanda miktarını en kısa sürede optimum düzeye indirmek, toksik metabolitinin miktarını azaltmak ve/veya toksik metabolitini detoksifiye etmektir. Yukarıdaki tedavi yöntemlerinin hangisinden başlayacağımız özellikle parasetamol alınımından sonraki geçen zamana bağlı olarak değişiklik gösterecektir. Kısa zaman önce alınan parasetamol toksisitesinde emilim azaltımından başlamak en uygun yaklaşım olmakla beraber eğer alımdan sonra uzun zaman geçmişse toksik metabolitin atılım ve detoksifikasyonundan başlamak daha akılcı bir çözüm olacaktır. Gastrik lavaj uygulaması, ipeka şurubu ile kusturma ve aktif kömür uygulaması ilk birkaç saatte yapılması gereken ve absorpsiyonu önlemede çok önemli faydalar sağlayan bir yöntemler topluluğu olup hayat kurtarıcı olabilmektedir.<sup>83</sup>

<sup>84</sup> Simetidin kullanılması sitokrom p450 enzimini inhibe ederek parasetamolün bu enzim aracılığıyla toksik metaboliti olan NAPQI dönüşümünü azaltmakla beraber yapılan çalışmalarda simetidin ile birlikte NAC'ın kullanımının yararlı bir etki göstermediği tespit edilmiştir.<sup>85</sup> NAPQI'nin etkisiz hale getirilmesinde NAC, methionin kullanılmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda her 3 maddede hepatotoksisiteyi engellemesine rağmen methionin ve sistiaminde daha fazla santral sinir sistemi ve gastrointestinal yan etkiler görülmüştür. Bu nedenle NAC şimdilerde parasetamol toksisitesine bağlı gelişen akut karaciğer hasarında en iyi antidot olarak seçilmiştir.<sup>83</sup>

#### 2.5.3.1. N-Asetil Sistein (NAC)

Prescott ve Matthew ilk olarak 1974 yılında NAC'ın parasetamol toksisitesinde kullanılabileceğini göstermiş olup 1977 yılında 15 hastada etkinliğini ispatlamışlardır.<sup>86</sup>

<sup>87</sup> NAC eğer yeterince ve en kısa zamanda uygulanmışsa parasetamole bağlı

gelişebilecek karaciğer hasarını önleyebilmektedir.<sup>88</sup> NAC'ın karaciğer hasarı, böbrek hasarı ve ölümü önleyebilmesi için ilk 8-10 saat içinde verilmesi gerekmektedir.<sup>89, 90</sup> NAC 140 mg/kg %5 solüsyon içerisinde oral olarak verildikten sonra her 4 saatte bir 70 mg/kg oral olarak verilmelidir ve bu en az 17 kez tekrarlanmalıdır. Eğer hastalara oral olarak vermek imkânsızsa 150 mg/kg %5 dekstroz içinde 15 dakikada verildikten 4 saat sonra 50 mg/kg %5 dekstroz içinde NAC verilip 16. saate 100 mg/kg verilerek tedavi protokolü sonlandırılır.<sup>91</sup> Oral ve parantral veriliş yolu arasında karşılaştırmalı geniş bir çalışma yapılmamakla beraber oral uygulamanın daha fazla yan etkisi olduğu gösterilmiştir. Oral uygulama esnasında karın ağrısı, kusma, diare ve döküntüler görülebilmekle beraber parantral uygulamada ise nadirde olsa anaflaktik reaksiyonlar görülmüştür.<sup>83</sup> Anaflaktik reaksiyon ilk doz verilişinden sonraki 30 dk içinde daha sık oluşmaktadır. Anaflaktik reaksiyon insidansı %3 ile %6 arasında değişmektedir.<sup>92</sup> Oral ve parantral uygulama ile karşılaştırmasında ise etkinlik bakımından bir farklılık olmadığı fakat parantral uygulamada daha az hastanede kalım süresi olduğundan dolayı tercih edilebilir olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca eğer gelen kişinin geçmişinde anaflaktik reaksiyon hikâyesi varsa oral NAC tedavisi tercih edilmelidir. NAC tedavisinin başlamasında ve sonlandırılmasındaki en önemli ölçüt serum parasetamol miktarıdır. Aynı zamanda toksisitenin şiddetini gösteren arterial pH, PT (protrombin), serum kreatinin, hemoglobin ve serum amilaz seviyeleri de önemli olmaktadır.<sup>93</sup> Hastaneye başvuran hastaların kan parasetamol seviyeleri 4 saatte hepatotokisiteye neden olabilecek kan seviyesine yükselmemişse tedavi verilmeden taburcu edilebilmektedir. Kan parasetamol seviyesi (10-18 µg'ın altına) aşağıya düşmüşse tedavi sonlandırılabilir. Eğer hastalarda koagülopati gelişmişse veya kreatinin seviyesi yüksekse günlük kreatinin seviyesi takip edilmeli, normal seviyelere gelene kadar 150 mg/kg günlük doz NAC tedavisi devam ettirilmelidir. Son olarak gebelerde

oluşan parasetamol toksisitesinde NAC tedavisine değinecek olursak; gebelerde parasetamol toksisitesi nadir olmakla beraber görülebilmektedir. Gebelerde oluşan parasetamol toksisitesinde NAC kullanılmakta olup; kordon kanında tespit edilmiştir.<sup>94</sup> Yapılan bir çalışmada NAC tedavisi geciken hamilelerde ölü doğum oranının arttığı görülmüş olup, gebelerde de en çabuk şekilde NAC tedavisine başlanmalıdır.<sup>95</sup>

### **2.5.3.2. Aktif Kömür Uygulaması**

Oral aktif kömür uygulaması parasetamol zehirlenmesinin ilk 4 saatinde uygulanır ise etkin bir tedavi yöntemi olabilmektedir. Gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulaması arasında 20 hasta üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada; aktif kömür uygulamasının kan parasetamol düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığını göstermiş olup diğer yöntemlerden üstün bulunmuştur.<sup>84</sup> Oral aktif kömür uygulaması tek doz olarak 1 g/kg olarak verilir. Yapılan çalışmalarda bölünerek verilen dozlar ile tek doz uygulaması arasında bir farklılık bulunamamıştır.

### **2.5.3.3. Simetidin**

Simetidin CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olmaktadır. Parasetamolde aynı enzim üzerinden metabolize olduğu için ikisinin beraber alınması CYP2E1 enzimini kompetitif olarak inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI üretimini azaltacaktır. Fakat Slattery ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada parasetamol alımından 8 saat sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini; azaltmadığını göstermiş olup bu da bize simetidin uygulamasının erken saatlerde başlanmasının gerektiğini göstermektedir.<sup>85, 96</sup>

### **2.5.3.4. Dializ**

Parasetamol'ün ekstrakorporel eliminasyonu parasetamol toksisitesi tedavisinde tartışmalıdır ve varolan datalar karışıktır.<sup>97</sup> Hemodializ; şiddetli parasetamol toksisitesinde kullanılmış olup hemodializin hepatotoksisiteyi önlediğini veya azalttığını

gösteren güvenilir bir data elde edilememiştir.<sup>97</sup> Hemodiaziz parasetamol toksisitesinde yararlı olamamasının en önemli nedeni ise yüksek doz alınan parasetamolün karaciğere hemen uğrayıp hasara başlaması olabilir.<sup>98</sup>

#### **2.5.3.5. Karaciğer Transplantasyonu**

Karaciğer transplantasyonu parasetamol toksisitesine bağı olarak gelişmiş yaygın karaciğer hasarındaki altın standart tedavi yöntemidir.<sup>99</sup> Çok az parasetamol toksisitesi gelişmiş hastada karaciğer transplantasyonu gerekmemektedir. Transplantasyon sonrası geriye dönüşümü olmayan ömür boyu süren bir immünosüpresif tedavi gerekmektedir.<sup>100</sup> AHH gelişmiş hastalarda karaciğer transplantasyonu gerekip gerekmediğini belirleyen King College Hospital (KCH) kriterleri oldukça uygun olup bu kriterlere göre bu hastaların yol haritası çizilmektedir.<sup>101</sup> KCH kriterlerine göre karaciğer transplantasyonu gereken hastaların transplantasyonsuz mortalite oranı %90' lara yaklaşmaktadır.<sup>100</sup> KCH kriterlerine kısaca değinmemiz gerekirse pH'nın <7.3 olması, protrombin zamanının <100 sn olması, serum kreatinin seviyesinin >300 mikromol/l olması ve hastaların evre 3 veya evre 4 ensefalopatik olmasıyla değerlendirilir.<sup>102</sup> Bu kriterlerin spesifitesi çok iyi olmasına rağmen zayıf sensitivitesi bulunmaktadır.

#### **2.5.4. Prognoz**

Parasetamolün aşırı dozunu almış, hepatotoksisite gelişmiş veya gelişmemiş hastaların %90'ı tam anlamıyla şifaya ulaşır.<sup>39</sup> Hepatotoksisite gelişmiş hastaların %80'i ilk 12 saatte NAC uygulaması ile iyileşmiş olup eğer NAC verilmezse bu iyileşme %48'lerde kalmaktadır.<sup>5</sup> KCH kriterlerini tam karşılamayan hastaların %90-93'ü sağ kalmakta olup parasetamol harici gelişen AHH'ların oranından çok daha iyidir. Parasetamolle indüklenen karaciğer hasarında karaciğer transplantasyonsuz sağkalım oranı % 65-73 arasında değişmektedir.<sup>27</sup> Parasetamol alımından sonraki ilk 24 saatte



hastane yoğun bakımlarında tedaviye alınanların sağ kalım oranı sonraki zaman periyodunda gelenlerden oldukça yüksektir. Hepatik ensefalopatinin derecesi arttıkça sağkalım oranı azalmaktadır.<sup>5</sup> Serum kreatinin ve protrombin zamanı ile sağkalım arasında çok güçlü bir korelasyon bulunmaktadır.<sup>103</sup> PT'si 90 sn olan hastalarda sağkalım oranı % 80 iken PT'si 180 sn olan hastalardaki sağkalım oranı % 8'lere kadar gerilemektedir.<sup>103</sup> Benzer şekilde serum kreatinin seviyesi 100 mmol/L olan hastaların sağ kalım oranı % 65 iken 300 mmol/L olan hastalarda bu oran % 23 e kadar inmektedir.<sup>93</sup> Parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında karaciğer transplantasyon ihtiyacı diğer nedenlerle oluşan karaciğer hasarındaki karaciğer transplantasyon ihtiyacından oldukça düşüktür.<sup>104</sup>

## **2.6. Endotelinler**

Damar düz kaslarındaki endotelde yapılan, parakrin ve otokrin etki gösteren, 21 aminoasitli, bilinen en potent vasokonstriktör bir polipeptid olan endotelin ilk olarak 1988 yılında Yanagisaka ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır.<sup>13</sup> Vücudumuzda üç farklı endotelin sentez edilmektedir; Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2), Endotelin-3 (ET-3).<sup>14</sup>

Endotelin sentezi üç basamaklı proteolitik işlem sonucunda gerçekleşmektedir. 212 aminoasitten oluşan preproendotelin, peptidazlar ile proendotelin'e, proendotelin ise dibazik aminoasit konvertaz ile big-endotelin'e çevrilmektedir. Son basamakta big-endotelin, endotelin converting enzim (ECE) ile 21 aminoasitten oluşan matür ve aktif endotelin'e dönüşmektedir.<sup>105, 106</sup>

ECE membrana bağlı nöral endopeptidaz-24 ile benzer homolojiye sahiptir. Endopeptidaz-24 çeşitli dokularda bu peptidlerin düzeyini regüle etmektedir. ECE-1, çinko bağımlı fosforamidon'a sensitif bir matriks metalloproteinazdır. ECE, hücrelerde plazmelemma içinde olup ET üretimini azaltmak için iyi bir terapötik hedefdir. ET-1,

hücre içinde endoplazmik retikulum ve golgi veziküllerinde lokalize olup ekzositoz ile hücre dışına salınmaktadır. Doku bütünlüğüne bağlı olarak hücrelerin bazolateral veya apikal yüzünden salınmakta ve parakrin etki oluşturmaktadır.

TGF- $\beta$ , TNF-alfa, IL-1, interferon- $\gamma$ , trombin, anjiotensin II ve kalsiyum ET-1 sentez ve sekresyonunu arttırmaktadır.<sup>107, 108</sup> Atrial natriüretik peptit ve nitrik oksit donörleri ise ET-1 sekresyonunu azaltır.<sup>109</sup> Sekresyondaki azalmadan cGMP bağımlı yol sorumlu görülmektedir. Nitrik oksit aynı zamanda ET-1'in reseptöründen ayrılmasına neden olmaktadır.<sup>110</sup> Heparin, trombin üzerinden ET-1 sekresyon ve sentezini inhibe eder.<sup>111</sup> Fosforamidon da ECE'yi inhibe ederek ET-1 üretimini azaltır.

