

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

Ecz. Irmak FERAH

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zekai HALICI**

Yüksek Lisans Tezi-2012

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

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

Ecz. Irmak FERAH

Farmakoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Zekai HALICI

ERZURUM

2012

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

İNFLİKSİMAB'IN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT
KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ecz.Irmak FERAH

Tez Savunma Tarihi : 14.08.2012

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

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

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Yasin BAYIR (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

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Zehirlenmeler	4
2.2. Parasetamol	6
2.2.1.1. Tarihçe.....	6
2.2.2. Farmakolojik Özellikler	7
2.2.3. Farmakokinetik ve Metabolizma	9
2.2.4. Toksik Etkiler.....	10
2.3. Parasetamol Toksisitesi	12
2.3.1. Akut Karaciğer Yetmezliği	12
2.3.2. Klinik Bulgular	13
2.3.3. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi	16
2.3.3.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu	17
2.3.3.2. Aktif Kömür ve Oral N-Asetil Sistein.....	17
2.3.3.3. N-Asetil Sistein.....	19
2.3.3.4. Metionin	21
2.3.3.5. Simetidin	21
2.3.3.6. Diğer ilaçlar	22
2.3.3.7. Karaciğer Transplantasyonu	23
2.4. Serbest Radikaller	24
2.4.1. Serbest Radikallerin Etkileri	25
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	26
2.5.1. Eksojen Antioksidanlar	26
2.5.2. Endojen Antioksidanlar	27
2.6. Sitokinler	28
2.6.1. Sitokinlerin Sınıflandırılması	30

2.6.2. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)	31
2.6.3. Karaciğer Toksisitesinde TNF- α	34
2.7. İnflksimab.....	36
2.7.1. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması	36
2.7.2. Farmakolojik Özellikleri	37
2.7.3. Farmakokinetik ve Metabolizma	38
2.7.4. Yan Etkiler	38
3. MATERYAL VE METOT	40
3.1. Materyal.....	40
3.1.1. Deney Hayvanları	40
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	41
3.2. Metot.....	42
3.2.1. Deney Planı	42
3.2.2. Histolojik Çalışmalar	43
3.2.2.1. Işık Mikroskopik İşlemler	43
3.2.3. İmmunohistokimyasal Çalışma.....	45
3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar	46
3.2.4.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler	46
3.2.4.2. Serumda yapılan analizler	50
3.3. İstatistiksel Analiz.....	53
4. BULGULAR	54
4.1. Histopatolojik Bulgular	54
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	56
4.3. Biyokimyasal Bulgular	58
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR.....	77
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	104
EK-2. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURUL ONAY FORMU	105
EK-3. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU	106

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Eğitimim boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, beni ileriki meslek yaşantıma eksiksiz olarak hazırlamak için büyük uğraş veren, bilgi, deneyim ve enerjisi ile her zaman yanımda olan öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, danışmanım ve hocam Sayın Doç. Dr. Zekai HALICI'ya tez çalışmam boyunca sağladığı sonsuz destek için teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgilerinden yararlandığım, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatma GÖÇER, Anabilim Dalı öğretim üyeleri kıymetli hocalarım Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN, Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi Dekanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fatih AKÇAY ve Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Elif ÇADIRCI nezdinde bütün Eczacılık Fakültesi öğretim üyeleri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında aradığım her an yanımda olan hocalarım Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Yrd. Doç. Dr. Yasin BAYIR ve tüm asistan arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana her zaman destek olan anneme ve babama çalışmamın ilk aşamasından itibaren her zaman bana destek oldukları için çok teşekkür ederim.

ÖZET

İnflksimabın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi

Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç. Parasetamol supratherapötik dozlarda kullanıldığında hepatotoksisiteye neden olur. Kupffer hücrelerinden salgılanan TNF- α , hücre proliferasyonu, diğer inflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve karaciğer toksisitesi sürecinde önemli mediyatörlerden biridir. Bu bilgiler ışığında bir anti-TNF- α monoklonal antikor olan inflksimabın yüksek doz parasetamol ile oluşturulan hepatotoksisite üzerine koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak belirlemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot. Çalışmamızda 56 adet Sprague Dawley cinsi dişi rat; I: Sağlıklı, II: Parasetamol (PARA) 2 g/kg, III: N-asetil sistein (NAC) 140 mg/kg+PARA 2 g/kg, IV: İnflksimab (IFX) 3mg/kg+PARA 2 g/kg, V: IFX 5 mg/kg+PARA 2 g/kg, VI: IFX 7 mg/kg+PARA 2 g/kg, VII: IFX 7 mg/kg, VIII: NAC 140 mg/kg olmak üzere 8 eşit gruba ayrıldı. Tüm gruplardan 24 saat sonra alınan doku ve kan örneklerinde biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

Bulgular. Yapılan histopatolojik incelemede, zehirlenme grubunda ortaya çıkan patolojik değişikliklerinin IFX ve NAC tedavi gruplarında belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. Parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulmuş grupta AST ve ALT değerlerinin ve TNF- α seviyesinin anlamlı şekilde yükseldiği, IFX ile tedavi edilen gruplarda ise; AST, ALT ve TNF- α serum seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Bu azalış miktarı, IFX 7 mg/kg+PARA 2g/kg grubunda diğer tedavi grupları ile karşılaştırıldığında daha fazlaydı. Doku düzeyinde yapılan değerlendirmelerde de parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulmuş grupta GSH ve SOD seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü ve MDA seviyesinin anlamlı şekilde yükseldiği, IFX ile tedavi edilen

gruaplarda ise; GSH ve SOD seviyesinin anlamlı olarak yükseldiği ve MDA seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi.

Sonuç. Sonuç olarak; yüksek doz parasetamolün neden olduğu hepatotoksisitenin önlenmesinde infliksimabın tedavi edici etkisinin olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterildi. Bu sonuç, klinikte görülen parasetamol zehirlenmesinde infliksimab kullanılabileceği konusunda umut verici olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hepatotoksisite, infliksimab, karaciğer, parasetamol, rat, TNF-.

ABSTRACT

Investigation on Effects of Infliximab on Paracetamol Induced Acute Liver Toxicity

Aim. Supratherapeutic doses of paracetamol causes hepatotoxicity. TNF- α which is secreted by kupffer cells is one of the important mediators in cell proliferation, production of the other inflammatory mediators and liver toxicity proces. In the light of these knowledge we aimed to determine the protective effects of infliximab, anti TNF- α monoclonal antibody, on paracetamol induced hepatotoxicity biochemically and histopathologically.

Material and Method. In our study 56 adult female Sprague Dawley rats were divided equally into 8 groups as I: Healthy, II: Paracetamol (PARA) 2 g/kg, III: N-acetyl cysteine (NAC) 140 mg/kg +PARA 2 g/kg, IV: Infliximab (IFX) 3 mg/kg +PARA 2 g/kg, V: IFX 5 mg/kg +PARA 2 g/kg, VI: IFX 7 mg/kg +PARA 2 g/kg, VII: IFX 7 mg/kg and VIII: NAC 140 mg/kg. After 24 hours the tissue and blood samples were collected for biochemical and histopathological examinations.

Results. In the histopathological examination, the pathological changes in NAC and IFX groups were significantly decreased when compared within toxication group. In intoxication group; AST, ALT and TNF- α levels were statistically higher than those of groups treated with IFX. The decrease was more evident in IFX 7 mg/kg+PARA 2g/kg group when compared with other groups. In the biochemical analyses on liver tissue GSH and SOD levels were significantly decreased and MDA levels were significantly increased in intoxication group, while GSH and SOD levels were significantly increased, MDA levels were significantly decreased in rats treated with IFX.

Conclusion. Therapeutic effects of infliximab on paracetamol induced hepatotoxicity has been shown biochemically and histopathologically. This is a promising result suggesting potential clinical usage of infliximab in paracetamol toxicity.

Key Words: Hepatotoxicity, infliximab, liver, paracetamol, rat, TNF- α .

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin-difosfat
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
APAP	: Asetaminofen
AST	: Aspartat amino transferaz
ATP	: Adenozin-trifosfat
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetraklorür
CMC	: Karboksimetil Selüloz
COX	: Siklooksijenaz
CYP	: Sitokrom
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GSH	: Glutasyon
IL	: İnterlökin
IFN	: İnterferon
IFX	: İnfliksimab
INR	: Uluslararası Düzeltme Oranı
MDA	: Malondialdehit
NAC	: N-asetil sistein
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
NHAMCS	: The National Hospital Ambulatory Medical Care Survey
NSAII	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PT	: Protrombin zamanı
PTF	: Pentoksifilin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
TNF	: Tümör nekrotizan faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parasetamolün kimyasal yapısı.....	7
Şekil 4.1. Karaciğer örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler.....	55
Şekil 4.2. Karaciğer örneklerinden elde edilen immunohistokimyasal ışık mikroskopik kesitler.....	57
Şekil 4.3. Gruplara göre serum ALT düzeylerinin karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.4. Gruplara göre serum AST düzeylerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 4.5. Gruplara göre sıçan plazmasındaki TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması....	61
Şekil 4.6. Gruplara göre karaciğer dokusundaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması....	63
Şekil 4.7. Gruplara göre karaciğer dokusundaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması....	63
Şekil 4.8. Gruplara göre karaciğer dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması...64	

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deney Planı.....	43
Tablo 4.1. Ortalama ALT, AST ve TNF- α seviyeleri.....	58
Tablo 4.2. Ortalama SOD, GSH ve MDA seviyeleri.....	62

1. GİRİŞ

Parasetamol terapötik dozlarda alındığında çok az yan etkileri olan ve dünya çapında yaygın olarak kullanılan ağrı kesici ve ateş düşürücü bir ilaçtır. Tek bir bileşik olarak ya da diğer ilaçlarla kombine bir şekilde reçetesiz tezgâh üstü veya reçeteli olarak satılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA)'ne göre parasetamol içeren 479 ilaçtan 235 tanesinin aktif onayı bulunmakta olup 214 tanesi reçete ile 21 tanesi ise reçetesiz olarak (OTC) satılmaktadır. Parasetamol tüketimi dünya çapında hızla artmaktadır. İngiltere, ABD, Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde kişi başına düşen yıllık tüketim 8 gramdan az olmasına rağmen bazı gelişmiş ülkelerde bu oran kişi başı 20 gramdan fazladır.^{1, 2} İngiltere’de 1967/68 yılında yılda 1500 milyon (500 mg tablet) olan parasetamol tüketimi 1993/94 yılında 4000 milyon tablete çıkmıştır.¹ 2000 yılında bu rakam 3500 milyondur (500 mg tablet).³ Asetaminofen ya da APAP olarak da bilinen parasetamol ABD’de en yaygın olarak kullanılan ilaçlardan biridir. IMS Health'den alınan verilere göre 2008 yılında yaklaşık 24.6 milyar doz parasetamol satılmıştır.⁴ Son veriler parasetamolün 2004 ve 2008 yılları arasında piyasa satışlarında %28’lik büyüme ile sadece 2008 yılında yaklaşık 2.6 milyar dolara yaklaşan satış yakaladığını göstermiştir.

Bu kadar sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması toksisite riskini de doğal olarak artırmaktadır. Parasetamol tedavi edici dozlarda tüketilmesi durumunda makul bir güvenlik profiline sahiptir fakat supratherapötik dozlarda kullanıldığında (bilerek ya da yanlışlıkla yutulması ile) ciddi hepatotoksisiteye ve hatta ölümcül karaciğer yetmezliğine neden olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde akut viral hepatitler akut karaciğer yetmezliğinin ana nedeni olsa da; ABD ve İngiltere’de parasetamol toksisitesi akut karaciğer yetmezliğinin en sık görülen nedenidir.⁵⁻⁹ Parasetamol 10 g/gün üzerindeki dozlarda hepatotoksisiteye neden olsa da, tavsiye

edilen günlük maksimum 4 g dozunda da toksisite rapor edilmiştir.¹⁰⁻¹² Parasetamol toksisitesinin ilaçla indüklenen hepatotoksisiteye veya daha ağır ve fatal seyreden akut hepatik hasara neden olduğu ilk olarak 1960'ların başında gösterilmiştir.¹³ Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Derneği'nden alınan raporlara göre 2008 yılında yüksek dozda parasetamol alımı sonucu yaklaşık olarak 27.790 kişi acil servise başvurmuş, bunlardan 13.650'si hastaneye yatırılmış ve 43'ü de ölmüştür.¹⁴ 2009 yılının raporuna göre ise 28.210 kişi acil servise başvurmuş, 14.026'sı hastaneye yatırılmış ve 51 kişi ölmüştür.¹⁵ Parasetamole bağlı karaciğer toksisitesi intihar kastı ile veya kaza ile gelişebilir. NHAMCS'ın (National Hospital Ambulatory Medical Care Survey) raporuna göre 2000-2006 yılları arasında görülen yılda ortalama 42.329 parasetamol toksisitesi vakasının % 51.7'si kaza ile olmuşken % 45.9'u intihar vakasıdır. Ocak 2011'de FDA, yüksek doz parasetamol alımı sonucu oluşan ciddi karaciğer hasarı riskini azaltmak için ilaç üreticilerinden reçeteli parasetamol ürünlerindeki parasetamol miktarına tablet, kapsül veya diğer dozaj birimi başına 325 mg ile sınırlama getirmiştir.¹⁶

Parasetamol maruziyeti sonrası meydana gelen karaciğer hücre disfonksiyonu ve hücre ölümü, doğal ve adaptif immün cevaplar da dahil olmak üzere immünolojik reaksiyonları tetikler. Hepatosit stres ve/veya hasar kupffer hücreleri, doğal öldürücü hücreler ve doğal öldürücü T hücreleri gibi özellikle doğal immün sisteminin hücreleri olmak üzere diğer hücrelerin aktivasyonunu stimüle eden sinyallerin salınımına neden olur.¹⁷ Kupffer hücreleri prostaglandinler, interlökin (IL), tümör nekrozis faktör (TNF) ve değişik sitokinler olmak üzere çeşitli faktörler salgırlar. Kupffer hücrelerinden salgılanan TNF- α , hücre proliferasyonu, diğer inflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve programlanmış hücre ölümü de dahil olmak üzere bir dizi hücre sel yanıtı uyarır.¹⁸ Kupffer hücrelerinden salgılanan TNF- α direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden

olur, lökosit adherens ve aktivasyonunu provake eder, hepatosit ve kupffer hücrelerinden IL-8 üretimini stimule ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. İlaçla indüklenen karaciğer hasarı sırasında üretilen TNF- α , IFN- γ ve IL- β gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin doku hasarının ilerlemesine katkıda buldukları kanıtlanmıştır.¹⁹⁻²¹ Bu mekanizmalara ek olarak deneysel olarak birçok yeni çalışma literatürde mevcut olup, her geçen gün bir yenisi eklenmektedir. Parasetamol toksisitesinde hem yeni eklenen mekanizmalar hem de yeni tedavi protokolleri gerek klinik gerekse deneysel olarak çalışılmaktadır.

Bu bilgiler ışığında biz bu çalışmada TNF- α 'nın önemli rolü olduğunu düşündüğümüz yüksek doz parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde, anti-TNF- α monoklonal antikoru olan infliksimabın koruyucu etkisinin olup olmadığını biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelemeyi ve infliksimabın muhtemel koruyucu etkisini standart tedavi olarak bilinen NAC ile kıyaslamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zehirlenmeler

Zehirlenmenin tarihi insanlık tarihi kadar eskidir. M.Ö. 400 yıllarında yazıldığı sanılan Ebers papirüslerinde pek çok zehirle (katran ağacı, akonit, opium, kurşun, bakır) ilgili bilgi bulunmaktadır. Hipokrat da kitabında zehirlerden ve bunların tedavisinden söz etmektedir. Zehirlenme bir maddenin vücut için zararlı olacak miktarının değişik yollarla vücuda girmesi sonucu organizmanın doğal işleyişinin bozulması olarak tanımlanmıştır. Tıbbi toksikoloji bilimindeki gelişmelere karşın, acil tıp uygulamalarında zehirlenme vakaları hala önemini korumaktadır. Zehirlenmelerde ölüm çoğunlukla akut olarak ortaya çıkmaktadır. Zehirlenmelere bağlı olarak gözlenen bazı belirti ve bulgulardan organlarda işlev bozukluklarına çok sık rastlanmaktadır ve hatta ölümle sonuçlanan klinik tablolar da mevcuttur.

Acil servislere yapılan başvuruların önemli bir bölümünü zehirlenmeler oluşturmaktadır.²² ABD Ulusal Entoksikasyon Merkezi'nin 2005 yılına ilişkin verilerine göre, ABD'de yılda tahmini 2.3 milyon kişinin zehirlendiği ve zehirlenen kişilerin %60'ının 6 yaşından küçük olduğu belirtilmiştir.²³ Türkiye'de yapılan bir araştırmada ise acil servislere başvuran hastaların %59.6'sının ilaç zehirlenmeleri olduğu, bunların ise %43'ünün ağrı kesici ilaç kullanımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir.²⁴ Zehirlenme vakalarının %98'i akut zehirlenme vakası olup, %92'sinin evde gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu vakalardan %88'inin kaza olduğu ve %10'unun intihar ve/veya kötü amaçlı ilaç kullanımı sonucu ortaya çıktığı saptanmıştır.²⁵⁻²⁷

İlaçlar, endüstri, tarım ve diğer iş kollarında çalışanların maruz kaldığı çeşitli kimyasal bileşikler, evlerde temizlik ve bakım için kullanılan maddeler, insanda akut ve bazen de kronik zehirlenmelere neden olabilirler.²⁴ Bu ürünlerin giderek artan tüketimi ve bunların rastgele çevreye dağılmasıyla, özellikle 5 yaş altı çocuklarda akut

zehirlenmelere sık rastlanmaktadır. Yapılan istatistiklere göre çocuklardaki zehirlenmelerin nedenlerinin başında (%80) rastgele bırakılan ilaçlar ve kimyasallar gelmektedir.^{23, 25, 27}

Acil servise gelen zehirlenme vakalarının birçoğunda, zehirin tipi ve alınan dozun miktarı tam olarak bilinmediği ve ilk başlarda belirti görülmediği için, hastalar bir süre yatırılıp gözetim altında tutulduktan sonra, destek tedavisi ve tıbbi gözetimle taburcu edilmektedir.²⁷⁻²⁹ Hâlbuki zehirli mantarlar, trisiklik antidepresanlar, parakuat gibi birçok toksik madde etkisini geç dönemde gösterebilmektedir. Akut zehirlenmelerde acil klinik girişimin yanısıra, neden olan zehirin tanısının hızla konulması da çok önemlidir.²⁷ Acil servise gelen zehirlenmiş hastalardan alınan öykü ve maruz kalınan maddenin belirlenmesi ve klinik bulgulara göre uygulanacak destek tedavisi ve semptomatik tedavi başlangıçta büyük önem taşımaktadır. Zehirin tipi ve miktarı saptandıktan sonra tedavi uygulanması, özellikle ağır zehirlenmelerde mortalite ve morbidite riskini büyük ölçüde azaltmaktadır. Yanlış ya da eksik öykülerin çoğu kez ölümle sonuçlanan istenmeyen sonuçlara yol açabileceği unutulmamalıdır. Zehirlenme olduktan sonra tedaviye başlama süresi ne kadar kısa olursa ve hekim doğru bir şekilde bilgilendirilip zehirlenme etkenine göre tedavi uygulanırsa tedavide başarı şansı o oranda artar. Özellikle çocuklarda açıklanamayan belirtilerin bulunması durumunda zehirlenme akla gelmelidir ve zehirlenmenin ayırıcı tanısı yapılmalıdır.²²

Zehirlenme yapan etkenlerin oldukça az bir kısmına karşı spesifik antidot bulunmaktadır. Bundan dolayı zehirlenme olgularının birçoğunda genel tedavi yöntemlerinin uygulanması ve semptomatik tedavi yapılması zorunluluğu vardır.³⁰ Spesifik antidotlar bazı ilaçların toksik etkilerini nötralize etme veya önlemede kullanılabilirler.²⁴

2.2. Parasetamol

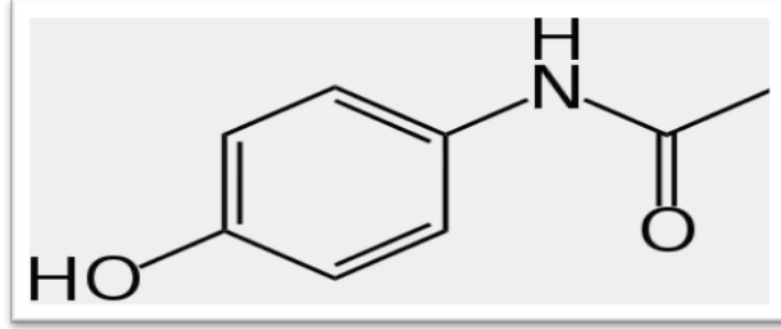
Asetaminofen ve N-Asetil-P-aminofenol (APAP) olarak da bilinen parasetamol yaygın bir şekilde kullanılan antipiretik ve analjezik bir ilaçtır.³¹ Baş ağrısı, migren, menstruasyon sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nevralji, nevrit, siyatik, lumbago, adale ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit, cerrahi operasyonlar veya yaralanmalara bağlı ağrılarda kullanılır.

2.2.1.1. Tarihçe

İlk çağlarda ve orta çağda halk arasında ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak çeşitli bitkilerden faydalanılmaktaydı. Söğüt ağacı kabuğu ortaçağda halk arasında ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılan geleneksel tedavi yöntemi idi. Daha sonra 17. yüzyıldan itibaren kınakına ağacı da aynı amaçlar için kullanıldı. Kınakına ağacı 1880'lerde zor bulunur hale gelince alternatif ilaçlar aranmaya başlandı ve parasetamol ilk kez 1873 yılında Harmon Northrop Morse tarafından sentezlendi.³² Yine antipiretik ajan olan asetanilid 1886'da ve fenasetin ise 1887'de geliştirildi. Fenasetin ve parasetamol 1887'de Von Mering tarafından klinikte kullanıldı.³³ Fakat fenasetinden daha toksik olduğu düşünüldüğü için parasetamol uzun bir süre kullanılmadı. Brodie ve Axelrod 1948 yılında parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirdiler.³⁴ Fenasetinin ise methemoglobinemi ve analjezik nefropatiye yol açması 1950'lerde parasetamolün "yeniden keşfine" yol açtı ve parasetamol nefrotoksitesisi nedeniyle "mahkûm" olan fenasetinin yerine ABD'de 1955'de ağrı kesici ve analjezik olarak "Tylenol" ticari adı ile pazarlandı. 1956 yılında da İngiltere'de 'Panadol' ticari adı ile piyasaya sürüldü. 1958'de ise çocuklar için hazırlanan formu 'Panadol elixir' kullanıma girdi. Sonraki yıllarda ise yan etkisi az olan bir analjezik olarak büyük popülarite kazandı.

