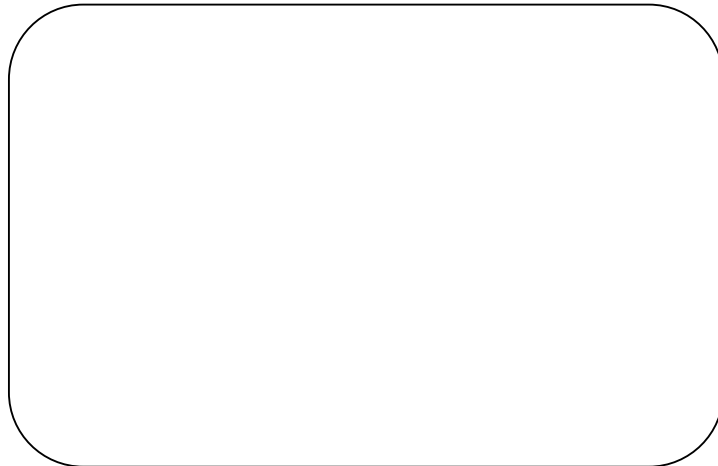




**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**PARASETAMOL TOKSİSİTESİ İLE KARACİĞER
HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA CAFFEİC ACİD
PHENETHYL ESTER'İN TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Egemen KÜÇÜK

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yücel YAVUZ

İLK VE ACİL YARDIM ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR-2009

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

İLK VE ACİL YARDIM ANABİLİM DALI

**PARASETAMOL TOKSİSİTESİ İLE KARACİĞER
HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA CAFFEİC ACİD
PHENETHYL ESTER'İN TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. Egemen KÜÇÜK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Yücel YAVUZ

AFYONKARAHİSAR-2009

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, başlangıcından sonuna kadar, gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Yücel YAVUZ'a, eğitimime katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Yusuf YÜRÜMEZ'e, eğitimim boyunca olumlu katkı ve eleŐtirilerinden her zaman faydalandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. NeŐe Nur USER'e, diğer branŐlarda rotasyon eğitimimde bana yardımcı olan değerli hocalarıma ve tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Murat YAĞMURCA'ya ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU'na destek ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm yaşamım boyunca hep desteklerini gördüğüm, beni yetiŐtiren anne ve babama, dostlarıma ve bu tezin hazırlanması sırasında her aşamada desteğini ve yardımını esirgemeyen, hayatımı mutlu kılan değerli eşim Seçil KÜÇÜK'e ve kardeşlerim Dr. İrfan KÜÇÜK ve Dr. Erdem KÜÇÜK'e teşekkür ederim.

Dr. Egemen KÜÇÜK

Afyonkarahisar - 2009

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
TABLO LİSTESİ	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Parasetamol	4
2.1.1 Tarihçe	4
2.1.2 Farmakolojik Özellikler	4
2.1.3 Farmakokinetik ve Metabolizma	6
2.1.4 Toksik Etkiler	8
2.2 Caffeic Acid Phenethyl Ester	9
2.3 Parasetamol Toksisitesi	13
2.3.1 Patofizyoloji	15
2.3.2 Klinik Bulgular	20
2.3.3 Teşhis	24
2.3.4 Tedavi	27
2.3.5 Tedavi Protokolu	33
2.3.6 Fulminan Hepatik Yetmezlik	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1 Kimyasallar	39
3.2 Deney Grupları ve Dizaynı	40
3.3 Kanda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme	41
3.4 Dokuda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme	43
3.5 Histopatolojik Değerlendirme	43
3.6 Karaciğerin Mikroskopik Değerlendirilmesi	44
3.7 İstatiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
4.1 Kanda Biyokimyasal Değerler	45
4.1.1 Karaciğer Fonksiyon Testleri	45
4.1.2 Glutasyon Değeri	46
4.1.3 Malondialdehid Değeri	46
4.1.4 Karoten Değeri	46
4.1.5 Retinol Değeri	47
4.1.6 Vitamin C değeri	47
4.1.7 Seruloplazmin Değeri	47
4.1.8 Süperoksit Dismutaz Değeri	47
4.1.9 Glutasyon Peroksidaz Değeri	48
4.1.10 Katalaz Değeri	48
4.2. Doku Düzeyinde MDA ve GSH Değerleri	49

4.2.1	Glutasyon Değeri	49
4.2.2	Malondialdehid Değeri	49
4.3.	Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	50
4.3.1	Sinuzoidal Dilatasyonun Değerlendirilmesi	50
4.3.2	Hepatosit Dejenerasyonunun Değerlendirilmesi	50
4.3.3	Vasküler konjesyon-trombozis Değerlendirilmesi	51
4.3.4	İnflamatuvar İnfiltasyonun Değerlendirilmesi	51
5.	TARTIŞMA	56
6.	SONUÇLAR	74
7.	ÖZET	77
8.	SUMMARY	79
9.	KAYNAKLAR	82

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: Alkalen Fosfotaz
ALT	: Alanin Amino Transferaz
APAP	: N-asetil-P-aminofenol
ARDS	: Adult Respiratuar Distres Sendromu
AST	: Aspartat Amino Transferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BUN	: Kan Üre Azotu
CAPE	: Caffeic Acid Phenethyl Ester
COX	: Siklooksijenaz
DTNB	: 5,5-dithio-bis-2- nitrobenzoic acid
FDA	: Amerikan Yiyecek ve İlaç Cemiyeti
FHY	: Fulminan Hepatik Yetmezlik
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
MDA	: Malondialdehid
NAC	: N-acetylcysteine
NAPQI	: N-acetyl-P-benzoquinoneimine
NF-κB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
PGE	: Prostaglandin E
PT	: Protrombin Zamanı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TNF	: Tümör Nekroz Faktör

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1** : Parasetamolün moleküler yapısı
- Şekil 2** : Caffeic Acid Phenethyl Ester'in moleküler yapısı
- Şekil 3** : Parasetamolün tedavi edici dozlarda metabolizması
- Şekil 4** : Parasetamolün aşırı dozda metabolizması ve hücre ölümü
- Şekil 5** : Hepatik lobül yapısı
- Şekil 6** : Rumack–Matthew nomogram
- Şekil 7** : Parasetamol zehirlenmesinde tedavi protokolü
- Şekil 8** : Fulminan Hepatik Yetmezlikte Karaciğer Transplantasyonu için King's Collage Hospital Kriterleri.
- Şekil 9** : Sham grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 10** : Caffeic Acid Phenethyl Ester kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 11** : N-acetylcysteine kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 12** : Deneysel kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 13** : Caffeic Acid Phenethyl Ester tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 14** : N-acetylcysteine tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.
- Şekil 15** : Caffeic Acid Phenethyl Ester+N-acetylcysteine tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm.

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1** : Histopatolojik Hasar Kriterleri
- Tablo 2** : AST, ALT, GSH, MDA, Karoten, Retinol, Vitamin C,
Seruloplazmin, SOD, GPx, Katalaz Değerleri
- Tablo 3** : Doku Düzeyinde MDA ve GSH Değerleri
- Tablo 4** : Histopatolojik bulgulara ait skorlar

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Parasetamol yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol toksisitesi Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve İngiltere’de akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedenidir. Günümüzde parasetamol ABD’de toksik ilaç alımlarının en yaygın ikinci nedenidir. Bu nedenlerle parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının gerçek bir iş yükünü oluşturmaktadır (1,2).

Oral alımdan sonra parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen absorbe edilir ve ardından ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır (3). Parasetamol primer olarak karaciğerde metabolize edilir. Tedavi edici dozlarda kullanıldığında parasetamol; majör metabolitleri olan, idrarda atılabilen ve toksik olmayan, glukuronik asit-sülfat konjugatları olarak elimine edilir. Parasetamolün az bir kısmı (%5 den azı) Sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) tarafından oksidatif yolla toksik etkiler oluşturan reaktif N-acetyl-P-benzoquinoneimine (NAPQI) metabolitine çevrilir. Bu reaktif toksik metabolit normal koşullarda redükte glutatyon (GSH) tarafından detoksifiye edilir (4). Parasetamolün %1’i böbreklerden değişmeden atılırken, eliminasyonu neredeyse tamamen böbrekler yoluyla olur (5,17).

Yüksek dozlarda kullanıldığında parasetamolün insanlarda ve deneysel hayvan modellerinde hepatik ve renal hasara neden olduğu bilinmektedir. Parasetamol akut olarak aşırı dozda ya da uzun süreli terapötik dozlarda (erişkinlerde tek bir seferde 140 mgr/kg ya da 24 saatlik bir periyot içerisinde 7,5 gr’dan daha fazla) kullanıldığında konjugasyon yolunun doyuma ulaşmasına yol açar, buna bağlı olarak da GSH’da azalma ve toksik reaktif metabolitlerin oluşumunda artış ortaya çıkar. GSH kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı en önemli hücresel savunma moleküllerinden biridir (6). Karaciğer hasarından sorumlu olan toksik metabolit NAPQI’dir. GSH’nın hepatik deposu normalin %30’undan

daha fazla düşünce NAPQI'nın detoksifiye edilememesine bağlı olarak hepatik toksisite meydana gelir. Bu toksik metabolit yaşamsal öneme sahip hücresel proteinler ve hepatosit membranlarının lipit bariyerleri ile etkileşerek, lipit peroksidasyonu yoluyla karaciğerde sentrilobüller (zone III) nekroza neden olabilir. Parasetamol toksisitesinde; reaktif oksijen ürünleri tarafından meydana getirilen lipit peroksidasyonunun, karaciğer hücre zarı hasarında önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır. Hücre zarının poliansatüre yağ asitleri, bu süreçte hasar görür ve bunun sonucu olarak membran bütünlüğü bozulur. Parasetamol hepatotoksitesinin mekanizmasında, mitokondriyal disfonksiyonun da önemli bir rol oynayabildiği belirlenmiştir (7,8). Hücrelerde antioksidan savunma ve oksidan üretimi arasındaki dengenin kaybı birçok hastalıkta sekonder bir neden olarak ortaya çıkmaktadır buda genel olarak oksidatif stres olarak adlandırılır. Antioksidan kapasitenin kaybı, primer olarak GSH da azalmaya ve/veya Okside Glutasyon (GSSG)'da artışa bağlıdır. Çünkü GSH; en bol intraselüler serbest thiol'dur. Sonuç olarak oksidatif stres esas olarak GSH ve/veya onun prekürsörü olan sisteinin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar (9).