Endotelin hidrofilik olduğundan plazma membranını geçemez. Etkisini spesifik reseptörleri vasıtası ile gösterir. Başlıca iki reseptörü vardır. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B).<sup>15</sup> Güçlü vazokonstriktör (bilinen endojen vazokonstriktör maddelerin en güçlüsü) olan ET-1 mitojenik etkinliği ve damar düz kaslarının proliferasyon etkinliğini artırması ile de önemli etkinliğe sahiptir<sup>16</sup>. ET-1 kendine özgü membran reseptörlerini aktive ederek başlangıçtaki fosfoinozid hidrolizini artırır ve bunun sonucu oluşan inozitil trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçilgliserol aracılığı ile etkisini oluşturur. IP<sub>3</sub> endoplazmik retikulumdan Ca<sup>+2</sup> salınmasını artırır ve ET-1 daha sonra membran kanallarını açarak extrasellüler Ca<sup>+2</sup>'un hücreye girişine neden olur bunun sonucunda damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süreli vazokonstriksiyon olur.<sup>18, 112-114</sup> Ayrıca vasküler endotel sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gibi<sup>16</sup> fibrozis ve inflamasyona da katkıda bulunur.<sup>17, 18</sup>

### **2.6.1. Endotelinin Karaciğerdeki Yeri**

Endotelin endotelden başka beyin, böbrek ve bazı hücrelerde de sentez edilmektedir. Yapılan çalışmalarda endotelinin vasküler olmayan dokularda da çok çeşitli biyolojik aktivitelerinin bulunduğu gösterilmiştir.<sup>115</sup> Gandhi ve arkadaşları rat

karaciğerinde portal hipertansiyonun artmasına sebep olan ET-1'in varlığını ilk kez göstermiştir.<sup>19</sup> Bu durumda portal hipertansiyonda endotelinin görevi olabileceği açısından hepatologlar arasında büyük ilgi uyandırmıştır.<sup>19</sup> ET-1 lerin karaciğerde hepatosit hücrelerinde  $Ca^{++}$ 'un mobilizasyonunu ve glikojenolizisi indüklediği ve bu sayede oldukça önemli bir metabolik etkinliği olan karaciğerde oksijen tüketimini de artırdıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>116</sup>

ET-1 parankimal olmayan karaciğer hücreleri ile de önemli etkileşime girmektedir ki karaciğer stellat hücrelerinde de varlığı belirlenmiştir.<sup>117-122</sup> ET-1 bu stellat hücrelerde, hücreler arası  $Ca^{+2}$  miktarının artmasına sebep olur. Bu yüzden ET-1 intrahepatik kan akımını artırmaya yönelik o bölgelerde vazokonstriksiyon yapar. Pinzani ve arkadaşları sirozlu insanların karaciğerlerinde ET-1 ekspresyonuna yönelik yaptıkları çalışmada özellikle ET-1'in sentez edildikleri yerin aktive olan karaciğer stellat hücrelerinin ve sirozlu bölgelerin olduğunu göstermişlerdir.<sup>120, 123</sup>

### **2.6.2. Endotelin Reseptörleri**

ET-1 karaciğer üzerindeki yapmış olduğu bu etkilerini ET-A ve ET-B reseptörleri üzerinden yapmaktadır. Hem ET-A hem de ET-B reseptörleri, endotelinlerin fibrozis, vazokonstriksiyon, inflamasyon ve düz kas proliferasyonu cevaplarına aracılık etmektedir.<sup>17, 18, 113</sup>

ET reseptörleri, G protein reseptörleridir.<sup>124</sup> ET-1 tarafından ET-A reseptörlerinin uyarılması vazokonstriksiyona, ET-B reseptörlerinin uyarılması ise NO aracılığıyla vazodilatasyona neden olmaktadır.<sup>125</sup> ET-B reseptörleri aynı zamanda dolaşımdaki ET-1'in klirensine (klirens reseptör) neden olmaktadır.<sup>126</sup> ET-A reseptörleri ET-1 ve ET-2'ye eşit ve yüksek affinite gösterirken, ET-3'e zayıf affinite gösterirler. ET-B ise her üç endotelin izoformuna yüksek affinite gösterir.

### **2.6.3. Endotelin-1 Reseptör Antagonistleri**

ET-1 reseptör antagonistleri ET-A selektif, ET-B selektif veya non-selektif (ET-A ve ET-B) olarak üç grupta incelenebilir.<sup>127</sup>

Peptid yapıdaki selektif ET-A inhibitörleri siklik pentapeptid BQ123 ve modifiye lineer peptid FR139317 [(N-[(heksahidro-1-azepinil) carbonil]L-Lö (1-Me) D-Trp-3(2-piridil)-D-Ala] olup oldukça yüksek potens ile ET-A inhibisyonuna neden olurlar.<sup>128, 129</sup>

Klinik olarak ihtiyacın daha az olması nedeniyle ET-B reseptör antagonistleri üzerinde daha az çalışılmıştır. Peptid yapıda (BQ788) veya non-peptid yapıda (A192621) çeşitli selektif ET-B reseptör antagonistleri mevcut olup potensleri ve seçicilikleri ET-A reseptör antagonistleri kadar güçlü değildir.<sup>130</sup>

Bu nedenle yapılan çalışmalarda non-selektif inhibitörlerin her iki reseptörü eşit düzeyde inhibe etmediği akılda tutulmalıdır. Non-peptid yapıdaki bazı non-selektif inhibitörler; bosentan (RO470203, Tracleer; Actelion, San Francisco, CA), SB209670, enrasentan (SB217242) ve tezosentan (RO610612) olarak sıralanabilir.<sup>131-133</sup>

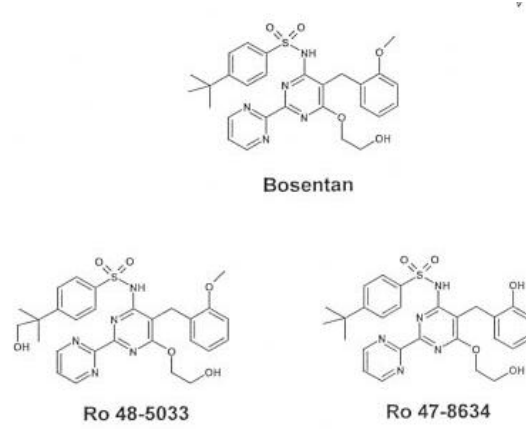
### **2.7. Bosentan**

Bosentan; Pulmoner Arterial Hipertansiyon (PAH) tedavisi için FDA tarafından onay almış, oral yolla uygulanan nonspesifik bir endotelin tip A ve tip B reseptör antagonistidir.<sup>134</sup> Bosentan'ın PAH hastalarında kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesini ve klinik prognozu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir.<sup>135, 136</sup>

#### **2.7.1 Bosentanın Farmakokinetiği**

Bosentanın tek dozda ve birden fazla kullanımında farmakokinetik etkileri tanımlanmıştır.<sup>137, 138</sup> Oral olarak 600 mg kadar kullanıldığı zaman biyoyararlanımı yaklaşık %50 dir.<sup>139</sup> Yaklaşık 7-8 L/s aralığında plazma kleransına sahiptir ve

intravenöz olarak 250-500 mg doz aralığında kullanıldığı zaman dağılım hacmi yaklaşık olarak 0.2 L/kg dır.<sup>139</sup> Bosentan albümine %90 oranında bağlanır.<sup>140</sup> İnsanlarda yarılanma ömrü 5 ile 8 saat arasındadır.<sup>139</sup> Hayvanlarda (rat ve köpek) metabolitlerin atılımı safra yolunu takip ederek hepatik metabolizma ile olmaktadır.<sup>141</sup> Bosentan CYP2C9 ve CYP3A9 enzimleri ile metabolize edilmesi sonucu 3 tane metabolit oluşur ve bunlardan sadece Ro 48-5033 endotelin reseptörlerine bağlanabilir (Şekil 2.2.). Çoklu doz kullanımında sistemik plazma kleransı 2 katına çıkmaktadır. Bunun sebebi bosentan tedavisinde sitokrom P450A4 (CYP3A4) yolağının indüklenmesidir. Bosentan CYP2C9 ve CYP3A4 enzimlerini indükler dolayısı ile bu enzimler ile metabolize olan siklosporin, simvastatin ve varfarin gibi ilaçların plazma konsantrasyonlarını etkiler.<sup>140</sup>



**Şekil 2.2.** Bosentan ve iki metabolitinin kimyasal yapısı. Ro48-5033: 4-(2-hidroksi-1,1-dimetiletil)- N-[6-(2-hidroksi-ethoksi)-5-(2-methoksi-fenoksi)-2-purin-6-yl -pirimidin-6-yl]-benzenesulfonamid. Ro 47-8634: 4-tertbutil-N-[6-(2-hidroksi-ethoksi)-5-(2-hidroksi-phenoksi)-2,2'-bipirimidin-4-yl]-benzenesulfonamid<sup>139</sup>.

### 2.7.2. Bosentanın Endikasyonları ve Yan Etkileri

Hipertansiyon dışında subaraknoid kanama, konjestif kalp yetmezliği ve akut siklosporin nefrotoksitesinde de denenmektedir. Oral yolla, günde iki kez alınan Bosentan'ın PAH olan hastalarda kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesini ve klinik kötüleşme süresini olumlu etkilediği gösterilmiştir. Ancak bazı

hastalarda asemptomatik, doza-bağımlı karaciğer aminotransferaz artışları gözlenmiştir.<sup>135, 142</sup> Diğer potansiyel yan etkileri ise anemi, ödem, teratojenite, erkek infertilitesi ve testiküleratrofidir.<sup>136, 143</sup>

## **2.8.Serbest Radikaller**

Serbest radikaller paylaşılmamış bir ya da daha fazla elektronu bulunan atom veya moleküllerdir. Başka bir maddeden elektron alma ihtiyaçları, serbest radikalleri oldukça reaktif bir hale getirir.<sup>144</sup> Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikal kaynağı oksijendir. Oksijen atomu, eşleşmemiş elektron çiftine sahiptir. Oksijen bu özelliğinden dolayı serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimiyle süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna neden olur.

### **2.8.1. Serbest Radikallerin Etkileri**

**Membran Lipitlerine Etkileri (Lipit Peroksidasyonu):** Biyolojik sistemlerde doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile oksidasyonu, lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına etkiyerek, hücre elemanlarına zarar verir.<sup>145</sup>

**Proteinlere Etkileri:** Doymamış halde bulunan ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asit içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Bu etkilenmenin sonucunda da sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Bu istenmeyen reaksiyonlar sonucu immünoglobulin G ve albümin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.<sup>146-148</sup>

**Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri:** Özellikle iyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksite büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonundan doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer problemlere bağlıdır.<sup>147, 149</sup>

**Karbohidratlara Etkileri:** Serbest radikaller, monosakkaritlerin oto oksidasyona uğramasına neden olarak hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehyitlerin oluşumuna yol açarlar. Bunlar özellikle diabetin patogeneğinde rol alırlar. Gözün vitröz hümründe bol miktarda bulunan hiyalüronik asitin oksidatif hasarı sonucu katarakt oluşması da radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisine bir örnektir. Okzalaldehyitler; DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etkiye sahiptirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında da önemli rol oynarlar.<sup>147, 148</sup>

## **2.9. Oksidatif Stress**

Canlı organizmalarda serbest radikallerin oluşumu ile bunların ortadan kaldırılması sürekli bir denge halindedir. Oksidatif denge dediğimiz bu durum sürdürülebildiği sürece serbest radikaller organizmada herhangi bir patolojik sonuç doğurmamaktadır. Ancak serbest radikallerin oluşum hızında artış ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma olduğunda 'oksidatif stres' olarak adlandırılan süreç gözlenmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır.<sup>150</sup>

## **2.10. Antioksidanlar**

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşın vücutta pek çok savunma sistemi geliştirilmiştir. Geliştirilen bu sistemlere antioksidan savunma sistemleri, bu sistemde kullanılan moleküllere ise antioksidanlar denilmektedir.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.<sup>151</sup>

#### **2.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

Bu enzim, süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD aktivitesi yaş ilerledikçe artar. SOD hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tip SOD bulunmaktadır. Bunlar; 1- sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-Zn SOD, 2- extraselüler etki gösteren EC SOD ve 3- mitokondride bulunan tetrametrik Mn ihtiva eden Mn-SOD'dur. SOD'un demir ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD'un tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilir.<sup>152</sup> Hemen hemen bütün canlılarda bulunan ve süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD'un, canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.<sup>153</sup> 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.<sup>154</sup>

### **2.10.2. Glutasyon(GSH)**

Glutasyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan glisin, sistein ve glutamat amino asitlerinden sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller.<sup>144</sup> Glutasyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutasyon (GSH) eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.

### **2.11. Biyokimyasal Parametreler**

#### **2.11.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT)**

Aspartat aminotransferaz veya serum glutamik oksalasetik transaminaz (AST) organa spesifik olmayan bir enzimdir. Hepatositlerde, kalp kasında, iskelet kaslarında, böbrek dokusunda ve plasentada bulunur. Bu dokularda nekroz geliştiğinde serum AST konsantrasyonunda artış görülür. Hepatositlerin içinde bulunan aspartat aminotransferazın % 60-80'i mitokondri içinde bulunurken diğer bölümü çözünür formda sitoplazma içinde bulunur. AST'nin mitokondriyel formunun salınımı için membran permeabilitesinde değişime neden olan harabiyetten daha şiddetli bir bozukluğun olması gereklidir. Bunun sonucu olarak AST aktivitesindeki artış, alanin aminotransferazın artışından daha geç gerçekleşir. AST'nin konsantrasyonundaki artış en yaygın olarak hepatoselüler hastalıklarda görülür.<sup>155, 156</sup> AST, L-aspartat ve alfa-

ketoglutarat'ın oksaloasetat ve glutamata transaminasyonunu katalize eder. B6 vitaminin aktif metaboliti olan Piridoksal 5'-fosfat, AST'ye sıkıca bağlanan bir kofaktördür ve enzimin aktivitesi için gereklidir. Bu vitaminin alımındaki yetersizlik enzim aktivitesinde azalmaya sebep olur.<sup>157</sup> AST'nin sitozolik (AST1) ve mitokondrial (AST2) iki izoenziminin çok sayıda formları vardır.<sup>63</sup> AST pek çok yumuşak dokuda bulunduğundan (iskelet kasları, kalp kası ve karaciğerde yüksek konsantrasyonda; eritrositler ve böbreklerde daha az) serum aktivitesinde yükselme yumuşak doku hasarının bir göstergesidir.<sup>155</sup> Ancak organa spesifik bir enzim değildir.<sup>158</sup> Tüm hayvanlarda yumuşak doku nekrozunun spesifik olmayan indikatörüdür.