2.2.2. Farmakolojik Özellikler

Parasetamol, non-steroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) grubu ilaçlardan fenasetinin etkin metabolitlerinden biri olan para-aminofenol türevidir. 4-hydroxyacetanilide veya *N*-acetyl-*p*-aminophenol olarak da bilinir.



Şekil 2.1. Parasetamolün kimyasal yapısı

Güçlü analjezik ve antipiretik etkiye sahip olmasına rağmen parasetamol çok az anti-inflamatuvar etki gösterdiği için genellikle NSAİİ'ler içerisinde anılmaz.

Parasetamol beyaz, kokusuz, hafif acı bir tadı olan kristal toz yapısındadır. Metanol ve etanol gibi organik çözücülerde çözünür fakat suda ve eterde az çözünür. Doymuş çözeltisinin pH aralığı 5.5-6.5 arasındadır. Fakat asidik ve alkali ortamlarda kararlılığı azalır ve yavaşça asetik asit ve *p*-aminofenole dönüşür.³⁵

Saf parasetamolün kimyasal ve fiziksel özellikleri

- (a) Tanım: Beyaz kristal toz³⁶
- (b) Erime noktası: 170 °C³⁷
- (c) Yoğunluk: 1.293 g/cm³ 21 °C'de³⁷
- (d) Çözünürlük: Suda çözünmez; etanolde çok iyi çözünür.³⁷

Parasetamol santral etkili bir ilaçtır. Sinir sisteminde selektif olarak siklooksijenazı (COX) ve prostaglandin sentezini inhibe eder. Benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak hipotalamus ve omurilik gibi peroksitlerden fakir ortamda,

prostaglandin sentezini inhibe edebilir; antipiretik ve analjezik etkilerinin, sırasıyla hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları inhibe etmesi santral analjezik etkisinde rol oynar. Antitrombotik etkinliği zayıftır; kanama süresini değiştirmez.³⁸

Köpek beyinde belirlenen, COX-1'in variantı olan COX-3'ün parasetamol inhibisyonuna duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. Fakat yine de bu variantın insan beyinde olup olmadığı veya inhibisyonunun parasetamolün insanlardaki etkinliğiyle ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir.³⁹⁻⁴¹ Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksitten zengin ortamda siklooksijenazı inhibe edememesi de antiinflamatuvar etkisinin olmamasını açıklayabilir.

Parasetamol yaklaşık olarak aspirin ile eşit derecede analjezik etki yapar. Antipiretik etkisi de onununkine yakın güçtedir; fakat aspirinden farklı olarak antiinflamatuvar etkinliği oldukça düşüktür ve bu tür etkinlik gerektiren endikasyonlarda kullanılmaz. Ancak antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini artırmak için onlarla birlikte kullanılabilir. Parasetamolün solunum, kardiyovasküler sistem ve asit baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Midede irritasyon ve kanama yapmaz. Protrombin sentezini pek etkilemez. Plazma proteinlerine fazla bağlanmaz. Aspirinin aksine oral antikoagülanlarla belirgin bir etkileşme göstermez.³⁸

Parasetamol hafif-orta dereceli baş ağrısı, miyalji, doğum sonrası ağrı gibi ve aspirinin etkili olduğu diğer durumlarda kullanılır. Parasetamol tek başına romatoid artrit gibi inflamatuvar bir hastalıkta yetersiz olsa da diğer antiinflamatuvar ajanlarla birlikte ek tedavi olarak kullanılabilir. Hafif analjezi için salisilatların gastrointestinal rahatsızlıklara veya alerjik reaksiyonlara yol açtığı durumlarda parasetamol tercih edilen ilaçtır. Hemofili veya peptik ülser öyküsü olan hastalarda ve aspirin alımından sonra

akut bronkospazm gelişen hastalarda parasetamol tercih edilir. Aspirinden farklı olarak ürik asit ıtrahını etkilemez ve ürikozürük ilaçların etkinliğini azaltmaz ve gut tedavisinde probenesid ile birlikte kullanılabilir. Viral enfeksiyonu olan çocuklarda aspirine tercih edilir.⁴²

2.2.3. Farmakokinetik ve Metabolizma

Oral yoldan alındığında parasetamol mükemmel bir biyoyararlanıma sahiptir, çabuk absorbe edilir ve etkisi erken başlar. Doruk plazma konsantrasyonuna 30 ile 60 dakika içinde erişir. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Olağan dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2.4 saattir; non-lineer eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle aşırı dozda 7.3 saate kadar çıkabilir. Gastrointestinal toksisitesinin düşüklüğü nedeniyle tam dozda, antiinflamatuvar analjeziklerin düşük dozları ile kombine edilebilir.³⁸

Parasetamol bütün vücut sıvılarına nispeten eşit olarak dağılır. Plazma proteinlerine bağlanması değişiklik gösterir fakat diğer NSAİİ'lerden daha azdır, sadece akut zehirlenme sırasında karşılaşılan konsantrasyonlarda %20 ile %50 oranında bağlanır. Parasetamolün terapötik serum konsantrasyonu yaklaşık 10-20 µg/mL'dir.

İlacın yaklaşık %2'si direkt olarak atılır. Geri kalanı yaklaşık %90-95 oranında 24 saat içerisinde %60'ı glukuronik asitle, %35'i sülfirik asitle ve yaklaşık %3'ü sisteinle konjuge edilmiş olarak idrarla atılır. Çok az miktarda da hidrosillenmiş ve deasetillenmiş metabolitleri atılır. Parasetamol küçük bir oranda sitokrom aracılı N-hidroksilasyona uğrar ve son derece reaktif bir ara ürün olan N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI)'i oluşturur. Bu metabolit normalde glutatyondaki (GSH) sülfidril gruplarıyla reaksiyona girer ve böylece zararsız hale getirilebilir ve merkaptürik asit ve sistein konjugatları olarak idrarla atılır. Ancak, yüksek dozlarda parasetamol alımından sonra,

bu metabolit hızla oluşmaya devam edip hepatik GSH deposunu tüketir ve yüksek dozda görülen toksik etkilerin oluşmasına neden olur.⁴³

Parasetamol erişkinlere ve adölesanlara ağızdan 500-1000 mg dozunda verilir, gerekirse bu doz 4-6 saatte bir tekrarlanır, günlük en yüksek dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkoliklerde doz azaltılmalıdır. Yukarıda belirtilen dozda self-medikasyon için 5-10 günden fazla kullanılması tavsiye edilmez. Çocuklarda, hepatotoksisite potansiyeli daha düşük olduğu için kg başına verilen doz daha yüksektir; bir defada 10 mg/kg dozunda verilebilir, 6-12 yaşlar arasında bir defalık dozun 20-30 mg/kg'a çıkartılabileceği Dünya Sağlık Örgütü'nün bir yayınında bildirilmiştir.⁴⁴ Absorpsiyonu besinler tarafından azaltılır bu yüzden parasetamol yemek sırasında veya yemekten hemen sonra alınırsa biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır bu yüzden aç karnına alınması önerilir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir.^{44, 45}

2.2.4. Toksik Etkiler

Terapötik dozlarda alındığında karaciğer enzimlerinde hafif bir artışa yol açabilir fakat bu durum geri dönüşümlü olup ilaç kesilince ortadan kalkar. Yüksek dozlarda baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğu yapabilir. Olağan doz alımını takiben karaciğer hasarı olmadan böbreklerin zarar gördüğü nadir de olsa bazı vakalara rastlanmıştır. Hemolitik anemi ve methemoglobinemi çok nadir görülen advers olaylardır.⁴⁵ Deride döküntü ve kaşıntı ve benzeri alerjik reaksiyonlar ara sıra meydana gelir. Döküntüler genellikle eritematöz ya da ürtikeryaldir ama bazen de daha ciddi olabilir, ilaç ateşi ve mukozal lezyonlar ile birlikte bulunabilir. Nadiren nötropeni, trombositopeni ve pansitopeniye neden olabilir. Renal tübüler nekroz ve hipoglisemik koma da nadiren gözlenen toksik etkilerdendir.⁴³

Parasetamol aşırı dozda alındığında öldürücü akut karaciğer nekrozu yaptığı bilinen az sayıdaki ilaçlardan biridir ve ilaca bağlı fatal akut karaciğer nekrozu olgularının en başta gelen nedenidir. Karaciğer hasarının ilk 24 saat içerisinde görülen erken dönem belirtileri bulantı, kusma ve karın ağrısıdır. Sarılık ve diğer karaciğer yetmezliği belirtileri 2-3 gün sonra ortaya çıkmaya başlar. Tek dozda 10 g veya daha fazla dozda alındığında belirgin akut karaciğer nekrozu oluşur. Tek dozda 20 g üzerinde alınması durumunda ise ölümlü sonuçlanma olasılığı artar. Günde 5-8 g dozunda birkaç hafta alınmışsa da karaciğer nekrozu ve onu takiben ölüm yapabilir.³⁸

Burada hepatotoksik etken, parasetamolden karaciğerde oluşan bir oksidasyon ürünü olan NAPQI'dir.⁴⁴ NAPQI hücrel proteinler ile kovalent bağlar oluşturabilir, bu proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Bu hücrel bozukluklar, kalsiyum ATPaz aktivitesinde azalmaya yol açar ve sitozolik kalsiyum düzeylerinde artışa yol açar. Hücrel kalsiyum homeostazının bozulması, hücrenin geçirgenliğini değiştirebilir ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir.^{46, 47}

Parasetamol küçük bir oranda sitokrom (CYP) aracılı N-hidroksilasyona uğrar ve son derece reaktif bir ara ürün olan NAPQI'i oluşturur. Bu metabolit normalde GSH'daki sülfidril gruplarıyla reaksiyona girer ve böylece zararsız hale getirilebilir ve merkaptirik asit ve sistein konjugatları olarak idrarla atılır. Ancak, yüksek dozlarda parasetamol alımından sonra, bu metabolit hızla oluşmaya devam edip hepatik GSH deposunu tüketir ve yüksek dozda görülen toksik etkilerin oluşmasına neden olur.⁴³ Parasetamolün yüksek dozda alınması sonrasında; NAPQI miktarında aşırı artış olur ve NAPQI detoksifikasyon kapasitesinin dışında kalır. Bu durumda, glutatyon açığa çıkan fazla miktardaki NAPQI molekülünü bağlayamaz. Serbest haldeki NAPQI, karaciğerdeki diğer büyük çaplı moleküllere kovalent şekilde bağlanarak karaciğer dokusunda hasarlanmaya yol açar bu hasar hepatik nekrozla sonuçlanır.⁴⁸ Histolojik

olarak hepatik nekrozun en fazla P450-MFO (karma fonksiyonlu oksidaz sistemi) aktivitesinin görüldüğü sentrilobüler bölgede oluştuğu bildirilmiştir.⁴⁹

Hepatik, mitokondriyal solunum inhibisyonunda parasetamol ve toksik metaboliti olan NAPQI'nın etkileri olduğu düşünülmektedir. NAPQI'nın bazı karaciğer hücrelerine kovalent olarak bağlanması ile hepatik mitokondriyal solunumun inhibisyonu gerçekleştiği ve oluşan bu fonksiyonel yetersizliğin, hasar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁵⁰ Ayrıca NAPQI'nın NADH fonksiyonunu ve süksinat dehidrogenaz fonksiyonunu da inhibe ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.⁵¹ Yüksek doz parasetamole bağlı karaciğer toksisitesinde homeostasin bozulmasının da etkili olduğu düşünülmektedir.⁵² Hücre içi dengenin bozulması sonucu hücre içi Ca^{+2} birikir ve kalsiyum artışı ile hücre ölümüne neden olan katabolik enzimlerde artış görülür. Nitrik oksit, reaktif oksijenler, lipid peroksidasyonu ve apoptozisin de karaciğer toksisitesinde önemli rolü olduğu bilinmektedir.^{50, 53} Ayrıca peroksinitrit türleri ve protein nitratlarının patofizyolojide önemli rol oynadığı kabul edilmektedir.⁵⁴ Karaciğerdeki GSH depolarının besin eksikliği veya alkol bağımlılığı gibi sebepler dolayısıyla tükenmesi, zehirlenmeyi kolaylaştırır. Kötü beslenme alışkanlığı olan kişilerde ve alkoliklerde, toksik dozdan daha düşük dozların alınması bile toksik etkilerin ortaya çıkmasına yol açabilir.^{55, 56}

2.3. Parasetamol Toksisitesi

2.3.1. Akut Karaciğer Yetmezliği

Akut karaciğer yetersizliği, önceden herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur.

2.3.2. Klinik Bulgular

Akut karaciğer yetmezliğinin klinik belirtileri değişkenlik gösterir, hafif gastrointestinal bozukluktan, halsizlik ve konfüzyona kadar uzanan geniş bir aralığı vardır.^{57, 58} Akut karaciğer yetmezliği tanısı için hasta anamnezi çok önemlidir. Fiziksel muayene kronik karaciğer yetmezliği ve ensefalopati varlığını saptayıp değerlendirmek için faydalıdır. Ayrıca fiziksel muayene karaciğer hasarının altta yatan sebepleri hakkında ipuçları sunabilir.⁵⁹⁻⁶³ Akut karaciğer yetmezliği başlangıçta nonspesifik semptomlarla kendini gösterir. Bu semptomlar bulantı kusma ve halsizlik gibi semptomlardır. Bilirubin eliminasyonu bozulur; bu da sarılık şeklinde kendini gösterir. Buna ek olarak, pıhtılaşma faktörlerinin azalmış sentezi ve aşırı tüketimi kompleks koagulopatiye neden olur. Azalmış glikoz sentezi, intraselüler laktat üretiminin artışı ve laktatın karaciğere alımının azalması hipoglisemiye ve metabolik asidoza neden olur. Bu hipoglisemi bozulmuş glukoneogenezin ve dolaşımdaki artmış insülinin bir göstergesidir. Akut karaciğer yetmezliğine sahip hastaların %30 ila 40'ında böbrek fonksiyon bozukluğu ve bununla ilişkili olarak azotemi ve oligüri görülür. 24 saat içerisinde hipoglisemi gelişir.^{64, 65}

Nörolojik durum hızla değişebildiğinden ve hasta komaya kadar gidebileceğinden hastanın mental durumu dikkatli bir şekilde gözlenmeli ve değerlendirilmelidir. Serum bilirubin düzeyleri ilk başlarda düşüktür bu nedenle sarılık ilk başlarda belirgin olmayabilir. Çünkü hastada karaciğer hasarı olmasına rağmen karaciğer fonksiyonları korunmuş olabileceği için bilirubin seviyesi yükselmeyebilir. Karaciğer metabolizmasının yetersizliği nedeniyle serum bilirubin seviyesi daha sonra yükselir. Abdominal muayenede karında hassasiyet gözlenebilir. Hepatositlerin yıkımı hücrel komponentlerin dolaşıma geçmesine neden olur ve aspartat amino transferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviyelerinin yükselmesi kaçınılmazdır.

Alkalem fosfataz (ALP) seviyesinde daha az bir artış görülür. Total bilirubin seviyesi 4 mg/dL düzeyine ulaşır. Protrombin zamanı (PT) ve Uluslararası Düzeltme Oranı (INR) seviyelerindeki belirgin artışla ciddi koagülasyon bozuklukları gözlenir. Karaciğer biyopsisi yapılırsa, histolojik sonuçlar steatoz ve hafif inflamatuvar infiltrat olmadan geniş sentrizonal nekroz gösterir.⁶⁶

Bilirubin ve ALP seviyesindeki orantısız artış, safra kanalları düzeyindeki karaciğer hasarını gösterir. Akut karaciğer yetmezliği multisistemiktir ve nörolojik bozukluk, hematolojik bozukluklar ve metabolik bozukluklar ile ilişkili olabilir.^{57, 67}

Akut parasetamol toksisitesinin klinik bulguları alımından itibaren zamana dayalı olarak 4 aşamaya ayrılabilir.

1. Evre (0-24 saat): İştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, genel kırıklık ve terleme görülür. Laboratuvar sonuçları (karaciğer fonksiyon testleri gibi) normaldir veya değerler minimum düzeyde bozulmuştur.⁶⁸

2. Evre (24-72 saat): Karaciğer hasarı belirgin hale gelmiştir. Semptomlar geçici olarak iyileşmiştir fakat karaciğer tansaminazlarında yükselmeler meydana gelir, bilirubin seviyesi artar ve PT uzar. Hepatomegali görülebilir. Sağ kadranda ağrı başlar ve bu evrenin sonlarına doğru sarılık görülür.

3. Evre (72-96 saat veya daha uzun): Hepatotoksisite pik yapar ve karaciğer enzimlerindeki seviyeleri pik yapar. Gastrointestinal semptomlar yeniden başlar veya daha da kötüleşir. Bu belirtilere halsizlik, sarılık ve konfüzyon, uyku hali veya koma gibi santral sinir sistemi semptomları eşlik eder. Hepatoselüler hasar ve ölüm en sık bu aşamada gözlenir. Karaciğer fonksiyon testleri maksimum seviyelerine ulaşır.^{10, 69} Şiddetli koagulopati olabilir bundan dolayı kanama riski çok yüksektir. Şiddetli hepatoksisitesi olan hastaların % 25'inde ve akut karaciğer yetmezliği olanların %

50'sinden fazlasında akut tübüler nekroz ve dehidrasyondan dolayı akut böbrek yetmezliği görülebilir.

4. Evre (96 saatten 14 güne kadar): İyileşme bu evrede gözlenir. Semptomların çözülmesi ve karaciğer fonksiyon enzimlerinin yavaş yavaş düzelmesi gözlenir. 3 ay içerisinde karaciğer normal yapısına döner.^{10, 69, 70}

Akut karaciğer toksisitesi gelişen hastalardan %70'i 4. faza girer ve tamamen iyileşir. Parasetamol zehirlenmesinde tedavi edilmeyen hastaların %1-2'si ölümcül karaciğer yetmezliğine girer. Doz aşımında herhangi bir müdahale yapılmazsa 4-18 gün içerisinde ölüm meydana gelir.^{66, 69, 71}

Yüksek doz parasetamol alan hastaların yaklaşık yarısında metabolik asidoz gözlenir. İlk 15 saat içerisinde laktik asit metabolizmasının inhibisyonuyla ve daha sonra karaciğer fonksiyonunun daha da kötüleşip laktik asidin hepatik klerensinin bozulmasıyla metabolik asidoz meydana gelir.⁶⁴ Metabolik asidozun dışında hipofosfatemi, hipoglisemi gibi metabolik bozukluklar gözlenir. Genelde parasetamol doz aşımında hepatoksisite olsa da olmasa da hipofosfatemi bir işarettir. Hipofosfateminin derecesi doz aşımı hakkında bilgi verir.^{64, 72}

Yüksek doz parasetamol alan hastalarda, alımdan 4-24 saat sonra kandaki parasetamol seviyesi ölçülebilir. Toksite riski Rumack-Matthew nomogramı ile gösterilebilir. 1975'te geliştirilen bu nomogram sayesinde parasetamol alımından sonra geçen saatler ve serum parasetamol düzeyini baz alarak toksisite riski tahmin edilir.⁷³ Zehirlenme teşhisinde en etkili yol kandaki parasetamol seviyesine bakmaktır.

Klinik Bulgu Parametreleri

AST: Eski adı Glutamik Oksalasetik Transaminaz, sistemik adı Aspartat Amino Transaminaz'dır. AST'nin esas olarak iki tane izoenzimi vardır. Bunlardan anyonik olan ilki hücrenin sitoplazmasında yer alırken, katyonik olan ikinci enzim mitokondrisinde

bulunur.⁷⁴ Karaciğer dokusundaki AST aktivitesinin yaklaşık %40-60'ı mitokondrilerde bulunduğundan AST mitokondriye kadar varan hücre dejenerasyonlarının belirleyicisidir.⁷⁴⁻⁷⁷ AST kalp ve iskelet kası gibi karaciğer dışındaki diğer dokularda da fazla miktarda bulunduğundan hepatoselüler hasarın spesifik bir belirleyicisi değildir. Bu dokularda meydana gelen hücre dejenerasyonlarında AST'nin serumdaki konsantrasyonlarında artışlar meydana gelir.

ALT: Eski adı Glutamik Pirüvik Asit Transaminaz, sistemik adı Alanin Amino Transferaz (ALT)'dir. Karaciğere özgü olan ALT hücrenin sitoplazmasında bulunur ve serum ALT aktivitesindeki artış AST'ye göre hepatoselüler hasarın çok daha iyi bir göstergesidir. Karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmede en çok kullanılan test ALT'dir.^{74, 76, 78}

2.3.3. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

Bütün zehirlenmelerin tedavisinde olduğu gibi parasetamol zehirlenmesinde de öncelikle hastanın havayolu açıklığının sağlanması, solunum ve dolaşım fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve desteklenmesi gerekir. Daha sonra gastrik dekontaminasyon, aktif kömür, barsak irrigasyonu, antidot ve eliminasyon gibi tedavi uygulamaları değerlendirilir.⁴⁹ Gastrointestinal dekontaminasyon özellikle şüpheli ek ilaçlar için yapılabilir. Benzer şekilde eğer hastane laboratuvarı alım sonrası 8 saat içinde parasetamol düzeyini belirleyebilirse klinisyen bunun belirlenmesi için beklemeli ve NAC tedavisinin gerekliliğini belirlemek için ölçülen düzeyi nomogram üzerinde değerlendirmelidir. Aksi halde NAC'ın ilk dozu (eğer mümkünse parasetamol alımının 8 saati içinde) ampirik şekilde uygulanmalıdır. Parasetamol düzeyi belirlendiğinde bu değer ek NAC tedavisinin gerekliliğini belirlemek için nomogram üzerinde değerlendirilmelidir. Son olarak parasetamol alımının zamanı bilinmeyen hastalar için ya da 24 saatten fazla zaman geçen hastalar için klinisyen gastrointestinal

dekontaminasyonun gerekli olup olmadığını göz önüne almalıdır. Serum parasetamol düzeyi ve karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT) değerlendirilmelidir. Ölçülebilen bir serum parasetamol düzeyi hastanın hepatotoksisite gelişimi açısından risk altında olabileceğinden şüphelendirir. Zehirlenme durumu serum parasetamol konsantrasyonu ölçülerek değerlendirilebilir. Alımdan 4 saat sonra seviye 150-200 µg/mL üzerindeyse karaciğer yetmezliği riski büyüktür. Benzer şekilde yükselmiş AST ve ALT enzimleri devam eden hepatik toksisite olasılığından şüphelendirir. NAC tedavisine ihtiyaç duyan tüm hastalar tedavi tamamlanana kadar hastaneye yatırılmalıdırlar.⁷⁹

2.3.3.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu

Gastrointestinal (GİS) dekontaminasyon toksikolojide en tartışmalı konulardan birisidir. Parasetamol zehirlenmesinde ilk olarak barsak dekontaminasyonu akla gelse de rutin kullanımı tavsiye edilmemektedir. İpeka şurubunun intoksikasyondan sonra 1 saat içerisinde uygulanması durumunda etkinliğin oldukça azaldığını gösteren yayınlar vardır. 1 saati geçmişse gastrik lavaj yapılır.⁸⁰⁻⁸² Ayrıca ipeka şurubunun oluşturacağı kusma nedeniyle oral asetil sistein verilecek hastalarda kullanımı kontrendikedir. İntoksikasyonlu olgularda GİS dekontaminasyonunun faydalı olduğunu gösteren çalışma yoktur. Kullanılması tavsiye edilmemektedir.^{83, 84} Katartiklerin de tedavide bir yeri yoktur. Tam barsak irrigasyonu da rutin olarak tavsiye edilmez, ancak uzun süreli salınımlı ve enterik kaplı ilaçlarla olan intoksikasyonlar için uygulanabileceği ifade edilmektedir.