Parasetamol toksisitesinin tedavisinde; nazogastrik tüp ya da oral yolla uygulanan aktif kömür ile gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda N-Acetylcysteine (NAC) antidotunun kullanımı ve destekleyici tedavi vardır (8). NAC sisteinin öncü bir bileşiğidir ve tedavi için klinikte en yaygın kullanılan ajandır. İn vitro ve in vivo çalışmalar NAC'ın bir glutasyon prekürsörü olarak rol oynadığını göstermiştir. NAC hastalara intravenöz ya da oral yolla verilebilir. (9,10).

Caffeic Acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) Phenethyl Ester (CAPE) bal arısı propolisin aktif fenolik bileşenlerinden biridir. CAPE güçlü antimikrobiyal, antiinflamatur, antioksidan ve antineoplastik etkilere sahiptir. Ayrıca CAPE'nin immünomodülatör özelliklere sahip olduğu da belirlenmiştir. 10 µM'luk bir konsantrasyonda CAPE, insan nötrofillerinde ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminde; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türlerinin üretimini tamamen bloke eder. CAPE'nin antioksidan aktivite gösterdiği, lipit peroksidasyonunu baskıladığı, hücresel glutasyon miktarını artırdığı

ayrıca lipooksijenaz, ornitin dekarboksilaz ve protein tirozin kinaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (11,12,13).

CAPE'nin antioksidan aktivite göstermesi, lipid peroksidasyonunu baskılaması ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe etmesi nedeniyle, yüksek doz parasetamole bağlı gelişen oksidatif hepatotoksik hasarın CAPE ile geri döndürülebileceği dşnencesiyle bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada parasetamol zehirlenmesine bağlı meydana gelen karaciğer hasarı zerine CAPE'nin tedavi edici etkisinin olup olmadığını belirlemeyi ve CAPE'nin rutin olarak kullanılan NAC tedavisine etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Parasetamol

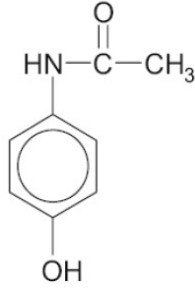
Asetaminofen ve N-asetil-P-aminofenol (APAP) olarak da bilinen parasetamol yaygın şekilde kullanılan para-aminofenol türevi analjezik ve antipiretik bir ajandır (14). Parasetamol bu grubun diğer bir üyesi olan fenasetinin aktif metabolitidir. Fenasetinden farklı olarak, parasetamolün herhangi bir şekilde karsinojenik olduğu gösterilememiştir (4).

2.1.1 Tarihçe

Orta çağlarda bilinen antipiretik ilaçlar beyaz söğüt (bunlar aspirinin geliştirildiği salisinler olarak bilinen kimyasalların bir ailesidir) ve kına kına ağacı kabuğunda bulunan içeriklerin bileşenleriydi. Salisinin izole ve rafine edilme çalışmaları 19. yüzyılın orta ve geç dönemlerinde başlamıştır. Kına kına ağacı 1880 lerde zor bulunur hale gelince insanlar alternatif ilaçlar için araştırmalara başlamış ve iki alternatif antipiretik ajan; asetanilid 1886'da ve fenasetin 1887'de geliştirilmiştir (4). Parasetamol Morse tarafından 1878'de sentez edilmiş ve 1887'de Von Mering tarafından phenacetin ve paracetamol klinik kullanıma sunulmuştur (15).

2.1.2 Farmakolojik Özellikler

Parasetamol bir benzen zincir halkasından oluşur ve bir amid grubunun nitrojen atomu ile bir hidroksil grubu, para (1,4) paterninde yer değiştirir (4).



P-Hydroxyacetanilide (Parasetamol)

Şekil 1: Parasetamolün moleküler yapısı (15)

Parasetamol fenasetin ve fenazopridin'nin aktif bir metabolitidir, belirgin antipiretik, bir miktar analjezik ve aspirin veya nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ile karşılaştırıldığında minimal antiinflamatuvar etki gösterir (3,19).

Parasetamol aspirininkine yaklaşık olarak eşit derecede analjezik etki yapar. Antipiretik etkisi de aspirininkine yakın güçtedir fakat aspirinden farklı olarak, antiinflamatuvar etkinliği oldukça düşüktür ve bu tür etkinlik gerektiren endikasyonlarda kullanılmaz (16). Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar ya da opioid analjezikler ile yapılan kombinasyonlarda, daha ciddi ağrıların tedavisi için kullanılırlar. Soğuk algınlığı ve grip tedavilerinde kullanılan çok sayıda kombine ilaç formülasyonunda, parasetamol majör bir bileşen olarak bulunur (4).

Parasetamolün antitrombotik etkinliği zayıftır, kanama süresini değiştirmez (16). Aspirin, tromboksanlar gibi pıhtılaşma öncüsü kimyasalların üretimini baskımlarken, parasetamol bunu yapmaz (4).

Parasetamole bağlı antipiretik etki; ya membran bağımlı Prostaglandin E (PGE) sentazın inhibisyonu ya da Siklooksijenaz 2 (COX-2)'nin direkt inhibisyonu yoluyla, santral sinir sisteminde PGE2 sentezinin inhibe edilmesine bağlı olarak ortaya çıkar. PGE sentazın inhibisyonu, COX-2 enzimleri yoluyla parasetamolün reaktif metabolitlerine dönüşümüne bağlı başlatılan GSH konsantrasyonlarının lokal olarak azalmasının bir sonucuda olabilir. Ayrıca parasetamol tarafından COX-3 ün bağlanması ve inhibisyonu antipiretik bir etkiye yol açabilir ancak bunun klinik ile

İlgisi açık değildir. Parasetamolün analjezik etkisi; COX-2 ve prostoglandin sentazın santral inhibisyonu ve muhtemelen seratonerjik yolların indirekt modülasyonu yoluyla meydana gelir. Bu etki prostoglandin sentezinin parasetamol bağımlı inhibisyonundan kaynaklanan seratonerjik nöronların azalmış stimülasyonunun bir sonucu olabilir. Parasetamol santral bir COX-2 inhibitörü olmasının yanı sıra hafif şekilde periferik antiinflatuar etkilerde sahiptir, bu etkinin periferik prostoglandin sentazın hafif olarak inhibisyonuna bağlı olduğu zannedilmektedir (5).

Parasetamol; benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak, hipotalamus ve omurilik gibi, peroksitlerden fakir ortamda prostoglandin sentezini inhibe edebilir. Analjezik ve antipiretik etkilerinin sırasıyla, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostoglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksitten zengin ortamda siklooksijenazı inhibe edememesi antiinflatuar etkisinin olmamasını açıklayabilir (15, 16).

2.1.3 Farmakokinetik ve Metabolizma

Oral alımdan sonra parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen absorbe edilir ve ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır, erişkinlerde hepatik ekstraksiyon oranı %11-37 dir. Olağan oral dozlarını takiben parasetamolün yaklaşık olarak %25'i karaciğerden ilk geçiş yoluyla metabolize edilir. Oral alımı takiben hızlı salımlı parasetamol preparatları 45 dk içinde peak kan konsantrasyonlarına ulaşırken, likit preparatlarda bu süre 30 dk civarındadır, uzamış salımlı preparatlarda bu süre 1-2 saate kadar uzar. Uzamış salımlı formülasyonlar 6 ila 8 saat için 10-20 mcg/ml lik terapötik düzeylerini devam ettirir. Parasetamol plazma proteinlerine güçlü şekilde bağlanmaz (%25), relatif şekilde yaygın olarak birçok vücut sıvısında dağılır. Terapötik dozlardan sonra ilacın %90-100'ü ilk gün içinde idrarda tespit edilebilir. Oral biyoyararlılığı %60-89 oranındadır. Dağılım volümü erişkinlerde 1-2 L/kg, çocuklarda ise 0,7-1 L/kg olarak saptanmıştır (15,18,19).

Parasetamol analjezik etkisini 10 mcg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonunda gösterirken, antipiretik etkisini 18 mcg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonunda gösterir. Tek bir dozdan sonra belirgin toksisite genellikle 150 mg/kg dozda ortaya çıkar. Parasetamol yemek sırasında veya yemekten hemen sonra alınırsa biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır bu yüzden aç karna alınması önerilir. Ayrıca opioidler ve antikolinerjik ilaçlarla beraber alındıklarında en yüksek kan konsantrasyonlarına ulaşmaları gecikir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir. Parasetamol erişkinlere ve adolosanlara ağızdan 500-1000 mg dozunda verilir gerekirse bu doz 4-6 saatte bir tekrarlanır, günlük en yüksek dozu genellikle 4 gr 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. Mutad dozda parasetamolün yarılanma ömrü 2,4 saattir, lineer olmayan bir eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle, aşırı dozda yarılanma ömrü 7,3 saate kadar uzayabilir (5,16).

Parasetamol günümüze kadar 50 civarı piyasa adı ve 200 civarı ilaç kombinasyonu ile çeşitli ürünlerde 325 mg, 500 mg ve 650 mg dozluk tabletler halinde kullanılmıştır. Hem erişkinler hem de çocuklar tarafından kullanılabilen likit, eliksir ve suppozituar gibi çeşitli enteral ve parenteral formları mevcuttur. Ayrıca parasetamol; propoksifen napsylate 100 mg/parasetamol 650 mg ve oksikodon/parasetamol şeklinde uygun farklı kombinasyonlarda da üretilmiştir (19,20).

Parasetamol primer olarak karaciğerde metabolize edilir, majör metabolitleri idrarda atılabilen inaktif sülfat ve glucuronide metabolitleridir. Küçük ama yine de önemli bir miktarı hepatic sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla metabolize edilir, minör bir alkilasyon metaboliti olan NAPQI, parasetamolün toksik etkilerinden sorumludur. Parasetamolün metabolizması toksikasyonun iyi bir örneğidir çünkü parasetamolün kendisinden ziyade metaboliti

olan NAPQI toksisiteden primer olarak sorumludur. Yaygın fenotipteki bir kişide olağan dozlarda, toksik metabolit olan NAPQI, GSH'nın sulfidril gurupları ile geri dönüşümsüz şekilde kombine olarak hızlıca detoksifiye edilir ve toksik olmayan bir konjugat meydana gelir, bu konjugat daha sonra böbrekler tarafından atılır. Aşırı dozları takiben bu yol kolayca doyunluğa ulaşır (4).