### **2.11.2. Alanin Aminotransferaz ( ALT, SGPT)**

Alanin aminotransferaz veya serum glutamik pirüvik asit transaminaz (ALT) sitoplazmik bir enzimdir. Hepatoselüler membran permeabilitesinin artışında hücre dışına salınımı artar. Yüksek serum alanin aminotransferaz seviyesi hepatoselüler hasarın şiddetli olduğunu gösterir. ALT transferazlar grubunda yer alır ve albumin metabolizmasında aspartat aminotransferaz ile birlikte görev alır. Alanin aminotransferaz, hücre sitoplazmasında L-alanin ve  $\alpha$ -ketoglutarat'ın piruvat ve glutamata geri dönüşümlü transaminasyonunu katalize eder. Piridoksal 5'-fosfat, ALT ve pek çok aminotransferazlara sıkı şekilde bağlanan bir kofaktördür ve ASTde olduğu gibi B6 vitamininin alımındaki yetersizlik enzim aktivitesinde azalmaya sebep olur. Serum ve spinal sıvıda ALT aktivitesi olmasına rağmen, çok düşük renal spesifik aktivitesi nedeniyle idrarda ALT aktivitesi yoktur. AST ve ALT'nin serumdaki yükselmiş aktiviteleri genellikle klinik pratikte ve sağlık taramalarında karaciğer hastalıklarının belirteci olarak kullanılır. Bu bozukluklar yüksek alkol alımı ve hepatitis virüsü enfeksiyonu olmadan rastlanan alkolik olmayan karaciğer yağlanması tanımında önemlidir. Diyabetli hastalarda serum aminotransferazlarının yükselmesi

sıklıkla gözlenmekte ve bu çoğunlukla karaciğere yağ infiltrasyonundan kaynaklanmaktadır. Şişmanlıkta da serum aminotransferazlarının özellikle de ALT aktivitesinin yükseldiği bilinmektedir<sup>159</sup>. Diyabette serum glikoz konsantrasyonu; aspartat aminotransferaz aktivitesi ile birlikte serum alanin aminotransferaz düzeylerinde de önemli oranda yükselmektedir.<sup>160</sup>

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı, Patoloji Anabilim Dalı, İmmünohistokimya Laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 49 adet ve ağırlıkları 200-215 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 C<sup>0</sup>) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunu tarafından 26.10.2011 tarih ve 10 sayılı yazısı ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından 08.05.2012 tarih ve 2012.2.18 numaralı kararı ile etik kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan İlaçlar

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

**Bosentan:** Çalışmada, 2 ml % 0.9'luk NaCl çözeltisinde hazırlanan, 125 mg X3 tablet bosentan (Tracleer, 125 mg tablet) gavaj yardımıyla oral yoldan kullanıldı.

**N-Asetil Sistein (NAC):** Çalışmada, 2 ml % 0.9 luk NaCl çözeltisinde hazırlanan, 600 mg tek tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Münih-Almanya) gavaj yardımıyla oral yoldan kullanıldı.

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

### 3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

<b>Cihazlar</b>	<b>Modeli ve Firması</b>
Eliza Okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen, Germany
Hassas Terazî	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

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Deney Planı

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

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

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

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

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

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

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

**Grup VI:** 90 mg/kg Bosentan oral yoldan verildi.

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

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.<sup>161, 162</sup> Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem verildi. 2 g/kg dozunda oral

gavaj ile 2 ml uygulanan parasetamol 24 saat bekleddikten sonra karaciğer toksisitesi oluşturuldu.

**Tablo 3.1.** Deney Planı

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

Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra yüksek doz tiopental (50 mg/kg) ile ötanazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların karaciğerleri ve kan örnekleri alındı. Alınan karaciğerin bir kısmı biyokimyasal analiz için ayrıldı ve fosfat tamponuna konuldu. Karaciğerin geri kalan kısmı ise, histolojik çalışma için %4'luk nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Toplanan kanlar santrifüj edilerek serumları elde edildi ve serumlar -80°C dondurucuda muhafaza edildi.

### **3.2.2. Histolojik Çalışmalar**

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

### 3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop

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

1. Akarsuda yıkama (gün boyu)
2. %70'lik Alkolde (Merck)<sup>®</sup> 1 gece bekletme
3. %80'lik Alkolde 1 saat bekletme
4. %96'lık Alkolde 1 saat bekletme
5. %96'lık Alkolde 1 saat bekletme
6. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
7. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
8. Ksilende (Merck)<sup>®</sup> 10 dakika bekletme
9. Ksilende 10 dakika bekletme
10. Ksilende 10 dakika bekletme
11. Ksilin + boncuk parafin (Merck)<sup>®</sup> 60°C'lik etüvde 1 saat bekletme
12. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 1 saat bekletme
13. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletme.

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

1. Ksilolde (20 dak.) bekletme
2. Ksilolde (10 dak.) bekletme
3. İki ayrı % 96'lık Alkol serisinde (5 dak.) bekletme
4. %80'lik Alkol (10 dak.) bekletme



5. Çeşme suyunda yıkama
6. Hemotoksilen boyasında (1 dak.) bekletme
7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarma
8. Eozin solüsyonunda (1 dak.) bekletme
9. Suda (1 dak.) yıkama
10. %80'lik Alkolde (10 dak.) bekletme
11. İki ayrı % 96'lık Alkol serisinde (10 dak.) bekletme
12. Ksilol serilerinde (20 dak.) bekletme
13. Entellan ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

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

### **3.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar**

#### **3.2.3.1. Parafin Kesitlerde İmmünohistokimyasal Işık Mikroskop**

Konvansiyonel ışık mikroskobik inceleme için parafine gömülen dokulardan yine mikrotom (Leica RM2125RT) ile 5 µm'lik kesitler poli-lizinli cam lamalar üzerine alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak endotelin-1 boyama işlemi gerçekleştirildi.

1. 48°C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
2. 3 değişik ksilolde 5 er dakika bekletildi.
3. Sırasıyla, absolute, % 96 ve % 80'lik alkolde 5 er dakika bekletildi.
4. Distile suda 5 dakika yıkandı.
5. pH=6 sitrat buffer solüsyonu ile mikro dalga fırında 5\*3 (15 dakika) antijen retrieval işlemi yapıldı.
6. 20 dakika oda ısısında bekletildi.
7. 5 dakika PBS de yıkandı.

8. 15 dakika %3 lük hidrojen peroksidazda bekletildi.
9. 5 dakika PBS de yıkandı.
10. ET-1 solüsyonunda 60 dakika bekletildi.
11. 5 dakika PBS de yıkandı.
12. Converter-POD solüsyonunda 30 dakika yıkandı.
13. 5 dakika PBS de yıkandı.
14. DAB-Kromojen de 7 dakika bekletildi.
15. Distile suda iyice yıkandı.
16. Mayer's hematoksilende 10 saniye zıt boyama yapıldı.
17. Su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

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

### **3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar**

#### **3.2.4.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler**

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 süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), malondialdehit (MDA) seviyeleri ve glutatyon (GSH) seviyeleri sırasıyla rat'a spesifik dizayn edilmiş yüksek hassasiyetteki Cayman Chemical Superoxide Dismutase Assay Kit Item Number 706002, Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) STA-330 ve Cell Biolabs OxiSelect™ Total Glutathione (GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleriyle herbir rat karaciğeri ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm karaciğer süpernatantlarında bütün datalar her mg protein için ort±standart sapma olarak gösterildi.

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

### ***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 yapılışı:**

Doku homojenizasyonu;

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

Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Çalışma 96 kuyucuklu platelerde gerçekleştirildi.

1. Örnek Kuyularına 20 µl örnek ve Standart'lardan eklendi.
2. 200 µl seyreltilmiş radikal detektör tüm kuyulara eklendi ve 10 dk. çalkalayıcıya (karıştırıcıya) konuldu.
3. Reaksiyonu başlatmak için 20µl seyreltilmiş xantin oksidaz eklendi.
4. Birkaç saniye plate'in üstü kapalı şekilde çalkalayıcıda bekletildi.

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

### ***Total Glutasyon (GSSG/GSH) tayini***

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

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokular homejenize edildi.
3. Sonra 1 ml MPA çözeltisi (5g MPA kristalleri 100 ml deiyonize suda çözülür) eklenerek ve Ultra Turrax homojenizatörde 1 dakika buzda homojenize edildi.

### **Deneyin yapılışı;**

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

### ***Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini***

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

### **Deneyin Yapılışı:**

Doku homojenizasyonu;

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

Çalışma 96 kuyucuklu platelerde yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantları yeniden numaralandırılan başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Bunun yanında standartlarımız da ayrı tüplere 100 er µl olacak şekilde koyuldu.
2. Kristalize durumdaki SDS lysis solusyonunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100 er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dk. İnkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapılacak her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Tüplerin ağzı kapatılıp 95 °C de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.
6. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantı alındı.
7. 96 well plate'e numuneler yüklendi (her kuyuya 200 µl) ve 532 nm Abs de okutuldu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

#### **3.2.4.2. Serumda Yapılan Analizler**

**TNF-alfa ölçümü için serumun elde edilmesi:** EDTA'lı biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpm de 10 dk +4 °C 'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar -80

°C'de saklandı. Her örneğin TNF-alfa seviyeleri ikişer kere yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (Invitrogen-KRC3011-USA) ölçüldü.

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

### ***TNF-alfa Miktarı***

**Kullanılan reaktifler:** Rt TNF-alfa Standart (% 0.1 sodyum asid içerir), Standart diluent buffer (% 0.1 sodyum asid içerir), İncubation buffer, Rt TNF-a High ve low control, Rt TNF-alfa Biotin conjugate (Biotinlemiş anti- TNF-alfa), Streptavidin-HRP (3.3 mM Tymol), Streptavidin-HRP Diluent, Wash buffer, Stabilize chromogen, Tetrametil benzidin (TMB), Stop solution.

### **Deneyin yapılışı:**

1. Kör kuyusuna 100 µl Standart Diluent buffer eklendi.
2. Standartlar, numuneler ve kontrollerden kuyulara 100 µl eklendi. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
3. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
4. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 µl biotinlenmiş Rt TNF-a biotin conjugat eklendi.
5. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
6. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 µl Streptavidin HRP solution eklendi.
8. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
9. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.

10. Her kuyuya 100 µl Stabilize Chromogen eklendi ve sıvılarda ki renklenme mavi olmaya başladı.
11. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
12. Her kuyuya stop solusynu eklendi. Sıvılardaki renklenme sarı renge dönüştü.
13. 450 nm ölçüm yapıldı. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

### ***AST Ölçümü***

**Kullanılan reaktifler:** Standart, Detection reagent A, Detection reagent B, TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

### **Deneyin yapılışı:**

1. Kuyulara standart, kör ve numunelerden 100 µl eklendi. Plate'in üstü kapatıldıktan sonra 2 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
2. Kuyulardan tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulanmadı.
3. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
4. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
6. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl Substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dk. 37 °C de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm ölçüm alındı. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

### ***ALT Ölçümü***

**Kullanılan reaktifler:** Standart, Detection reagent A, Detection reagent B, TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

#### **Deneyin yapılışı:**

1. Standart, kör ve numunelerimizden her kuyuya 100 µl eklendi. 2 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
2. Tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulanmadı.
3. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
4. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
6. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl Substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dk. 37 °C de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm ölçüm alındı. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

#### **3.2.5. İstatistiksel Analiz**

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama(ort)±standart sapma(ss) olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar



arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testinde post-hoc testlerinden “Duncan” tekniği kullanılarak belirlendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik Bulgular

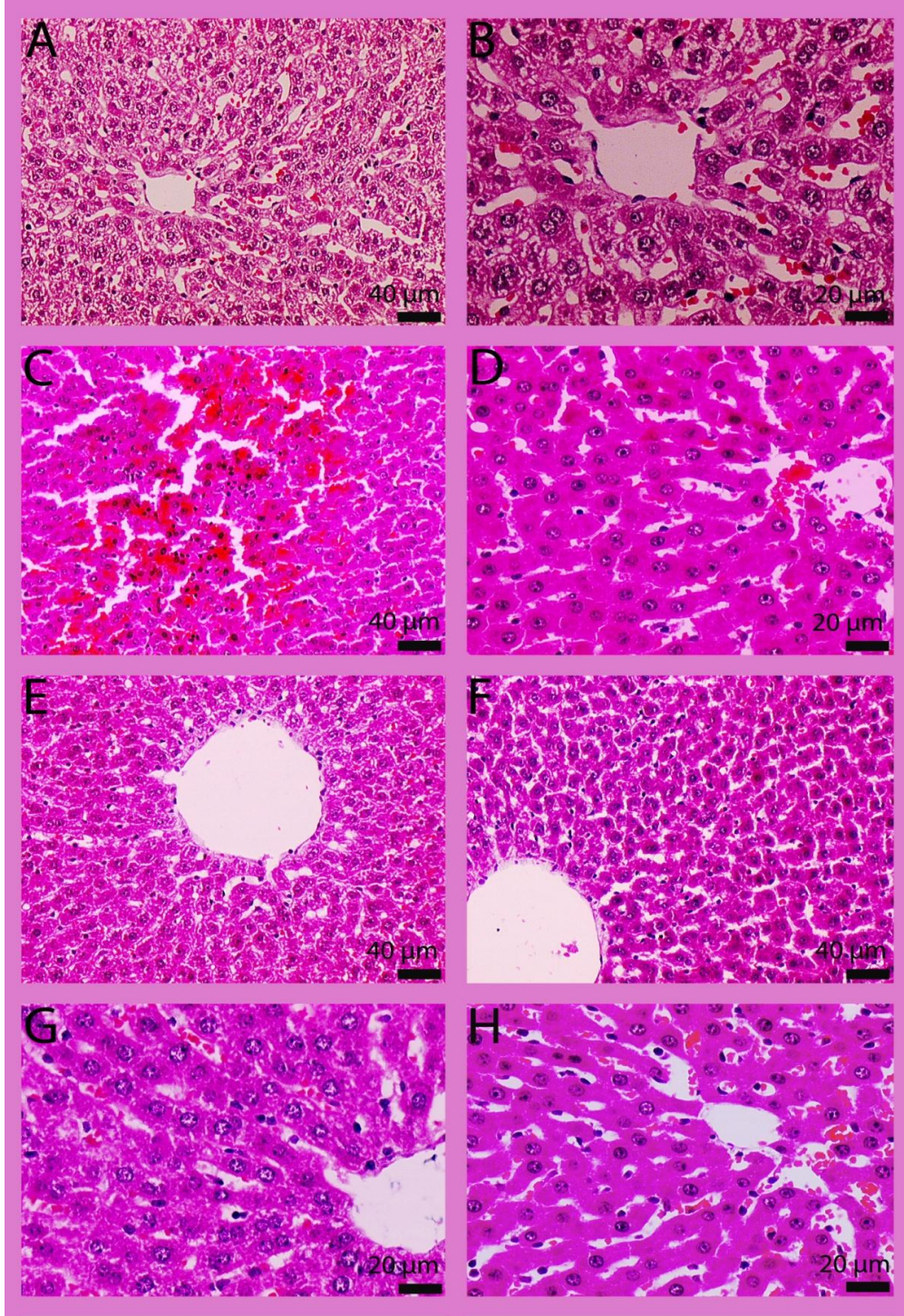
Çalışmanın bu aşamasında, deney gruplarında meydana gelen ışık mikroskopik değişiklikler değerlendirildi.