2.3.3.2. Aktif Kömür ve Oral N-Asetil Sistein

Parasetamol aldığı bilinen hastalarda 4 saat içerisinde aktif kömür verilmesi, NAC tedavisinden bile öncelikli ilk basamak tedavi olarak tavsiye edilir.^{57, 85} Gastrik lavaj, ipeka şurubu ve oral aktif kömür tedavisini karşılaştıran 20 kişilik bir çalışma aktif kömürün parasetamol seviyesini diğer girişimlere göre daha büyük oranda

düşürdüğünü göstermiştir.⁸⁶ Oral aktif kömür 1 g/kg dozunda verilir. Aktif kömür ancak ilk 4 saatte verilmesi durumunda faydalıdır ve parasetamol absorpsiyonunu engeller. Son çalışmalar aktif kömürün parasetamolün yüksek doz alımından sonraki ilk bir saatte uygulanmasını desteklemektedir.^{87, 88} Bazı görüşler aktif kömürün N-asetilsistein'in absorpsiyonunu azaltarak onun antidotal etkinliğini azalttığını ileri sürmektedir. Fakat yapılan hayvan deneylerine göre ve retrospektif klinik çalışmalara göre; aktif kömür ve NAC kombine tedavisi, tek başına NAC tedavisine göre eşit veya daha fazla etkilidir.

Spiller ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma, aktif kömürün oral alınan asetilsisteinin emilimini azalttığı hipotezini desteklememiştir. 122 hasta üzerinde yapılan çalışmada hastalara ilk 16 saat içinde 72 saatlik oral asetilsistein tedavisi başlanılmıştır. Bir gruba sadece 140 mg/kg yükleme dozu, ikinci gruba aynı doz asetilsistein ve aktif kömür, üçüncü gruba 235 mg/kg yükleme dozu ve aktif kömür verilmiştir. İlk grupta %25 hepatotoksisite gelişirken, ikinci grupta %4.9 hepatotoksisite geliştiği, yüksek doz asetilsistein verilen grupta ek bir fayda sağlanmadığı, aktif kömür ve oral asetilsistein verilme aralığının 2 saatten az ya da fazla olmasının sonuçları ciddi olarak etkilemediği görülmüştür.⁸⁹ Ekins ve Chamberlein çalışmalarında aktif kömürün asetilsistein absorpsiyonunu azalttığını ve birlikte kullanılacaksa asetilsisteinin %40 oranında daha yüksek dozda kullanılmasını önermişlerdir.^{90, 91} Fakat son yıllarda yapılan 97.960 akut parasetamol zehirlenme vakasının dahil olduğu retrospektif bir çalışmaya göre NAC tedavisine ek olarak aktif kömür verildiğinde karaciğer hasarı oluşan hasta sayısı ve ölümler oranı azalmıştır.⁹² Parasetamol zehirlenmesi ile gelen hastalarda yapılan çalışmalarda mide lavajı sonrası aktif kömür vermekle, tek başına aktif kömür verme arasında fark bulunamamıştır. Sadece bir çalışmada mide lavajı sonrası aktif kömür vermenin faydalı olacağı bildirilmiştir.⁸⁸

2.3.3.3. N-Asetil Sistein

NAC; L-sisteinin amino grubuna asetil eklenmesiyle oluşan bir amino asit türevidir. Daha çok sülfidril grubu içermesi ve çözünürlüğünün daha iyi olması nedeniyle klinikte sıklıkla kullanılan formdur. İlk olarak 1960'larda mukolitik bir ajan olarak tanımlanmıştır, akut parasetamol zehirlenmesinde koruyucu etkileri daha sonraları ortaya çıkarılmıştır.^{93,94}

NAC öncelikle bronşitli ve kistik fibrozisli hastalarda, pnömoni, sinüzit tedavisi, kronik obstrüktif akciğer hastalığında (KOAH) mukolitik ilaç olarak ve parasetamol başta olmak üzere çeşitli ilaçların oluşturduğu hepatotoksisitede antidot olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ağır metal zehirlenmelerinin tedavisinde, siklofosamid ve diğer kemoteropatik ajanların neden olduğu hemorajik sistit tedavisinde ve romatoid artrit tedavilerinde yer almaktadır.^{93, 95} Sjögren Sendromu'nda, influenza, hepatit C, AIDS ve myoklonik epilepside de kullanılabileceği gösterilmiştir.⁹⁴ NAC GSH'ın membran ve hücre iskeleti bütünlüğünün sağlanması, protein ve nükleik asit biyosentezi ve enzim aktivitesinin düzenlenmesi gibi çeşitli kritik fizyolojik olaylara katılmaktadır.^{96,97} Dolayısıyla NAC, hücre içi GSH miktarını artırarak veya potansiyel toksik ajanlar ile doğrudan reaksiyona girerek spontan konjugasyon ve/veya redüksiyon ile hücresel bütünlüğü koruyabilir.^{96, 98, 99} NAC hücreye girdikten sonra bir GSH prekürsörü olan sisteine metabolize olur. Parasetamol toksisitesinin tedavisi ya da önlenmesi için ana dayanak NAC tedavisidir ve toksik doz parasetamol alımında seçkin antidot olarak bilinmektedir.¹⁰⁰ Oral NAC 1985'de, intravenöz NAC ise 2004'de parasetamolün aşırı alımı sonrası karaciğer hasarını azaltmak için FDA tarafından onaylanmıştır.^{101, 102} NAC'ın birkaç koruyucu mekanizma aracılığı ile etki ettiği zannedilmektedir. Hepatik toksisiteden sorumlu olan NAPQI'nın detoksifikasyonu için GSH'nun yüksek konsantrasyonlarına ihtiyaç vardır ve NAC'ın GSH miktarını artırarak

NAPQI ile direkt olarak bağlanmasını sağladığı veya NAPQI oluşumunu önlediği düşünülmektedir. NAC sülfat prekürsörü olarak da rol oynar ve parasetamolün sülfat konjugasyonunu artırarak, sülfat konjugasyon yolunun doymasını önler.^{49, 103} NAC aynı zamanda pozitif inotropik etkilere sahiptir ve antiinflamatuvar ve antioksidan olarak fonksiyon gösterir. NAC lokal nitrik oksit (NO) konsantrasyonunu artırır ve mikrosirkülatuar kan akımı üzerinde yaptığı bu vazodilatör etki ile periferel dokulara lokal oksijen dağılımını artırır. Bu mikrovasküler etkiler sayesinde belirlenmiş hepatotoksisite olsa bile mortalite ve morbiditede bir azalma görülür. Eğer tedaviye parasetamol alımından sonraki 8 saat içinde başlanmışsa NAC hepatotoksisite gelişimini önlemede neredeyse %100 etkilidir. NAC tedavisinin başlangıcı 8 saatten daha fazla gecikmişse hepatotoksisite gelişme riski artar. Ancak parasetamol alımından sonra 24 saat geçse dahi, NAC tedavisi başlandığında normale göre daha düşük bir hepatotoksisite riski vardır. Akut alımı takiben antidodal tedaviye başlama kararı serum parasetamol konsantrasyonuna bağlıdır. Rumack-Matthew nomogramı yardımıyla alımdan sonra geçen zaman ve parasetamol konsantrasyonu karşılaştırılır, antidodal tedavi için karar verilebilir. Nomogram kronik alımları değerlendirmede kullanılmaz. Kronik bir alımı takiben tedavi kararı hepatik transaminaz düzeylerine, parasetamol konsantrasyonuna ve klinik bulgulara bağlıdır.¹⁰¹

NAC'ın oral olarak 100-600 mg'lık dozunun verilmesinden sonra, emilimi oldukça hızlıdır. İntravenöz uygulamalardan sonra eliminasyon yarı ömrü 2-6 saattir ve dozun %20-30'u değişmeden idrarla atılır.⁹³ NAC oral alımı takiben hızlıca absorbe olan sülfidril grupları içeren bir bileşiktir. Karaciğerde deasetile edilir ve disülfid protein peptidaz ile birleşir. Zirve plazma seviyesine yaklaşık bir saatte ulaşır. Biyoyararlılığı %4-10 olmasına rağmen NAC'ın oral uygulanımı klinik olarak etkilidir.¹⁰⁴ NAC relatif

şekilde düşük bir dağılım hacmine sahiptir (0.5 L/kg) ve proteinlere %83 oranında bağlanır.

NAC'ın yan etkileri

İntravenöz NAC oral doz kadar etkin olduğu halde daha fazla bir yan etki profiline sahiptir. Bu yan etkilerin en belirginini anaflaktoid reaksiyondur. Burada kızarıklık, ürtiker, kaşıntı, bronkospazm, anjioödem, hipotansiyon ve taşikardi bulunabilir. Bu reaksiyonların yaklaşık olarak %1'inin ciddi olmasına rağmen çoğu hafiftir, semptomatik olarak tedavi edilmelidirler. Astmatik hastalar diğer hastalara göre, yan etkilere daha fazla eğilimlidirler. Astmatik hastalarda NAC'a bağlı gelişen bronkospazm, lokal histamin salınımına ya da allerjen taşıflaksinin inhibisyonuna bağlı olarak gelişebilir.^{79, 103, 105, 106}

2.3.3.4. Metionin

Metionin de parasetamol zehirlenmesinde etkili ilaçlardan biridir.¹⁰⁷⁻¹¹¹ Metionin transsülfürasyon yolağının prekürsörüdür ve bu yolağın son ürünü GSH'dır. Hücre içi GSH'ın yenilenmesi ile etkili olur.¹¹² Oral olarak kullanılır. Hastaya oral aktif kömür verilirse veya hastanın kusmaları varsa etkinliği azalır. NAC gibi diğer hücre koruyucu mekanizmalarda rol oynar. NAC tedavisinde olduğu gibi metionin tedavisinde de parasetamol alımından sonra on saati geçmişse etkinliği azalır.⁹³

2.3.3.5. Simetidin

Parasetamol intoksikasyonunda simetidin koruyucu rolü yıllardır tartışmalıdır. Toksik metabolit olan NAPQI'nın oluşumunu P450 izoenzimlerinin direkt olarak inhibisyonu yoluyla azaltır ve hepatotoksisitenin daha az olması beklenir. Yapılan çalışmalarda bu etkisi gösterilmiştir.^{95, 113} 1997 yılında yapılan bir çalışmada NAC ve simetidin birlikte kullanılmış ve her iki ilacın da hepatoprotektif özelliklerinin arttığı ve aditif etki gösterdikleri görülmüştür.¹¹⁴ Başka çalışmalarda da simetidin NAC'a

alternatif olarak kullanılabilceği desteklenmiştir.¹¹⁵ Fakat rutin (klinik) uygulamada simetidin bir çok ilaçla istenmeyen farmakokinetik etkileşme göstermesi nedeniyle artık pek kullanılmamaktadır ve Türkiye’de müstahzarı bulunmamaktadır.¹¹⁶

2.3.3.6. Diğer ilaçlar

Alternatif antidot tedavisinde kullanılmak üzere araştırılan bir diğer madde olan metirapon 300 mg/kg dozunda farelere verildiğinde parasetamolun hepatotoksik etkisini ortadan kaldırmakla birlikte kortizol üretimini azalttığı için kullanılmamaktadır. Geliştirilen hayvan modelleri ile araştırılan maddelerden bir başkası ise fruktozdur. Sıçan, fare, hamster karaciğer kesitlerinde, izole hepatositlerde, doku kültürlerinde, mitokondri ve mikrozomda yapılan çalışmalar fruktozun parasetamolün oluşturduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu olduğunu ortaya koymuştur. Bu koruyucu mekanizma fruktozun glikolitik adenozin-trifosfat (ATP) sağlamasına bağlıdır. Parasetamol toksitesinin hücre ölümüne neden olan mekanizmasındaki bir kademenin de mitokondriyal fonksiyonların yetmezliği olduğu bilindiğinden, fruktozun glikolitik substrat olma özelliği yetmezliği önleyerek hücre ölümünü engellemektedir. Buna bağlı artan ATP konsantrasyonu ve ATP/ADP oranının değişmesi kompanzasyonu sağlamaktadır. Hücre hasarının gelişmesindeki önemli etkenlerden birinin de ATP düzeyindeki düşüş olduğu düşünülmektedir. Düşük ATP düzeyi kalsiyum pompasına gereken enerjiyi sağlayamadığından hücre içi Ca⁺² düzeyinde artış olabilir. Bu da ikincil olarak membran fosfolipidlerinin parçalanmasına neden olan fosfolipazları aktive edebilir.¹¹⁷

1973 yılında Mitchell ve arkadaşları çalışmalarında GSH’ın tükenmesi ve parasetamol metabolitlerinin hepatik proteinleri arillemesinin hepatotoksik etkinin oluşmasındaki iki önemli faktör olduğunu ortaya koymuşlardır.¹¹⁸ Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar hepatik GSH tüketiminin ve de kovalent bağlanmanın tek başlarına

hasarı oluşturmada etken olmadıklarını, hücre içi Ca^{+2} dengesindeki değişimlerin hasar oluşturmada temel mekanizma olduğunu ileri sürmektedirler. Bu nedenle Ca^{+2} kanal blokerleri parasetamolün oluşturacağı karaciğer hasarını önlemek amacı ile kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla London ve arkadaşları çalışmalarında CCl_4 (karbon tetraklorür), tiyasetamid veya parasetamole maruz kalan sıçanlarda karaciğer harabiyetinin nifedipin veya klorpromazin verilerek önlendiğini göstermişlerdir. Ca^{+2} kanal blokerlerini hem maruziyetten önce hem de sonra uygulamışlardır.¹¹⁹

Farelerle yapılan çalışmaların ilk bulguları parasetamol alımını izleyen 9 saat içinde de diltiazemin koruyuculuğunu sürdürdüğünü ortaya koymuşlardır. Bu etkinin Ca^{+2} 'a bağlı hem parankimal hem de parankimal olmayan hücrelerde sağlanan blokajdan olduğu düşünülmektedir.¹²⁰ Diltiazem hem endotelial hücre konsantrasyonunu hem de kupffer hücrelerinin aktivasyonunu inhibe edebilir, böylece parasetamol toksisitesine neden olduğu varsayılan oksijen radikallerinin de açığa çıkması en aza indirgenebilmektedir.

2.3.3.7. Karaciğer Transplantasyonu

Akut karaciğer yetmezliği geliştiği takdirde, genel destek tedavisi uygulamalarının yanında karaciğer transplantasyonu için de hazırlıkların başlaması gerekmektedir. Komada olan hastalar mutlaka yoğun bakım ünitelerinde takip ve tedavi edilmelidir. Ensefalopati için, laktuloz ve neomisin sülfat verilmeli ve protein kısıtlanmalıdır. İleri karaciğer yetmezliğindeki hastalar karaciğer transplantasyon adaylarıdır, bu hastalarda intrakranial basınç takibi serebral ödem ve herniasyonun yol açacağı hasarı önlemek için yapılmalıdır. Eğer invazif bir girişim gerekiyorsa veya aktif bir kanama olursa, koagulopati taze donmuş plazma ile tedavi edilmelidir. Hipoglisemi, enfeksiyon, elektrolit bozuklukları ve gastrointestinal kanama için tetikte olunmalıdır.¹²¹ Parasetamol aşırı dozunda karaciğer

transplantasyonunu düşündürecek kriterler asidoz şiddetine, koma derecesine, PT uzunluğuna ve serum kreatin düzeylerinin yükselmesine bağlıdır. Eğer transplantasyona karar verildiyse biran önce yapılmalıdır. Karaciğer transplantasyonunda 1 yıl sonunda yaşam oranı %65 olarak bildirilmiştir.¹²²

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Stabil moleküllerin dış yörüngesinde biri diğerine zıt yönde dönen elektron çiftleri vardır. Serbest radikaller oldukça reaktiftir, elektron çiftlemek için diğer moleküller ile reaksiyona girme eğilimindedirler.¹²³

Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilir ve antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar. Oksidatif stres, oksidan, antioksidan dengesinin oksidan lehine bozulması olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin ömürleri çok kısa olmasına rağmen protein, lipid ve nükleik asit gibi makro moleküller ile etkileşmeleri sonucu, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Homeostazisin sürdürülebilmesi, antioksidan kapasitede sürekli yenilenmeyi gerektirmektedir.^{123, 124}

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Eşleşmemiş iki elektronu nedeniyle kararsız yapıda olan moleküller, oksijenin redüklenmesi sonucu süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır.^{125, 126}

Serbest radikalleri, oksijen merkezli ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olarak sınıflandırmak mümkündür. Ayrıca H₂O₂ gibi radikal olmayan fakat etkileri ve sonuçları sebebiyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri de

vardır.¹²⁴ Başlıca reaktif oksijen bileşikleri; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen, nitrik oksit ve azot dioksit gibi bileşiklerdir.

2.4.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı, ozon ve azot dioksit, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar.¹²⁷

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest radikaller üç ana hücresele bileşene saldırarak zarar verirler.¹²⁸

1. Lipitler üzerine etkileri: Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar. Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü

olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.^{129, 130}

2. Proteinler üzerine etkileri: Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.¹²⁸

3. DNA üzerine etkileri: DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının ROS ile indüklenen hücresel modifikasyonların en ciddiisi olduğu düşünülmektedir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar.¹²⁸

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

2.5.1. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin E (α -tokoferol), β -karoten, askorbik asit (vitamin C) ve folik asit (folat) vitamin eksojen antioksidan grubundadırlar.

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ise; ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleridir.

2.5.2. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon S-Transferazlar (GST) 4) Katalaz (CAT) 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi 6) Hidroperoksidaz

Enzim olmayan endojen antioksidanlar: 1) Melatonin 2) Seruloplazmin 3) Transferrin 4) Miyoglobin 5) Hemoglobin 6) Ferritin 7) Bilirubin 8) Glutasyon 9) Sistein 10) Metiyonin 11) Ürat 12) Laktoferrin 13) Albümin

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. SOD'un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar.¹³¹

Katalaz (CAT)

CAT esas olarak peroksisomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma

işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.¹³²

Glutasyon (GSH)

GSH karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptit olup çok önemli bir antioksidandır. GSH 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. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.¹³²

2.6. Sitokinler

Lökositler veya diğer hücrelerden üretilen sitokinler protein veya glikoprotein yapısında, bir hücreden diğerine bilgi, sinyal ileten kimyasal haberci moleküllerdir. Molekül ağırlıkları 6000-60000 dalton arasındadır. Sitokinler, inflamatuvar ve immün yanıtın gelişimi ve düzenlenmesinde hematopoietik hücrelere aracılık ederler. Özellikle immün yanıt ve inflamasyonda önemli rolleri bulunmaktadır.¹³³⁻¹³⁵

İlk başlarda, sitokinlerin kaynağının sadece lenfositler olduğu düşünüldüğünden sitokinlere lenfokin adı verilmiştir. Fakat daha sonra bu faktörlerin monositler tarafından da üretildiği anlaşılmış ve monokin ismi de kullanılmaya başlanmıştır. Makrofajlar tarafından üretilen sitokinlere monokinler, aktive olmuş T lenfositleri ve doğal öldürücü hücrelerden üretilen sitokinlere lenfokinler, lökositlere etki eden monokin ve lenfokinlere de interlökin (IL) adı verilmiştir.¹³⁶

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler.¹³⁷ Genel olarak sitokinlerin sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde, sitokinler hızla salınırlar. Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir durumdur. Sitokinler depolanamaz bu nedenle ihtiyaç halinde yeni bir gen transkripsiyonu gerekmektedir. Transkripsiyon periyodu kısadır. Sonuç olarak hızlı sentez hızlı salınımıyla birlikte olur. Sitokinler birbirlerinin sentezini ve/veya salınımını etkilemektedir.¹³⁸

Çok küçük konsantrasyonlarda bile özgül reseptörleri ile hedef hücreye bağlanarak etkilerini gösterebilirler.¹³⁹ Etkileri, hedef hücrelerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanmaları ile başlar.¹⁴⁰

Sitokinler çok yüksek biyolojik aktivite gösterirler. Spesifik reseptörü olan hücrelerde 10^{-10} - 10^{-15} mol/L konsantrasyonda bir sitokin birleşmesi duyarlı hücreyi uyarmak için yeterli olmaktadır.¹⁴¹ Üzerinde sitokinlere özgü reseptör bulunan her hücre etkilenebilir. Ayrıca değişik hücrelerde sentezlenip, salınan çeşitli sitokinler de aynı hücre üzerinde etki oluşturabilir. Bu özelliğe pleiotropizm denir.¹⁴¹ Sitokinlerin etkileri parakrin (sentezlenen hücrenin yanındaki hücrelerin etkilenmesi), otokrin (sentezlenen hücrelerin kendi salgısı ile etkilenmesi), endokrin (uzakta bulunan hedef hücre üzerinde oluşturduğu etki) veya justakrin (bitişik hücreye etki) şeklinde olur. IL-1'de olduğu gibi hem parakrin hem de otokrin özellik gösteren sitokinler de vardır.¹⁴²

Hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma ve fonksiyonları üzerine etki gösterirler. Farklı dokular tarafından üretilen aynı sitokinler bazı dokularda birbirleriyle sinerjik etki gösterebilirken, bazı dokularda antagonist etki de gösterebilmekte ve birbirlerini inhibe edebilmektedirler. Günümüzde artık aynı görevin birden çok sitokin tarafından

yapılabildiği, ancak çok az sayıda sitokinin temel hücre fonksiyonlarının bir kısmında tek başına fonksiyon gördüğü bilinmektedir.¹⁴³

Sitokinlerin immün yanıtın düzenlenmesi, inflamasyon, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi genel sistemik reaksiyonlarda önemli rolleri vardır. Sitokinlerin embriyogenez ve organ gelişimlerinde, nöroimmünolojik, nöroendokrinolojik süreçlerde anahtar rolleri bulunmaktadır. Mitoz, farklılaşma, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında da düzenleyici görevleri vardır.¹⁴⁴ Sistemik olaylarda ve hücreler arası etkileşimlerdeki anahtar rolleri nedeni ile kanser, allerji ve hematopoietik hastalıklar, transplantasyonda ve genel immünoestimülasyonda rekombinant sitokinler ve sitokin reseptörlerinden yararlanılmaktadır. Sitokinlerin ölçümünde biyolojik ve immün ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır.¹⁴³

2.6.1. Sitokinlerin Sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler¹⁴⁵

1) Doğal immüniteye aracılık eden sitokinler:¹⁴⁵

- Tip I interferonlar (IFN)
- Tümör nekrotizan faktör (TNF)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- İnterlökin-6 (IL-6)
- Kemokinler

2) Lenfosit aktivasyonu, büyüme, diferansiasyon regülatörleri olarak T

lenfositlerinin özel antijenleri tanımalarına yanıtı temin eden sitokinler:¹⁴⁵

- İnterlökin-2 (IL-2) (T-hücresi büyüme faktörü)
- İnterlökin-4 (IL-4) (IgE sentez regülatörü)
- Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)

3) Bağışıklık aracılığıyla enflamasyonu düzenleyen sitokinler:¹⁴⁵

Bu grup sitokinler antijenle uyarılmış CD4 + ve CD8 + T lenfositler tarafından uyarılırlar ve enflamatuar lökositleri aktive ederler. Bu hücrelerin T hücresi regülasyonuna girmesini sağlarlar.