Parasetamolün vücuttan atılımı neredeyse tamamen böbrekler yoluyla olur. Orta derecede lipitte eriyebilen ve zayıf bir organik asit olan parasetamol; glomeruler filtrasyon ile bunu takip eden aşırı tubüler reabsorbsyona maruz kalır. Yüksek derecede polar olan glukronit ve sülfat konjugatları aktif şekilde tübüllerden sekrete edilir. Ortalama eliminasyon yarı ömrü prematüre infantlarda artış gösterir, yeni doğanlarda 4-5 saat arasında değişir (15).

Parasetamolün solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Mide de iritasyon ve kanama yapmaz. Protrombin sentezini fazla etkilemez. Parasetamol, aspirinden farklı olarak ürik asit itrahını etkilemez ve ürikozürük ilaçların etkinliğini azaltmaz (16).

2.1.4 Toksik Etkiler

Önerilen terapötik dozlarda parasetamol genellikle iyi tolere edilir. Deri raşları ve benzeri alerjik reaksiyonlar ara sıra meydana gelir. Raşlar genellikle eritematöz ya da erütikeryaldır fakat daha ciddi de olabilir, ilaç ateşi ve mukozal lezyonlar ile birlikte bulunabilir. Nadiren parasetamol kullanımı nötropeni, trombositopeni ve pansitopeniye neden olabilir. Parasetamolün akut aşırı alımlarında en ciddi yan etki; doza bağlı gelişen ve ölümcül olabilen hepatik nekrozdur (3,22).

Tüm dünyada ilaca bağlı ölümcül akut karaciğer nekrozunun en başta gelen nedeni parasetamoldür. Hepatotoksik etkinin; karaciğerde parasetamolden oluşan ve N-oksidasyon ürünü olan N-hidroksil türevi ve ilacın fenol hidroksilinin oksitlenmesi ile oluşan NAPQI'ya bağlı olduğu sanılmaktadır. NAPQI hücresel proteinler ile kovalen bağlar oluşturabilir, bu proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Bu hücresel bozukluklar, kalsiyum ATPase aktivitesinde azalmaya yol

açar ve sitozolik kalsiyum düzeylerinde artışa yol açar, bu anormal hücrel kalsiyum hemostazisi, hücrenin geçirgenliğini değiştirebilir ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir (21).

Parasetamole bağlı olarak renal tübüler nekrozis ve hipoglisemik koma da meydana gelebilir. Hastalar renal toksisite riskini artırmasından dolayı parasetamol ile aynı anda diğer nonsteroid antiinflamatuvar ilaçları kullanmamaları konusunda uyarılmalıdırlar (3,19).

Parasetamol gebelerde güvenlidir ve nonsteroid antiinflamatuvarların yaptığı gibi fetal ductus arteriosusun kapanmasını etkilemezler. Aspirinden farklı olarak parasetamol çocuklarda güvenlidir ve çocuklarda viral hastalıklarla beraber olabilen Reye sendromu riskinde artış yapmazlar. Opioid analjeziklerden farklı olarak parasetamol, öforiye ve ruh halinde herhangi bir değişime neden olmaz. Parasetamol karaciğerde hasar oluşturabilmesine karşın; alışkanlık, bağımlılık, tolerans ve geri çekilme gibi yan etkilerinin olmadığı görülmüştür. Özellikle zayıf opioidlerle kombine edildiğinde parasetamol, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlardan daha fazla rebound baş ağrısına neden olur fakat bu durum, migren için kullanılan Ergotamine ve Triptanlara göre daha azdır (4).

Parasetamole bağlı pankreatik hasar deneysel olarak sıçanlarda ortaya çıkarılmıştır, bunun NAPQI üretiminin bir sonucu olmadığı zannedilmektedir. Hiperamilazemi ve pankreatit; tek başına parasetamol aşırı alımına ya da alkol aşırı alımı ile beraber parasetamol kullanımına bağlanmıştır (5).

2008 tarihli bir vaka kontrol çalışmasında; 1-5 yaş arası çocuklarda kızamık, kızamıkçık, kabakulak aşısını takiben parasetamol kullanımının, otizm gelişimini belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir (4).

2.2 Caffeic Acid Phenethyl Ester

Caffeic asit, (C₉H₈O₄) doğal şekilde meydana gelen, fenol içeren bir bileşiktir (geçmişte karbolik asit olarak adlandırılmıştır) bazı meyvelerde, sebzelerde ve

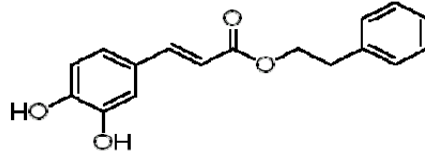
kahveyi de içeren bitkilerde bulunur. Caffeic asidin bir karsinojenik inhibitör olarak rol oynadığı gösterilmiştir. İn vitro ve aynı zamanda in vivo bir antioksidan olduğu da bilinmektedir. Caffeic asit sarı bir kristal asittir, sıcak suda ve alkolde çözünür. Yapı olarak sinamik asit'e benzer fakat sinamik asitte bulunmayan iki hidroksil gurubuna sahiptir. Caffeic asit, guinik asit ile esterleşebilir ve klorojenik asit formuna dönüşebilir. Caffeic asit ve klorojenik asidin her ikisi de kahve çekirdeğinde bulunur. Kafein, caffeic asitten farklı bir bileşendir (23).

Propolis, arılar tarafından bal arısı zankı (Bee glue), huş (betula), kavak, kızılağaç, söğüt, hurma gibi birçok ağacın yapraklarının tomurcuklarından toplanan kahverengimsi sakızsı bir maddedir. Bal arıları bu maddeyi imal etmek için bitkilerden aktif olarak sekrete edilen materyali veya bitkilerdeki zedelenmelerden ötürü dışarı sızan maddeleri kullanabilirler (lipofilik materyal, mukilajlar, çikletler, reçineler vs gibi). Propolis Yunanca'dan türemiş bir terimdir. "Pro" önünde-girişinde, "polis" ise topluluk-şehir anlamında bir kelime olup arı kovanının savunmasında kullanılan bir madde olarak bilinmektedir (24).

Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir (25).

Molekül Formülü: C₁₇H₁₆O₄

Molekül Ağırlığı: 284.31 gr/mol



Şekil 2: CAPE'nin moleküler yapısı (26)

CAPE 10 µM konsantrasyonda ksantin/ksantinoksidaz sisteminde ve insan nötrofillerinde reaktif oksijen ürünlerinin (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve nitrik oksit) üretimini tamamen engeller. Bu reaktif oksijen ürünleri aşırı şekilde üretildiklerinde ya da enzimatik-nonenzimatik savunma sistemleri bozulduğunda, hücresel hasara neden olabilirler (11).

Yapılan çalışmalarda, CAPE'nin antiinflamatuvar, antifungal ve antimikrobik, immünomodülatör, antimitojenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Propolisi antibakterial, antifungal, antiviral, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, vücut direncini artırıcı özellikleri ve gastroduodenal ülserleri tedavi edici özelliklerinden dolayı önermişlerdir. Haricen cilde uygulandığında bakteri ve mantarın neden olduğu çeşitli dermatitlere iyileştirici etki gösterirler. Bugün propolisin kapsül, krem ve toz formlarında, ağız bakımında, boğaz pastili şeklinde çeşitli ticari formları mevcuttur. Propolisin kimyasal yapısında şimdiye kadar esas olarak polifenoller olmak üzere 180'den fazla bileşik saptanmıştır. Asıl polifenoller ise Flavonoidler olup buna fenolik asitler ve esterler, fenolik aldehytlar, ketonlar vs. eşlik eder. Propolisteki diğer bileşimler; % 5–10 civarında uçucu yağlar ve aromatik asitler, %30–40 bal mumu olup geri kalanında reçineler, pelesenkler (melisa, oğul otu) ve içerisinde magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko gibi önemli elementlerden zengin polen zerrecikleri bulunur (26).

Propolisin farmakolojisinde, antimikrobiyal özellikleri esas olarak pinocembrin, galangin ve pinobanksin adlı flavonoidlere bağlanmaktadır. Pinocembrinin aynı zamanda antifungal özelliği de vardır. Propolis preparatları in vitro ortamda antimikrobiyal etki gösteriyor olup esas olarak Gram pozitif (Staphylococci ve Streptococci türleri) ve Gram negatif bakterilere (E. Coli, K. Pneumoniae, P. Vulgaris ve P. Aeruginosa), Helicobacter pylori, protozoa (T.cruzi), mantar (Candida albicans) ve virüslere (HIV, Herpes virüs veya influenza virüs) etki gösterirler. Bir çalışmada propolisi çözmek için kullanılan ekstrenin propolisin antimikrobiyal potansiyelini etkileyebileceği gösterilmiştir. Diğer aktif bileşimleri ise “coumaric ester” ve “caffeic acid”lerdir. CAPE tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermektedir. Diğer bileşimler arasında olan “prenylated p-coumaric” ve “diterpenic acid”ler antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteye sahiptirler. “Caffeoylquinic acid” türevleri ise immünomodülatör ve hepatoprotektif etki gösterir (27).

Propolisin akut ve kronik hastalıklarda antiinflamatuvar etkinliği vardır fakat bunu nasıl gerçekleştirdiği henüz belirlenememiştir. Rossi ve arkadaşları, propolisin konsantrasyon bağımlı şekilde COX aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (28).

Test edilen bileşimler arasında sadece CAPE ve galanın'ın propolisin antiinflamatuvar aktivitesinde payı olduğu ve bunlardan da CAPE'nin katkısının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Propolisin sıçanlarda in vivo olarak CD4/CD8 T lenfosit oranını arttırdığı ve in vitro olarak ise makrofajlarda immnostimlatr ve immünomodülatör etki gösterdiği ortaya konmuştur (29,30).

Ayrıca propolis sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulmuş akut karaciğer hasarında hepatoprotektif etki göstermektedir. Propolis sıçanlarda, parasetamole bağlı GSH tüketimini geri evirebilmekte ve böylece hücre ölümünü önlemektedir. Propolis ayrıca oksijen radikallerini de temizlemektedir, güçlü antioksidan özelliğe sahiptir (26,31).

Propolis kokainle benzer anestezik bir etkiye sahiptir ve biyolojik dokularda rejeneratif etki gösterip birçok kanser hücresine karşı da antineoplastik aktivite gösterir (30,32).