Karaciğer lobülerini oluşturan parankimadaki hepatositlere bakıldığında yapının sağlıklı grupta normal olduğu değerlendirildi (Şekil 4.1.A,B). Benzer şekilde vena sentralisten lobulusun periferine doğru radier dizilmiş olan bu hücre kordonları (Remark plakları) yapının normal olduğunu işaret eden bir veri olarak kaydedildi. Remark plakları arasında yerleşik bulunan sinuzoidlere (lobul içi kan kapillerleri) sözü edilen bu yapıların duvarlarında yerleşik bulunan endotel hücrelerine yakından bakıldığında herhangi bir yapısal bozukluğa rastlanmadığı belirlendi (Şekil 4.1.B).

Parasetamol grubuna baktığımızda ise şiddetli olarak nekrotik odaklar gözlemlendi (Şekil 4.1.C). Parankimada çok sayıda hepatositin sitoplazmasında yoğun eozinofili artışı çekirdeğinde yoğun hiperkromazi, hücre membranında düzensizlik olduğu belirlendi. Ayrıca sinüzoidlerdeki düzensizlikte kaydedilen değişiklikler arasındaydı (Şekil 4.1.C).

Diğer deney gruplarına baktığımızda özellikle bosentanın karaciğerde parasetamol toksisitesini önemli ölçüde önlediği gözlemlendi yani; parankimada vena sentralisten uzanan hepatosit kordonlarının dizilimi parasetamol grubuna göre oldukça düzenli ve neredeyse kontrole yakındı (Şekil 4.1.E,F,G). Ayrıca hepatositlere daha yakından bakıldığında parasetamol grubundaki gibi herhangi bir nekrotik hücre varlığına rastlanmadı, hepatositler son derece düzgün bir görünüme sahipti (Şekil 4.1.E,F,G). Bosentan gruplarındaki bu düzgünlüğün en dikkat çekici yanı ise gerek 45 mg'lık dozda gerekse 90 mg'lık dozda neredeyse paralel seyretmesiydi. Bu veriler sağlıklı bosentan grubumuzla da paralel seyretmekteydi.

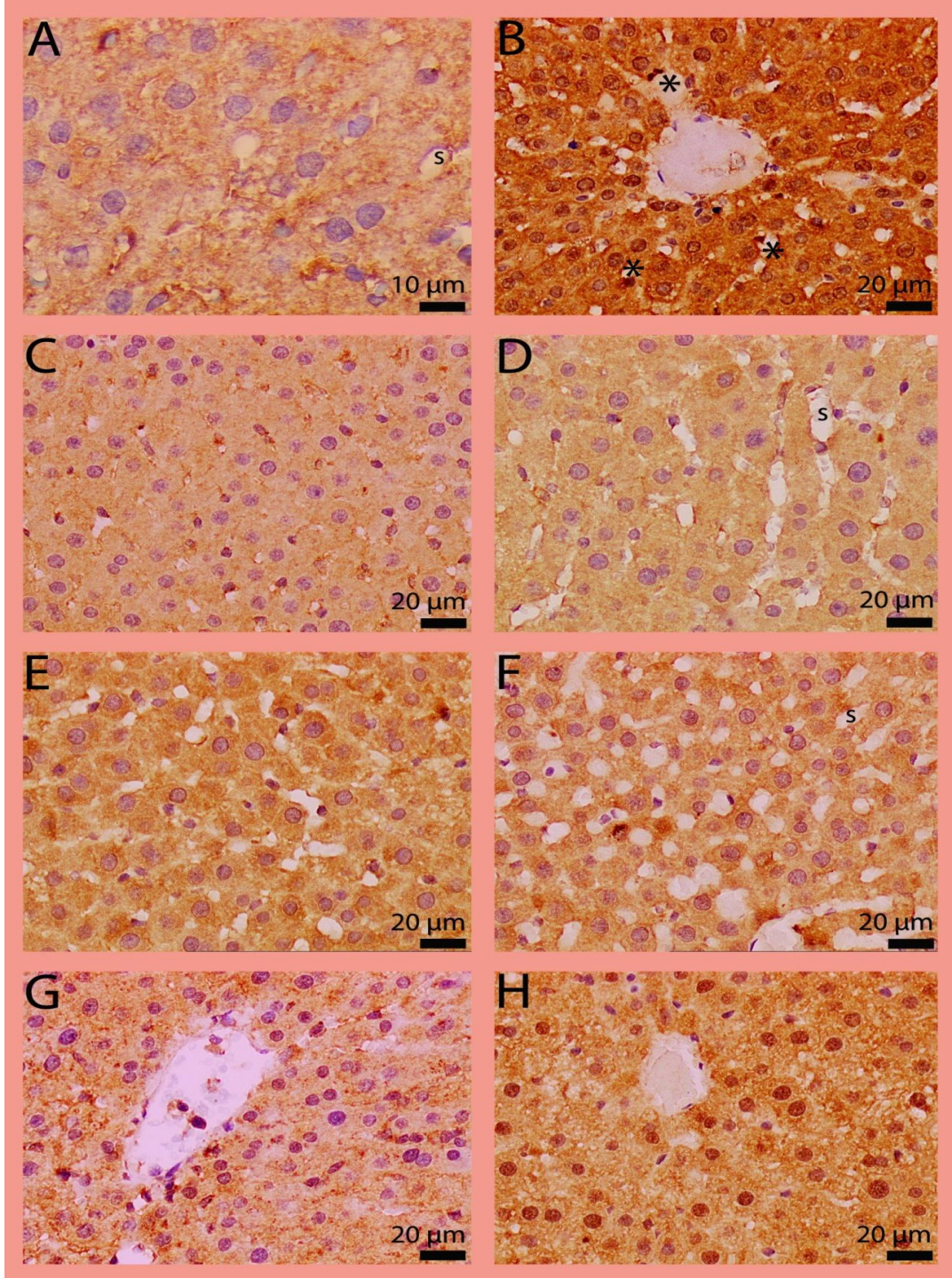
N-Asetil Sistein (NAC)'in uygulaması yaptığımız deney gruplarımız parasetamol toksisitesini histopatolojik olarak önlediği karaciğer yapılarını kontrole yakın bir şekilde koruduğu da belirlenen verilerimiz arasındaydı (Şekil 4.1.D,H).



**Şekil 4.1.** Karaciğer örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler (Boya: Hematoksilen & Eosin ) A: Sağlıklı kontrol grubu, B: Sağlıklı kontrol grubu, C: Parasetamol grubu, D: NAC+parasetamol, E: Bosentan 45 mg/kg+Parasetamol, F: Bosentan 90 mg/kg+Parasetamol, G: Sağlıklı+ Bosentan 90 mg/kg, H: Sağlıklı NAC.

## 4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışmanın immünohistokimyasal değerlendirilmesinde endotelin-1 pozitivitesine baktığımızda kontrol grubunda gerek sinüzoidlerde gerekse hepatositlerde pozitifliğe rastlanmadı (Şekil 4.2.A). Parasetamol uygulaması yapılan deney grubu karaciğer kesitlerinde kontrole kıyasla şiddetli endotelin-1 pozitifliği kaydedilirken (Şekil 4.2.B) gerek bosentan uygulanmış gruplarımızda (Şekil 4.2.D-G) gerekse NAC uygulanan deney gruplarında (Şekil 4.2.C,H) şiddetli endotelin-1 pozitivitesine rastlanmadı. Mevcut sınırlı sayıdaki endotelin pozitiflikleri fizyolojik ölçüler dahilindeydi.



**Şekil 4.2.** Karaciğer örneklerinden elde edilen immunohistokimyasal ışık mikroskopik kesitler (Boya: Endotelin-1 ) A: Sağlıklı kontrol grubu, B: Parasetamol grubu, C: NAC+parasetamol, D: Bosentan 45 mg/kg+Parasetamol, E: Bosentan 90 mg/kg+parasetamol, F: Bosentan 90 mg/kg+Parasetamol, G: Sağlıklı+ Bosentan 90 mg/kg, H: Sağlıklı NAC, s: sinüzoid, \*: Endotelin-1 pozitif

### 4.3.1. Biyokimyasal Bulgular

#### 4.3.1.1. ALT, AST ve TNF-alfa Analizleri

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki ALT miktarları sırası ile ; 40.60 U/L protein, 41.33 U/L protein, 41.88 U/L protein, 196.00 U/L protein, 94.50 U/L protein, 51.88 U/L protein, 46.88 U/L protein olarak ölçüldü. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta ALT miktarı önemli miktarda artarken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasında 90 mg/kg BOS +Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol grubuna göre önemli miktarda düzelme görülmüştür. En iyi düzelmenin ise 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki AST miktarları sırası ile ; 81.88 U/L protein, 84.38 U/L protein, 89.33 U/L protein, 241.25 U/L protein, 134.50 U/L protein, 117.38 U/L protein, 119.50 U/L protein olarak ölçüldü. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta AST miktarı önemli miktarda artarken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasında 90 mg/kg BOS +Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol grubuna göre önemli miktarda düzelme görülmüştür. En iyi düzelmenin ise 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki TNF-alfa miktarları sırası ile ;

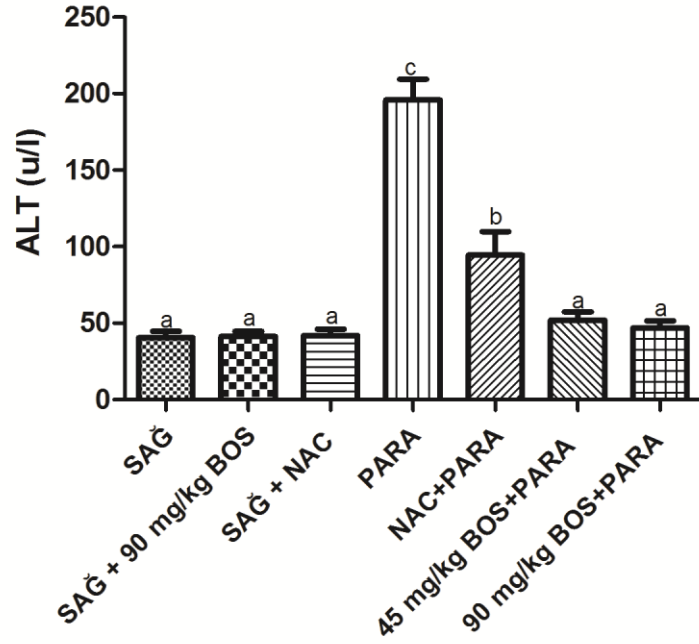
42.13 pg/ml protein, 38.13 pg/ml protein, 41.79 pg/ml protein, 174.63 pg/ml protein, 76.13 pg/ml protein, 56.75 pg/ml protein, 50.71 pg/ml protein olarak ölçüldü. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta TNF-alfa miktarı önemli miktarda artarken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasında 90 mg/kg BOS +Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol grubuna göre önemli miktarda düzelme görülmüştür. En iyi düzelmenin ise 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

**Tablo 4.1.** Rat Serumunda Ölçülen ALT, AST ve TNF-alfa Miktarları.

GRUPLAR	ALT (U/L)	AST(U/L)	TNF-alfa (pg/ml)
<b>SAĞ</b>	40.60±11.65 <sup>a</sup>	81.88±12.01 <sup>a</sup>	42.13±7.24 <sup>ab</sup>
<b>SAĞ-90 mg/kg BOS</b>	41.33±9.76 <sup>a</sup>	84.38±22.60 <sup>a</sup>	38.13±9.03 <sup>a</sup>
<b>SAĞ-NAC</b>	41.88±12.08 <sup>a</sup>	89.33±23.51 <sup>a</sup>	41.79±8.74 <sup>ab</sup>
<b>PARA</b>	196.00±38.05 <sup>c</sup>	241.25±36.23 <sup>c</sup>	174.63±28.26 <sup>d</sup>
<b>NAC+PARA</b>	94.50±43.26 <sup>b</sup>	134.50±29.09 <sup>b</sup>	76.13±16.03 <sup>c</sup>
<b>45 mg/kg BOS+PARA</b>	51.88±15.39 <sup>a</sup>	117.38±21.78 <sup>b</sup>	56.75±8.07 <sup>b</sup>
<b>90 mg/kg BOS+PARA</b>	46.88±13.45 <sup>a</sup>	119.50±23.71 <sup>b</sup>	50.71±10.81 <sup>ab</sup>

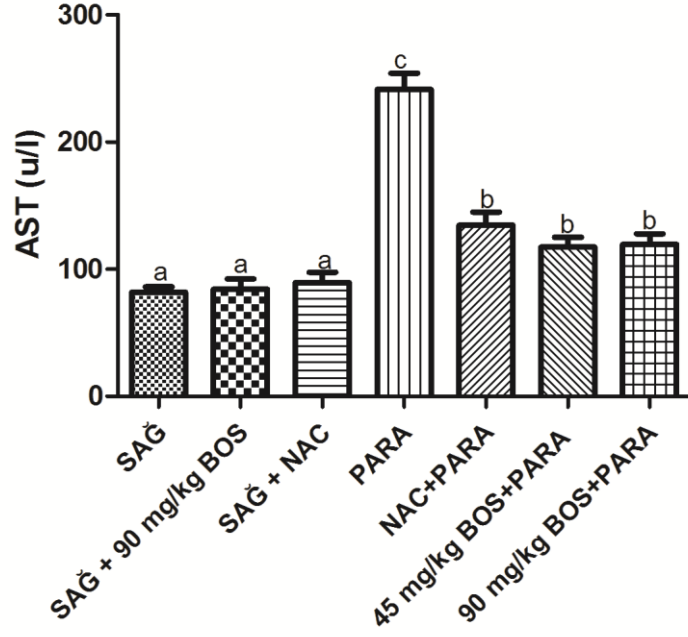
\*\*\*SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. P< 0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT ±SD)





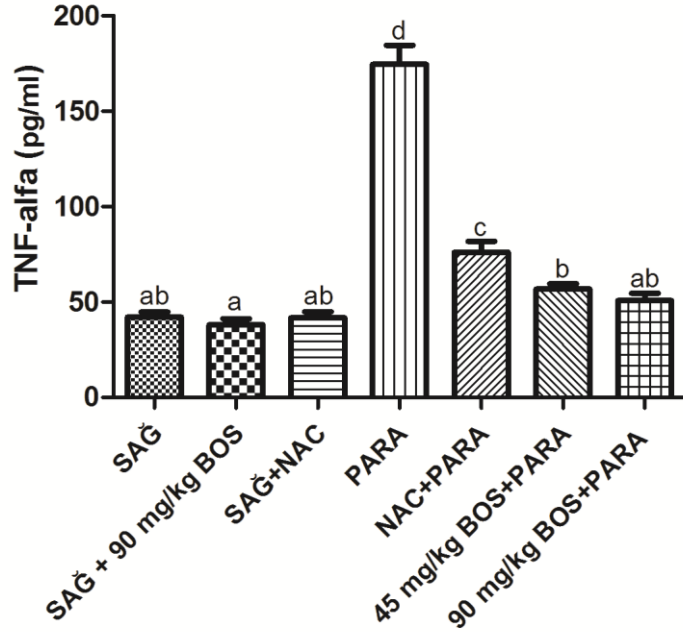
**Şekil 4.3.** Rat serumunda ölçülen ALT miktarının grafikte gösterilmesi

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



**Şekil 4.4.** Rat serumunda ölçülen AST miktarının grafikte gösterilmesi

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



**Şekil 4.5.** Rat serumunda ölçülen TNF-alfa miktarının grafikte gösterilmesi

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

#### 4.3.1.2. SOD aktivitesi, GSH, MDA Analizleri

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki SOD seviyeleri sırası ile ; 21.81 U/mg protein, 25.01 U/mg protein, 24.74 U/mg protein, 12.69 U/mg protein, 19.53 U/mg protein, 21.16 U/mg protein, 21.40 U/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak SOD seviyesindeki en ciddi azalma Parasetamol 2g/kg grubunda gözlenirken, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol 2 gr/kg grubuna göre SOD miktarı anlamlı bir şekilde yükselmiş olup; koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS +Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlemlendi.