- İnterferon γ (IFN- γ) (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)
- Lenfotoksin (LT) (Nötrofil aktivatörü)
- İnterlökin 10 (IL-10) (Mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)
- İnterlökin-5 (IL-5) (Eosinofil aktivatörü)
- İnterlökin-12 (IL-12) (Naturel Killer (NK) ve T hücre stimülatörü)

4) İmmatür lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden mediatörler:¹⁴⁵

- C-kit-ligand
- İnterlökin-3 (Koloni stimüle eden faktör)
- Granulosit-makrofaj koloni stimülatör faktör (GM-CSF)
- Monosit-makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)
- Granulosit koloni stimülatör faktör (G-CSF)
- İnterlökin-7 (IL-7)
- İnterlökin-9 (IL-9)
- İnterlökin-11 (IL-11)

2.6.2. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF- α gram negatif bakteriler ve diğer infeksiyon ajanlarına karşı gelişen akut inflamatuvar yanıtın temel mediatörüdür. TNF- α aktive olmuş monositler ve makrofajlar tarafından salgılanan proinflamatuvar bir sitokin olup kaşektin olarak da bilinir. T hücreleri, doğal katil (NK) hücreler ve nötrofiller de dahil olmak üzere inflamatuvar yanıtta görev alan çeşitli hücre tipleri tarafından da salgılanır.

Sentezlenmesi çeşitli uyarımlarla indüklenmektedir, bakteri, protozoa ve bazı tümör hücreleri gerekli uyarımı yapabilirler.¹³⁸

İnsan TNF'si nonglikolize bir transmembran protein olup, molekül ağırlığı 17 kDa'dır. İki çeşit TNF vardır; bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orijinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin)'dir.¹⁴⁶⁻¹⁴⁹

TNF süper ailesi TNF- α , lenfotoksin- α (LT- α or TNF- β), CD40 ligand, Fas ligand ve diğer bazı proteinleri içerir. Normalde TNF- α monomerik tip 2 transmembran prekürsör protein (tmTNF) olarak 26 kDa moleküler ağırlıkta bir protein olarak üretilir. Daha sonra TNF- α dönüştürücü enzim tarafından (TACE) bölünür ve 17 kDa molekül ağırlığında çözünebilen bir sitokine (sTNF) dönüşür. TNF- α , 55 kDa TNF reseptör 1 (TNFR1) ve 75 kDa TNF reseptör 2 (TNFR2) olmak üzere 2 farklı reseptörün hücre yüzeyine bağlanarak etki gösterir.¹⁵⁰ Akut travmaya yanıt olarak TNF- α salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar yanıt gelişimini taklit eden deneylerde TNF'nin monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15–18 dakika olmasına rağmen, TNF- α 'nın kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. TNF- α , reseptörlerinin aynı zamanda birçok yerde mevcut olma yeteneğine bağlı, multipl sinyal üretim mekanizmalarını aktive etme yeteneği ve çok geniş sayıda genin ekspresyon indüklemeye veya baskılama yeteneğinden dolayı ileri derecede pleiotropik bir sitokindir.

TNF- α 'nın biyolojik fonksiyonları konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonlarda etkisi lokaldır. TNF- α , damar endotelinde bazı adhezyon moleküllerinin ortaya çıkmasına yol açar. Adhezyon molekülleri endotelin önce

nötrofiller daha sonra da mononükleer lökositler için yapışkan olmasını sağlar. Böylece inflamatuvar reaksiyondan sorumlu hücreler infeksiyon sahasına toplanır. TNF- α , nötrofil, eozinofil ve mononükleer fagositlerin mikroorganizmaları öldürmesini aktive eder, mononükleer fagositler ve diğer bazı hücrelerin inflamatuvar yanıtta önemli rolleri olan IL-1, IL-6, TNF- α ve kemokin gibi sitokinlerin üretimini uyarır.¹⁵¹ Hipotalamusu uyararak IL-1 aracılığıyla ateş oluşmasına neden olur ve endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Ateşin TNF- α ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından arttırılan prostaglandin E2 senteziyle olur. TNF- α , IL-6 ile birlikte sinerjik etki gösterir. TNF- α , viruslara karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir. TNF- α 'nın bu etkileri mikroplara karşı verilen inflamatuvar yanıtta oldukça önemlidir.¹⁴⁵ TNF- α , mononükleer fagosit ve vasküler endotelin IL-1 ve IL-6, hepatositlerin ise akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır. Akut faz proteinleri, organizmada bir doku hasarı ve inflamasyon olduğu zaman plazma düzeyleri değişiklik gösteren proteinlerdir. Bunlardan C-reaktif protein, serum amiloid-A, alfa-2 makroglobulin, fibrinojen, seruloplazmin, ferritin, komplemankomponent-3 gibi bazılarının sentezini artırırken albümin, transferrin gibi bazılarınıninkini düşürür. TNF- α , damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder. Uzun süre verildiğinde, deney hayvanlarında kemik iliğinde kök hücre bölünmesini baskılayarak lenfopeni, immün yetmezlik ve kaşeksi gelişmesine yol açabilir. TNF- α neoplastik doku yıkımı da dahil olmak üzere, tümöre bağlı lokal ve sistemik bazı etkilerden sorumludur.¹³⁸

Tümör hücrelerinin TNF- α ile öldürülmeleri, makrofajların doğrudan, tümör hücreleri ile bir kısım bakteri ürünü veya lipopolisakkarit (LPS) ile uyarımı sonucu gerçekleşir. Hayvan vücudunda makrofaj ve sitotoksik T hücrelerin tümöridal aktivitelerinin çoğunda TNF- α etkili olmaktadır. Bununla beraber TNF- α bütün

tümörler için etkili olamaz, bazı tümörler TNF- α 'ya duyarlı değildir. TNF- α etkisi ile tümörlerin nekrozu, doğrudan tümör hücrelere etkileme ile değil, muhtemelen tümör dokularının damarlanmasını zedeleyerek etki eder ve nekroz oluşur.

TNF- α ayrıca, stres sırasındaki adale katabolizması ve kaşeksi üzerinde de önemli etkileri olan bir sitokindir. İskelet kas hücresinden mobilize olan aminoasitleri hepatik dolaşımdaki şantlar aracılığıyla enerji metabolizmasında kullanırlar. TNF- α 'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyonu aktivasyonu, PGE₂, platelet aktive edici faktör (PAF), glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının arttırılması sayılabilir.¹⁵²

TNF- α yüksek konsantrasyonlarda çok ciddi etkilere sebep olabilmektedir. Ciddi infeksiyonlarda TNF- α fazla miktarda yapılır, sistemik ve patolojik olaylara neden olur. Aşırı miktarda TNF- α salınımı dolaşım yetmezliği ve dissemine intravasküler koagülasyon ile ölüme sebep olabilir.¹⁵¹ Yani TNF- α , septik ve endotoksik şokun önemli bir mediatörüdür. Yüksek düzeyde infüzyonu ölümcüldür ve şok benzeri bir sendrom oluşturur. Yüksek konsantrasyonlarda, myokard kasılabilirliğini azaltarak, damar düz kaslarını gevşeterek, intravasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda TNF- α ağır metabolik bozukluklara neden olabilir. TNF α 'nın birçok fizyolojik etkisi IFN- γ tarafından arttırılır. Bu etki; TNF- α reseptör sayısının IFN- γ ile uyarılarak arttırılması ile sağlanabilir.^{146, 148,}

153, 154

2.6.3. Karaciğer Toksisitesinde TNF- α

Kupffer hücreleri karaciğerin makrofajları olup, karaciğer sinüzoidleri içerisinde değişik şekil ve yerleşimde bulunabilirler.¹⁵⁵ Kupffer hücreleri büyük endotoksinleri elimine edebilme kapasitesine sahiptirler. Endotoksinler kısmi hepatektomiden sonra kupffer hücrelerini aktive ederek sistemik komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynarlar. Kupffer hücreleri bir kere aktif hale getirildikten sonra, TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve

IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını başlatırlar. Bu sitokinler sistemik inflamatuvar cevabın oluşmasına ve endotel hücreler, plateletler, monositler, makrofajlar ve polimorfonükleer hücrelerin aktive olmasına neden olurlar.

Son zamanlarda, kupffer hücrelerinin¹⁵⁶⁻¹⁵⁸ ve iki proinflamatuvar mediatör olan TNF- α ve IL-1 α 'nın¹⁹ parasetamolün neden olduğu karaciğer toksisitesindeki rolü araştırılmıştır. Laskin ve arkadaşları parasetamol verilen hepatositlerin kupffer hücreleri için aktive edici faktörler salgıladığını ve bu hepatositlerin daha sonra nekrotik olan alanlarla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.¹⁵⁹ TNF- α ve IL-1 α aktive olan kupffer hücreleri tarafından üretilir ve ayrıca reaktif oksijen ürünleri gibi diğer ürünlere ek olarak inflamatuvar cevapta merkezi bir role sahip olabilir. Her iki sitokinin de nötrofil ve endotel hücre aktivasyonu^{160, 161} nötrofillerin endotel hücrelere alınması ve bağlanması ve ayrıca diğer sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin üretimini uyarılması¹⁶² gibi birçok biyolojik etkisi ve hücre hedefi vardır. Yakın zamanlarda, Blazka M.E. ve arkadaşları TNF- α ve IL-1 α 'nın parasetamol ile indüklenen hasara karşı bir yanıt olarak üretildiğini ve bu sitokinlerin her ikisinin de selektif nötralizasyonunun parasetamol intoksikasyonuna karşı oluşan hepatik patofizyolojik cevabı değiştirebileceğini göstermişlerdir.¹⁹

TNF- α İnhibitörleri

- Etanercept
- İnfliximab
- Adalimumab
- Golimumab
- Certolizumab
- Lenercept
- Daclizumab

- Alefacept
- Efalizumab
- Rituksimab

2.7. İnfliksimab

İnfliksimab (Remicade®), monoklonal antikor yapısında bir TNF antagonisti olup, TNF- α 'ya yüksek bir affinite ve özgünlük ile bağlanmaktadır. İnfliksimab flimerik yapıdadır ve Fc bölgesi insan protein yapısında iken, Fab bölgesi fare kökenlidir.¹⁶³

Spesifik olmayan antiinflamatuvar ve immünsupresant ajanların aksine, infliksimab inflamasyon sürecinde önemli bir adımı hedef alan keskin bir nişancı gibidir. TNF- α 'nın biyolojik fonksiyonlarını T hücreleri ve diğer immun kökenli hücrelerin dış membranlarında bulunan sTNF- α ve tmTNF- α 'ya bağlanarak veya TNF- α 'nın reseptörlerine bağlanmasına engel olarak baskılar. Ayrıca infliksimabın inflamatuvar süreçlerde yer alan hücrelerin lizisine yol açma etkisi de vardır.¹⁶⁴

İnfliksimab ankilozan spondilit, Crohn Hastalığı, çocukluk çağı Crohn hastalığı, psoriasis, psoriatik artrit, romatid artrit ve ülseratif kolit hastalıklarında kullanımı için FDA tarafından onay almış bulunmaktadır. Ayrıca Behçet hastalığı gibi farklı endikasyonlarda kullanımı ile de başarılı sonuçlar alındığını bildiren yayınlar mevcuttur.¹⁶⁵⁻¹⁶⁸

2.7.1. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

İnfliksimab (Remicade®), ortalama molekül ağırlığı 149.100 Dalton olan şimerik fare insan IgG1 κ monoklonal antikorudur. İnfliksimab, devamlı perfüzyon ile üretilmiş rekombinant hücre serisi tarafından üretilir ve virüslerin inaktivasyonu ve arındırılmasını içeren bir seri basamak ile saflaştırılır. Fc bölgesi insan protein yapısında iken, Fab bölgesi fare kökenlidir.

İnfliksımab TNF- α 'nın hem solübl hemde transmembranöz formlarına yüksek affinite ile bağlanır böylece reseptörlerinin TNF- α 'ya bağlanmasını inhibe ederek etkisini nötralize eder.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ TNF- β (lenfotoksin- α)'ya bağlanmaz. TNF- α blokajı nedeniyle IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyini azaltır, endotelial hücre geçirgenliğini inhibe ederek lökosit göçünü önler, lökosit ve endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin sentezini inhibe eder ve nötrofil ile eozinofil aktivasyonunu engeller. İnfliksımab; fibroblast, endotel hücreleri, nötrofiller, T ve B lenfositler ve epitelyal hücrelerin bioaktivitesini inhibe eder. Crohn hastalığında kolon duvarında, romatoid artritte eklem boşluğunda inflamatuvar hücreleri azalttığı gösterilmiştir.

2.7.2. Farmakolojik Özellikleri

1-20 mg/kg dozunda, doza bağımlı olarak etki gösterir. Kronik venöz yetmezliğe bağlı cilt ülserlerinin 10 mg/ml dozunda topikal infliksımab tedavisine iyi cevap verdiği bildirilmiştir.¹⁷² TNF- α inhibisyonu farelerde iskemik retinopatide neovaskülarizasyonu azaltır.¹⁷³ Anti vasküler endotelial büyüme faktörü ilaçlara cevapsız neovasküler yaşa bağlı makula dejenerasyonunda tekrarlayan intravitreal infliksımab enjeksiyonu ile hastalarda düzelme görülmüştür.¹⁷⁴

Yüksek doz sistemik steroid tedavisine cevapsız periferik ülseratif keratitli yaşlı bir hastada tekrarlayan intravenöz infliksımab tedavisi ile ülserin iyileştiği bildirilmiştir.¹⁷⁵ Yine Mooren ülserli tekrarlayan korneal perforasyonlar gelişen, konvansiyel immüsupresyon tedavisine cevapsız bir hastada intravenöz infliksımab tedavisi ile başarı sağlandığı görülmüştür.¹⁷⁶ Bunun gibi dirençli korneal inflamatuvar hastalıklarda intravenöz İnfliksımab ile başarılı sonuçlar alındığını bildiren sınırlı sayıda olgu sunumları bulunmaktadır.

2.7.3. Farmakokinetik ve Metabolizma

İlacın intravenöz uygulama dozu 5 mg/kg olup, ilaç piyasada 100 mg liyofilize toz halinde bulunmaktadır. İntravenöz infüzyon olarak uygulanır. Sadece vasküler kompartmanda dağılır. İnfliksımab 0, 2, ve 6. haftalardaki yükleme dozlarından sonra 8 haftada bir idame tedavisi şeklinde uygulanmaktadır. Toz halindeki ajanın çözüldükten sonra 250 ml'lik serum fizyolojik içerisinde tatbiki önerilmektedir. Hazırlanan ilacın 3 saat içerisinde uygulanması gereklidir.¹⁶³ Tek doz infliksımab enjeksiyonunun 118 µg/ml'lik serum konsantrasyon düzeyi yarattığı ve ortalama yarılanma ömrünün 8.5-9 gün olduğu bildirilmiştir. İntravenöz olarak 3-20 mg/kg dozları arasında uygulanan doz ile serum konsantrasyonu arasında lineer bir ilişki vardır. Doza bağımlı maksimum konsantrasyonu 5 mg/kg infliksımab infüzyonunu takiben 118 µg/mL (Cmax) olarak saptanmıştır. Dolaşımdan temizlenmesi 10 mL/h hızındadır. 12 hafta sonrasında kanda saptanamayacak kadar düşük konsantrasyondadır. Ancak 10 mg/kg intravenöz konsantrasyonda beklenen terapötik konsantrasyon daha uzun süre etkiyi sağlar. Dört ya da sekiz haftalık tedavi aralıklarında 3 mg/kg veya 10 mg/kg dozlarında sistemik birikim görülmemiştir.

2.7.4. Yan Etkiler

İnfliksımab infüzyonuna bağlı reaksiyonlar gözlenebilir. İnfliksımab infüzyonu esnasında veya iki saat içinde görülen bu reaksiyonlar genellikle hafif-orta şiddetteki reaksiyonlardır ve medikal tedavi ya da infüzyonun kesilmesi ile ortadan kalkar.

İnfliksımab infüzyonundan sonra bir iki saat içinde reaksiyon görülme oranı %22 olarak bildirilmiştir. Bu reaksiyonlar baş ağrısı, bulantı, ateş ve titreme (%3), kaşıntı ve ürtiker (< %1) veya ürtiker/kaşıntı ve kardiyopulmoner belirtilerin (göğüs ağrısı, hipotansiyon, hipertansiyon ve nefes darlığı) birlikte görülmesidir (%1). Anafilaksi, nöbetler, eritematöz raş ve hipotansiyon gibi yaşamı tehdit eden

reaksiyonlar %1'den daha az oranda gözlenmiştir.¹⁷⁷ İnflksimab infüzyonu sonrasında tüberküloz, sepsis ve retrofarengeal apse gibi ciddi infeksiyonlar gelişebilmektedir.

Buna ek olarak koksidioidomikozis, kriptokokal pnömoni ve aspergillus fumigatus'a bağlı invaziv pulmoner aspergillozis gibi invaziv fungal infeksiyonlar ve pneumocystis carinii pnömonisi gelişebildiği bildirilmiştir.^{178, 179} Gebelik kategorisi C'dir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

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

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 56 adet ve ağırlıkları 200-215 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve pellet yem verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22⁰C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu “Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Etik Kurulu” tarafından verilen 11 Mayıs 2012 tarihli ve B.30.2.ATA.0.A1./00.00/1226 sayılı yazı ile ve “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 26 Ekim 2011 tarihli ve B.30.2.ATA.023.85-113 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Parasetamol (Doğa İlaç Hammaddeleri Ticaret Ltd. Şti.): Çalışmada her rat için, 2 ml PBS (fosfat tampon solüsyonu) içinde %1 lik CMC (Karboksimetilselüloz) ve 2 gr parasetamol çözülerek hafif sıcaklıkta karıştırılarak hazırlandı.

İnfliksimab (REMICADE® 100 mg Konsantre i.v. İnfüzyon, Schering Plough Tıbbi Ürünler Ticaret A.Ş.): Remicade flakonu 10 ml injeksiyonluk su ile her mililitresi 10 mg infliksimab içerecek şekilde hazırlandı.

N-Asetil Sistein (NAC): Çalışmada, her rat için 2 ml %0,9'luk NaCl çözeltisinde 600 mg tek tablet NAC çözülerek hazırlandı.

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

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Deneyler esnasında kullanılan tüm aletler aşağıda gösterilmiştir.

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

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 7 deney grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere toplam 8 grup oluşturuldu. Her bir grupta 7 adet olmak üzere toplam 56 adet sıçan kullanıldı. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı. Deney planı, Tablo 3.1'de verilmiştir.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

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

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

Grup III (NAC+PARA): 140 mg/kg NAC oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi. Parasetamol verildikten 12 saat sonra tekrar aynı dozda NAC uygulandı.

Grup IV (IFX 3mg/kg+PARA): 3 mg/kg infliksimab i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi. Parasetamol verildikten 12 saat sonra tekrar aynı dozda infliksimab uygulandı.

Grup V (IFX 5mg/kg+PARA): 5 mg/kg infliksimab i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi. Parasetamol verildikten 12 saat sonra tekrar aynı dozda infliksimab uygulandı.

Grup VI (IFX 7mg/kg+PARA): 7 mg/kg infliksimab i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi. Parasetamol verildikten 12 saat sonra tekrar aynı dozda infliksimab uygulandı.

Grup VII (Sağ-IFX 7mg/kg): 7 mg/kg infliksimab i.p. yoldan verildi. 12 saat sonra tekrar aynı dozda infliksimab uygulandı.

Grup VIII (Sağ-NAC 140mg/kg): 140 mg/kg NAC oral yoldan verildi. 12 saat sonra tekrar aynı dozda NAC uygulandı.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.^{180, 181} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara deney sonuna kadar yeteri kadar (ad libitum) su ve pellet yem verildi.

Tablo 3.1. Deney Planı

Gruplar	Hayvan sayısı	Tedavi	Doz
I	7	SAĞ	2 ml PBS
II	7	PARA	2 g / kg
III	7	NAC+PARA	140 mg (2 doz) / kg+2 g/kg
IV	7	IFX+PARA	3 mg (2 doz) / kg+2 g/kg
V	7	IFX+PARA	5 mg (2 doz) / kg+2 g/kg
VI	7	IFX+PARA	7 mg (2 doz) / kg+2 g/kg
VII	7	SAĞ-IFX	7 mg/kg (2 doz)
VIII	7	SAĞ-NAC	140 mg (2 doz)

***SAĞ: Sağlıklı, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, IFX: İnfliksımab.

Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra 50 mg/kg dozda tiopental ile ötenazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların kan örnekleri toplandı ve karaciğerleri alındı. Alınan karaciğerin bir kısmı biyokimyasal analiz için ayrıldı ve -80 °C'de saklandı. Karaciğerin geri kalan kısmı ise, histopatolojik çalışma için %4'lük nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Toplanan kanlar -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Histolojik Çalışmalar

3.2.2.1. Işık Mikroskopik İşlemler

Konvansiyonel ışık mikroskobu işlemlerinin tümü Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuarlarında ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuarlarında gerçekleştirilmiştir.

Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop

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

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

Dokular parafin bloklara gömülerek kesit alınması işlemlerine hazır hale getirildi. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile 5 µm'lik kesitler cam lamalar üzerine alındıktan sonra 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 dakika) bekletme
4. %80'lik alkol (10 dakika) bekletme

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

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

3.2.3. İmmunohistokimyasal Çalışma

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 polilizinli cam lamalar üzerine alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak TNF receptor 1 antibody boyama işlemi gerçekleştirildi.