Hücre bölünmesini ve protein sentezini de inhibe etmektedir (33). CAPE, tümör nekroz faktör'n (TNF) yanı sıra forbol ester, seramid, hidrojen peroksit ve okadaik asit gibi diğer inflamatuvar ajanların indüklediği Nükleer Faktör-Kappa B (NF-κB) aktivasyonunu da inhibe etmektedir. CAPE propolis içerisinde kemopreventif (kimyasal önleyici) ve antitümöral etkinliği olan esas aktif bileşimlerden biri olarak saptanmıştır (34). Bununla birlikte propolis ve aktif komponenti olan CAPE'nin kanser tedavisindeki olumlu etkisinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir ve daha ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır (35). CAPE'nin bu antiinflamatuvar ve anti-kanser özelliklerinin ultraviyole radyasyona özellikle Ultraviyole B ve C radyasyona maruz kaldığında deri hücrelerini koruduğu gösterilmiştir. CAPE'nin aynı zamanda papillomaların sayısını belirgin

derecede azalttığı gösterilmiştir. Caffeic asit ve CAPE'nin oral ya da subkutan uygulaması belirgin şekilde karaciğer metastazını azaltır (23).

Propolisin kan basıncını ve kolesterol seviyesini düşürdüğü, hatta ilaç kesildikten haftalar sonrasına dek kolesterol düşürücü etkisinin devam edebileceği rapor edilmiştir (35). CAPE'nin, dönüşüme uğramış hücrelerde "redox" tepkimesini değiştirerek apoptozisi indüklediği öne sürülmektedir (36). Yine CAPE'nin lipid peroksidasyonunu baskılayarak antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (13).

Propolisin yan etkileri, düşük dozlarda kullanıldığında güvenli olarak bilinirken, 15g/gün dozundan fazla kullanıldığında yan etki sıklığı artmaktadır. En sık yan etkiler alerjik reaksiyonlar, cilt ve müköz membran irritasyonu olarak bildirildiğinden astım hastaları, egzemalı ve ürtikerli hastalar tedavi edilirken dikkatli olunmalıdır (37).

2.3 Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol 1960'larda aspirinden daha az toksik, analjezik, antipiretik ajan olarak artan sıklık ile kullanılmaya başlanmıştır. İronik olarak günümüzde parasetamol ABD'de toksik ilaç alımlarının en yaygın ikinci nedenidir. Parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının önemli bir iş yükünü oluşturmaktadır ve parasetamol aşırı alımına bağlı hepatotoksisite dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir (2).

Parasetamol ABD'de en yaygın kullanılan ağrı kesicidir (Amerikalıların %36'sı ayda en az bir defa parasetamol kullanmaktadır) fakat önerilen dozdan daha fazla alındığında ölümcül karaciğer hasarına yol açabilir (38).

Parasetamole bağlı oluşan akut karaciğer yetmezliği vakaları, 1998'de %28 iken 2003'de %51'e artış göstermiştir. Bu hastalar baskın şekilde kadın cinsiyette (%74) ve beyaz ırka mensuptur. Vakaların büyük kısmında alımlar kasıtlı olarak

oluşurken, %8-26 vakada alımlar yanlışlıkla oluşmaktadır. Yanlışlıkla aşırı doz alan hastalar çoğunlukla yaşlı hastalar olup, daha sıklıkla kombinasyon halindeki ilaçları kullanırlar ayrıca bu hastalarda semptomların başlangıcından sonra sağlık kurumuna başvuruncaya kadar uzun süre geçer. Çoğunun özellikle mevcut ağrıları için bu ilaçları kullandıkları rapor edilmiştir. Bu hastaların kasıtlı şekilde aşırı doz alan hastalara göre, daha fazla oranda ciddi hepatik ensefalopatiye sahip oldukları görülmüştür. Yanlışlıkla aşırı doz alan hastaların %63'ü narkotik parasetamol içeriği bulunan kombine ilaçları kullanmışlardır (38).

2003 yılında Amerikan Zehirlenme Kontrol Merkezi 127.000'den fazla toksik parasetamol maruziyeti rapor etmiştir. Bu maruziyetlerden 65.000 vaka bir tıbbi kurumda tedavi almış, bu vakaların 16.500'ne ise NAC tedavisi verilmiştir. Primer sorumlu olarak analjezik bir ajanın olduğu düşünülen, aşırı alıma bağlı 214 ölüm belirlenmiştir ve bu ölüm vakalarının 62'sinde parasetamol tek bir ajan olarak bulunmuştur (39).

2004 yılında Amerikan Zehirlenme Kontrol Merkezi yıllık raporlarında parasetamol ve parasetamol içeren kombinasyon ilaçlarına bağlı 133.125 maruziyet bildirilmiştir. Bunların 218'inde ölüm meydana gelmiş ve ölümlerin de hemen hemen yarısı kombinasyon ilaçlarının alımına bağlı olarak meydana gelmiştir (22).

Aralık 2005'de Hepatolojinin Sorunları adıyla American Association for the Study of Liver Diseases resmi dergisinde yayınlanan yeni bir çalışmada, parasetamol zehirlenmesinin ABD'de akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedeni olduğu rapor edilmiştir. Bazı vakalarda zehirlenmenin suicidal girişimler ile oluşurken, hemen hemen vakaların yarısında kasıtlı olmayan alımların sonucu olarak zehirlenmenin ortaya çıktığı belirtilmiştir. Kasıtlı aşırı doz alan hastalar genelde alımdan sonra erken başvururlar ve NAC ile tedavi edilebilirler ancak yanlışlıkla ilacın aşırı dozunu alan hastalar genelde son zamana kadar tanımlanamazlar. Bunun bir sonucu olarak derginin başyazarı Larson A. M. ve çalışma arkadaşları, yanlışlıkla parasetamol aşırı alımı olan hastaların, kasıtlı aşırı alımı olan hastalara göre daha ciddi hastalığa ve kötü sonuçlara sahip olabileceklerini belirlemişlerdir (17,38).

2.3.1 Patofizyoloji

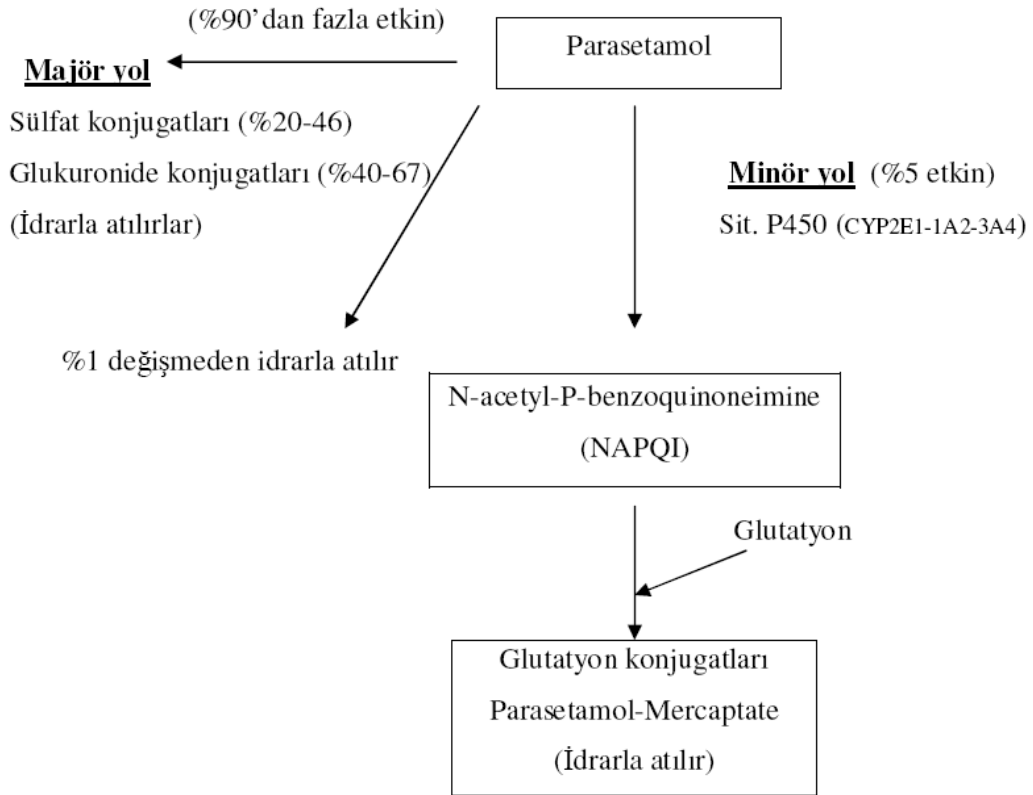
Parasetamol ABD de 325 mgr ve 500 mgr'lık hızlı salınımlı tabletler ve artritlerin tedavisi için kullanılan 650 mgr'lık yavaş salınımlı tabletler şeklinde satılmaktadır. Çocuklar için eriyebilir olan; çiğnenebilir, süspansiyon ve eliksir şeklinde parasetamol formülasyonları da vardır. Parasetamol dünya genelinde bazı soğuk algınlığı ve analjezik ilaçların bir bileşeni olarak bulunur ve reçete edilen kombinasyonlar genelde propoksifen-parasetamol ve oksikodon-parasetamol'ü içerir. Parasetamol kötüye kullanımı ve aşırı alımıyla beraber olan hepatotoksisite iyi şekilde tanımlanmıştır (14).

Parasetamol önerilen dozu erişkinlerde en fazla 4 gr'a kadar her 4-6 saatte bir 650-1000 mg'dır ve çocuklarda dozu her 4-6 saatte bir 10-15 mg/kg'dır. Terapotik düzeyler kanda 10-20 mcg/mL'dir. Küçük proteinlere bağlanma oranı %10'dur ve dağılım volümü 0.9 L/kg'dır. Alımdan sonra parasetamol gastrointestinal yoldan hızlıca emilir. Terapotik dozlarda en yüksek serum düzeylerine genellikle 30 dakikadan 2 saate kadar olan bir süre içinde ulaşırlar. Aşırı alımlarda en yüksek serum düzeylerine, genellikle 2 saat içinde ulaşılır. Bununla beraber parasetamolün propoksifen ya da difenhidramin gibi gecikmiş salınım kinetikleri olan maddeler ile kombine edilmiş preparasyonlarında aşırı alımı takiben parasetamolün gecikmiş absorpsiyonları rapor edilmiştir (5,8,18).