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki GSH seviyeleri sırası ile ; 4.59 nmol/mg protein, 4.43 nmol/mg protein, 4.84 nmol/mg protein, 1.44 nmol/mg protein, 4.28 nmol/mg protein, 3.93 nmol/mg protein, 3.86 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak GSH seviyesi açısından en ciddi azalma Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC + Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlemlendi.

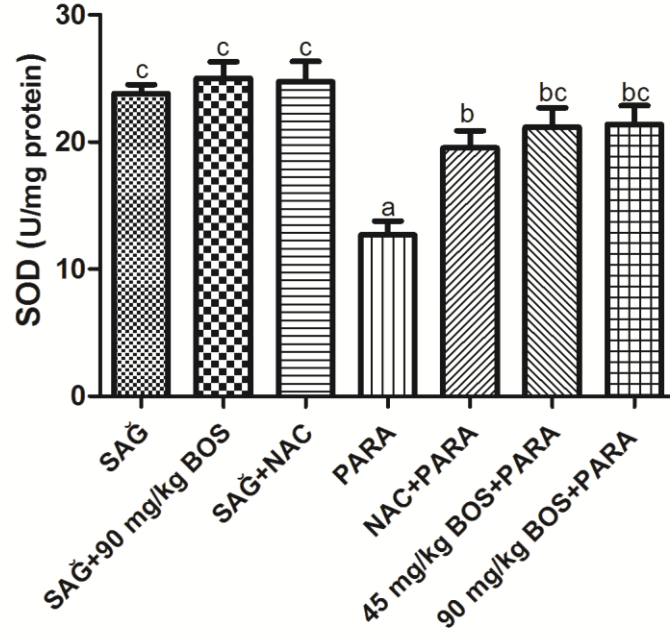
Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki MDA seviyeleri sırası ile; 1.58 nmol/mg protein, 2.16 nmol/mg protein, 1.78 nmol/mg protein, 4.85 nmol/mg protein,

2.02 nmol/mg protein, 2.24 nmol/mg protein, 2.27 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta MDA seviyesinin önemli derecede arttığı gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında gözlemlendi.

**Tablo 4.2.** Rat Karaciğer Dokusunda Ölçülen SOD aktivitesi, GSH ve MDA Seviyeleri.

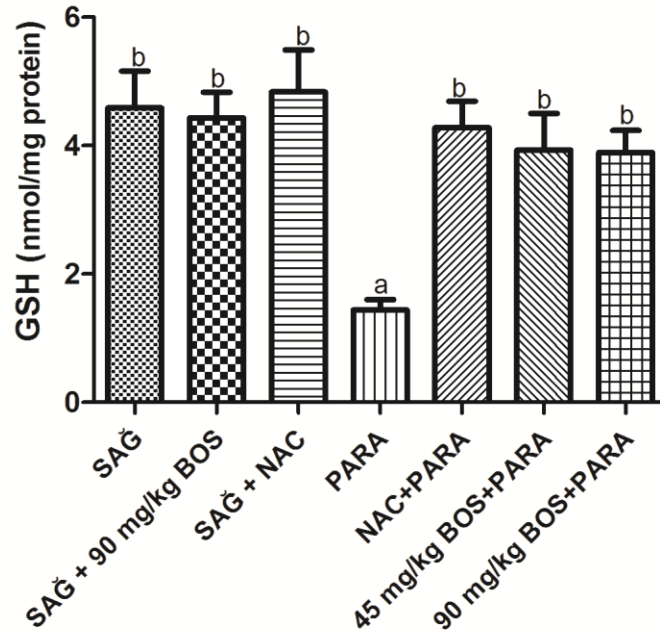
<b>GRUPLAR</b>	<b>SOD(U/mg protein)</b>	<b>GSH (nmol/mg protein)</b>	<b>MDA (nmol /mg protein)</b>
<b>SAĞ</b>	23.81±1.99 <sup>c</sup>	4.59±1.64 <sup>b</sup>	1.58±0.45 <sup>a</sup>
<b>SAĞ-90 mg/kg BOS</b>	25.01±3.72 <sup>c</sup>	4.43±1.13 <sup>b</sup>	2.16±0.65 <sup>a</sup>
<b>SAĞ-NAC</b>	24.74±4.48 <sup>c</sup>	4.84±1.86 <sup>b</sup>	1.78±0.31 <sup>a</sup>
<b>PARA</b>	12.69±3.12 <sup>a</sup>	1.44±0.45 <sup>a</sup>	4.85±1.04 <sup>b</sup>
<b>NAC+PARA</b>	19.53±3.85 <sup>b</sup>	4.28±1.15 <sup>b</sup>	2.02±0.53 <sup>a</sup>
<b>45 mg/kg BOS+PARA</b>	21.16±4.30 <sup>bc</sup>	3.93±1.61 <sup>b</sup>	2.24±0.59 <sup>a</sup>
<b>90 mg/kg BOS+PARA</b>	21.40±4.14 <sup>bc</sup>	3.89±0.98 <sup>b</sup>	2.27±0.60 <sup>a</sup>

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



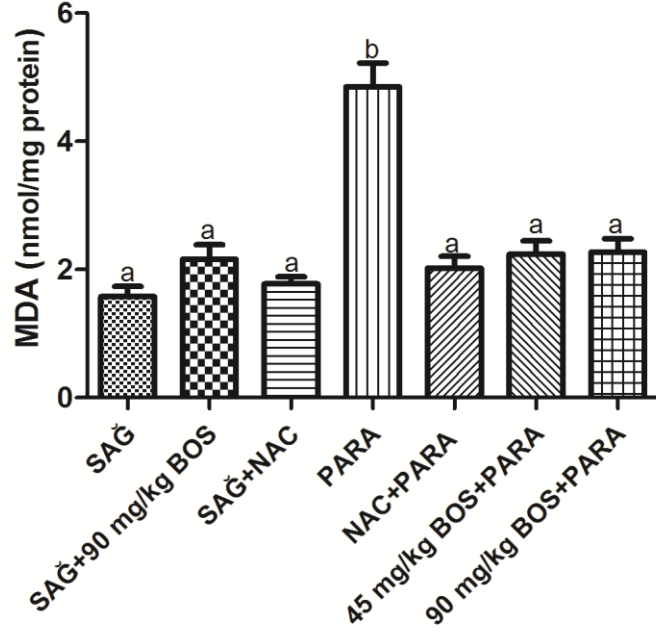
**Şekil 4.6.** Rat serumunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

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



**Şekil 4.7.** Rat serumunda ölçülen GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi

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



**Şekil 4.8.** Rat serumunda ölçülen MDA miktarının grafikte gösterilmesi

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

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada parasetamol toksisitesinde ET-1 reseptörlerinin rolü incelendi ve aynı zamanda ET-1 reseptör antagonisti olan bosantanın parasetamol toksisitesi üzerine olan etkileri ratlarda deneysel olarak gösterildi.

Parasetamol yaygın olarak kullanılan, tedavi edici dozlarda güvenli, etkin analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol toksisitesi ABD ve İngiltere’de transplantasyon gerektiren ilaca bağlı akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın, toksik ilaç alımlarının ise ikinci nedenidir.<sup>104</sup> Yılda tahminen 56.000 hasta parasetamol aşırı alımına bağlı olarak acil servislere başvurmakta ve bu hastaların 26.000’i hastaneye yatarak tedavi görmektedir. Bu nedenle parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının ciddi bir iş yükünü oluşturmaktadır.<sup>163</sup>

Parasetamol aşırı alımı, deneysel hayvan modelleri ve insanlarda ciddi hepatotoksositeye ve hatta karaciğer yetmezliğine neden olabilir. Son 30 yıldır yapılan yoğun çalışmalara karşın parasetamole bağlı karaciğer hücre hasarının mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır. Büyük ölçüde kabul edilen görüşe göre bu hasarlanma süreci, parasetamolün toksik reaktif bir metabolit olan NAPQI’ya metabolize olmasıyla başlar. Bu metabolit ilk olarak GSH’yı tüketir ardından mitokondriyal proteinleri de içeren bir takım hücresel proteinlere bağlanır. Bu sürecin sonucunda, mitokondriyal solunumun baskılanması, ATP’nin tüketimi ve mitokondriyal oksidatif stres gözlenebilir. ATP tüketimi hepatositler ve sinüzoidal endotelial hücrelerde, selüler onkotik nekroza yol açar.<sup>164</sup>

Daha önceden yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi toksik dozlarda parasetamol alımları, oksidatif yolla hepatosit hasarlanmasına yol açar, inflamatuvar reaksiyonları artırır ve serum AST ve ALT değerlerini artırır. AST ve ALT transaminazlar olarak da bilinen ve karaciğerde bulunan intraselüler enzimlerdir. ALT

ve AST hepatosellüler hasar ya da nekroza bağlı olarak artan, en güvenilir iki parametredir.<sup>165</sup>

Manda ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve  $\beta$ -Karotenin tedavi edici etkisi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin şekilde artış olduğu saptanmıştır.<sup>166</sup> Ahmed ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve Ambrosia Maritima isimli bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Yapılan ölçümlerde AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı saptanmıştır.<sup>167</sup>

Bizim çalışmamızda da parasetamol toksikasyonu oluşturulduktan 24 saat sonra alınan kan örneklerinden yapılan ölçümlerde, toksisite oluşturulan grupta AST ve ALT değerlerinde üç ile dört kat düzeyinde belirgin artışlar saptandı. Bosentan uygulamasında, karaciğer hasarı nedeniyle salınan AST ve ALT değerlerinde, toksisite oluşturulan gruba göre belirgin şekilde normale yaklaştığı tespit edildi. Bu sonuçlar bosentan ile yapılan koruyucu etkinin, istatistiksel olarak anlamlı şekilde parasetamole bağlı hepatik hasarı enzimatik olarak düzelttiğini göstermiştir.

Parasetamol toksisitesine bağlı oluşan karaciğer nekrozu sadece enzimatik değişikliklere neden olmaz, dramatik olarak karaciğer histopatolojisinde de değişikliklere neden olur. Parasetamol yüksek doz alımı ile sentrolobüler nekroz gelişmektedir.<sup>43, 168-172</sup> Bununla birlikte supratherapötik dozlarda, kronik ilaç uygulaması ile karaciğerde farklı seviyelerde sentrolobüler nekrozun görüldüğü<sup>173</sup>, ayrıca zamana bağımlı olarak hasarın karaciğer lobulusünün diğer bölümlerine sıçradığı bildirilmiştir.<sup>76, 174, 175</sup> Anundi ve arkadaşları<sup>176</sup>, yüksek doz parasetamol uygulamasının ardından, hücre kültüründe periportal ve perivenöz (sentrolobüler) hepatotoksisiteyi



çalışmışlardır. İnsanlarda sitokrom P450 2E1 enziminin daha çok sentrolobüler bölgede üretildiği, bu yüzden sentrolobüler hasarın periportal alana göre daha şiddetli seyrettiğini görmüşlerdir. Yapılan başka bir çalışmada Fakurazi ve arkadaşları ratlarda parasetamol ile hepatotoksisite oluşturmuş ve Moringa Oleifera isimli bir maddenin antioksidan ve hepatoprotektif etkilerini araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede; sentrolobüler hepatosit dejenerasyonu, sinuzoidal dilatasyon ve masif nötrofil, lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir.<sup>177</sup>

Ko ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı Silene Aprica isimli antioksidan bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmış. Bu çalışmada alınan karaciğer kesitlerindeki histopatolojik incelemede parasetamol toksitesi oluşturulan grupta diffüz nekroz alanları, sinusoidal konjezyon ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir.<sup>178</sup>

Bu çalışmamızda ise parasetamol ile yapılan deneysel çalışmaları destekler şekilde şiddetli nekrotik odaklar gözlemlendi. Özellikle parankimada çok sayıda hepatositin sitoplazmasında yoğun eozinofili artışı, çekirdeğinde yoğun hiperkromazi, hücre membranında düzensizlik olduğu belirlendi. Ayrıca sinüzoidlerdeki düzensizlikte kaydedilen değişiklikler arasındaydı. Koruyucu etki oluşturulan gruplara baktığımızda özellikle 45 ve 90 mg/kg dozunda kullanılan bosentanın, karaciğerde parasetamol toksitesini önemli ölçüde önlediği gözlemlendi. Şöyleki; parankimada vena sentralisten uzanan hepatosit kordonlarının dizilimi parasetamol grubuna göre oldukça düzenli ve neredeyse kontrole yakındı. Ayrıca hepatositlere daha yakından bakıldığında parasetamol grubundaki gibi herhangi bir nekrotik hücre varlığına rastlanmadı, hepatositler son derece düzgün bir görünüme sahipti. Bosentan gruplarındaki bu düzgünlüğün en dikkat çekici yanı ise gerek 45 mg/kg'lık dozda gerekse 90 mg/kg'lık

dozda neredeyse paralel seyretmesiydi. Bu da bize bosentanın, parasetamol verilen ratlarda karaciğeri gerek enzimatik gerekse histopatolojik olarak koruduğunu göstermektedir.