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

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

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

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -86 °C'de saklandı. Her ratın 100 mg dokusu spesifik homojenat tamponunda (uygun bufferda) buz üzerinde ultra-turrax ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD, MDA ve GSH seviyeleri sırasıyla özellikle rat dokusu için dizayn edilmiş yüksek hassasiyetteki Cayman Chemical Superoxide Dismutase Assay Kit (Item Number 706002), Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri) Assay Kit (MDA Quantitation) STA-330 ve Cell Biolabs OxiSelect™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleriyle herbir rat karaciğeri ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Bütün datalar her mg protein için ortalama \pm 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

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı ve sıvı azot altında homejenize edildi.
2. 70 mM sükroz, 210 mM mannitol ve 1 mM EGTA içeren pH'ı 7,2 soğuk HEPES tampon solüsyonu ile ultra turrax homojenizatörde buz üstünde 1 dakika boyunca homojenize edildi.
3. Tüm numuneler işlem bitene kadar + 4 °C' de muhafaza edildi.
4. +4 °C' de 1,500 x g' de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.
5. Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Deneyin yapılışı;

1. Örnek kuyularına örnek ve standartlardan 20 µl eklendi.
2. Seyreltilmiş radikal detektör tüm kuyulara 200 µl kadar eklendi ve 10 dakika karıştırıcıya konuldu.
3. Reaksiyonu başlatmak için 20 µl seyreltilmiş ksantin oksidaz eklendi.
4. Plakanın üstü kapalı olacak şekilde birkaç saniye çalkalayıcıda bekletildi.
5. Oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübe edildikten sonra 460 nm' de ELISA okuyucuda okutuldu.

6. Standartların ve örneklerin 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 yıkayıp sıvı azot altında homejenize edildi.
2. Sonra 1 ml MPA çözeltisi (100 ml deiyonize suda 5 gr MPA kristalleri çözülüp eklenerek 1 dakika boyunca buz üzerinde ultra turrax ile homojenize edildi.

Deneyin yapılışı;

Çalışma 96 kuyucuklu plakalarda yapıldı.

1. Homojenize numuneler 15 dakika + 4 °C' de 12000 rpm' de santrifüjlenip ölçüm için süpernatantları toplandı.
2. 96 kuyuluk plakada her kuyuya 25 µl 1X glutasyon redüktaz eklendi.
3. Her kuyuya 1X NADPH solüsyonundan 25 µl eklendi.
4. Hazırlanan glutasyon standartlarından veya örneklerden her kuyuya 190 µl eklendi. 1X kromojenden 50 µl eklenip karıştırıldı. 10 dakika boyunca 1 dakikalık aralıklarla 405 nm' de okutuldu.
5. Standartların ve örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Miktarının Tayini

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

Doku homojenizasyonu;

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

Deneyin yapılışı;

Çalışma 96 kuyucuklu plakalarda yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde ettiğimiz süpernatantlar yeniden numaralandırdığımız başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Standartlarımız da ayrı tüplere 100'er µl olacak şekilde koyuldu.
2. Kristalize durumdaki SDS lizis solüsyonunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100'er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapacağımız her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Tüplerin kapakları kapatılıp 95 °C'de 45 ila 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dakika buz üzerinde bekletildi.
6. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımları alındı.
7. 96 kuyucuklu plakaya numuneler yüklendi (200'er µl) ve absorbansları 532 nm'de okutuldu.
8. Standartların ve örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.2.4.2. Serumda yapılan analizler

TNF- α ölçümü için serumun elde edilmesi: EDTA'lı biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar 86 °C'de saklandı. Her örneğin TNF- α 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 dakika +4 °C 'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar 86 °C'de saklandı. Her örneğin AST ve ALT seviyeleri ikişer kere yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (USCN Life Science-E90207Ra, E91214Ra-China) ölçüldü.

TNF- α Miktarı Tayini

Kullanılan reaktifler: Rt TNF- α Standart (%0,1 sodyum asit içerir), Standart diluent buffer (% 0,1 sodyum asid içerir), Incubation buffer, Rt TNF- α High ve low kontrol, Rt TNF- α Biotin conjugate (Biotinlenmiş anti-TNF- α), Streptavidin-HRP (3,3 mM Tymol), Streptavidin-HRP Diluent, Wash buffer, Stabilize chromogen (Tetrametil benzidin (TMB), Stop solution.

Deneyin yapılışı;

1. Kör kuyusuna 100 μ l standart diluent tampon solüsyonu eklendi.
2. Standartlar, numuneler ve kontrollerden kuyulara 100'er μ l eklendi. Plakanın 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'er μ l biotinlenmiş Rt TNF- α biotin konjugat eklendi.
5. Plakanın 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'er µl Streptavidin HRP working solüsyonu eklendi.
8. Plakanın 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 sıvılardaki renk maviye dönmeye başladı.
11. Plakanın üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
12. Her kuyuya stop solüsyonu eklendi. Sıvılardaki renk sarı rengine dönüştü.
13. 450 nm'de ölçüm yapıldı.

AST Miktarı Tayini

Kullanılan reaktifler: Standart (dondurulmuş), Detection reagent A (green), Detection reagent B (red), TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

Deneyin yapılışı;

1. Kuyulara standart, kör ve numunelerden 100'er µl eklendi. Plakanın üstü kapatıldıktan sonra 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Kuyulardan tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulanmadı.
3. Her kuyuya 100'er 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'er µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

6. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dakika 37 °C'de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50'şer µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm'de ölçüm alındı.

ALT Miktarı Tayini

Kullanılan reaktifler: Standart (dondurulmuş), Detection reagent A (green), Detection reagent B (red), TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

Deneyin yapılışı;

1. Standart, blank ve numunelerden her kuyuya 100 µl eklendi. 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulandı.
3. Her kuyuya 100'er µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 100'er µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dakikada 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dakikada 37 °C'de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50'şer µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm'de ölçüm alındı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile ve post-hoc testlerinden “Duncan” tekniği kullanılarak belirlendi.

4. BULGULAR

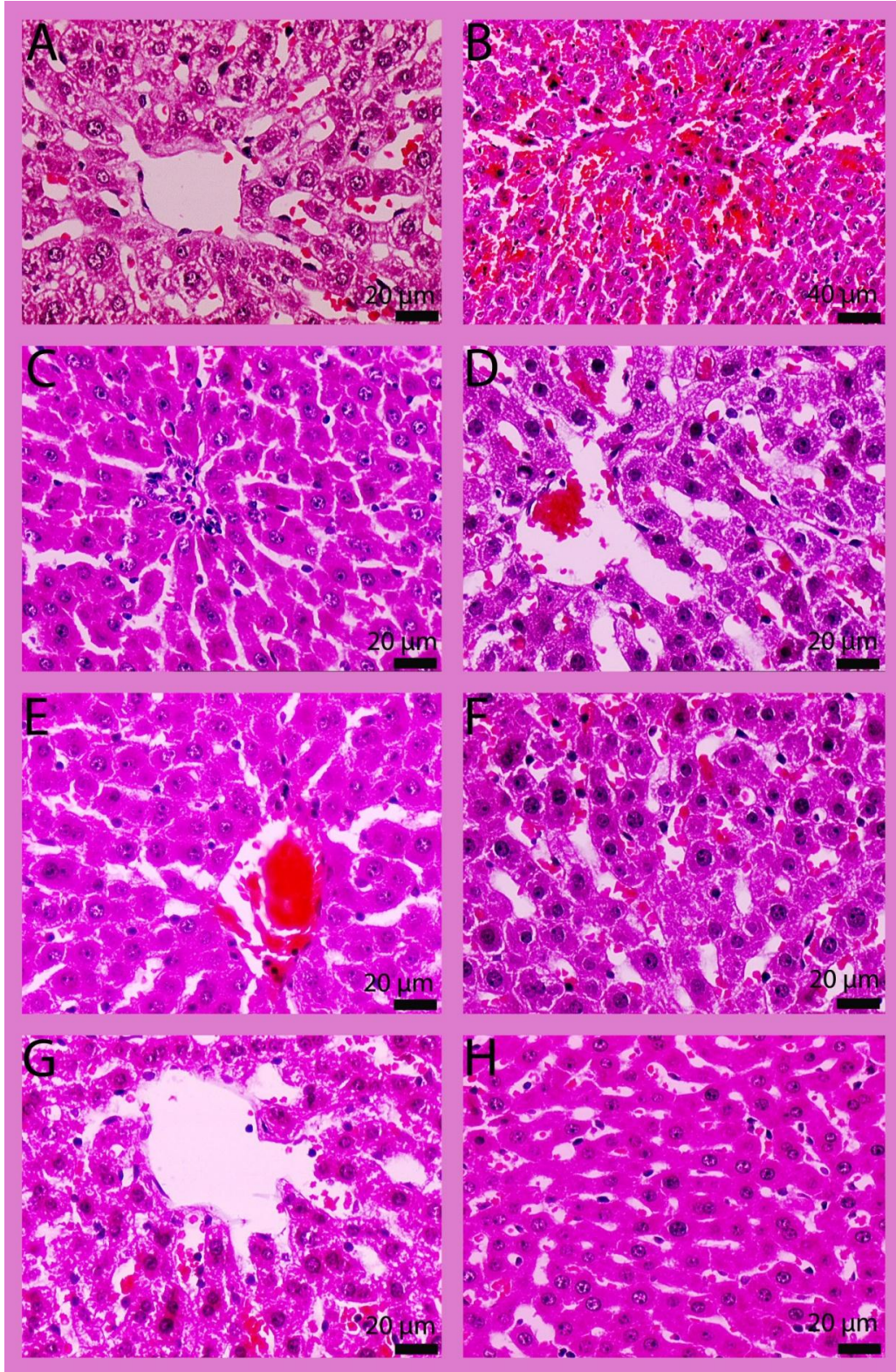
4.1.1. Histopatolojik Bulgular

Tedavi gruplarında meydana gelen bazı histopatolojik değişikliklere geçmeden önce parasetamol toksisitesinde karakteristik olan bazı parametreleri aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz.

Klasik karaciğer lobulünün merkezinde bulunan sentral ven ve bu venden periferde doğru uzanan remark hücre kordonları kontrol grubunda (Şekil 4.1A) düzenli seyretmekteyken parasetamol grubunda (Şekil 4.1B) bu yapının bozulduğu görülmekteydi. İnfliksımab ilaç gruplarında da sentral ven ve remark kordonlarının parasetamol grubunda göre düzenlilik gösterdiği kaydedilen bulgular arasındaydı (Şekil 4.1D-G). Benzer şekilde N- asetil Sistein (NAC) uygulanan grupta da yapı düzenliydi (Şekil 4.1C, H). Remark plakları arasında yerleşik bulunan sinüzoidlere (lobul içi kan kapillerleri) ve sinüzoidal endotel hücrelerine yakından bakıldığında kontrol grubunda yapı normal olarak değerlendirilirken (Şekil 4.1A), parasetamol grubunda sinüzoidal yapı bozuk, endotel hücreleri hiperkromatikti (Şekil 4.1B). NAC (Şekil 4.1C, H) ve İnfliksımab uygulanan gruplarımızda (Şekil 4.1D-G) sinüzoidlerde her hangi bir yapısal bozukluğa rastlanmadığı belirlendi.

Parasetamol deney grubundaki en dikkat çekici bulgulardan birisi ise nekrotik odakların varlığıydı (Şekil 4.1B). Bu odaklardaki hepatositler yoğun hiperkromatik çekirdeğe ve eozinofilik sitoplazmaya sahipti. Bu şekilde hücrelerle karakterize her hangi bir odak ne kontrol grubumuzda ne de tedavi gruplarımızda izlenmemekteydi.

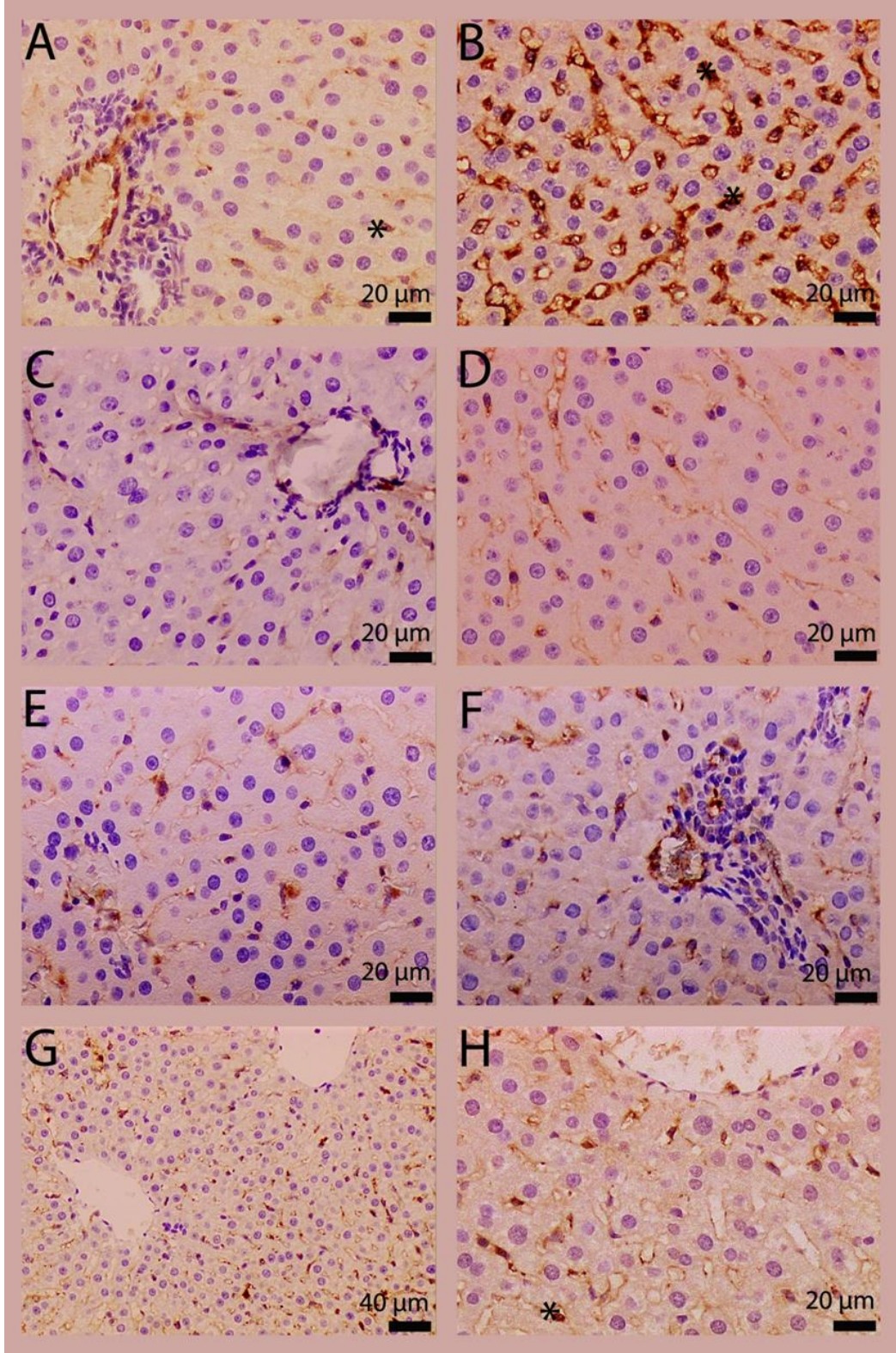
Cümlelerimizi biraz daha toparlayacak olursak parasetamol toksisitesinin önlenmesinde rutin olarak kullanılan NAC'ın uygulanan grup kesitleri ile infliksımab uygulanan tedavi grup kesitlerini karşılaştırdığımızda histolojik yapılardaki düzeltilmeler büyük ölçüde paralel seyretmekteydi.



Şekil 4.1. Karaciğer örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler.
(Boya: Hematoksilen & Eosin) A: Sağlıklı, B: Parasetamol, C: NAC+PARA,
D: IFX 3mg/kg+PARA, E: IFX 5 mg/kg+PARA, F: IFX 7 mg/kg+PARA, G: Sağ-IFX 7 mg/kg,
H: Sağ-NAC 140mg/kg.

4.1.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışmanın immünohistokimyasal değerlendirilmesinde TNF- α pozitivitesine baktığımızda kontrol grubunda fizyolojik ölçütleri geçecek boyutta değildi (Şekil 4.2A). Parasetamol uygulaması yapılan deney grubu karaciğer kesitlerinde kontrole kıyasla şiddetli TNF- α pozitifliği kaydedilirken (Şekil 4.2B) gerek infliksimab uygulanmış gruplarımızda (Şekil 4.2D-G) gerekse N- Asetil Sistein uygulanan gruplarımızda (Şekil 4.2C, H) şiddetli TNF- α pozitivitesine rastlanmadı. Mevcut sınırlı sayıdaki TNF- α pozitiflikleri fizyolojik ölçüler dahilindeydi.



Şekil 4.2. Karaciğer örneklerinden elde edilen immunohistokimyasal ışık mikroskopik kesitler.(Boya: TNFR1 antibody) A: Sağlıklı, B: Parasetamol, C: NAC+PARA, D: IFX 3 mg/kg+PARA, E: IFX 5 mg/kg+PARA, F: IFX 7 mg/kg+PARA, G: Sağ-IFX 7mg/kg, H: Sağ-NAC 140mg/kg. * TNF- α pozitifliği

4.1.3. Biyokimyasal Bulgular

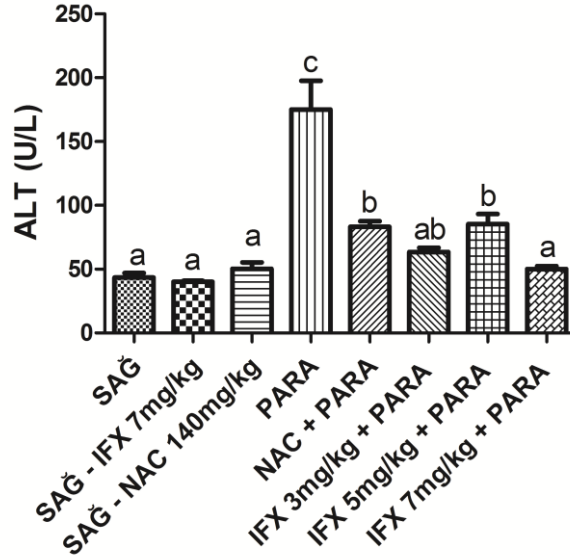
Tablo 4.1’de görüldüğü gibi intakt sıçanların serumlarındaki ALT, AST, TNF- α düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 43.38 \pm 10.18 U/L, 77.06 \pm 12.11 U/L, 35.25 \pm 10.38 pg/ml iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 175.13 \pm 63.63 U/L, 221.38 \pm 68.58 U/L, 181.00 \pm 40.96 pg/ml olarak tespit edildi. Parasetamol+NAC verilen sıçanlardaki ALT, AST ve TNF- α seviyelerinin ortalamaları sırasıyla 83.13 \pm 12.39 U/L, 102.94 \pm 11.43 U/L ve 98.38 \pm 23.20 pg/ml olarak ölçüldü. IFX 3 mg/kg+PARA grubunda ALT, AST, TNF- α seviyeleri sırasıyla; 63,44 \pm 9.47 U/L, 109.63 \pm 29.41 U/L, 73.56 \pm 13.02 pg/ml; IFX 5 mg/kg+PARA grubunda sırasıyla; 85.31 \pm 22.26 U/L, 124.69 \pm 35.96 U/L, 85.75 \pm 19.96 pg/ml; IFX 7 mg/kg+PARA grubunda ise sırasıyla; 50.05 \pm 6.46 U/L, 94.25 \pm 26.12 U/L, 47.50 \pm 6.80 pg/ml olarak ölçüldü.

Tablo 4.1. Ortalama ALT, AST ve TNF- α seviyeleri

GRUPLAR	ALT (U/L)	AST(U/L)	TNF- α (pg/ml)
SAĞ	43.38 \pm 10.18 ^a	77.06 \pm 12.11 ^a	35.25 \pm 10.38 ^a
SAĞ-IFX 7 mg/kg	40.13 \pm 2.37 ^a	73.00 \pm 10.51 ^a	30.50 \pm 7.84 ^a
SAĞ-NAC	50.31 \pm 14.22 ^a	82.06 \pm 25.04 ^a	40.13 \pm 7.77 ^a
PARA	175.13 \pm 63.63 ^c	221.38 \pm 68.58 ^c	181.00 \pm 40.96 ^d
NAC+PARA	83.13 \pm 12.39 ^b	102.94 \pm 11.43 ^{ab}	98.38 \pm 23.20 ^c
IFX 3 mg/kg+PARA	63.44 \pm 9.47 ^{ab}	109.63 \pm 29.41 ^{ab}	73.56 \pm 13.02 ^b
IFX 5 mg/kg+PARA	85.31 \pm 22.26 ^b	124.69 \pm 35.96 ^b	85.75 \pm 19.96 ^{bc}
IFX 7 mg/kg+PARA	50.05 \pm 6.46 ^a	94.25 \pm 26.12 ^{ab}	47.50 \pm 6.80 ^a

***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksimab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT \pm SD)

Parasetamol grubunda ALT değerinin önemli derecede yüksek olduğu ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. NAC+PARA grubunda ALT değerinin parasetamol grubuna göre düşük olduğu ve IFX 5 mg/kg+PARA grubuyla yaklaşık aynı ALT değerine sahip olduğu gözlemlendi. IFX 7 mg/kg+PARA grubunda ALT değerinin NAC+PARA ve 2 g/kg parasetamol verilen gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, ALT değerinin kontrol grubuna yakın bir değere sahip olduğu ve parasetamol toksisitesi oluşturulmuş diğer gruplara göre ALT seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu tespit edildi.

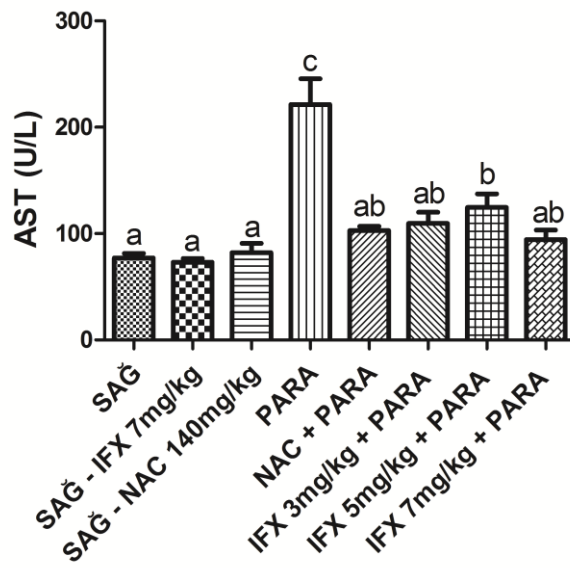


Şekil 4.3. Gruplara göre serum ALT düzeylerinin karşılaştırılması.

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

***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksımab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

AST değerlerine bakıldığında parasetamol grubunda bu değer oldukça yükselmiş olduğu ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi. NAC+PARA, IFX 3 mg/kg+PARA ve IFX 7 mg/kg+PARA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da AST değerlerindeki en iyi düzelme IFX 7 mg/kg+PARA grubunda gözlemlendi.