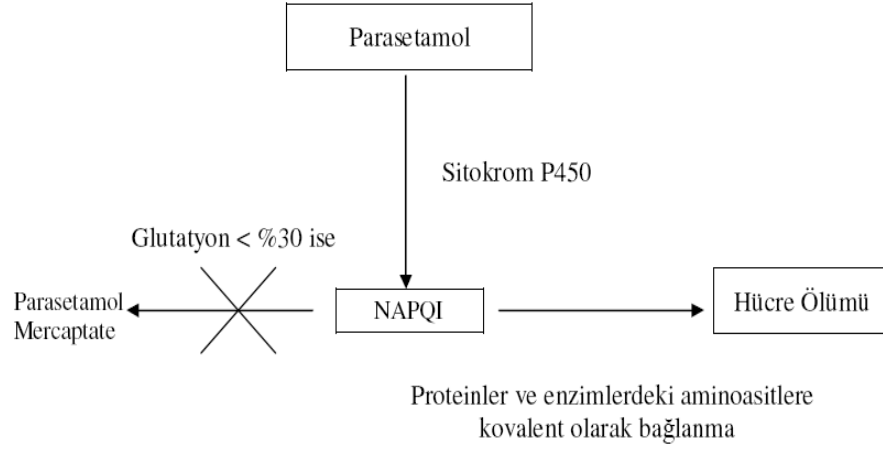
Alkol kötüye kullanımı olan, kötü beslenme ya da dehidratasyon ile beraber viral hastalıkları olan kişiler gibi, duyarlı hasta popülasyonlarında riskli doz daha düşük olabilir. Genelde parasetamolün önerilen dozları kullanıldığında toksisite riski oldukça azdır (14).

Parasetamol primer olarak sulfasyon (%20-46) ve glukorinidasyon (%40-67) yoluyla karaciğer tarafından metabolize edilir (8). Karaciğer, parasetamolün %90'dan fazlasını sulfat ve glukuronid konjugatlarına metabolize eder bunlar suda eriyebilir ve idrarda atılabilirler. Küçük yaştaki çocuklarda sulfasyon primer metabolik yol iken, adolosan ve erişkinlerde glukorinidasyon baskındır. Alınan bir parasetamol dozunun yalnızca %1'i böbreklerden değişmeden atılır. Parasetamolün

küçük bir kısımda (% 5'den azı) sitokrom P450 (CYP2E1, CYP1A2 ve CYP3A4) enzim sistemi tarafından oksidatif bir adımla reaktif bir metabolit olan NAPQI'ya metabolize edilir, bu metabolit hepatik GSH tarafından hızlıca renal yolla elimine edilen, nontoksik parasetamol-mercaptate bileşiğine detoksifiye edilir. Hepatotoksisite sitokrom P450 enzim sistemince ortaya çıkarılan reaktif ve toksik metabolitlerin üretimine ve NAPQI'ya bağlı olarak meydana gelir. NAPQI yüksek derecede reaktif, aktif elektrofilik bir ara bileşiktir ve civar karaciğer hücrelerinde oksidatif hasarı tetikler (8,18,40).



Şekil 3; Parasetamolün tedavi edici dozlarda metabolizması (8).

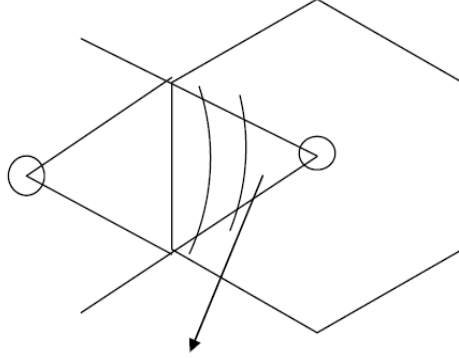


Şekil 4: Parasetamolün aşırı dozda metabolizması ve hücre ölümü (8).

Akut aşırı alımda ya da uzamış bir süreçte maksimum günlük doz geçildiğinde, metabolizmanın normal konjugatif yolları doygun hale gelir. Aşırı parasetamol karaciğerde miks fonksiyonlu oksidaz P450 enzim sistemi tarafından oksidatif şekilde toksik bir metabolit olan NAPQI'ya metabolize edilir. NAPQI ileri derecede kısa bir yarı ömre sahiptir ve hızlıca sülfidril donörü olan GSH ile konjuge olur ve renal yolla atılır. Aşırı NAPQI üretiminin olduğu durumlarda ya da azalmış GSH depolarının olduğu durumlarda, NAPQI yaşamsal olarak önemli hücresel proteinler ile ve hepatosit hücre zarlarının lipit bariyerleri ile etkileşir ve bunlara bağlanır. Bu oksidatif ve inflamatuvar hasar kaskatının meydana gelmesi hepatoselüler ölüm ve sentrilobüler (zone III) karaciğer nekrozu ile sonuçlanabilir (14).

Hücrelerde antioksidan savunma ve oksidan üretimi arasındaki dengenin kaybı birçok hastalığın oluşumunda, bir neden olarak karşımıza çıkmaktadır, bu durum genel olarak oksidatif stres olarak adlandırılır. Antioksidan kapasitenin kaybı esas olarak GSH'da azalmaya ve/veya GSSG'de artışa bağlıdır, çünkü GSH, en bol intraselüler serbest tiol'dur. Sonuç olarak oksidatif stres in vivo esas olarak GSH ve/veya onun prekürsörü sisteinin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar (9).

Hepatik lobül içinde; sitokrom P450 enzim sistemi, terminal hepatic veni çevreleyen hepatositler içinde daha fazla bulunurken, portal triadı çevreleyen hepatositler içinde en az oranda bulunur. Bunun bir sonucu olarak, parasetamole bağlı hepatic hasar klasik olarak Zon III sentrilobüler nekroz şeklinde ortaya çıkar (8).



Zon III Sentrilobüler nekrozis ile sonuçlanan hepatic parasetamol metabolizmasının primer alanı

Şekil 5: Hepatic lobül yapısı (8).

GSH miktarı normalin % 30'unun altına indiğinde NAPQI'ya bağımlı karaciğer toksisitesi belirgin şekilde meydana gelir. NAPQI karaciğer hücrelerinde bulunan çeşitli sisteinil sülfidril gruplarına kovalen olarak bağlanır, bunun sonucunda çeşitli hücresel fonksiyonlarda rol oynayan kalsiyum gradiyenti bozulur, buna bağlı olarak mitokondriyal fonksiyonlarda hasar, kreps siklusu enzimlerinde inhibisyon ve çeşitli hücresel fonksiyonlarda hasar meydana gelir. NAPQI'nın mitokondriyal proteinlere kovalen olarak bağlanmasının yanısıra diğer bazı mekanizmalarla da parasetamol aşırı alımının, mitokondriyal hasara neden olabildiğine dair kanıtlar vardır. Değişime uğramış mitokondriyal proteinler ve yüksek sitozolik kalsiyumun düzeyleri, mitokondriyal solunumu ve Adenozin Trifosfat (ATP) sentezini baskılayabilir, güçlü bir oksidan ve nitratlanmış ajan olan peroksinitritin artmış üretimi ile mitokondriyal oksidatif stres başlayabilir. Sonuç olarak mitokondriyal membran potansiyeli ve ATP sentezinde bozulma, hücre sitoplazması içine mitokondriyal proteinlerin salınımı ve hepatositlerin onkotik

nekrozu ortaya çıkar. Parasetamol hepatotoksitesisi esnasında karaciğer hasarının ilerlemesinde karaciğerin doğal immün sisteminin majör bir rol oynadığı gösterilmiştir (21,41).

GSH depoları; diyetten (sebze ve meyvelerden) ya da NAC gibi antidot ilaçlardan sağlanan sülfidril içerikleriyle yerine konur. Yaş, diyet, karaciğer hastalığı ve çeşitli medikal durumlar (uzamış açlık, gastroenterit, kronik alkolizm ya da HIV hastalığına bağlı malnütrisyon gibi) vücuttaki GSH depolarını etkiler. Etanol, İzoniyazid (INH), Rifampin, Phenytoin, Phenobarbital, Barbütiratlar ve Karbamazepine gibi ajanlar CYP2E1 enzimlerini (P450 enzim sisteminin parçası) indükler, bu aktivasyon NAPQI'nın üretimini artırır ve buna bağlı olarak da bu ajanları alan hastalarda hepatoselüler hasarlanma riski artar (18).

Parasetamol toksisitesinin klinik belirtilerinin geç olarak ortaya çıkmasına rağmen hepatik hasar aslında çok erken şekilde meydana gelir. Parasetamol ile hepatik toksisite oluşturulan bir hayvan modelinde, hepatosit hasarına bağlı bulguların maruziyet sonrası 12 saat içinde meydana geldiği gösterilmiştir. Bu durum mikroskopik kanıtların yanısıra hepatositler içindeki NAPQI-hepatik protein boya içeriklerinin immunofloresan boyanmasına bağlı olarak da gösterilmiştir. Hücre yıkımı meydana geldiğinde transaminazlar ve NAPQI-hepatik protein bileşimleri gibi hepatik enzimler dolaşım içine salınır ve serumda belirlenebilirler. Bu genellikle insanlarda belirgin klinik toksisitenin gelişimi ile aynı zamana rastlar (8).

Parasetamolün plasentayı serbest şekilde geçebildiği ve sonrasında fetal hepatositler tarafından metabolize edildiği gösterilmiştir. Parasetamolün maternal absorpsiyonu ve metabolizması gebelikten etkilenmez. Fetal karaciğer tarafından yapılan oksidasyon, erişkin karaciğerine oranla on kat daha yavaştır. Eğer uygun tedavi geciktirilir ya da verilmezse maternal aşırı alım sonrasında fetusda ciddi hepatik nekroz meydana gelebilir. Vaka raporları ve yapılan sınırlı sayıda çalışmalara bağlı olarak NAC'ın, gebelik esnasında parasetamol aşırı alımının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. NAC plasentayı geçer ve fetal karaciğer içindeki toksik metabolitleri bağlayabilir bu şekilde fetus karaciğerinin korunmasını sağlayabilir.

Fetal karaciğerin parasetamolü metabolize etme yeteneği 18. gebelik haftasında başlar ve 23. gebelik haftasına kadar artarak devam eder. Parasetamol anne sütüne maternal dozun %2'si kadar geçebilir (5,42).

Böbrek parasetamol toksisitesinde karaciğerden sonra ikinci hedef organdır, belirgin hepatotoksitesi olan vakaların yaklaşık %25'inde ve hepatik yetmezlik gelişen vakaların %50'den fazlasında renal disfonksiyon gelişir. Parasetamole bağlı belirgin hepatik hasarlanması bulunan ve renal yetmezlik gelişen hastaların hemen hepsinde hemodiyaliz zorunluluğu vardır. Bununla beraber hepatotoksite gelişme de akut parasetamol aşırı alımından sonra renal hasar meydana gelebilir. Akut olarak parasetamol aşırı alımından sonra gelişen renal bozuklukda ana patofizyolojik olay NAPQI'nın lokal üretimine bağlı tubüler nekroz gelişimidir (15).