Konunun başında da belirttiğimiz gibi parasetamol toksisitesinde gerçek bir tedavi bulunmamaktadır. Bu nedenle dünya literatürüne baktığımız zaman yüzlerce deneysel veya klinik alternatif tedavi yöntemlerinin denendiği görülmektedir. Parasetamol zehirlenmesinin standart tedavisi NAC'dir. NAC, amino asit L-sistein ve GSH'nın her ikisinin asetilenmiş bir prekürsörüdür ve uzun yıllardır parasetamol aşırı alımlarına bağlı hepatotoksisitenin önlenmesi için bir antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarıyla NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmaktadır.<sup>151</sup> Bizim çalışmamızda ratlara Parasetamol 2 g/kg vermeden 1 saat önce ve 12 saat sonra 140 mg/kg dozunda NAC oral olarak verildi. Gerek enzimatik parametrelere gerekse histopatolojik bulgulara baktığımız zaman her iki dozda da bosentan uygulamasının NAC uygulamasından daha iyi sonuçlar verdiğini görmekteyiz.

Biz bu çalışmada; vücutta karaciğer dahil pek çok yerde sentezlenen<sup>115</sup>, fibrozis, enflamasyon ve oksidatif stresin artmasına katkıda bulunan, aynı zamanda vücudumuzdaki en etkili vazokonstriktör madde olan endotelin-1'in parasetamole bağlı karaciğer hasarında etkisi olabileceğini düşündük.

Endotelin hidrofilik olduğundan plazma membranını geçemez. Etkisini spesifik reseptörleri vasıtası ile gösterir. Başlıca iki reseptörü vardır. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B).<sup>15</sup> Bilinen en güçlü endojen vazokonstriktör madde olan ET-1 mitojenik etkinliği ve damar düz kaslarının proliferasyon etkinliğini artırması ile de önemli etkinliğe sahiptir.<sup>16</sup> ET-1 kendine özgü membran reseptörlerini aktive ederek

başlangıçtaki fosfoinozotid hidrolizini artırır ve bunun sonucu oluşan inozitil trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçilgliserol aracılığı ile etkisini oluşturur. IP<sub>3</sub> endoplazmik retikulumdan Ca<sup>+2</sup> salıverilmesini artırır ve ET-1 daha sonra memberan Ca<sup>+2</sup> kanallarını açarak extrasellüler Ca<sup>+2</sup>'un hücreye girişine neden olur bunun sonucunda damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süreli vazokonstriksiyon olur.<sup>18, 112-114</sup> Endotelin-1 vasküler endotel sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gibi<sup>16</sup> fibrozis ve inflamasyona da katkıda bulunur.<sup>17, 18</sup>

Gandhi ve arkadaşları rat karaciğerinde portal hipertansiyonun artmasına sebep olan ET-1'in varlığını ilk kez göstermiştir.<sup>19</sup> Bu durumda portal hipertansiyonda endotelinin görevi olabileceği açısından hepatologlar arasında büyük ilgi uyandırmıştır.<sup>19</sup> ET-1'lerin karaciğerde hepatosit hücrelerinde Ca<sup>+2</sup>'un mobilizasyonunu ve glikojenolizisi indüklediğini ve bu sayede oldukça önemli bir metabolik etkinliği olan karaciğerde oksijen tüketimini de artırdıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>116</sup> Biz de bu çalışmada endotelinlerin, parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesindeki ekspresyonunu göstermek için immünohistokimyasal boyama işlemi yaptık. Maria ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada, diabetik nefropatili hastalarının böbreklerinde ET-1 ekspresyonun aşırı derecede arttığını aynı zamanda çalışmada ET-1 reseptör antagonistleri uyguladıklarında ET-1 ekspresyonun normal derecede olduğunu ve böbreklerdeki doku hasarında da düzelme olduğunu kaydetmiştir.<sup>179</sup> Yine idiyopatik akciğer fibrozlu hastalarda yapılan bir çalışmada ET-1 ekspresyonunun arttığı kaydedilmiştir.<sup>180</sup> Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda özellikle sağlıklı grupta ET-1 ekspresyonuna rastlanmazken, parasetamol uygulanan grupta ET-1 ekspresyonunun aşırı derecede artması, önceki bulgularımızda desteklemektedir. Protaktif amaçlı uygulanan bosentan gruplarında ise

ET-1 ekspresyonunun normal seviyede görülmesi, ET-1 antagonize edilmesi ile hepatik hasarın önlendiğinin göstergesidir.

ET-1 reseptörlerinin parasetamol toksisitesindeki rolünü ve ET-1 reseptör antagonisti olan bosentanın parasetamol toksistesine olan olumlu etkilerini gösterdikten sonra, bu etkiyi hangi mekanizmalar ile gösterdiğini incelemek amacıyla parasetamol toksisitesinde çok önemli olan oksidatif stress parametreleri üzerine bosentanın etkilerini inceledik. Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı karaciğer 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.<sup>181</sup>

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.<sup>147</sup> Cheng-chin ve arkadaşlarınca 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 teadvi ile bu artışın düzeldiği tespit edilmiştir.<sup>148</sup> 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. Çalışmamızla ilgili olarak ET-1'in de doku antioksidan seviyelerini azalttığı kaydedilmiştir.<sup>146</sup> Xu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ET-1 reseptör antagonistlerini kullandıklarında lipit peroksidasyonunda azalma olduğu kaydetmiştir.<sup>149</sup> Çalışmamızda, benzer şekilde karaciğer dokusunda MDA değerinin, toksisite oluşturulan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu saptandı. Bu sonuç da lipit peroksidasyonunun parasetamole bağlı doku hasarı ile yakın ilişkili olduğunu desteklemektedir.

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.<sup>128</sup> Suresh ve arkadaşlarının miyokard iskemi ve reperfüzyonu üzerine yapmış oldukları bir çalışmada, tedavi olarak kullandıkları bosentan gruplarında doku MDA seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı kaydedilmiştir.<sup>155</sup>

Biz de Bosentan uygulaması sonrasında parasetamol grubunda artmış olan MDA düzeylerinin anlamlı şekilde düzeldiğini gösterdik. Burada Bosentan'ın parasetamole bağlı gelişen oksidatif hasar sonucu artan MDA seviyesinde düzelmeye sağlayarak parasetamole bağlı karaciğer toksisitesinde koruyucu etkisinin olduğunu gösterdik.

GSH, kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli moleküllerden biridir. Glutatyon 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.<sup>11</sup>

Manda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kan GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış, verilen  $\beta$ -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir.<sup>166</sup>

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.<sup>147</sup>

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da doku GSH değerinin parasetamolle indüklenen hepatotoksisitede azaldığı tespit edildi. Suresh ve arkadaşları miyokard iskemisi ve reperfüzyonu üzerine yaptıkları bir çalışmada tedavi olarak kullandıkları bosentan gruplarında doku GSH seviyelerinin arttığını kaydetmiştir.<sup>155</sup> Biz de çalışmamızda parasetamol toksisitesi oluşturulan ratların karaciğer dokularında GSH değerlerindeki azalmanın bosentan uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını tespit ettik. Bu sonuç da Bosentan'ın parasetamol toksisitesinde antioksidan sistem üzerine olumlu etkilerini desteklemektedir.

SOD süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksidi dismutasyonunu 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 aktivitelerinde azalmalar saptanır.<sup>182</sup>

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 değerlerinde azalma izlenmiş, daha sonra giderek artan dozlarda Picoside II verilerek bu düşük SOD değerlerinde artan dozla doğru orantılı şekilde artış saptanmıştır.<sup>183</sup> Xin ve arkadaşlarınca yapılan diğer bir çalışmada Cu, Zn-superoksid dismutaz yetersizliği olan farelerde, parasetamol toksisitesine karşı olan dirençleri araştırılmıştır. Farelerden elde edilen kan örneklerinde yapılan çalışmada serum SOD değerlerinin parasetamol ile toksisite oluşturulan farelerde azaldığı belirlenmiştir.<sup>184</sup> Aynı zamanda ET-1'in de yapılan çalışmalarda doku SOD seviyelerini azalttığı kaydedilmiştir.<sup>146</sup> Kähler ve arkadaşları koroner arter düz kas hücrelerinde endotelin sekresyonunu artırdıklarında SOD seviyesinde azalmanın olduğunu kaydetmişlerdir.<sup>185</sup> Bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol grubunda SOD seviyesinde diğer tüm gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı.

Xu ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada ET-1 reseptör antagonistleri kullanıldıklarında SOD seviyesinde düzelmeye görüldüğü ve lipit peroksidasyonunun ise azaldığı kaydedilmiştir.<sup>149</sup> Çalışmamızda toksisite oluşturulan grupta SOD enzim aktivitesindeki azalmanın, uygulanan bosentan ile anlamlı derecede düzelmeye eğilimine girdiğini gösterdik. Bu sonuç da Bosentan'ın parasetamol toksisitesinde antioksidan enzim sistemi üzerinden olumlu etkisinin olduğunu desteklemektedir.

Parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer nekrozunda oksidatif stres ile beraber serum sitokinlerinin ve özellikle TNF-alfa'nın rolü son çalışmalarda tespit edilmiştir. TNF-alfa çoğunlukla karaciğerdeki makrofajlardan üretilen bir proinflamatuvar sitokindir. Sistemik toksisitenin ve karaciğer hasarının primer mediyatörüdür. İskemi reperfüzyon ve fulminan hepatik yetmezlik de dahil olmak üzere karaciğer hasarının birçok formunda TNF-alfa'nın önemli bir rolü olduğu bilinmektedir.<sup>156</sup> TNF-alfa aşırı agresif inflamatuvar süreci başlatarak hücre hasarını daha da kötüleştirebildiği gibi apoptozisi ve hücre proliferasyonunu uyararak da doku onarımına yardım eden santral bir regülatördür.

Yapılan bir çalışmada ratlara uygulanan kısmi hepatektomiyi takiben TNF- $\alpha$  salgılandığı tespit edilmiştir.<sup>104</sup> Kısmi hepatektomiden önce TNF-alfa antikollarının uygulanmasının karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>160</sup> Bu bağlamda TNF-alfa'nın insan ve kemirgen hepatositlerinde bir mitojen olarak görev yapması son zamanlarda yapılan in vitro deneylerle de desteklenmiştir.<sup>160</sup> TNF-alfa hem hepatositler için mitojenik olup karaciğer hasarındaki onarımda ve kısmi hepatektomiyi takiben rejenerasyonda görev alır hem de aşırı inflamatuvar cevabı indükleyerek hücre hasarına sebep olur.<sup>159</sup>

Yan-Ling Wu ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve TNF-alfa seviyesinin arttığı gözlenmiştir.<sup>145</sup> Sheng-Lei Yan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bütün diğer çalışmaları destekler nitelikte olup karaciğer toksisitesi oluştuğunda TNF-alfa seviyesinin yükseldiği ve uygulanan tedavinin başarısına göre toksisite azaldıkça TNF-alfa seviyesinin azaldığı gözlenmektedir.<sup>150</sup> Bu alışmalar dışında endotelin ve TNF-alfa'nın fizyolojik olarak birbirleri ile ilişkisi de pek çok çalışmada gösterilmiştir. TNF-alfa'nın artması vücutta endotelinlerin sentezlenmesini artırmaktadır.<sup>107, 108</sup> Aynı zamanda endotelinlerin de



TNF-alfa seviyelerini in vivo ve in vitro ortamda değiştirdikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>186</sup> Bununla birlikte non-selektif ET-1 reseptör antagonisti olan bosentan ise TNF-alfa'nın ekspresyonunu azaltmaktadır.<sup>187-189</sup>

Bizim alışmamızda parasetamol verilen grupta TNF-alfa seviyesi diğer gruplara oranla yaklaşık 4 kat artmıştır. Bu da bize diğer çalışmalarda da olduğu gibi parasetamol toksisitesi sonucu TNF-alfa'nın önemli derecede arttığını bir kez daha göstermiştir. Koruyucu etki oluşturduğumuz bosentan gruplarında ise TNF-alfa seviyesinde parasetamol grubuna göre anlamlı derecede düzelme gözlenmiştir. Bu da bize karaciğer hasarında önemli rol oynayan TNF-alfa'nın etkilerini bosentan'ın engelleyebileceğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

“Bosentanın parasetamolle oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerine etkilerinin incelenmesi” adı altında yapılan çalışmanın sonuçları gerçekten umut vericidir.

Parasetamol aşırı doz alımında mevcut antidotal tedavide NAC kullanılmaktadır. Bü yüzden üzerinde çalıştığımız bosentanın etkilerini, NAC tedavisi ile karşılaştırmalı olarak çalıştık. Deneysel çalışmalar sonucunda;

Karaciğer hasarının önemli göstergesi olan serum ALT ve AST seviyelerinde bosentan grubunda NAC grubuna göre daha iyi düzelme göstermiştir. Bununla birlikte proinflamatuvar sitokin olan TNF-alfa seviyesini bosentan NAC’a göre önemli derecede azaltmıştır. Antioksidan sistem (SOD ve GSH) üzerine Bosentanın etkileri ise yine NAC’a göre daha iyi olarak elde edilmiştir. Doku hasarının primer öncüsü olan MDA seviyelerinde ise Bosentan ve NAC’ın etkileri birbirine yakın seviyede görülmüştür. Bu biyokimyasal değerlerin göstermiş olduğu olumlu etkileri histopatolojik çalışmalarda tam olarak desteklemektedir.

Tüm bu sonuçlarda; endotelinlerin ve dolayısıyla karaciğerde bulunan ET-1 reseptörlerinin parasetamole bağlı gelişen hepatotoksisitede önemli bir rol üstlenebileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda ET-1 reseptörlerinin inhibe edilmesiyle bu hepatotoksisite deneysel olarak geriye döndürülebilmıştır. ET-1 reseptörlerinin Bosentan ile inhibe edilmesi karaciğer hasarını önlemiş ve bu nedenle gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik iyileşme görülmüştür. Parasetamole bağlı oluşmuş artmış MDA ve TNF- alfa seviyeleri bosentan uygulaması ile azalmış, SOD ve GSH seviyeleri anlamlı bir şekilde düzelme eğilimine girmişlerdir.