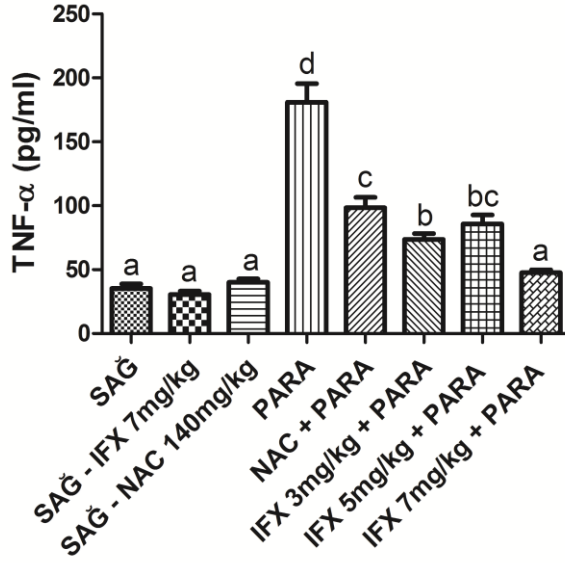


Şekil 4.4. Gruplara göre serum AST düzeylerinin karşılaştırılması.

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

***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksimab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

TNF- α değerinin parasetamol grubunda büyük oranda yükseldiği ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi. IFX 5 mg/kg+PARA grubuyla NAC+PARA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Diğer tedavi gruplarıyla kıyaslanınca TNF- α değerindeki en fazla normale yaklaşan grup IFX 7 mg/kg+PARA idi.



Şekil 4.5: Gruplara göre sıçan plazmasındaki TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksımab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi intakt sıçanların karaciğer dokusunda SOD, GSH ve MDA düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 24.13 ± 3.98 U/mg protein, 4.20 ± 0.93 nmol/mg protein ve 1.82 ± 0.43 nmol/mg protein iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 13.34 ± 1.69 U/mg protein, 1.24 ± 0.49 nmol/mg protein ve 4.43 ± 1.29 nmol/mg protein olarak tespit edildi. Sağlıklı-NAC grubunda bu değerler sırasıyla 20.81 ± 2.42 U/mg protein, 4.54 ± 2.19 nmol/mg protein ve 1.87 ± 0.44 nmol/mg protein olarak ölçüldü. Sağlıklı-IFX 7 mg/kg grubunda SOD, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 25.53 ± 1.45 U/mg protein, 4.13 ± 1.48 nmol/mg protein ve 1.99 ± 0.61 nmol/mg protein olarak tespit edildi.

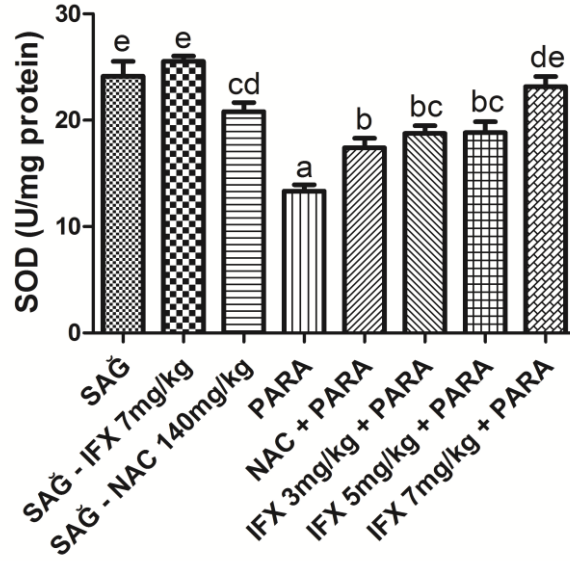
Tablo 4.2. Ortalama SOD, GSH ve MDA seviyeleri

GRUPLAR	SOD (U/mg)	GSH (nmol/mg)	MDA (nmol /mg)
SAĞ	24.13±3.98 ^e	4.20±0.93 ^b	1.82±0.43 ^a
SAĞ-IFX 7 mg/kg	25.53±1.45 ^e	4.13±1.48 ^b	1.99±0.61 ^a
SAĞ-NAC	20.81±2.42 ^{cd}	4.54±2.19 ^b	1.87±0.44 ^a
Parasetamol	13.34±1.69 ^a	1.24±0.49 ^a	4.43±1.29 ^b
NAC+PARA	17.41±2.54 ^b	3.68±0.76 ^b	2.43±0.40 ^a
IFX 3 mg/kg+PARA	18.75±2.05 ^{bc}	3.67±1.63 ^b	2.33±0.88 ^a
IFX 5 mg/kg+PARA	18.84±2.86 ^{bc}	3.91±1.20 ^b	2.38±1.10 ^a
IFX 7 mg/kg+PARA	23.16±2.71 ^{de}	3.87±0.77 ^b	2.13±0.52 ^a

***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksimab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT ± SD)

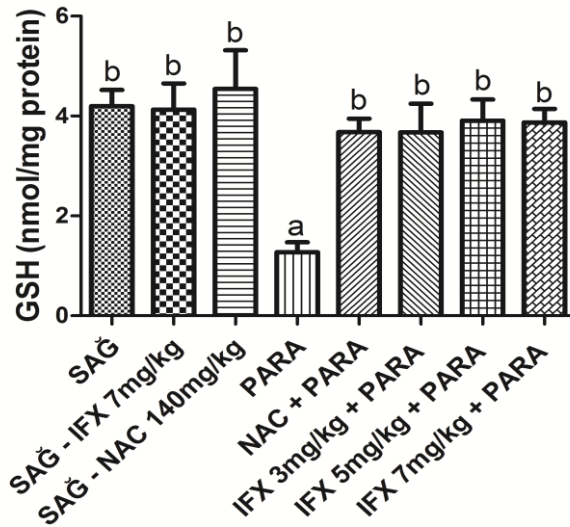
NAC+PARA grubunda bu değerler sırasıyla 17.41±2.54 U/mg protein, 3.68±0.76 nmol/mg protein ve 2.43±0.40 nmol/mg protein olarak ölçülmüşken IFX 3 mg/kg+PARA grubunda 18.75±2.05 U/mg protein, 3.67±1.63 nmol/mg protein, 2.33±0.88 nmol/mg protein olarak, IFX 5 mg/kg+PARA grubunda 18.84±2.86 U/mg protein, 3.91±1.20 nmol/mg protein, 2.38±1.10 nmol/mg protein olarak ve IFX 7 mg/kg+PARA grubunda bu değerler 23.16±2.71 U/mg protein, 3.87±0.77 nmol/mg protein ve 2.13±0.52 nmol/mg protein olarak tespit edildi.

Parasetamol grubunda SOD değerinin diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ve bu değer önemli derecede düşmüş olduğu gözlemlendi. IFX 3 mg/kg+PARA ve IFX 5 mg/kg+PARA grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı fakat NAC+PARA grubuna göre bu gruplardaki SOD seviyesi daha yüksekti. IFX 7 mg/kg+PARA grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve SOD seviyesinin anlamlı olarak artmış ve normale yaklaştığı tespit edildi.



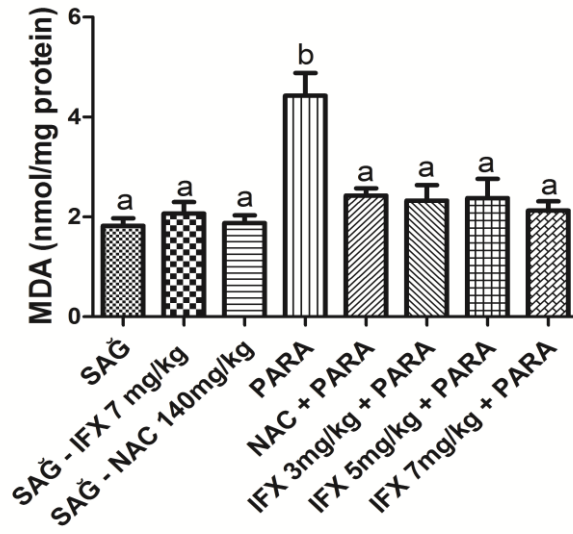
Şekil 4.6: Gruplara göre karaciğer dokusundaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksimab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

Parasetamol grubunda ölçülen GSH değerleri diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşüktü. İnfliksimab'ın üç farklı dozu arasında GSH seviyelerini yükseltme açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bütün tedavi gruplarında GSH seviyesinde gözlenen yükseliş paralellik göstermekteydi.



Şekil 4.7: Gruplara göre karaciğer dokusundaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksimab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

Parasetamol grubunda MDA seviyesinin anlamlı olarak yükseldiği gözlemlendi. Parasetamol grubuna kıyasla tedavi gruplarındaki MDA seviyesinin anlamlı olarak düşmüş olduğu gözlemlendi. Tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemesine rağmen MDA seviyesi açısından en fazla iyileşme IFX 7 mg/kg+PARA grubuna aitti.



Şekil 4.8. Gruplara göre karaciğer dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***SAĞ: Sağlıklı, IFX: İnfliksımab, NAC: N-asetil sistein, PARA: Parasetamol

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada ratlarda oluşturulan parasetamol toksisitesinde TNF- α inhibitörü olan infliksimabın etkileri deneysel olarak gösterildi.

Parasetamol terapötik dozlarda alındığında çok az yan etkileri olan ve dünya çapında yaygın olarak kullanılan ağrı kesici ve ateş düşürücü bir ilaçtır. Parasetamol ABD’de en yaygın olarak kullanılan ilaçlardan biridir ve tüketimi dünya çapında hızla artmaktadır. İngiltere, ABD, Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde kişi başına düşen yıllık tüketim 8 gramdan az olmasına rağmen bazı gelişmiş ülkelerde bu oran kişi başı 20 gramdan fazladır.^{1,2} Bu kadar sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması nedeniyle toksisite riski de yüksektir.

Tedavi edici dozlarda tüketildiğinde makul bir güvenlik profiline sahiptir fakat supratherapötik dozlarda kullanıldığında ciddi hepatotoksisiteye ve hatta ölümcül karaciğer yetmezliğine neden olmaktadır. Terapötik dozlarda parasetamol glukronil transferaz enzimi tarafından glukuronik aside çevirilir (%60), sülfonil transferaz enzimi tarafından ise sülfirik aside çevirilir (%35) veya sisteine dönüştürülüp idrar ile atılır.⁶⁹ Alınan parasetamolün %2’si ise idrarla değişmeden atılır. Yine de küçük bir miktar parasetamol sitokrom P-450 enzimi tarafından reaktif bir metabolit olan NAPQI’ya çevirilir. Bu metabolit reaktif elektrofilik bir molekül olup intraselüler proteinlerin üzerindeki sistein kısımlarına kovalent bağla bağlanarak 3-(cysteine-S-yl) şelatları oluşturur ve bu da karaciğer hasarını başlatır.¹⁸² Normal koşullarda NAPQI glutatyon ile reaksiyona girer ve safra yolu ile atılır.^{182, 183} Fakat çok yüksek dozlarda NAPQI karaciğerdeki GSH depolarını tüketir. Serbest kalan NAPQI intraselüler proteinlere bağlanır ve hepatotoksisite oluşur. Bu mekanizma parasetamol ile indüklenen hepatotoksisite için ana yolak olarak kabul görür.¹⁸³

Genelde yüksek doz parasetamol alımından 72-96 saat sonra fulminan hepatik

toksisite meydana gelir. Bunun sonucunda karaciğer transaminazlarında önemli derecede artış gözlenir. Bu transaminazların (AST, ALT) serumdaki seviyeleri yükselir. Parasetamol tarafından oluşturulan karaciğer hasarının değerlendirilmesinde AST ve ALT enzim seviyelerinin tespiti yaygın olarak kullanılır.¹⁸⁴ Nekroz veya membran hasarı bu enzimlerin dolaşıma sızmasına sebep olur bundan dolayı karaciğer hasarı oluşması durumunda bu enzimlerin seviyelerinin yükselmesi kaçınılmazdır. Bu yükselme hücre zarının fonksiyonel bütünlüğünün bozulduğunun bir işaretidir.¹⁸⁵ Yüksek doz parasetamolün serumdaki AST ve ALT seviyelerini yükselttiği bilinmektedir.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸ Kuvandik G. ve arkadaşlarının ratlar üzerinde parasetamol toksisitesi oluşturarak yaptıkları çalışmada toksisite oluşturulan gruplarda serum AST ve ALT seviyesi anlamlı olarak yükselmiştir.¹⁸⁹ Raj Kapoor B. ve arkadaşları da ratlar üzerinde parasetamol toksisitesi oluşturmuş ve oluşan toksisiteyi takiben serum AST ve ALT seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir.¹⁹⁰ Bu verileri destekleyen pek çok çalışma bulunmaktadır. Bütün bu çalışmalarda parasetamol ile toksisite oluşturulan gruplarda AST ve ALT enzim seviyeleri dramatik olarak yükselmiş bulunurken verilen ilaç tedavilerine göre bu enzim seviyeleri karaciğerdeki iyileşme durumuna göre azalmıştır. Bizim çalışmamızda ise parasetamol grubunda AST ve ALT enzim seviyelerinde anlamlı bir artış olmuştur. NAC+PARA ve IFX 5 mg/kg+PARA grupları arasında ALT seviyesi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. IFX 7 mg/kg+PARA grubunda ALT seviyesinde diğer tedavi gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olup ALT seviyesi kontrol grubuna yakın bulunmuştur. Serumdaki AST seviyelerine gelince tedavi grupları arasında anlamlı olarak en fazla düşüş IFX 7 mg/kg+PARA grubuna aitti. İnfliksımab tedavisinin sentrilobüler nekroz ve hepatosit yıkımına bağlı olarak dolaşıma sızan AST ve ALT miktarını, toksisite oluşturulan gruba göre önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. AST ve ALT seviyelerindeki bu artış

parasetamolün toksik dozunun P-450'ye bağlı sentrilobular hepatotoksisiteye sebep olduğunun bir işaretidir.¹⁹¹ Bu enzimlerin aktivitelerindeki artışı önlemesi infliksimabın enzimatik düzeyde hepatoprotektif etkisinin primer kanıtıdır.

İnfliksimabın bu koruyucu etkisi histolojik ve immnohistokimyasal sonuçlarla desteklenmiştir. Parasetamol ile indüklenen hepatotoksisite ile ilgili konjesyonun patojenezi daha önceki çalışmalarda karakterize edilmiştir.¹⁹² Daha önce yapılan histopatolojik çalışmalar parasetamolün hepatositlerde yaygın vasküler dejeneratif değişiklikler yaptığını ve sentrilobüler nekroz oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca Laskin D.L. parasetamole bağlı gelişen sentrilobüler nekroz gelişiminin parenkimal ve nonparenkimal hücreler arasındaki etkileşim sonucu olduğunu ileri sürmüştür.¹⁵⁶ Kuvandik G. ve arkadaşları ratlarda parasetamol ile oluşturdukları karaciğer toksisitesi modelinde sentrilobüler hepatik nekroz ve orta derecede sinüzoidal konjesyon saptamışlardır ve parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta sentral ven çevresinde sinüzoidal daralma ve sitoplazmik değişikliklerin diğer gruplara göre daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca Kuvandik G. ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada sentrilobüler hücrelerdeki nekrozun nükleer parçalanma ve sitoplazmik eozinofili ile birlikte dikkate değer bir şekilde artmış olduğu tespit edilmiştir. Hepatotoksisite oluşturulan grupta sentrilobüler bölgelerin mononükleer ve daha az olarak da polimorfnükleer hücreler ile infiltre olduğu gösterilmiştir.¹⁸⁹ Yan-Ling W.U. ve arkadaşları da farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturduklarında benzer şekilde ciddi sinüzoidal konjesyon ve kanama gözlemlemişlerdir ve yaptıkları incelemede dilate olmuş santral ven ile birlikte ciddi inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve perinükleer vakuolizasyon gösteren bozulmuş hepatositler tespit etmişlerdir.¹⁹³ Bizim çalışmamızda histopatolojik değişiklikler daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermekteydi ve diğer çalışmalara paralel olarak parasetamol grubunda nekrotik

odaklar mevcuttu. Bu odaklardaki hepatositler yoğun hiperkromatik çekirdeğe ve eozinofilik sitoplazmaya sahipti. Bu hücrelerle karakterize herhangi bir nekrotik odak kontrol grubunda ve tedavi grubumuzda gözlenmedi. Hepatotoksisite oluşturulan grupta gözlenen sentrilobüler nekrozun infliksimab ile tedavi edilen ratlarda anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. İnfliksimab ile tedavi sonucu dejeneratif değişiklikler minimuma inmiştir ve sentrilobular nekroz oluşmamıştır. Ayrıca parasetamol grubunda sinüzoidal yapı bozuk ve endotel hücreleri daha önceki çalışmaları destekler nitelikte olup hiperkromatik olmasına karşın NAC ve infliksimab uygulanan gruplarımızda ise sinüzoidlerde her hangi bir yapısal bozukluğa rastlanmamıştır. Bu gözlemler bize infliksimabın nekroz oluşmasını önleyerek karaciğer dokusunu histolojik olarak koruduğunu göstermektedir.

Parasetamol ile indüklenen hepatoksisitede önemli rolü olduğu bilinen başka bir mekanizma da oksidatif streştir.¹⁹⁴ Normal koşullarda serbest radikaller ile vücuttaki antioksidan savunma mekanizmaları bir denge halindedir fakat serbest radikal hasarına karşı koymak üzere mevcut antioksidanlar kullanılabilecek durumda değilse veya radikal oluşumu baş edilemeyecek kadar fazla ise, oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur ve oksidatif stres ortaya çıkar.

Serbest oksijen radikallerinin membranda bol miktarda bulunan lipitleri etkilemesi ile lipid peroksidasyonu başlar ve lipid peroksidasyon olayının zincir aşamasında ortaya çıkan son derece dayanıksız olan lipid hidroperoksitler özellikle zincirde açılmalar şeklinde yapısal bozulmalara uğrayarak çeşitli metabolik şekillere dönüşürler. Lipid peroksidasyonunun sonlanma basamağında da MDA gibi reaktif aldehidler açığa çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu, direkt hasarını membran yapısında değişikliklere sebep olarak, indirekt hasarını da reaktif aldehidler oluşumuna yol açarak göstermektedir. Membran yapısındaki değişiklikler; membran permeabilitesinde artış,

transmembran iyonik gradient ve membran sekretuar fonksiyonlarında bozukluklara neden olmaktadır. Reaktif aldehydler kolay difüze olduklarından dolayı, hasarı geniş bir alana yayabildikleri bildirilmiştir.^{129, 130} Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ Yani MDA hücredeki hasarın bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır ve lipid peroksidasyonunun derecesinin en yaygın belirleyicilerindedir.^{198, 199}

Serteser M. ve arkadaşları böbrek iskemisi ve reperfüzyonu oluşturdukları ratlardan alınan karaciğer dokularında MDA ve diğer TBARS'lerin oluşan oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak sağlıklı gruba göre anlamlı olarak yükseldiğini yaptıkları çalışmada göstermişlerdir.²⁰⁰ Shahjahan M. ve arkadaşlarının ratlarda CCL₄ ile oluşturdukları karaciğer toksisitesi modelinde de yine oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak MDA seviyesi artmıştır.²⁰¹

Parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan birçok deneysel çalışmada yukarıdaki bilgilerle doğru orantılı olarak MDA seviyesi yükselmiş olarak tespit edilmiş olup bu da artmış lipid peroksidasyonunun bir belirteçidir. Kuvandik ve arkadaşlarının ratlara 1 g/kg dozunda parasetamol vererek oluşturdukları toksisitede MDA seviyesi anlamlı olarak artmıştır.¹⁸⁹ Zhao Y.L. ve arkadaşlarınınca yapılan başka bir çalışmada ise ratlara 2,5 g/kg dozunda parasetamol verilerek toksisite oluşturulmuş ve MDA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir. Uygulanan tedavi ile MDA seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu çalışma da daha önceki çalışmaları destekler niteliktedir.²⁰² Bizim çalışmamızda MDA değerinin hepatotoksisite oluşturulan grupta artmış oksidatif strese bağlı olarak kontrol grubuna

göre önemli derecede yükselmiş olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar parasetamol grubunda karaciğerde oksidan antioksidan dengesinin oksidanların lehine bozulduğunu, oksidatif stres oluştuğunu ve aşırı serbest radikallerin üretimini önleyen antioksidan savunma sisteminin çöktüğünü göstermektedir. Bizim sonuçlarımıza göre infliksimab tedavisi MDA seviyesini anlamlı olarak düşürmüştür.

İnfliksimabın üç farklı dozunun da etkili olduğu, fakat MDA seviyesini düşürmede infliksimabın en etkili dozunun 7 mg/kg olduğu görülmektedir. Biz de bu sonuçlara bakarak infliksimabın lipit peroksidasyonunu azaltarak MDA seviyesini düşürdüğünü, yani karaciğer dokusunda hasarı önlediğini söyleyebiliriz. Literatürde de infliksimabın oksidatif stresi azaltarak MDA seviyesini düşürdüğünü gösteren birçok çalışma mevcuttur. Örneğin Güzel A. ve arkadaşları tarafından yürütülen ve deneysel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde infliksimabın akut akciğer hasarı üzerine olan antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerini araştıran bir çalışmada MDA seviyesi anlamlı bir şekilde artmıştır ve infliksimab tedavisi oksidatif stresi en aza indirerek MDA seviyesini düşürmüştür.²⁰³ Daha önce yapılan çalışmalar da bu bulguları destekler nitelikte olup infliksimabın serbest oksijen radikallerini temizleyip inflamasyonu azalttığını göstermektedir.^{204, 205}

Reaktif toksik bileşiklere ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli moleküllerden biri de GSH'dır. GSH her hücre tipinde bulunan intraselüler redoks hemostazının regülatörü ve non enzimatik antioksidantıdır.²⁰⁶ GSH hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikal türlerini uzaklaştırarak doku hasarını önler. GSH'ın karaciğer hücrelerinde tükenmesinin parasetamol toksisitesinde çok önemli bir rolü vardır ve GSH'ın tükenmesi parasetamol toksisitesinde adeta karaciğer hasarını başlatan bir kıvılcımdır.¹¹⁸ Normalde fizyolojik koşullarda parasetamolün toksik metaboliti NAPQI GSH'a bağlanır ve GSH tarafından

etkisizleştirilir. Parasetamolün toksik dozlarında NAPQI'in GSH depolarını tüketmesi sonucu GSH'a bağlanamayan NAPQI serbest kalır ve kovalent bağıyla hücredeki proteinlere bağlanır. Bunun sonucunda sentrilobüler hepatik nekroz oluşmasının yanı sıra GSH seviyesinin azalması lipid peroksidasyonunun artmasına sebep olur. Literatürde de parasetamol toksisitesine bağlı hepatotoksisitenin patofizyolojisinde karaciğer dokusundaki GSH depolarının tükenmesinin rolünü gösteren birçok çalışma vardır. Ávila D.S. ve arkadaşları fareler üzerinde akut parasetamol toksisitesi oluşturmuşlar ve oluşan toksisiteye bağlı olarak GSH seviyesinin azaldığını gözlemlemişlerdir.²⁰⁷ Wills P.J. ve arkadaşları da ratlar üzerinde CCl₄ ile karaciğer toksisitesi oluşturmuş ve yine aynı şekilde hepatik GSH seviyesinin düştüğünü gözlemlemişlerdir.²⁰⁸

Bizim sonuçlarımız da daha önceki çalışmaları destekler nitelikte olup hepatotoksisite oluşturduğumuz grupta GSH seviyesi önemli derecede azalmıştı. Biz de çalışmamızda parasetamol zehirlenmesi oluşturulan ratların karaciğer dokularında GSH değerlerindeki azalmanın infliksimab ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını tespit ettik. Yani infliksimab verilmesi ile GSH düzeyi artmış ve hasara karşı koruma gözlenmiştir.