2.3.2 Klinik Bulgular

NAC ile antidotal tedavinin, parasetamol alımından sonra 8 saat içinde başladığında etkili olması nedeniyle; alım zamanı, miktarı, alınan parasetamol formülasyonu ve antikolinergik ilaçlar, opioidler gibi parasetamol absorpsiyonunu geciktirebilen herhangi bir ilacın beraberinde alınıp alınmadığı hikâyede doğru olarak belirlenmelidir. Hastanın verdiği hikâyeye doğru olmayabileceğinden; semptomların yokluğunda bile teşhis ve tedavi için serum parasetamol düzeyinin belirlenmesi önemlidir. Tek bir alımdan sonra NAC tedavisinin verilir verilmeyeceği serum parasetamol konsantrasyonuna göre belirlenir. Parasetamol bağımlı hepatotoksitesi bulunan hastaların semptomları 4 klinik fazda ortaya çıkar.

Faz I

- İlk faz 24 saat kadar uzun bir sürede sonlanır.
- İştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik ve terleme görülür. Bu klinik bulgular nonspesifiktir ve bu nedenle hastalar tedavi için parasetamol içeren ilaçları yanlışlıkla kullanmaya devam edebilirler.
- Bazı hastalar asemptomatik kalabilirler fakat histopatolojik olarak belirgin toksite geliştirebilirler.
- Bu fazda nörolojik, solunumsal ve kardiyak semptomlar nadir görülür.

- Serum parasetamol ölçümleri tipik şekilde normal sınırlar içindedir. Alımdan sonra 12 saat civarında serum karaciğer transaminazlarında (ALT, AST) subklinik yükselmeler meydana gelir.

Faz II

- İkinci faz alım sonrası 24 saatten sonra başlar ve takip eden 48 saat sonra sonlanır.
- Faz I'deki semptomlar daha az belirgindir ve/veya yoktur.
- Hastalar sağ üst kadranda ağrı ve hassasiyet gösterirler, hepatomegali bulunabilir. Bazı hastaların idrar çıkışlarında azalma bulunabilir.
- Serum ölçümlerinde artmış Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Amino Transferaz (ALT), protrombin zamanı (PT) ve bilirübin değerleri ortaya çıkar. Renal fonksiyon anormallikleri de bulunabilir.

Faz III

- Üçüncü faz alım sonrası 3-5 günlerde gelişir.
- Faz I'de görülen semptomlar (iştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik gibi) yeniden ortaya çıkabilir.
- Hastalar sarılık, hipoglisemi, kanama ya da ensefalopati gibi hepatik yetmezlik semptomlarına sahip olabilirler. Renal yetmezlik ve kardiyomyopati de bu fazda ortaya çıkabilir.
- Ciddi toksisite bulguları laboratuvar çalışmalarında aşikâr şekilde görülebilir; laktik asidozis, uzamış PT ya da INR, belirgin şekilde yükselmiş AST ve ALT (>10.000 IU/L), bilirübin (primer olarak indirekt) ve kan amonyak düzeyleri rapor edilmiştir.
- Bu evrede alınan karaciğer biyopsilerinde sentrilobüler hepatik nekrozis belirlenebilir. Bu düzeyde hepatotoksisite geliştiren hastaların yaklaşık olarak %4'ü fulminan hepatik yetmezliğe ilerler.
- Akut tubuler nekroza bağlı olarak renal fonksiyonlarda bozulma, proteinüri ve hematüri ortaya çıkabilir.
- Bu fazda ölüm serebral ödem, sepsis ya da multiorgan yetmezliğine bağlı olarak meydana gelebilir.

Faz IV

- Faz IV alımdan sonra 5-14 günler arasında olur. Bu faz 21 güne kadar uzun bir sürede de sonlanabilir.
- Hastaların ya karaciğer fonksiyonları tam olarak iyileşir ya da ölüm meydana gelir. Parasetamol bağımlı hepatotoksisite kronik hepatik disfonksiyona neden olmaz (14,18,19).

Malnutrisyon, AİDS ve kronik alkol kullanımı olan hastalar ya da anoreksiya nervozalı hastalar eksik GSH depoları ve NAPQI'nın yetersiz detoksifikasyonu nedeniyle, yüksek toksisite riskine sahip olabilirler. P450 oksidatif enzim sisteminin, özellikle de CYP2E1, CYP1A2 ve CYP3A4 subgruplarının indüksiyonuna bağlı olarak NAPQI oluşturma kabiliyeti artmış hastalar, morbidite açısından yüksek riskli olabilirler (14).

Parasetamol toksikasyonu, beş yaşından küçük hastalarda erişkinlere göre daha iyi tolere edilebilir, bunun nedeni; daha fazla parasetamol konjuge etme yeteneğine sahip olmaları, NAPQI'yı daha ileri detoksifiye etme yeteneğine sahip olmaları ya da daha büyük glutatyon depolarına sahip olmaları olabilir. Ayrıca pediyatrik hastalarda herhangi bir alternatif tedaviyi destekleyen kontrollü çalışmalar yoktur, çocuklardaki tedavi erişkinlerdeki tedaviyle benzer olmalıdır (14).

Amerika Birleşik Devletlerinde çocuklar için, karaciğer transplantasyonunda birinci neden bilier atrezi iken, ikinci neden parasetamole bağlı hepatik yetmezliktir. Antidot tedavide kullanılan NAC'ın uygun kullanımı ile parasetamol toksisiteli hastaların mortalite oranında belirgin şekilde düşüş sağlanmıştır. Zamanında kullanılan antidodal tedavi ve uygun destekleyici tedavi ile birçok hasta klinik olarak belirgin bir sekele sahip olmadan iyileşir (18).

Aynı zamanda parasetamol, akut ekstrahepatik toksik etkilere neden olabilir, bu muhtemelen sitokrom P450'nin diğer organlarda da bulunmasından kaynaklanır. Parasetamolün masif dozlarının alınması (4 saatlik parasetamol düzeyinin 800 mikrogram/mL nin üzerinde olması) akut gelişen bilinç bozukluğuna (koma,

ajitasyon) ve metabolik asidozis (laktik) gelişimine yol açabilir. Laktik asidozis, karaciğer yetmezliği ya da hipotansiyon henüz oluşmamış iken, aşırı yüksek parasetamol düzeyleri ile ortaya çıkabilir. Parasetamol aşırı alımı nadiren izole renal yetmezlik, kardiyak toksisite ve pankreatit gelişimine neden olabilir (8).

Bazı araştırmacılar toksik parasetamol düzeylerinde lenfositler, nötrofiller ve trombositlerde fonksiyonel inhibisyonun oluştuğunu bulmuşlardır. Bunun muhtemelen parasetamole bağlı olarak siklooksijenazın inhibisyonu ve bunu takip eden prostoglandin ve tromboksan sentezinde inhibisyona bağlı olarak gelişebileceği düşünülmektedir (10).

Parasetamol toksisitesinin fizik muayene bulguları değişkendir ve primer şekilde toksisitenin fazına bağlıdır.

Faz I (0-1 gün)

- Fizik muayene bulguları değişkendir.
- Solgunluk, terleme ve tekrarlayan kusma ile artmış insensible kayıplara bağlı tehlikeli dehidratasyon durumu bulunabilir.
- Huzursuzluk ve yorgunluk belirlenebilir.

Faz II (1-3 günler)

- Abdominal muayene ile sağ üst kadranda hassasiyet ve hepatomegali belirlenebilir.
- Devam eden volüm kayıplarına bağlı olarak vital bulgularda, taşikardi ve hipotansiyon belirlenebilir.

Faz III (3-5 günler)

- Fizik muayene bulguları, abdominal ağrı, sarılık ve koagülopatiye bağlı gastrointestinal kanama gibi klinik olarak belirgin hepatik hasarı yansıtabilir.
- Ciddi hepatik hasara bağlı ensefalopati meydana gelir.

Faz IV (5-21 günler)

- Fizik muayene bulguları kaybolur ya da ölüm meydana gelir (14,18).

2.3.3 Teşhis

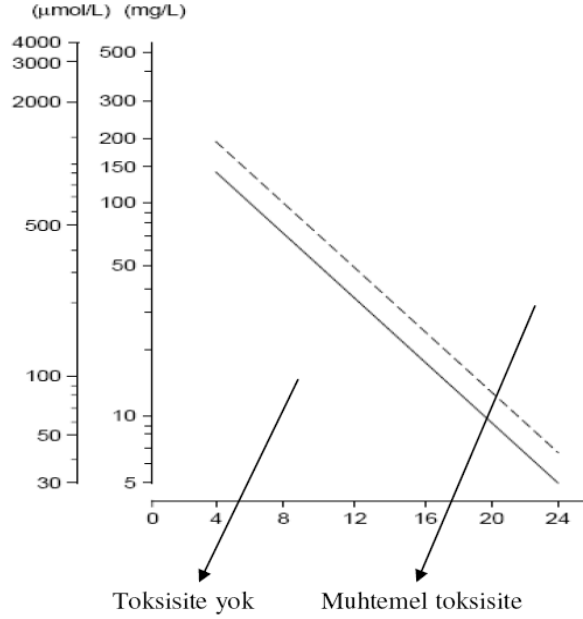
Mortalite ve morbiditenin önlenmesi için, parasetamol toksisitesinin erken dönemde teşhis edilmesi zorunludur, ancak parasetamol toksisitesinin erken döneminde, nonspesifik klinik bulgular nedeniyle tanının konması oldukça zordur (39). Erişkinlerde tek bir seferde 140 mgr/kg ya da 24 saatlik bir periyod içerisinde 7,5 gr'dan daha fazla alındığında parasetamole toksik bir maruziyetten şüphelenilir (8). 12 gr ya da daha yüksek dozda tek alımlar hepatotoksisite için yüksek potansiyel risk taşır. Çocuklarda tek bir akut alım için parasetamolün minimum toksik dozu 150 mg/kg'dır. Medikal toksikolojistler sağlıklı 1-6 yaş arası çocuklarda bu sınırı 200 mgr/kg a çıkarmayı önermektedirler. Bu yaş gurubundaki çocuklar, relatif şekilde geniş hepatik kitleleri ve NAPQI'yı yüksek oranda detoksifiye etme kabiliyetleri nedeniyle, akut parasetamol toksisitesine bağlı hepatotoksisiteye diğer yaş guruplarına göre daha drençlidirler. Akut şekilde 250 mg/kg ya da daha fazla alınan parasetamol çocuklarda hepatotoksisite için belirgin bir risk ortaya çıkarır (18). Akut parasetamol zehirlenmesinin kesin tanısı, serum parasetamol düzeyinin ölçülmesine ve alımdan sonra geçen sürenin tahminine bağlıdır (8).