Sonraki çalışmalarda ise ET-1’in karaciğerdeki oluşturduğu hasarın mekanizması aydınlatılmalıdır. Aynı zamanda ET-1’in bu patolojik rolünün diğer

hastalıklarda ki etkilerine de bakılmalıdır. Bu sayede bilim dünyasına, yeni yöntemler ve yeni ilaçlar geliştirerek katkıda bulunulmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Scherlock S DJ. *Disease of the Liver and Miliary System*. 10th ed. Oxford, Balckwell Scientific Publications, 1997: 103-117.
2. 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.
3. Schiodt FV, Atillasoy E, Shakil AO, Schiff ER, Caldwell C, Kowdley KV, Stribling R, Crippin JS, Flamm S, Somberg KA, Rosen H, McCashland TM, Hay JE, Lee WM. Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States. *Liver Transplantation and Surgery*, 1999, 5: 29-34.
4. Lewis RK, Paloucek FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical Pharmacy*, 1991, 10: 765-774.
5. Makin AJ, Wendon J, Williams R. A 7-year experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987-1993). *Gastroenterology*, 1995, 109: 1907-1916.
6. Prescott LF. Paracetamol overdosage. Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*, 1983, 25: 290-314.
7. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *British Medical Journal*, 1966, 2: 497-499.
8. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31: 55-138.
9. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular Pharmacology*, 1980, 18 : 536-542.

10. Oliver L. *Acetaminophen*. Judith E. Tintinalli GDK, J., Stapczynski S. New York, McGraw-Hill, 2004: 1088-1094.
11. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*, 2007, 7 (4): 355-359.
12. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *The American Society of Health-System Pharmacists*, 2006, 63: 1821-1827.
13. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, 332 : 411-415.
14. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyachi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isoforms predicted by three separate genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86: 2863-2867.
15. Edip T. Endothelium as an endocrine organ and role of endothelin in hypertension. *Erciyes Medical Journal*, 2004, 26: 126-131.
16. Gomez-Garre D, Guerra M, Gonzalez E, Lopez-Farre A, Riesco A, Caramelo C, Escanero J, Egido J. Aggregation of human polymorphonuclear leukocytes by endothelin: role of platelet-activating factor. *European Journal of Pharmacology*, 1992, 224: 167-172.
17. Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *Vascular Health and Risk Management*, 2007, 3: 887-900.

18. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, 2008, 11: 6-14.
19. Gandhi CR, Stephenson K, Olson MS. Endothelin, a potent peptide agonist in the liver. *The Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265: 17432-17435.
20. Helmy A, Jalan R, Newby DE, Johnston NR, Hayes PC, Webb DJ. Altered peripheral vascular responses to exogenous and endogenous endothelin-1 in patients with well-compensated cirrhosis. *Hepatology*, 2001, 33: 826-831.
21. Hocaoglu N, Kalkan S, Akgun A, Capar S, Tuncok Y. A retrospective evaluation of analgesic exposures from Izmir, Turkey. *Human & Experimental Toxicology*, 2007, 26: 629-636.
22. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical Toxicology*, 2005, 43: 105-109.
23. Lippman M RW. *Medical Emergencies*. In Dunagan WC RM. Boston, Little, Brown and Company, 483-514.
24. Junqueira LC CJ. *Basic Histology*, 10th ed. New York, McGraw Hill Companies Inc, 2003: 332-344.
25. Ross MH KG, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*, 4th ed. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 532-548.
26. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97: 439-445.
27. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, McCashland TM, Shakil AO, Hay JE, Hynan L, Crippin JS, Blei AT, Samuel G, Reisch J, Lee WM. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of Internal Medicine*, 2002, 137 : 947-954.

28. Lucke B, Mallory T. The Fulminant Form of Epidemic Hepatitis. *The American Journal of Pathology*, 1946, 22: 867-945.
29. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. *Progress in Liver Diseases*, 1970, 3: 282-298.
30. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Seminars in Liver Disease*, 1986, 6: 97-106.
31. Gimson AE, O'Grady J, Ede RJ, Portmann B, Williams R. Late onset hepatic failure: clinical, serological and histological features. *Hepatology*, 1986, 6: 288-294.
32. Steinberg JL, Yeo W, Zhong S, Chan JY, Tam JS, Chan PK, Leung NW, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation in patients undergoing cytotoxic chemotherapy for solid tumours: precore/core mutations may play an important role. *Journal of Medical Virology*, 2000, 60: 249-255.
33. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 2006, 12: 250-275.
34. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
35. Hawkins N, Golding J. A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1995, 40: 79-82.
36. Shahroor S, Shvil Y, Ohali M, Granot E. [Acetaminophen toxicity in children as a "therapeutic misadventure"]. *Harefuah*, 2000, 138: 654-657, 710.
37. Forrest JA, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical Pharmacokinetics*, 1982, 7: 93-107.
38. Kayaalp O. *Non-Steroidall Antiinflatuar ilaçlar*, 12. baskı. 2009: 1039-1042

39. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in Liver Disease*, 2007, 11: 525-548, vi.
40. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 185-194.
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 of the United States of America*, 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. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 195-202.
43. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 211-217.
44. 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.
45. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.
46. 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.
47. 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-77.



48. 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.
49. 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. *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2002, 8: BR496-503.
50. Botting RM. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2000, 31 Suppl 5: S202-210.
51. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *The FASEB journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2004, 18: 790-804.
52. Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yanez JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error? Not as easy as 1, 2, 3. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2004, 7: 217-226.
53. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 11. baskı. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti, 2005: 945-960.
54. Aaron CK HM. *Insecticides: Organophosphates and carbamates*, 6th ed. Goldfrank LR FN, Lewin NA. Appleton-Lange, 2000: 1429-1449.
55. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *An International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience*, 2005, 28: 227-240.
56. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*, 10th ed. New York, McGraw Hill Companies Inc, 2007 591-592.

57. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 11. baskı. Ankara, Hacettepe-Taş, 2005.
58. Arundel C, Lewis JH. Drug-induced liver disease in 2006. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2007, 23: 244-254.
59. Dargan PI JA. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2003, 24: 154-157.
60. James LP, Letzig L, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, Davern TJ, Lee WM. Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *The Biological Fate of Chemicals*, 2009, 37: 1779-1784.
61. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *The American Journal of Medicine*, 1991, 91: 131S-139S.
62. Hung O NL. *Acetaminophen*, 4th ed. Tintinalli JE KG, Stapczynski. ABD, Mc Graw Hill, 2000, 1125-1236.
63. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21: 1045-1050.
64. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 2003, 31: 1499-1506.
65. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1995, 133: 43-52.
66. Bourdi M, Masubuchi Y, Reilly TP, Amouzadeh HR, Martin JL, George JW, Shah AG, Pohl LR. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality

by interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology*, 2002, 35: 289-298.

67. Bourdi M, Reilly TP, Elkahloun AG, George JW, Pohl LR. Macrophage migration inhibitory factor in drug-induced liver injury: a role in susceptibility and stress responsiveness. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 294: 225-230.

68. Hogaboam CM, Bone-Larson CL, Steinhauser ML, Lukacs NW, Colletti LM, Simpson KJ, Strieter RM, Kunkel SL. Novel CXCR2-dependent liver regenerative qualities of ELR-containing CXC chemokines. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1999, 13: 1565-1574.

69. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicologic Pathology*, 1996, 24: 181-189.

70. Burcham PC, Harman AW. Acetaminophen toxicity results in site-specific mitochondrial damage in isolated mouse hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266: 5049-5054.

71. Harman AW, Kyle ME, Serroni A, Farber JL. The killing of cultured hepatocytes by N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) as a model of the cytotoxicity of acetaminophen. *Biochemical Pharmacology*, 1991, 41: 1111-1117.

72. Moore M, Thor H, Moore G, Nelson S, Moldeus P, Orrenius S. The toxicity of acetaminophen and N-acetyl-p-benzoquinone imine in isolated hepatocytes is associated with thiol depletion and increased cytosolic Ca<sup>2+</sup>. *The Journal of Biological Chemistry*, 1985, 260: 13035-13040.

73. Nazareth WM, Sethi JK, McLean AE. Effect of paracetamol on mitochondrial membrane function in rat liver slices. *Biochemical Pharmacology*, 1991, 42: 931-936.

74. Donnelly PJ, Walker RM, Racz WJ. Inhibition of mitochondrial respiration in vivo is an early event in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Archives of Toxicology*, 1994, 68 : 110-118.
75. Boobis AR, Seddon CE, Nasseri-Sina P, Davies DS. Evidence for a direct role of intracellular calcium in paracetamol toxicity. *Biochemical Pharmacology*, 1990, 39: 1277-1281.
76. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Seminars in Liver Disease*, 1990, 10: 267-278.
77. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Human & Experimental Toxicology*, 1992, 11: 265-270.
78. Sanaka M, Kuyama Y, Mineshita S, Qi J, Hanada Y, Enatsu I, Tanaka H, Makino H, Yamanaka M. Pharmacokinetic interaction between acetaminophen and lansoprazole. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1999, 29: 56-58.
79. Whitcomb DC, Block GD. Association of acetaminophen hepatotoxicity with fasting and ethanol use. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 1994, 272: 1845-1850.
80. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*, 1995, 22: 767-773.
81. Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 1980, 78 (2): 382-392.
82. Salgia AD, Kosnik SD. When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medicine*, 1999, 105: 81-84, 87, 90.

83. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006, 2: CD003328.
84. 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.
85. Burkhart KK, Janco N, Kulig KW, Rumack BH. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human & Experimental Toxicology*, 1995, 14: 299-304.
86. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.
87. Prescott LF MH. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1: 998.
88. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety : an International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience*, 2001, 24: 503-512.
89. Prescott LF. Treatment of severe acetaminophen poisoning with intravenous acetylcysteine. *Archives of Internal Medicine*, 1981, 141: 386-389.
90. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JA, Stewart MJ, Adam RD, Proudfoot AT. Intravenous N-acetylcystine: the treatment of choice for paracetamol poisoning. *British Medical Journal*, 1979, 2 : 1097-1100.
91. Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41 : 1179-1197.
92. Lynch RM, Robertson R. Anaphylactoid reactions to intravenous N-acetylcysteine: a prospective case controlled study. *Accident and Emergency Nursing*, 2004, 12 : 10-15.

93. O'Grady JG. Paracetamol-induced acute liver failure: prevention and management. *Journal of Hepatology*, 1997, 26 Suppl 1: 41-46.
94. Horowitz RS, Dart RC, Jarvie DR, Bearer CF, Gupta U. Placental transfer of N-acetylcysteine following human maternal acetaminophen toxicity. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology*, 1997, 35 : 447-451.
95. Riggs BS, Bronstein AC, Kulig K, Archer PG, Rumack BH. Acute acetaminophen overdose during pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*, 1989, 74 : 247-253.
96. Slattery JT, McRorie TI, Reynolds R, Kalthorn TF, Kharasch ED, Eddy AC. Lack of effect of cimetidine on acetaminophen disposition in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1989, 46 : 591-597.
97. McBride PV RB. Acetaminophen intoxication. *Seminars in Dialysis*, 1992, 5: 292-297.
98. Matthew H. Acute acetaminophen poisoning. *Clinical Toxicology*, 1973, 6 : 9-11.
99. Farmer DG, Anselmo DM, Ghobrial RM, Yersiz H, McDiarmid SV, Cao C, Weaver M, Figueroa J, Khan K, Vargas J, Saab S, Han S, Durazo F, Goldstein L, Holt C, Busuttil RW. Liver transplantation for fulminant hepatic failure: experience with more than 200 patients over a 17-year period. *Annals of Surgery*, 2003, 237 : 666-675; 675-666.
100. Barshes NR, Gay AN, Williams B, Patel AJ, Awad SS. Support for the acutely failing liver: a comprehensive review of historic and contemporary strategies. *Journal of the American College of Surgeons*, 2005, 201: 458-476.
101. Dargan PI, Jones AL. Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist. *Critical Care*, 2002, 6: 108-110.

102. Russo MW, Galanko JA, Shrestha R, Fried MW, Watkins P. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States. *Liver Transplantation*, 2004, 10: 1018-1023.
103. Harrison PM, O'Grady JG, Keays RT, Alexander GJ, Williams R. Serial prothrombin time as prognostic indicator in paracetamol induced fulminant hepatic failure. *British Medical Journal*, 1990, 301 : 964-966.
104. Bernal W, Wendon J, Rela M, Heaton N, Williams R. Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*, 1998, 27: 1050-1055.
105. Kido T, Sawamura T, Masaki T. The processing pathway of endothelin-1 production. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1998, 31: 13-15.
106. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell*, 1994, 78: 473-485.
107. Kitazumi K, Tasaka K. Thrombin-stimulated phosphorylation of myosin light chain and its possible involvement in endothelin-1 secretion from porcine aortic endothelial cells. *Biochemical Pharmacology*, 1992, 43: 1701-1709.
108. Woods M, Mitchell JA, Wood EG, Barker S, Walcot NR, Rees GM, Warner TD. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. *Molecular Pharmacology*, 1999, 55: 902-909.
109. Saijonmaa O, Ristimaki A, Fyhrquist F. Atrial natriuretic peptide, nitroglycerine, and nitroprusside reduce basal and stimulated endothelin production from cultured endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1990, 173: 514-520.

110. Wiley KE, Davenport AP. Nitric oxide-mediated modulation of the endothelin-1 signalling pathway in the human cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 132: 213-220.
111. Imai T, Hirata Y, Marumo F. Heparin inhibits endothelin-1 and proto-oncogene c-fos gene expression in cultured bovine endothelial cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1993, 22: 49-52.
112. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet*, 1999, 353 (9147): 133-138.
113. Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2008, 44: 14-30.
114. Jeffery TK, Morrell NW. Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 2002, 45: 173-202.
115. Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1989, 10: 374-378.
116. Serradeil-Le Gal C, Jouneaux C, Sanchez-Bueno A, Raufaste D, Roche B, Preaux AM, Maffrand JP, Cobbold PH, Hanoune J, Lotersztajn S. Endothelin action in rat liver. Receptors, free Ca<sup>2+</sup> oscillations, and activation of glycogenolysis. *The Journal of Clinical Investigation*, 1991, 87: 133-138.
117. Kawada N, Kuroki T, Kobayashi K, Inoue M, Kaneda K, Decker K. Action of endothelins on hepatic stellate cells. *Journal of Gastroenterology*, 1995, 30: 731-738.
118. Kawada N, Tran-Thi TA, Klein H, Decker K. The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 1993, 213: 815-823.