Parasetamol toksisitesinde ortaya çıkan oksidatif strese sorumlu parametrelerden biri de süperoksit radikalidir. Bazı çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin artmasına sebep olan mekanizmaların üzerinde durulmuş ve bu radikallerin artmasına sebep olan üç farklı mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmaların hepsinde de süperoksit seviyesinin artmasının oksidatif stres oluşmasında kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir.²⁰⁹⁻²¹² Süperoksit seviyesinin yükselmesi hücrede diğer reaktif oksijen türlerinden olan hidrojen peroksit ve peroksinitrit üretiminin artmasına sebep olur.^{213, 214}

SOD, süperoksit serbest radikalinin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının (O_2^-) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korur. Bu nedenle oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır.²¹⁵ SOD gibi antioksidan enzimler lipid peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri tarafından kolayca inaktive olurlar ve bu nedenle parasetamol toksisitesinde bu enzim aktivitelerinde azalmalar saptanır.²¹⁶ Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda deneysel olarak oluşturulan toksisite sonucunda SOD aktivitesinin azalması süperoksit radikal anyonlarının aşırı üretimi kaynaklı olabilir.²¹⁷ M. Tolulope Olaleye ve arkadaşları farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturdukları çalışma ile hepatik SOD seviyesinin parasetamol verilen gruplarda anlamlı olarak düştüğünü göstermişlerdir.²¹⁸ Bu azalmanın sebebi serbest radikaller tarafından oluşturulan doku hasarı sonucu bu enzimlerin inhibe olması olarak açıklanabilir.

Biz de çalışmamızda parasetamol grubunda SOD aktivitesinin anlamlı olarak düşmüş olduğunu gözlemledik. İnfliksımab verilen grupların hepsinde SOD seviyesinde artış gözlenmiştir. Bu sonuçlara bakarak infliksımabın dokulardaki oksidatif hasarı azalttığını ve hepatik antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını söyleyebiliriz.

İnflamasyonun klasik toksikolojik süreçte önemli bir rol oynaması günümüzde dikkat çeken bir konudur. İnflamasyon, toksikolojik ve onarım süreçlerinin zaman ve doza bağımlı sürekliliğinin sadece bir yönü olabileceğinden bu ilişki son derece karmaşık olabilir. Bu süreçte birçok mediyatör direk ya da dolaylı olarak yer alıyor olmasına rağmen içlerinde en fazla dikkat çekenler proinflamatuvar sitokinlerdir. Çünkü bu sitokinler bu süreçte başroldeki santral mediyatörlerdir. Birçok toksik ajana maruz kalma sonrasında hedef organlarda TNF- α , kemokinler, reaktif oksijen ve nitrojen gibi

inflamatuvar mediyatörlerin artması da bu mediyatörlerin önemini vurgulamaktadır. TNF- α da bu mediyatörler içerisinde en önemlilerdendir. Beklenildiği gibi potansiyel terapötik kullanım için TNF- α 'nın özel ve güvenli biyolojik ve moleküler inhibitörlerini geliştirmek için önemli çabalar yürütülmüştür.

TNF- α 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- α 'nın önemli bir rolü olduğu bilinmektedir.²¹⁹ TNF- α karaciğerde adeta iki ucu keskin bıçak gibidir. Karaciğer rejenerasyonu sırasında normal hepatosit proliferasyonu için gereklidir diğer taraftan da TNF- α hepatotoksisitede mediyatördür. Yani TNF- α aşırı agresif inflamatuvar süreci başlatarak hücre hasarını daha da kötüleştirebildiği gibi apoptozisi ve hücre proliferasyonunu uyararak doku onarımına da yardım eden santral bir regülatördür. CCl₄²²⁰, kadmiyumklorid²²¹, dimetilnitrozamin²²², etanol²²³, bitki lektinleri²²⁴ ve fumunisin B1²²⁵ gibi hepatotoksinler ile yapılan deneysel hayvan çalışmalarında olduğu gibi viral veya alkolik hepatit, biliyer obstrüksiyon ve iskemi de dahil olmak üzere birçok akut ve kronik karaciğer hastalığında²²⁶⁻²²⁸ TNF- α seviyesi dramatik olarak yükselir. Kronik inflamasyon, akut faz proteinlerinin indüksiyonu, hücre proliferasyonu ve sitotoksisiteden sorumlu olan birçok biyoaktif molekül için santral regülator olduğu için biz bu çalışmamızda TNF- α 'nın parasetamol ile oluşturulan bu toksisite sürecindeki rolüne odaklandık. Artmış TNF- α seviyesi karaciğer hasarında çok önemli rol oynar ve TNF- α seviyesi karaciğer hasarının dolaylı bir göstergesi olarak artar.²²⁹ Proinflamatuvar sitokinlerin hepatotoksik cevaplarda önemli bir rol oynadığını ilk kanıtlayan çalışma ise Blazka M.E. ve arkadaşları tarafından yapılmıştır¹⁹. Blazka M.E. ve arkadaşları TNF- α ve IL-1 antikörlerini nötralize ederek farelerde parasetamolün hepatotoksik dozlarının karaciğer hasarını

önlediğini göstermişlerdir.¹⁹ Parasetamol verildiğinde hepatositlerin kupffer hücrelerini aktive eden faktörler salgılaması ve akabinde karaciğerde bu alanlarda nekroz oluşmasının gözlemlenmesi de bu çalışmayı destekler niteliktedir.²³⁰ Kimyasallar ile karaciğer toksisitesi oluşturulan çalışmalarda TNF- α 'nın hepatosit proliferasyonunu desteklemesi yoluyla karaciğer onarımında önemli rolü olduğu desteklenmiştir.²³¹ Yapılan bir çalışmada ratlara uygulanan kısmi hepatektomiyi takiben TNF- α salgılandığı tespit edilmiştir²³¹ ve kısmi hepatektomiden önce TNF- α antikollarının uygulanmasının karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.²³² Bu bağlamda TNF- α 'nın insan ve kemirgen hepatositlerinde bir mitojen olarak görev yapması son zamanlarda yapılan in vitro deneylerle de desteklenmiştir.²³² Wu Y.L. ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve TNF- α seviyesinin arttığı gözlenmiştir.²³³ Yine aynı ekip tarafından yapılan başka bir çalışmada farelerde parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve parasetamol verilen gruplarda TNF- α seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir.¹⁹³ Yan S.L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bütün diğer çalışmalarını destekler nitelikte olup karaciğer toksisitesi oluştuğunda TNF- α seviyesinin yükseldiği ve uygulanan tedavinin başarısına göre toksisite azaldıkça TNF- α seviyesinin azaldığı gözlenmektedir.²³⁴ Biz de parasetamol ile indüklenen toksistide TNF- α 'nın anahtar rol oynadığını düşündüğümüz için karaciğer toksisitesini önlemek ve TNF- α 'nın öncülük ettiği inflamatuvar süreci baskılamak için TNF- α inhibitörü olan infliksimabı kullandık. Sonuçlarımız diğer tüm çalışmalarını destekler nitelikteydi ve parasetamol ile toksisite oluşturduğumuz ratlarda TNF- α düzeyi anlamlı derecede yükseldi. İnfliksimab verilen gruplarda ise TNF- α seviyesinde anlamlı düşüş gözlendi ve en fazla düşüş 7 mg/kg dozunda verilen infliksimab grubuna aitti. İnfliksimabın TNF- α 'ya bağlanarak TNF- α aktivitesini blokladığını, TNF- α seviyesinin artması ile tetiklenen ve daha da kötü

duruma gelen karaciğer hasarını azaltarak etki ettiğini düşünürüz.

Elimizdeki bu verileri desteklemesi için de bu çalışmada son olarak TNF- α miktarını tayin etmek amacıyla immünohistokimyasal boyama işlemi yaptık. Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda özellikle sağlıklı grupta TNF- α ekspresyonu normal fizyolojik boyutlardayken, parasetamol uygulanan grupta TNF- α ekspresyonunun aşırı derecede artması, tüm bu çalışmalarımızı desteklemektedir. Protektif amaçlı uygulanan infliksimab gruplarında ise TNF- α ekspresyonu normal seviyede görülmesi, TNF- α 'nın antagonize edilmesi ile hepatik hasarın önlendiğinin göstergesidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel olarak parasetamolle oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerine infliksimabın etkilerini incelediğimiz çalışmamızın sonuçları gerçekten umut vericidir.

Çalışmamız TNF- α 'nın parasetamolle indüklenen hepatotoksisitede önemli rollerinin olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda, bir TNF- α inhibitörü olan infliksimabın ratlarda parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesinde hepatoprotektif etkisinin olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterilmiştir. Parasetamol ile oluşturulan hepatotoksisite infliksimab uygulanması ile deneysel olarak geriye döndürülmüştür. Bu etkisinin altında yatan nedenlerin başında parasetamol toksisitesine bağlı olarak artan oksidatif stres ve lipit peroksidasyonunun azalması ve ayrıca hücre içerisinde önemli koruyucu rolleri olan antioksidan enzimlerin aktivitelerinin düzelmesi gelmektedir. Bu sonuçlar infliksimabın hepatik hasarın önlenmesi ve tedavisinde çok değerli bir “aday” olacağını göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen verilerin, ileri araştırmalarla desteklenmesi durumunda, infliksimabın parasetamol zehirlenmelerinde kullanılabilir potansiyel bir ajan olabileceğini göstermesi bakımından umut verici olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Spooner JB, Harvey JG. The history and usage of paracetamol. *The Journal of international medical research*, 1976, 4: 1-6.
2. Newson RB, Shaheen SO, Chinn S, Burney PG. Paracetamol sales and atopic disease in children and adults: an ecological analysis. *The European respiratory journal*, 2000, 16: 817-23.
3. Steventon GB, Hutt A. *Paracetamol (Acetaminophen)*. In: Waring RH, Steventon GB, Mitchell SC (eds). *Molecules of Death*, 2nd ed. Singapore, Imperial College Press, 2007: 254.
4. Blough ER, Wu M. Acetaminophen: beyond pain and Fever-relieving. *Frontiers in pharmacology*, 2011, 2: 72.
5. Watson WA, Litovitz TL, Rodgers GC, Jr., Klein-Schwartz W, Youniss J, Rose SR, Borys D, May ME. 2002 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *The American journal of emergency medicine*, 2003, 21: 353-421.
6. Lee WM. Acetaminophen and the U.S. Acute Liver Failure Study Group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, 2004, 40: 6-9.
7. Lee WM. Acetaminophen toxicity: changing perceptions on a social/medical issue. *Hepatology*, 2007, 46: 966-970.
8. Blei AT. Brain edema in acute liver failure. *Critical care clinics*, 2008, 24: 99-114.
9. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, Reisch JS, Schiodt FV, Ostapowicz G, Shakil AO, Lee WM. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*, 2005, 42: 1364-1372.

10. Chun LJ, Tong MJ, Busuttill RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of clinical gastroenterology*, 2009, 43: 342-349.
11. Kwan D, Bartle WR, Walker SE. Abnormal serum transaminases following therapeutic doses of acetaminophen in the absence of known risk factors. *Digestive diseases and sciences*, 1995, 40: 1951-1955.
12. Johnson GK, Tolman KG. Chronic liver disease and acetaminophen. *Annals of internal medicine*, 1977, 87: 302-304.
13. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *British medical journal*, 1966, 2: 497-499.
14. Bronstein AC, Spyker DA, Cantilena LR, Jr., Green JL, Rumack BH, Heard SE. 2007 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 25th Annual Report. *Clinical Toxicology (Philadelphia)*, 2008, 46: 927-1057.
15. Bronstein AC, Spyker DA, Cantilena LR, Jr., Green JL, Rumack BH, Giffin SL. 2008 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 26th Annual Report. *Clinical Toxicology (Philadelphia)*, 2009, 47: 911-1084.
16. FDA. Acetaminophen information. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/InformationbyDrugClass/ucm165107.htm>. 16 February 2011.
17. Holt MP, Ju C. Mechanisms of drug-induced liver injury. *The AAPS journal*, 2006, 8: 48-54.
18. Gandhi A, Guo T, Ghose R. Role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in regulating tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) mediated increase of acetaminophen (APAP) and chlorpromazine (CPZ) toxicity in murine hepatocytes. *The Journal of toxicological sciences*, 2010, 35: 163-173.

19. 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.
20. 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.
21. Ishida Y, Kondo T, Ohshima T, Fujiwara H, Iwakura Y, Mukaida N. A pivotal involvement of IFN-gamma in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury. *The FASEB journal*, 2002, 16: 1227-1236.
22. 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.
23. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Haber DA, Bronstein AC, Wruk KM. 2005 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' national poisoning and exposure database. *Clinical Toxicology (Philadelphia)*, 2006, 44: 803-932.
24. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical Toxicology (Phila)*, 2005, 43: 105-109.
25. Bicer S, Sezer S, Cetindag F, Kesikminare M, Tombulca N, Aydoğan G, Aldemir H. Acil Çocuk Kliniği 2005 Yılı Akut Zehirlenme Olguların Değerlendirilmesi. *Marmara Universitesi Tıp Fakultesi Dergisi (Marmara Medical Journal)*, 2007, 20: 7-14.

26. Gunduz A, Kesen J, Topbaş M, Narci H, Yandı M. İntihar Amaçlı Zehirlenme Nedeniyle Acil Servise Başvuran Hastaların Analizi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bulteni*, 2004, 3: 234-242.
27. Yılmaz A, Kukul GFM, Korkmaz İ, Karabulut S. Acil Serviste Akut Zehirlenmelerin Retrospektif Analizi. *Cerrahpaşa Üniversitesi. Tıp Fakültesi Dergisi*, 2006, 28: 21-26.
28. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Saha Uygulaması Çalışması. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri, 2006; 1: 69-73
29. Unal T. İlac Zehirlenmeleri. *GATA İç Hastalıkları Dergisi*, 2003: 149-171.
30. M. L, Rumley W. Medical Emergencies. In: Dunagan WC, Rinder ML (eds). *Manuel of Medical Therapeutics*, 26th ed. Little, Brown and Company, Boston, 1989: 483-514.
31. Burke A, Smyth EM, Fitzgerald GA. Analgesic-antipyretic agents: pharmacotherapy of gout. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker K (eds). *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. New York, McGraw-Hill, 2006: 671-716.
32. Morse, HN. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1878, 11: 232-233.
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: 250-75.
34. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
35. Fairbrother JE. Acetaminophen. In:Florey K (ed). *Analytical Profiles of Drug Substances*, 2nd ed. New York and London, Academic Press, 1974: 1-109.

36. Verschueren K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. 3rd ed. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1996: 1444.
37. Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics*. 78th ed. Boca, Raton, CRC Press, 1997: 3-4.
38. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12.Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009: 849-850
39. Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnett LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H(2) synthases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99: 7130-7135.
40. Ouellet M, Percival MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2001, 387: 273-280.
41. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *The New England journal of medicine*, 2001, 345: 1809-1817.
42. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th ed. New York, McGraw Hill Companies, 2007: 591-592.
43. Gillman G. Analgesic-Antipyretic Agents; Pharmacotherapy Of Gout. In: Anne Burke ES, and Garret A. FitzGerald (eds). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics* 11th ed. 2006: 671-716
44. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009: 849-850
45. Katzung, B.G. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. In: Bertram G.

Katzung SBM, Anthony J. Trevor (eds). *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th ed. McGraw-Hill Medical, 2009.

46. Jaeschke H, Bajt ML. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. *Toxicological sciences*, 2006, 89: 31-41.

47. Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology letters*, 2003, 144: 279-288.

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

49. Hung O, Nelson LS. Acetaminophen. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski S (eds). *Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide*, 4th ed. ABD, Mc Graw Hill 2000: 1125-1136.

50. 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.

51. 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.

52. Boobis AR, Seddon CE, Nasser-Sina P, Davies DS. Evidence for a direct role of intracellular calcium in paracetamol toxicity. *Biochemical pharmacology*, 1990, 39: 1277-1281.

53. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Seminars in liver disease*, 1990, 10: 267-278.

54. Gujral JS, Knight TR, Farhood A, Bajt ML, Jaeschke H. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? *Toxicological sciences*, 2002, 67: 322-328.
55. Goldfrank R. *Toxicologic Emergencies*, 4th ed. East Norwalk, Appleton and Lange 1990: 183-257.
56. Prescott LF. Effects of non-narcotic analgesics on the liver. *Drugs*, 1986, 4: 129-147.
57. Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41: 1179-1197.
58. Fontana RJ. Acute liver failure including acetaminophen overdose. *The Medical clinics of North America*, 2008, 92: 761-794.
59. Korman JD, Volenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Jr., Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology*, 2008, 48: 1167-1174.
60. Horton JD, San Miguel FL, Membreno F, Wright F, Paima J, Foster P, Ortiz JA. Budd-Chiari syndrome: illustrated review of current management. *Liver international*, 2008, 28: 455-466.
61. Castro MA, Fassett MJ, Reynolds TB, Shaw KJ, Goodwin TM. Reversible peripartum liver failure: a new perspective on the diagnosis, treatment, and cause of acute fatty liver of pregnancy, based on 28 consecutive cases. *American journal of obstetrics and gynecology*, 1999, 181: 389-395.
62. Davern TJ. Fulminant hepatic failure. In: Bayless T, Diehl A (eds). *Advanced therapy in gastroenterology and liver diseases*, 5th ed. Ontario (Canada), B.C. Decker Inc, 2005: 629-637.

63. Broussard CN, Aggarwal A, Lacey SR, Post AB, Gramlich T, Henderson JM, Younossi ZM. Mushroom poisoning--from diarrhea to liver transplantation. *The American journal of gastroenterology*, 2001, 96: 3195-3198.
64. Makin AJ, Williams R. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: predisposing factors and treatments. *Advances in internal medicine*, 1997, 42: 453-483.
65. Ring-Larsen H, Palazzo U. Renal failure in fulminant hepatic failure and terminal cirrhosis: a comparison between incidence, types, and prognosis. *Gut*, 1981, 22: 585-591.
66. Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 1980, 78: 382-392.
67. Fontana RJ. Acute liver failure. In: Feldman M, Friedman LS (eds). *Sleisenger and Fortran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, and management*, 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2006: 837-847
68. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 2010, 77: 19-27.
69. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-548.
70. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *The New England journal of medicine*, 2008, 359: 285-292.
71. Salgia AD, Kosnik SD. When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate medicine*, 1999, 105: 81-4, 87, 90.
72. Jones AF, Harvey JM, Vale JA. Hypophosphataemia and phosphaturia in paracetamol poisoning. *Lancet*, 1989, 2: 608-609.
73. Rumack BH, Matthew H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics*, 1975, 55: 871-876.

74. Boyd JW. Serum enzymes in the diagnosis of disease in man and animals. *Journal of comparative pathology*, 1988, 98: 381-404.
75. Lindena J, Sommerfeld U, Hopfel C, Trautschold I. Catalytic enzyme activity concentration in tissues of man, dog, rabbit, guinea pig, rat and mouse. Approach to a quantitative diagnostic enzymology, III. Communication. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry. Zeitschrift fur klinische Chemie und klinische Biochemie*, 1986, 24: 35-47.
76. Mengi A. *Pratik Biyokimya ve Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Testler*. 2. Baskı. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1994, 2: 6-198.
77. Mengi A. *Biyokimya*. 3. Baskı. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları 1997: 158-185.
78. BJ H. *Clinical Diagnosis Management by Laboratory Methods*. 18th ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1991: 230-293.
79. Oliver L. Acetaminophen In: Judith E, Tintinalli JE, Gabor D, Kelen J, Stapczynski S (eds). *Emergency Medicine*, 6th ed. McGraw-Hill, 2004: 1088-1094
80. Bond GR, Requa RK, Krenzelok EP, Normann SA, Tendler JD, Morris CL, McCoy DJ, Thompson MW, McCarthy T, Roblez J, et al. Influence of time until emesis on the efficacy of decontamination using acetaminophen as a marker in a pediatric population. *Annals of emergency medicine*, 1993, 22: 1403-1407.
81. Amitai Y, Mitchell AA, McGuigan MA, Lovejoy FH, Jr. Ipecac-induced emesis and reduction of plasma concentrations of drugs following accidental overdose in children. *Pediatrics*, 1987, 80: 364-367.
82. 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.

83. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety*, 2001, 24: 503-512.
84. Krenzelok E, Vale A. Position statements: gut decontamination. American Academy of Clinical Toxicology; European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 1997, 35: 695-786.
85. Green R, Grierson R, Sitar DS, Tenenbein M. How long after drug ingestion is activated charcoal still effective? *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 2001, 39: 601-605.
86. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006: CD003328.
87. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in pharmacological sciences*, 2003, 24: 154-157.
88. Christophersen AB, Levin D, Hoegberg LC, Angelo HR, Kampmann JP. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. *British journal of clinical pharmacology*, 2002, 53: 312-317.
89. Spiller HA, Krenzelok EP, Grande GA, Safir EF, Diamond JJ. A prospective evaluation of the effect of activated charcoal before oral N-acetylcysteine in acetaminophen overdose. *Annals of emergency medicine*, 1994, 23: 519-523.
90. Chamberlain JM, Gorman RL, Oderda GM, Klein-Schwartz W, Klein BL. Use of activated charcoal in a simulated poisoning with acetaminophen: a new loading dose for N-acetylcysteine? *Annals of emergency medicine*, 1993, 22: 1398-1402.
91. Ekins BR, Ford DC, Thompson MI, Bridges RR, Rollins DE, Jenkins RD. The effect of activated charcoal on N-acetylcysteine absorption in normal subjects. *The American journal of emergency medicine*, 1987, 5: 483-487.

92. Spiller HA, Sawyer TS. Impact of activated charcoal after acute acetaminophen overdoses treated with N-acetylcysteine. *The Journal of emergency medicine*, 2007, 33: 141-144.
93. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 131-139.
94. Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Alternative medicine review*, 1998, 3: 114-127.
95. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of clinical gastroenterology*, 1991, 13: 79-82.
96. Bernard GR. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 54-59.
97. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 31-38.
98. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM, Noonan D, Albin A. Multiple points of intervention in the prevention of cancer and other mutation-related diseases. *Mutation research*, 2001, 480-481: 9-22.
99. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Alfieri O, Pardini A, Marzollo P, Visioli O. Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 95-105.
100. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 1998, 36: 277-285.
101. Marzullo L. An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Current opinion in pediatrics*, 2005, 17: 239-245.