Kronik parasetamol zehirlenmesi, 4 gr/gün'lük önerilen maksimum erişkin dozunu geçen dozların, 24 saatten fazla bir sürede, aralıklı olarak alınmasına bağlı olarak meydana gelir (43).

Zehirlenmenin diğer tiplerinden farklı olarak ilk klinik bulgular nonspesifikdir ve başlangıçları gecikmiştir, bu nedenle laboratuvar ölçümlerine itimat edilmelidir. Kasıtlı olarak herhangi bir tip ilacı yüksek dozda aldığı düşünülen tüm hastalarda serum parasetamol düzeyi belirlenmelidir. Yapılan bir çalışmada; acil servise herhangi bir ilaç aşırı alımından sonra başvuran ve parasetamol aldığını reddeden her 500 hastadan birinde laboratuvar testleri ile potansiyel olarak toksik parasetamol düzeylerine rastlanmıştır. Kasıtlı olarak ilaç aşırı alımı olan tüm hastalarda, kan parasetamol düzeyinin test edilmesi daha ekonomik olabilir çünkü parasetamole bağlı hepatotoksisitesi bulunan tek bir hastada komplikasyonların tedavisinin maliyeti, nontoksik parasetamol düzeylerine sahip olduğu belirlenen 500 hasta için yapılan testlerin maliyetinden daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (8).

Rumack–Matthew Nomogram olarak isimlendirilen ilaç nomogramı 1975’de geliştirilmiştir. Bu nomogram parasetamol alımından sonra geçen saatler ve serum parasetamol düzeyine bağlı olarak, toksisite riskini tahmin etmede en iyi belirleyici olarak görülmektedir. Potansiyel hepatotoksisite riski, parasetamol düzeyi nomogram boyunca izlenerek belirlenir. Alımdan sonra ilk 4 saat içinde, parasetamol düzeyi kanda çekilir ve gerçek miktarın altında ölçüm yapılabilir çünkü bu süreçte halen parasetamol gastrointestinal yoldan emiliyor olabilir. Bu yüzden dört saatten önce parasetamolün serum düzeyinin ölçülmesi önerilmemektedir (44).

Bu nomogram deneysel olarak, önceden parasetamol aşırı doz alan hastaların ve onların klinik sonuçlarının geriye dönük analizine bağlı olarak geliştirilmiştir. Orijinal nomogram çizgisi, 200 mikrogram/mL düzeyindeki 4 saatlik parasetamol düzeyi baz alınarak oluşturulmuştur fakat Amerikada Amerikan Yiyecek ve İlaç Cemiyeti (FDA) tarafından 4 saatlik parasetamol düzeyi, 150 mikrogram/mL sınırına çekilerek güvenli aralık artırılmıştır. Daha da önemlisi nomogram sadece alımdan sonra 4-24 saatler arasındaki parasetamol düzeyleri alınarak oluşturulur. Bu 20 saatlik pencerenin dışında alınan parasetamol düzeyleri için bu nomogram kullanılamaz. Akut aşırı alımı takiben hepatotoksisite bulguları gelişmeyen bir hastada, tekrarlayan parasetamol düzeylerinin alınması gereksizdir. Uzamış absorpsiyon kinetikleri olan parasetamol preparasyonlarını alan hastalarda nomogram çizgisinin altında kalan ilk kan parasetamol düzeyi nadiren çizginin ötesine geçebilir. Benzer şekilde başlangıçta çizginin üzerinde olan bir düzeyin tekrarlanan analizlerle çizginin altına düştüğüne dair klinik veri yoktur (8).



Dikey sütun kan parasetamol düzeyini Yatay sütun parasetamol alımından sonra geçen zamanı ifade eder

Şekil 6: Rumack–Matthew Nomogram (45)

Antidotal NAC tedavisinin kullanımından önce, 200 mikrogram/mL nin altında serum parasetamol düzeyleri bulunan hastaların; %60 hepatotoksisite (AST>1000 IU/mL olarak belirlenir), %1 renal yetmezlik ve %5 mortalite riski taşıdığı gözlenmiştir. Ek olarak aşırı şekilde yüksek serum parasetamol düzeyleri olan (4 saatlik düzeyi 300 mikrogram/mL) hastaların hepatotoksisite gelişimi açısından yüksek bir riske (%90) sahip oldukları gözlenmiştir. Birleşik Devletlerde nomogram çizgisinin altındaki güvenli düzey 11.195 hastayı içeren prospektif bir çalışmayla doğrulanmıştır. Bununla beraber parasetamol düzeyleri nomogramın altında kalan hastalarda hepatotoksisite riski %1 dir (8).

Karaciğer toksisitesinin klinik ya da biyokimyasal bulguları genelde 1-4 günler içinde meydana gelir, bununla beraber ciddi vakalarda bu bulgular 12 saat içinde de aşırı hale gelebilir. Laboratuvar çalışmalarında hepatik nekrozun bulguları olarak; yükselmiş AST, ALT, bilirübin düzeyleri, uzamış pıhtılaşma zamanı ve

özellikle de uzamış PT gösterilebilir. AST ve ALT düzeyleri aşırı alım sonrası 24 saat içerisinde artmaya başlar ve 72 saat civarında en yüksek düzeylerine ulaşır. Parasetamol aşırı alımından sonra AST ve ALT 1000 IU/L yi geçtiğinde parasetamol bağımlı hepatotoksisite teşhis edilebilir. Bazı vakalarda AST ve ALT düzeyleri 10.000 IU/L'yi de geçebilir. Alkalen Fosfataz (ALP)'da daha az bir artış bulunur. Total bilirubin 4mg/ml ye varabilir. Metabolik bozukluk olarak hipofosfatemi, hipoglisemi ve metabolik asidozis bulunabilir. Genelde hipofosfatemi hepatotoksisite olsun ya da olmasın parasetamol aşırı alımının biyokimyasal bir özelliğidir ve hipofosfateminin düzeyi hastalığın ciddiyetini yansıtır. Hipoglisemi ilk 24 saat içinde meydana gelebilir ve bozulmuş hepatik glukoneogenezisi, hepatik glukojen depolarının mobilize etme yetersizliğini ve dolaşan insülinin yükselmiş düzeylerini yansıtır. Metabolik asidozis parasetamol aşırı alımından sonra hastaların neredeyse yarısında görülür. İlk 15 saat içinde metabolik asidozis karaciğer tarafından laktik asidin metabolizmasının ve geri alımının direkt inhibisyonundan ve laktik asidin hepatik klirensinin bozulmasından kaynaklanır (21,44).

2.3.4 Tedavi

Genel yaklaşımda; hastalara en az iki intravenöz yol erken şekilde açılmalı ve kardiyak toksinlerin dışlanması için (siklik antidepresanlar, digoksin, beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri) 12 derivasyonlu Elektrokardiyografi çekilmelidir. Bilinç değişikliği ile başvuran tüm hastalar için hipoksemi, hipoglisemi ve opiyat kullanımı hızlıca değerlendirilmeli ve dışlanmalıdır (8).

Parasetamol toksisitesinin tedavisi; gastrointestinal dekontaminasyonu, zamanında kullanılan antidotal NAC tedavisini ve destekleyici tedaviyi içerir. Parasetamol zehirlenmesi olan birçok vakada yeterli gastrointestinal dekontaminasyon için aktif kömürün oral şekilde ya da nazogastrik tüp yoluyla erken kullanımı gereklidir (8).

Normal koşullarda gastrointestinal yoldan parasetamolün absorpsyonu 2 saat içinde tamamlanır, bu zaman aralığı içerisinde uygulandığında dekontaminasyon çoğunlukla yardımcıdır. Aktif kömür en yaygın kullanılan gastrointestinal

dekontaminasyon uygulamasıdır, aktif kömür parasetamolü adsorbe ederek gastrointestinal absorpsiyonu azaltır. Aktif kömür uygulaması aynı zamanda gastrik lavaja göre daha az aspirasyon riski ortaya koyar. Aktif kömürden en fazla faydanın, ilacın alımından sonraki 30 dk ile 2 saat içinde uygulandığında sağlandığı gösterilmiştir. Alımdan sonra 2 saatten fazla süre geçtiğinde aktif kömürün kullanımı; uzamış ya da yavaş salımlı preparasyonları alan ve aynı anda alınan diğer ilaçlara bağlı gastrik boşalmanın geciktiği hastalarda göz önüne alınır. Aktif kömür aynı zamanda alınan diğer ilaçlar nedeniyle dekontaminasyonun gerekli olduğu durumlarda da uygulanmalıdır. İpeka şurubu ile kusmanın indüklenmesi parasetamol aşırı alımında bir etkinliğe sahip değildir, çünkü bu ilaçla indüklenen kusma, aktif kömür ve oral NAC tedavisinin etkinliğini geciktirir (44).

Parasetamolün hızlı gastrointestinal emilimi ve NAC ile zehirlenmenin başarılı tedavisi nedeniyle, oragastrik lavaj ya da polietilen glikol ile kalın barsak irrigasyonu gibi dekontaminasyonun daha agresif şekilleri gerekli değildir. Beraberinde alınan ilaçların yüksek hayati risk taşıdığı (Trisiklik Antidepresanlar ya da uzamış salımlı Kalsiyum Kanal Blokerleri gibi) çoklu ilaç alımı vakalarında agresif gastrointestinal dekontaminasyon düşünülmeli ve bu prosedür alımdan sonra 60 dakika içinde yapılmalıdır (8).

Altı yaşın altındaki çocuklarda akut kazara alımlardan sonra karaciğer hasarlanması ileri derecede nadirdir. Kazara yüksek parasetamol dozuna maruz kalan çocuklar ne gastrik lavaj ve aktif kömür ile ne de ipeka şurubu ile gastrointestinal dekontaminasyona ihtiyaç göstermezler (44).

Parasetamol toksisitenin tedavisi ya da önlenmesi için ana dayanak NAC tedavisidir. Oral NAC 1985’de, intravenöz NAC ise 23 Ocak 2004’de parasetamol aşırı alımı sonrası karaciğer hasarlanmasını azaltmak için FDA tarafından onaylanmıştır (5,41,46).

İn vitro ve in vivo çalışmalar NAC’ın bir sistein öncü ilacı ve GSH prekürsörü olarak rol oynadığını göstermiştir. Kimyasal olarak NAC sisteine benzer.