119. Pinzani M, Gentilini P. Biology of hepatic stellate cells and their possible relevance in the pathogenesis of portal hypertension in cirrhosis. *Seminars in Liver Disease*, 1999, 19: 397-410.
120. Pinzani M, Marra F, Carloni V. Signal transduction in hepatic stellate cells. *Liver*, 1998, 18: 2-13.
121. Rockey DC. Characterization of endothelin receptors mediating rat hepatic stellate cell contraction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1995, 207: 725-731.
122. Rockey DC, Weisiger RA. Endothelin induced contractility of stellate cells from normal and cirrhotic rat liver: implications for regulation of portal pressure and resistance. *Hepatology*, 1996, 24: 233-240.
123. Pinzani M, Milani S, De Franco R, Grappone C, Caligiuri A, Gentilini A, Tosti-Guerra C, Maggi M, Failli P, Ruocco C, Gentilini P. Endothelin 1 is overexpressed in human cirrhotic liver and exerts multiple effects on activated hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 1996, 110 : 534-548.
124. Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1992, 13: 103-108.
125. Marsault R, Feolde E, Frelin C. Receptor externalization determines sustained contractile responses to endothelin-1 in the rat aorta. *The American Journal of Physiology*, 1993, 264 : C687-693.
126. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1994, 199: 1461-1465.
127. Battistini B, Dussault P. Blocking of the endothelin system: the development of receptor antagonists. *Pulmonary Pharmacologic Therapeutics*, 1998, 11: 97-112.

128. Zhao YL, Zhou GD, Yang HB, Wang JB, Shan LM, Li RS, Xiao XH. Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49: 1705-1710.
129. 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.
130. Vatter H, Seifert V. Ambrisentan, a non-peptide endothelin receptor antagonist. *Cardiovascular Drug Reviews*, 2006, 24: 63-76.
131. Kuvandik G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvaci R, Koc A, Kozlu T, Kaya H, Sogut S. Effects of erdosteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicologic Pathology*, 2008, 36: 714-719.
132. Morris CD, Rose A, Curwen J, Hughes AM, Wilson DJ, Webb DJ. Specific inhibition of the endothelin A receptor with ZD4054: clinical and pre-clinical evidence. *British Journal of Cancer*, 2005, 92 : 2148-2152.
133. Bradbury RH, Bath C, Butlin RJ, Dennis M, Heys C, Hunt SJ, James R, Mortlock AA, Sumner NF, Tang EK, Telford B, Whiting E, Wilson C. New non-peptide endothelin-A receptor antagonists: synthesis, biological properties, and structure-activity relationships of 5-(dimethylamino)-N-pyridyl-, -N-pyrimidinyl-, -N-pyridazinyl-, and -N-pyrazinyl-1-naphthalene sulfonamides. *Journal of Medical Chemistry*, 1997, 40: 996-1004.
134. Siobal MS. Pulmonary vasodilators. *Respiratory Care*, 2007, 52: 885-899.
135. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF, Badesch DB, Roux S, Rainisio M, Bodin F, Rubin LJ. Effects of the dual endothelin-

receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study. *Lancet*, 2001, 358: 1119-1123.

136. Raiesdana A, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension. *Annals of Medicine*, 2006, 38: 95-110.

137. Weber C, Schmitt R, Birnboeck H, Hopfgartner G, Eggers H, Meyer J, van Marle S, Viischer HW, Jonkman JH. Multiple-dose pharmacokinetics, safety, and tolerability of bosentan, an endothelin receptor antagonist, in healthy male volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology*, 1999, 39: 703-714.

138. Weber C, Schmitt R, Birnboeck H, Hopfgartner G, van Marle SP, Peeters PA, Jonkman JH, Jones CR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the endothelin-receptor antagonist bosentan in healthy human subjects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1996, 60: 124-137.

139. Weber C, Banken L, Birnboeck H, Schulz R. Effect of the endothelin-receptor antagonist bosentan on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin. *Journal of Clinical Pharmacology*, 1999, 39: 847-854.

140. Dingemans J, van Giersbergen PL. Clinical pharmacology of bosentan, a dual endothelin receptor antagonist. *Clinical Pharmacokinetics*, 2004, 43: 1089-1115.

141. Ubeaud G, Schmitt C, Jaeck D, Lave T, Coassolo P. Bosentan, a new endothelin receptor antagonist: prediction of the systemic plasma clearance in man from combined in vivo and in vitro data. *Xenobiotica*, 1995, 25: 1381-1390.

142. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Leconte I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *The New England Journal of Medicine*, 2002, 346: 896-903.

143. Rubin LJ, Badesch DB. Evaluation and management of the patient with pulmonary arterial hypertension. *Annals of Internal Medicine*, 2005, 143: 282-292.

144. Murray RK GD, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*, USA, McGraw-Hill Press, 2000.
145. 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.
146. Ozdemir R, Parlakpinar 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.
147. 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.
148. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, 44: 393-397.
149. 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.
150. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of Food Science*, 2009, 74: H259-265.
151. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review : A Journal of Clinical Therapeutic*, 2000, 5: 467-471.
152. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in cells and thereby their biological state. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006, 41: 1338-1350.

153. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrome c reduction by a variety of electron carriers. *The Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245: 1374-1377.
154. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 416-420.
155. Gupta SK, Saxena A, Singh U, Arya DS. Bosentan, the mixed ETA-ETB endothelin receptor antagonist, attenuated oxidative stress after experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2005, 275: 67-74.
156. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*, 2006, 43: S31-44.
157. Sun WY, Wei W, Gui SY, Wu L, Wang H. Protective effect of extract from *Paeonia lactiflora* and *Astragalus membranaceus* against liver injury induced by bacillus Calmette-Guerin and lipopolysaccharide in mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2008, 103: 143-149.
158. Satoh M, Yamazaki M. Tumor necrosis factor stimulates DNA synthesis of mouse hepatocytes in primary culture and is suppressed by transforming growth factor beta and interleukin 6. *Journal of Cellular Physiology*, 1992, 150: 134-139.
159. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Bruccoleri A, Blazka ME, Yucesoy B, Matheson JM. The role of tumor necrosis factor alpha in chemical-induced hepatotoxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 919: 214-220.
160. Akerman P, Cote P, Yang SQ, McClain C, Nelson S, Bagby GJ, Diehl AM. Antibodies to tumor necrosis factor-alpha inhibit liver regeneration after partial hepatectomy. *The American Journal of Physiology*, 1992, 263: 579-585.

161. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 89 : 217-219.
162. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil in male Wistar rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1998, 53: 223-229.
163. Gyamlani GG, Parikh CR. Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. *Critical Care*, 2002, 6 : 155-159.
164. Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology Letters*, 2003, 144 : 279-288.
165. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *American Family Physician*, 2005, 71 : 1105-1110.
166. Manda K BAL. Role of  $\beta$ -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*, 2003, 23: 1097-1103.
167. Ahmed MB, Khater MR. Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 75: 169-174.
168. Farber JL, Gerson RJ. Mechanisms of cell injury with hepatotoxic chemicals. *Pharmacological Reviews*, 1984, 36 : 71S-75S.
169. Goodman AG. *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6th ed. Flowe RJ MS, Vane JR, USA, Macmillian Publishing co, 1980: 701-705.
170. Kayaalp OS. Non Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 10. baskı. Ankara, Hacetepe-Tas kitapçılık, 2002: 973-974.

171. Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Chen L, Yang C, Inouye M. Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274 : 10349-10355.
172. Nelson SD, Tirmenstein MA, Rashed MS, Myers TG. Acetaminophen and protein thiol modification. *Clinical Chemistry*, 1991, 283: 579-588.
173. Poulsen HE, Thomsen P. Long-term administration of toxic doses of paracetamol (acetaminophen) to rats. *Liver*, 1988, 8: 151-156.
174. Smith GS, Nadig DE, Kokoska ER, Solomon H, Tiniakos DG, Miller TA. Role of neutrophils in hepatotoxicity induced by oral acetaminophen administration in rats. *The Journal of Surgical Research*, 1998, 80: 252-258.
175. Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Bouchier-Hayes D. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2001, 280: G1274-1279.
176. Anundi I, Lahteenmaki T, Rundgren M, Moldeus P, Lindros KO. Zonation of acetaminophen metabolism and cytochrome P450 2E1-mediated toxicity studied in isolated periportal and perivenous hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 1993, 45: 1251-1259.
177. Fakurazi S, Hairuszah I, Nanthini U. Moringa oleifera Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 2611-2615.
178. Ko YJ, Hsieh WT, Wu YW, Lin WC. Ameliorative effect of Silene aprica on liver injuries induced by carbon tetrachloride and acetaminophen. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2002, 30: 235-243.
179. Zanatta CM, Veronese FV, Loreto Mda S, Sortica DA, Carpio VN, Eldeweiss MI, da Silva VD, Lopes TG, Gross JL, Canani LH. Endothelin-1 and endothelin a

receptor immunoreactivity is increased in patients with diabetic nephropathy. *Renal Failure*, 2012, 34: 308-315.

180. Wendel M, Petzold A, Koslowski R, Kasper M, Augstein A, Knels L, Bleyl JU, Koch T. Localization of endothelin receptors in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat. *Histochemistry and Cell Biology*, 2004, 122: 507-517.

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

182. 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.

183. 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.

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

185. Cheng TH, Shih NL, Chen CH, Lin H, Liu JC, Chao HH, Liou JY, Chen YL, Tsai HW, Chen YS, Cheng CF, Chen JJ. Role of mitogen-activated protein kinase pathway in reactive oxygen species-mediated endothelin-1-induced beta-myosin heavy chain gene expression and cardiomyocyte hypertrophy. *Journal of Biomedical Science*, 2005, 12: 123-133.



186. Ruetten H, Thiernemann C. Endothelin-1 stimulates the biosynthesis of tumour necrosis factor in macrophages: ET-receptors, signal transduction and inhibition by dexamethasone. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 1997, 48: 675-688.
187. Conte Fde P, Barja-Fidalgo C, Verri WA, Jr., Cunha FQ, Rae GA, Penido C, Henriques MG. Endothelins modulate inflammatory reaction in zymosan-induced arthritis: participation of LTB<sub>4</sub>, TNF- $\alpha$ , and CXCL-1. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008, 84: 652-660.
188. Donate PB, Cunha TM, Verri WA, Jr., Junta CM, Lima FO, Vieira SM, Peres RS, Bombonato-Prado KF, Louzada P, Jr., Ferreira SH, Donadi EA, Passos GA, Cunha FQ. Bosentan, an endothelin receptor antagonist, ameliorates collagen-induced arthritis: the role of TNF- $\alpha$  in the induction of endothelin system genes. *Inflammation Research*, 2012, 61: 337-348.
189. Gamze K, Mehmet HM, Deveci F, Turgut T, Ilhan F, Ozercan I. Effect of bosentan on the production of proinflammatory cytokines in a rat model of emphysema. *Experimental & Molecular Medicine*, 2007, 39: 614-620.

## **EKLER**

### **EK-1: ÖZGEÇMİŞ**

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>	
Adı Soyadı	: MUHAMMED YAYLA
Doğum Tarihi	: 01.01.1991
Doğum Yeri	: KONYA
Medeni Hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, 25240 / ERZURUM
Telefon	: 05342105042
E-posta	: muhammed.yayla@atauni.edu.tr
<b>EĞİTİM</b>	
Lise	: RİZE LİSESİ (2006)
Lisans	: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ (2010) : ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ EĞİTİM FAKÜLTESİ BİYOLOJİ FORMASYONU(2010) : ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ(2007-)
<b>YABANCI DİL BİLGİSİ</b>	
İngilizce	: Orta derecede (ÜDS 58.750, Ekim 2011)
<b>İLGİ ALANLARI, HOBİLER</b>	
Bilgisayar ve Bilgisayar programları, Yüzme, Futbol, Kort tenis, Boks, Seyahat	

# EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU ONAY BELGESİ



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

Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-112  
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

26.10.2011  
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

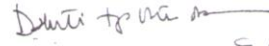
İlgi : 30.09.2011 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.02/4541 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının, Farmakoloji ve Histoloji Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Bosentan'ın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.10.2011 tarih ve 10 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 65 no'lu kararı ile araştırmanın Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

  
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER  
Başkan

Prof.Dr. S.Seiçuk ATA-MANALP  
Dekan



03 Kasım 2011

5105  
32.11.2011

Toplantı Tarihi : 26.10.2011

Toplantı Sayısı : 10

**KARAR NÖ** : 65- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının, Farmakoloji ve Histoloji Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Bosentan'ın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 30.09.2011 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.02/4541 sayılı yazıları ile ekleri görüşüldü.

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

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Kampus/ERZURUM

Telefon : 0-442-236 08 80

Fax : 0-442-236 08 81

e-mail: hadyek@atauni.edu.tr

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




T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı : B.30.2.ATA.0.AL/00.00/-1209  
Konu : Etik Kurul

11 MAY 2012

Sayın: Muhammed YAYLA

Etik Kurul Bilimsel Araştırma ve Tez Başvuru Formları hakkında Enstitümüz Etik Kurulunun almış olduğu 08.05.2012 tarih ve "2012.2.18 numaralı kararı ekte sunulmuştur. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

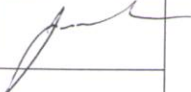
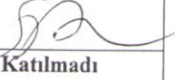
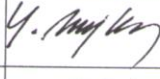
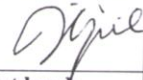


  
Prof. Dr. Fonda BAYINDIR  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Etik Kurul Başkanı

EK: 1 Adet Karar

Dahili TLF : 0-442-231 4885-4886-4887-4891-4894-4895  
HARİCİ TLF : 0 442 - 236 09 70  
FAX : 0-442 - 236 09 69  
E-mail:sagbilenst@atauni.edu.tr  
Enstitüler Binası Kat : 1 25240 ERZURUM

**“2012. 2. 18 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 08.05.2012**

2/18-Enstitümüz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Muhammed YAYLA' nın “ **Bosentan' ın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksikitesi 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 DİYARBAKIR	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	