102. Hendrickson RG. Acetaminophen In: Flomenbaum NE, Goldfrank LR, Hoffman RS (eds). *Toxicological Emergency* 8th ed. New York, McGraw-Hill, 2006: 656-659
103. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine-a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current opinion in pharmacology*, 2007, 7: 355-359.
104. Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *European journal of clinical pharmacology*, 1986, 31: 217-222.
105. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *American journal of health-system pharmacy: AJHP*, 2006, 63: 1821-1827.
106. Utah Poison Control Center. Acetylcysteine For Acetaminophen Overdose, http://uuhs.utah.edu/poison/healthpros/utox/Vol7_No1.pdf, 2005.
107. Stramentinoli G, Pezzoli C, Galli-Kienle M. Protective role of S-adenosyl-L-methionine against acetaminophen induced mortality and hepatotoxicity in mice. *Biochemical pharmacology*, 1979, 28: 3567-3571.
108. Bray GP, Tredger JM, Williams R. S-adenosylmethionine protects against acetaminophen hepatotoxicity in two mouse models. *Hepatology*, 1992, 15: 297-301.
109. Carrasco R, Perez-Mateo M, Gutierrez A, Esteban A, Mayol MJ, Caturla J, Ortiz P. Effect of different doses of S-adenosyl-L-methionine on paracetamol hepatotoxicity in a mouse model. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 2000, 22: 737-740.
110. Song Z, Zhou Z, Chen T, Hill D, Kang J, Barve S, McClain C. S-adenosylmethionine (SAME) protects against acute alcohol induced hepatotoxicity in mice small star, filled. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2003, 14: 591-597.

111. Valentovic M, Terneus M, Harmon RC, Carpenter AB. S-Adenosylmethionine (SAME) attenuates acetaminophen hepatotoxicity in C57BL/6 mice. *Toxicology letters*, 2004, 154: 165-174.
112. Terneus MV, Kiningham KK, Carpenter AB, Sullivan SB, Valentovic MA. Comparison of S-Adenosyl-L-methionine and N-acetylcysteine protective effects on acetaminophen hepatic toxicity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 2007, 320: 99-107.
113. Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM. Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, 1983, 85: 122-129.
114. Al-Mustafa ZH, Al-Ali AK, Qaw FS, Abdul-Cader Z. Cimetidine enhances the hepatoprotective action of N-acetylcysteine in mice treated with toxic doses of paracetamol. *Toxicology*, 1997, 121: 223-228.
115. Sajedianfard J, Khodakaramtafti A, Esmailpour H. Therapeutic effects of cimetidine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Comperative Clinical Pathology*, 2006, 15: 55-57.
116. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009: 1251.
117. Buckley NA, Whyte IM, O'Connell DL, Dawson AH. Activated charcoal reduces the need for N-acetylcysteine treatment after acetaminophen (paracetamol) overdose. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 1999, 37: 753-757.
118. 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.

119. Landon EJ, Naukam RJ, Rama Sastry BV. Effects of calcium channel blocking agents on calcium and centrilobular necrosis in the liver of rats treated with hepatotoxic agents. *Biochemical pharmacology*, 1986, 35: 697-705.
120. Satorres J, Perez-Mateo M, Mayol MJ, Esteban A, Graells ML. Protective effect of diltiazem against acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Liver*, 1995, 15: 16-19.
121. Draganov P, Durrence H, Cox C, Reuben A. Alcohol-acetaminophen syndrome. Even moderate social drinkers are at risk. *Postgraduate medicine*, 2000, 107: 189-195.
122. O'Grady JG, Gimson AE, O'Brien CJ, Pucknell A, Hughes RD, Williams R. Controlled trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1988, 94: 1186-1192.
123. Bekerecioğlu M, Uğras S, Dilek ON, Tercan M, Ozyazgan I. Serbest Radikaller. *Sendrom*, 1998, 10: 85-94.
124. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *American journal of surgery*, 1991, 161: 488-503.
125. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201: 875-880.
126. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. 1.Baskı. Konya, Mimoza yayınları, 1995: 3-95.
127. Vercesi AE, Kowaltowski AJ, Grijalba MT, Meinicke AR, Castilho RF. The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition. *Bioscience reports*, 1997, 17: 43-52.
128. Abheri DS, Anisur RM, Ghosh AK. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2010, 1: 185-192.

129. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition*, 1993, 57: 715-724; discussion 724-725.
130. Pacifici RE, Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 1991, 37: 166-180.
131. 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.
132. Murray RK, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*. 26th ed. USA, McGraw-Hill Press, 2003: 88-622.
133. Suzuki Y. Genes, cells and cytokines in resistance against development of toxoplasmic encephalitis. *Immunobiology*, 1999, 201: 255-271.
134. Viviani B, Bartesaghi S, Corsini E, Galli CL, Marinovich M. Cytokines role in neurodegenerative events. *Toxicology letters*, 2004, 149: 85-89.
135. Yilmaz O, Taskiran D, Aydar S. Cytotoxicity in cytokine stimulated astrocyte cultures: Role of IL-6 and nitric oxide. *Neurosci Res Commun*, 2004, 34: 82-91.
136. Cruse JM, Lewis RE. *Cytokines and Chemokines*. In: Norwitz BE (ed). *Atlas of Immunology*, 3rd ed. New York, CRC Press, 2010.
137. Kılıçturgay K. Sitokinler. *İmmünoloji*, 2003, 10: 113-145.
138. Çömez Y. Prostat adenokanseri tanısı ile takip edilen hastalarda TNF-alfa-308 A/G polimorfizm sıklığının belirlenmesi ve belirli parametreler ile ilişkisinin belirlenmesi. Sağlık Bakanlığı Kartal Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: 2006.
139. Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, Özgür M, Diker KS. *İmmünoloji*. 2.Baskı. Ankara, Medison Yayınevi, 1994: 179-192.

140. Van der Zee AG, De Cuyper EM, Limburg PC, de Bruijn HW, Hollema H, Bijzet J, Krans M, de Vries EG. Higher levels of interleukin-6 in cystic fluids from patients with malignant versus benign ovarian tumors correlate with decreased hemoglobin levels and increased platelet counts. *Cancer*, 1995, 75: 1004-1009.
141. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed. Philadelphia, Saunders Co, 2000: 235-269.
142. Akan E. Genel Mikrobiyoloji ve Immunoloji. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları*, 1992, 16: 81-200
143. Rosa MS, Pinto AM. Cytokines. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.*, 4th ed. St. Louis, Elsevier Saunders, 2006: 645-745.
144. Onat T, Emerk K, Sözmen E. İnsan Biyokimyası. 2.Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 557-569.
145. Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 1997, 17:65-74
146. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrology, dialysis, transplantation*, 1995, 10: 775-786.
147. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, C. F. Cytokines. In: Stites DP, Terr AL (eds). *Basic and Clinical Immunology* 3rd ed. 1994: 105-123.
148. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. In: Abbas AK (ed). *Cellular and Molecular Immunology* Philadelphia WB Saunders Company, 1994 240-261.
149. Jaattela M. Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis factor-alpha/cachectin. *Laboratory investigation*, 1991, 64: 724-742.
150. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart

- M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Cerretti DP. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*, 1997, 385: 729-733.
151. Aydınтуğ O, Tokgöz G. *Klinik İmmünoloji*, 2.Baskı. Ankara, Öncü Yayıncılık, 1997: 85-100.
152. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC. İçinde: Travmaya sistemik yanıt, Gecim IE (Çeviri editörü). *Principles of Surgery*, 7. Baskı. Ankara 1999: 3-55.
153. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annual review of immunology*, 1993, 11: 571-611.
154. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annual review of immunology*, 1992, 10: 411-452.
155. Jones AL, Spring ME. *The Liver and Gallbladder, Cell and Tissue Biology A Textbook of Histology*. 6th ed. München, Urban&Schwarzenberg, 1988: 696.
156. Laskin DL. Parenchymal and nonparenchymal cell interactions in hepatotoxicity. *Advances in experimental medicine and biology*, 1991, 283: 499-505.
157. Laskin DL, Pilaro AM. Potential role of activated macrophages in acetaminophen hepatotoxicity. I. Isolation and characterization of activated macrophages from rat liver. *Toxicology and applied pharmacology*, 1986, 86: 204-215.
158. Laskin DL, Pilaro AM, Ji S. Potential role of activated macrophages in acetaminophen hepatotoxicity. II. Mechanism of macrophage accumulation and activation. *Toxicology and applied pharmacology*, 1986, 86: 216-226.
159. Mochida S, Ogata I, Ohta Y, Yamada S, Fujiwara K. In situ evaluation of the stimulatory state of hepatic macrophages based on their ability to produce superoxide anions in rats. *The Journal of pathology*, 1989, 158: 67-71.

160. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *European journal of biochemistry / FEBS*, 1990, 192: 245-261.
161. Le J, Vilcek J. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Laboratory investigation*, 1987, 56: 234-248.
162. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *The Journal of clinical investigation*, 1987, 79: 319-326.
163. Pathirana D, Ormerod AD, Saiag P, Smith C, Spuls PI, Nast A, Barker J, Bos JD, Burmester GR, Chimenti S, Dubertret L, Eberlein B, Erdmann R, Ferguson J, Girolomoni G, Gisondi P, Giunta A, Griffiths C, Honigsmann H, Hussain M, Jobling R, Karvonen SL, Kemeny L, Kopp I, Leonardi C, Maccarone M, Menter A, Mrowietz U, Naldi L, Nijsten T, Ortonne JP, Orzechowski HD, Rantanen T, Reich K, Reytan N, Richards H, Thio HB, van de Kerkhof P, Rzany B. European S3-guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 2009, 23: 1-70.
164. Emre S, Tutkun İT. Enfeksiyöz Olmayan İntraoküler İnflamasyonların Kontrolünde Yeni Seçenekler: Biyolojik Ajanlar. *Türk Oftalmoloji Dergisi*, 2011, 44: 243-255.
165. Sfikakis PP. Behcet's disease: a new target for anti-tumour necrosis factor treatment. *Annals of the rheumatic diseases*, 2002, 61: 51-53.
166. Sfikakis PP, Markomichelakis N, Alpsy E, Assaad-Khalil S, Bodaghi B, Gul A, Ohno S, Pipitone N, Schirmer M, Stanford M, Wechsler B, Zouboulis C, Kaklamanis P, Yazici H. Anti-TNF therapy in the management of Behcet's disease-review and basis for recommendations. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46: 736-741.

167. Korhonen T, Karppinen J, Malmivaara A, Autio R, Niinimäki J, Paimela L, Kyllönen E, Lindgren KA, Tervonen O, Seitsalo S, Hurri H. Efficacy of infliximab for disc herniation-induced sciatica: one-year follow-up. *Spine*, 2004, 29: 2115-2119.
168. Markomichelakis NN, Theodossiadis PG, Pantelia E, Papaefthimiou S, Theodossiadis GP, Sfikakis PP. Infliximab for chronic cystoid macular edema associated with uveitis. *American journal of ophthalmology*, 2004, 138: 648-650.
169. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000, 161: 221-247.
170. Knight DM, Trinh H, Le J, Siegel S, Shealy D, McDonough M, Scallon B, Moore MA, Vilcek J, Daddona P, et al. Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Molecular immunology*, 1993, 30: 1443-1453.
171. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghrayeb J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine*, 1995, 7: 251-259.
172. Streit M, Belezny Z, Braathen LR. Topical application of the tumour necrosis factor-alpha antibody infliximab improves healing of chronic wounds. *International wound journal*, 2006, 3: 171-179.
173. Gardiner TA, Gibson DS, de Gooyer TE, de la Cruz VF, McDonald DM, Stitt AW. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha improves physiological angiogenesis and reduces pathological neovascularization in ischemic retinopathy. *The American journal of pathology*, 2005, 166: 637-644.
174. Theodossiadis PG, Liarakos VS, Sfikakis PP, Vergados IA, Theodossiadis GP. Intravitreal administration of the anti-tumor necrosis factor agent infliximab for

neovascular age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*, 2009, 147: 825-30.

175. Riazi-Esfahani M, Peyman GA, Aydin E, Kazi AA, Kivilcim M, Sanders DR. Prevention of corneal neovascularization: evaluation of various commercially available compounds in an experimental rat model. *Cornea*, 2006, 25: 801-805.

176. Saw VP, Cornelius N, Salama AD, Pusey C, Lightman SL. Infliximab therapy for aggressive mooren ulceration. *Archives of ophthalmology*, 2008, 126: 734.

177. Nahar IK, Shojania K, Marra CA, Alamgir AH, Anis AH. Infliximab treatment of rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *The Annals of pharmacotherapy*, 2003, 37: 1256-1265.

178. Baeten D, Kruithof E, Van den Bosch F, Van den Bossche N, Herssens A, Mielants H, De Keyser F, Veys EM. Systematic safety follow up in a cohort of 107 patients with spondyloarthropathy treated with infliximab: a new perspective on the role of host defence in the pathogenesis of the disease? *Annals of the rheumatic diseases*, 2003, 62: 829-834.

179. De Rosa FG, Shaz D, Campagna AC, Dellaripa PE, Khettry U, Craven DE. Invasive pulmonary aspergillosis soon after therapy with infliximab, a tumor necrosis factor-alpha-neutralizing antibody: a possible healthcare-associated case? *Infection control and hospital epidemiology*, 2003, 24: 477-482.

180. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, 89: 217-219.

181. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil

in male Wistar rats. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 1998, 53: 223-229.

182. 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.

183. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.

184. Rabinovitz M, Van Thiel DH. Hepatotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American journal of gastroenterology*, 1992, 87: 1696-1704.

185. Drotman RB, Lawhorn GT. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug and chemical toxicology*, 1978, 1: 163-171.

186. Janbaz KH, Saeed SA, Gilani AH. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*, 2002, 73: 557-563.

187. Ali BH, Bashir AK, Rasheed RA. Effect of the traditional medicinal plants *Rhazya stricta*, *Balanitis aegyptiaca* and *Haplophylum tuberculatum* on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Phytotherapy research : PTR*, 2001, 15: 598-603.

188. Kozer E, Evans S, Barr J, Greenberg R, Soriano I, Bulkowstein M, Petrov I, Chen-Levi Z, Barzilay B, Berkovitch M. Glutathione, glutathione-dependent enzymes and antioxidant status in erythrocytes from children treated with high-dose paracetamol. *British journal of clinical pharmacology*, 2003, 55: 234-240.

189. 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.

190. Raj Kapoor B, Venugopal Y, Anbu J, Harikrishnan N, Gobinath M, Ravichandran V. Protective effect of *Phyllanthus polyphyllus* on acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 2008, 21: 57-62.
191. Hinson JA, Pohl LR, Monks TJ, Gillette JR, Guengerich FP. 3-Hydroxyacetaminophen: a microsomal metabolite of acetaminophen. Evidence against an epoxide as the reactive metabolite of acetaminophen. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 1980, 8: 289-294.
192. 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.
193. Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2008, 31: 1523-1529.
194. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*, 2010: 369-405.
195. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 2004, 202: 227-235.
196. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical biochemistry*, 1966, 16: 359-364.
197. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 1984, 105: 273-282.

198. Gamal el-din AM, Mostafa AM, Al-Shabanah OA, Al-Bekairi AM, Nagi MN. Protective effect of arabic gum against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Pharmacological research*, 2003, 48: 631-635.
199. Sener G, Sehirli O, Cetinel S, Yegen BG, Gedik N, Ayanoglu-Dulger G. Protective effects of MESNA (2-mercaptoethane sulphonate) against acetaminophen-induced hepatorenal oxidative damage in mice. *Journal of applied toxicology : JAT*, 2005, 25: 20-29.
200. Serteser M, Koken T, Kahraman A, Yilmaz K, Akbulut G, Dilek ON. Changes in hepatic TNF-alpha levels, antioxidant status, and oxidation products after renal ischemia/reperfusion injury in mice. *The Journal of surgical research*, 2002, 107: 234-240.
201. Shahjahan M, Sabitha KE, Jainu M, Shyamala Devi CS. Effect of Solanum trilobatum against carbon tetrachloride induced hepatic damage in albino rats. *The Indian journal of medical research*, 2004, 120: 194-198.
202. 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.
203. Guzel A, Kanter M, Pergel A, Erboga M. Anti-inflammatory and antioxidant effects of infliximab on acute lung injury in a rat model of intestinal ischemia/reperfusion. *Journal of molecular histology*, 2012.
204. Cury DH, Costa JE, Irika K, Mijji L, Garcez A, Buchiguel C, Silva I, Sipahi A. Protective effect of octreotide and infliximab in an experimental model of indomethacin-induced inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences*, 2008, 53: 2516-2520.

205. Pascher A, Klupp J, Langrehr JM, Neuhaus P. Anti-TNF-alpha therapy for acute rejection in intestinal transplantation. *Transplantation proceedings*, 2005, 37: 1635-1636.
206. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 1983, 52: 711-760.
207. Avila DS, Palma AS, Colle D, Scolari R, Manarin F, da Silveira AF, Nogueira CW, Rocha JB, Soares FA. Hepatoprotective activity of a vinylic telluride against acute exposure to acetaminophen. *European journal of pharmacology*, 2011, 661: 92-101.
208. Wills PJ, Asha VV. Lygodium flexuosum extract down regulates the expression of proinflammatory cytokines in CCl4-induced hepatotoxicity. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2012, 5: 421-426.
209. Koop DR. Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P450 2E1. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1992, 6: 724-730.
210. Sies H, de Groot H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *Toxicology letters*, 1992, 64-65 Spec No: 547-551.
211. Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, Pakay JL, Parker N. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free radical biology & medicine*, 2004, 37: 755-767.
212. Casteilla L, Rigoulet M, Penicaud L. Mitochondrial ROS metabolism: modulation by uncoupling proteins. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 52: 181-188.
213. Cederbaum AI. CYP2E1--biochemical and toxicological aspects and role in alcohol-induced liver injury. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 2006, 73: 657-72.

214. Cheung C, Yu AM, Ward JM, Krausz KW, Akiyama TE, Feigenbaum L, Gonzalez FJ. The cyp2e1-humanized transgenic mouse: role of cyp2e1 in acetaminophen hepatotoxicity. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 2005, 33: 449-457.
215. Topic B, Tani E, Tsiakitzis K, Kourounakis PN, Dere E, Hasenohrl RU, Hacker R, Mattern CM, Huston JP. Enhanced maze performance and reduced oxidative stress by combined extracts of zingiber officinale and ginkgo biloba in the aged rat. *Neurobiology of aging*, 2002, 23: 135-143.
216. 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.
217. Yamanaka K, Hasegawa A, Sawamura R, Okada S. Cellular response to oxidative damage in lung induced by the administration of dimethylarsinic acid, a major metabolite of inorganic arsenics, in mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 1991, 108: 205-213.
218. Olaleye MT, Rocha BT. Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Experimental and toxicologic pathology*, 2008, 59: 319-327.
219. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*, 2006, 43: 31-44.
220. Czaja MJ, Flanders KC, Biempica L, Klein C, Zern MA, Weiner FR. Expression of tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta 1 in acute liver injury. *Growth Factors*, 1989, 1: 219-226.

221. Kayama F, Yoshida T, Elwell MR, Luster MI. Role of tumor necrosis factor-alpha in cadmium-induced hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 1995, 131: 224-234.
222. Schook LB, Lockwood JF, Yang SD, Myers MJ. Dimethylnitrosamine (DMN)-induced IL-1 beta, TNF-alpha, and IL-6 inflammatory cytokine expression. *Toxicology and applied pharmacology*, 1992, 116: 110-116.
223. Limuro Y, Gallucci RM, Luster MI, Kono H, Thurman RG. Antibodies to tumor necrosis factor alfa attenuate hepatic necrosis and inflammation caused by chronic exposure to ethanol in the rat. *Hepatology*, 1997, 26: 1530-1537.
224. Ksontini R, Colagiovanni DB, Josephs MD, Edwards CK, Tannahill CL, Solorzano CC, Norman J, Denham W, Clare-Salzler M, MacKay SL, Moldawer LL. Disparate roles for TNF-alpha and Fas ligand in concanavalin A-induced hepatitis. *J Immunol*, 1998, 160: 4082-4089.
225. Dugyala RR, Sharma RP, Tsunoda M, Riley RT. Tumor necrosis factor-alpha as a contributor in fumonisin B1 toxicity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1998, 285: 317-324.
226. Tilg H. The role of cytokines in the pathophysiology of chronic liver diseases. *International journal of clinical & laboratory research*, 1993, 23: 179-185.
227. Bird GL, Sheron N, Goka AK, Alexander GJ, Williams RS. Increased plasma tumor necrosis factor in severe alcoholic hepatitis. *Annals of internal medicine*, 1990, 112: 917-920.
228. Muto Y, Nouri-Aria KT, Meager A, Alexander GJ, Eddleston AL, Williams R. Enhanced tumour necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet*, 1988, 2: 72-74.

229. 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.
230. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21: 1045-1050.
231. 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.
232. 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.
233. 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.
234. 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: 259-265.

EKLER


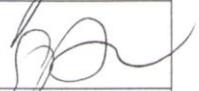
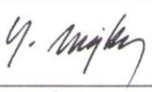
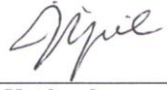
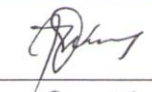

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	Irmak FERAH
Doğum Tarihi	27.10.1985
Doğum Yeri	Erzurum
Medeni Hali	Bekar
Uyruğu	T.C.
Adres	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, 25240 / ERZURUM
Telefon	0442 231 65 60
Faks	0442 236 09 62
E-posta	irmakferah@atauni.edu.tr
EĞİTİM	
Lise	Erzurum Anadolu Lisesi (2003)
Lisans	Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2009) Yeditepe Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi İşletme Bölümü (Yandal) (2009)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	İyi derecede (ÜDS 78.750, Mart 2010)
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Bilgisayar programları, Kitap okumak, Yüzme	

EK-2. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURUL ONAY FORMU

“2012. 2. 17 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 08.05.2012

2/17 -Enstitümüz **T.T.P.** Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Irmak FERAH' ın “ **İnflksimab’ ın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması** ” tez konusu görüşüldü; İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Doç. Dr. Ayşe OKANLI	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. Samih 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	

EK-3. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU



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

Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-113
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

26.10.2011
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

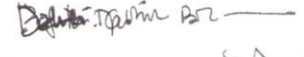
İlgi : 30.09.2011 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.02/4541 sayılı yazı.

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 "İnfliksımab'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 66 no'lu kararı ile araştırmanın Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Başkan

5106
02.11.2011


03 Kasım 2011
Prof. Dr. S. Selçuk ATAMANALP
Dekan

Toplantı Tarihi : 26.10.2011
Toplantı Sayısı : 10

KARAR NO : 66- 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 "İnfliksımab'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