Asetil parçasının varlığından dolayı sistein ile karşılaştırıldığında NAC, thiol'ün reaktivitesini azaltır ve sisteine göre daha az toksiktir. NAC'ın birkaç koruyucu mekanizma aracılığı ile etki ettiği zannedilmektedir. Hepatik toksisiteden sorumlu olan NAPQI'nın detoksifikasyonu için GSH'nın yüksek konsantrasyonlarına ihtiyaç vardır. NAC hepatik GSH'nın de nova sentezi için gerekli olan sisteini sağlar ve parasetamol toksisitesine bağlı gelişen oksidatif strese karşı koruyucu olduğu ispatlanmıştır (9).

NAC parasetamolün sulfat konjugasyonunu artırır, aynı zamanda bir antiinflamatuvar ve antioksidan olarak fonksiyon gösterir ve pozitif inotropik etkilere sahiptir. NAC lokal Nitrik Oksit (NO) konsantrasyonunu artırır ve mikrosirkülatuar kan akımı üzerinde yaptığı bu vazodilatör etki ile periferel dokulara lokal oksijen dağılımını iyileştirir. Bu mikrovasküler etkiler belirlenmiş hepatotoksisite varlığında dahi mortalite ve morbidite de bir azalmaya yol açabilir. NAC parasetamol alımından sonra 8 saat içinde uygulandığında çok etkilidir. Bununla beraber endikasyon konulduğunda NAC, aşırı alımdan sonra geçen zamana bakılmaksızın uygulanmalıdır. NAC ile tedavinin, serum parasetamol düzeylerinin ölçülemediği, fulminan hepatik yetmezlikli (FHY) geç başvuran hastalarda, mortalite oranlarını azalttığı gösterilmiştir (14).

Oral NAC gastrointestinal sistemden hızlıca absorbe olur fakat belirgin ilk geçiş metabolizması nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür (%30). NAC relatif şekilde düşük bir dağılım volümüne sahiptir (0.5L/kg), ve proteinlere %83 oranında bağlanır. Eliminasyon yarı ömrü 5,7 saattir ve ciddi karaciğer hasarının NAC eliminasyonunu etkilemediği görülmektedir (5,8,41). Ek olarak bulantı ve kusma nedeniyle oral NAC uygulaması sıklıkla tolere edilemez, bu durum NAC uygulamasının gecikmesine ya da etkinliğinin azalmasına yol açabilir. NAC intravenöz uygulandığında %100 biyoyararlılık sağlar. NAC'ın terminal yarı ömrü yaklaşık olarak 6 saattir. Ciddi karaciğer hasarlı hastalarda klirensi azalmaz ve plazma konsantrasyonları artış göstermez. Güncel şekilde renal ya da hepatik yetmezlikli hastalar için önerilen doz ayarlaması yoktur. Çocuklarda 200 mg/kg ya da erişkinlerde 6,5 gr'lık parasetamolün akut alımı hepatotoksisiteye neden olabilir. Parasetamolün kronik

alımı genelde devamlı ağrı sedromları olan erişkinlerde ya da febril hastalıkları bulunan çocuklarda görülür ve önerilen günlük doz aşılsa hepatotoksisite ortaya çıkabilir. Kronik toksisite çocuklarda 75 mg/kg/gün'den fazla olan dozlarda ve erişkinlerde de 4-6 gr/gün'den daha fazla olan dozlarda gelişebilir. 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 (46).

Birleşik Devletlerde kullanılan standart 72 saatlik oral NAC rejiminde; 140 mgr/kg lık bir yükleme dozunu takiben, 17 doz halinde her 4 saatte bir 70 mgr/kg lık bir idame dozu kullanılır. Eğer tedavi parasetamol alımından sonraki 8 saat içinde başlanmışsa NAC hepatotoksisite gelişimini önlemede neredeyse %100 etkilidir. NAC tedavisinin başlangıcı 8 saatten daha fazla gecikmiş ise hepatotoksisite gelişme riski artar. Ancak parasetamol alımından sonra 24 saat geçse dahi, NAC tedavisi başlandığında daha düşük bir hepatotoksisite riski vardır. NAC, tedavinin ne kadar geç süreyle başlandığına ya da hastanın klinik toksik etkilerden ne kadar çok etkilendiğine bakılmaksızın etkindir. Oral NAC tedavisinin en belirgin komplikasyonları bulantı ve kusmadır, bu kısmen çürük yumurta kokusu ve tadına bağlıdır. Bu hoş olmayan özellikleri maskelemek için standart %10-20'lik NAC solüsyonu uygulamadan önce meyve suyu gibi soğutulmuş bir içeceğin içinde %5'lik bir konsantrasyonda dilüe edilmelidir. NAC'ın hoş olmayan kokusu, ilacın kapalı bardaktan bir çubuk ile alınması sağlanarak ya da dozun nazogastrik tüp ile verilmesiyle azaltılabilir. Dirençli bulantı ve kusması olan bazı hastalar; intravenöz Metaklorpropamid (0.1 mgr/kg'dan 1 mgr/kg'a kadar), intravenöz Ondansetron (0.15 mgr/kg) ya da Granisetron (0.01 mgr/kg) gibi ajanlarla antiemetik tedaviye ihtiyaç gösterirler. Aşırı alım sonrası ilk 8-10 saat içinde kullanıldıklarında ve oral yol tolere edilebiliyorsa oral ve intravenöz NAC'ın eşit şekilde etkin olduğu görülmektedir (8,10).

İntravenöz NAC birçok hasta tarafından daha iyi tolere edilir ve majör sınırlaması, kolayca tedavi edilebilen doz ilişkili allerjik reaksiyonların gelişimidir. Bunun yanında ciddi anaflaktik reaksiyonlar, astım ve status epileptikus da rapor edilmiştir. İntravenöz NAC tedavisi erken parasetamol zehirlenmesi bulunan hastalar için oral tedavi kadar etkilidir, ancak 10 saatten fazla süre geçen hastalarda etkinliği daha az belirgindir. İntravenöz NAC yararlı bir alternatiftir ve antiemetiklere drençli bulantı ve kusması olan Fulminan Hepatik Yetmezlik (FHY) gelişmiş hastalar için, gebelik ve diğer herhangi bir nedenle oral alamayan hastalar için gereklidir. Gebe hastalarda intravenöz NAC teorik olarak fetusa artan oranda dağılır fakat bu tartışmalıdır. İntravenöz NAC oral doz kadar etkin olduğu halde daha fazla bir yan etki profiline sahiptir. Bu yan etkilerin en belirginini anaflaktoid reaksiyondur burada kızarıklık, üritiker, kaşıntı, bronkospazm, anjioödem, hipotansiyon ve taşikardi bulunabilir. Bu reaksiyonların yaklaşık olarak %1'nin ciddi olmasına rağmen çoğu hafiftir, semptomatik olarak tedavi edilmelidirler, ilk adım infüzyonun durdurulmasıdır, semptomların gerilemesinden sonra infüzyon daha yavaş bir hızla tekrar başlanabilir, tekrarlama oranı düşüktür. 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 (8,9,10,22,43,44,46).

Ek olarak intravenöz NAC parasetamole bağlı FHY'liği bulunan hastaların tedavisi için oral NAC'a göre daha çok tercih edilir, bu durumlarda oral NAC tedavisinin etkinliğine dair yeterli çalışma yoktur (8). İntravenöz formülasyon aynı zamanda 72 saatlik oral tedavi rejimini 20 saate indirerek hastanede yatış süresini kısaltabilir, bu hem hasta hem de refakatçi açısından avantajlı olabilir (22).

Intravenöz formülasyon (% 20 solüsyon 200 mg/mL) için önerilen yetişkin yükleme dozu; 150 mgr/kg NAC'ın 200 mL %5 dekstroz içerisinde 15-20 dk civarında verilmesi şeklindedir. İdame dozu bunu takiben 500 mL %5 dekstroz içerisinde 50 mgr/kg NAC'ın intravenöz olarak 4 saat civarında verilmesi ve sonrasında 1000 mL %5 dekstroz içerisinde 100 mgr/kg NAC ın intravenöz olarak 16 saat civarında verilmesidir. Bu tedavi metodu sürekli infüzyon ile uygulanır,

teorik olarak tedavi 21 saatte tamamlanmalıdır (20). Sıvı aşırı yükü riski bulunan hastalarda ve çocuklarda doz ayarlanması gerekmektedir. Ağırlığı 30 kg'dan daha az olan hastalarda %20 NAC 40 mg/mL konsantrasyona dilüe edilmelidir, bunun için 50 mL %20 lik NAC'ın 200 mL %5 dekstroz içine eklenmesi gereklidir (250 mLlik bir torbadan 50 mL atılarak 200 mL %5 dekstroz elde edilebilir). Bu hazırlanan tek torba bütün infüzyon için kullanılabilir. Yükleme dozu 15-30 dakika civarında 3.75 mL/kg (150mgr/kg) hızıyla verilir bunu takiben idame dozu 4 saat civarında 1.25 mL/kg (50mgr/kg) verilecek şekilde devam edilir daha sonra 2.5 mL/kg (100mg/kg) sonraki 16 saat civarında (0.16 mL/kg/saat) verilerek tamamlanır. Serum transaminaz değerleri 20 saatlik infüzyon periyodunun sonunda ölçülmelidir. İnfüzyon protokolü tamamlandığında serum transaminaz düzeylerinin normal olması, daha az olasılıkla hepatotoksisiteye işaret eder. Bununla beraber transaminazlarda yükselmenin olması, sürekli intravenöz NAC tedavisinin, değerlerde düşme eğilimi başlayana kadar idame dozunda devam edilmesi gerekliliğini gösterir (46).

İn vitro çalışmalar NAC'ın aktif kömürle adsorbe olduğunu göstermiştir. İnsan gönüllüleriyle yapılan çalışmalarda, aktif kömürün total NAC absorpsiyonunu %39 azalttığı, serum NAC düzeyleri ölçülerek gösterilmiştir. NAC'a bağlanmasına karşın aktif kömür oldukça yüksek oranda parasetamolü adsorbe eder. Bu yüzden aktif kömürün NAC biyoyararlanımını azaltıyor olmasına rağmen, bu azalma klinik olarak önemli değildir. Oral NAC tedavisi aynı anda alınan diğer ilaçların tedavisi için aktif kömürün tekrarlayan dozları gerekli olursa aktif kömür ile çakışmayacak şekilde düzenlenebilir. Bu durumlarda intravenöz NAC tedavisi de tercih edilebilir (40,41).

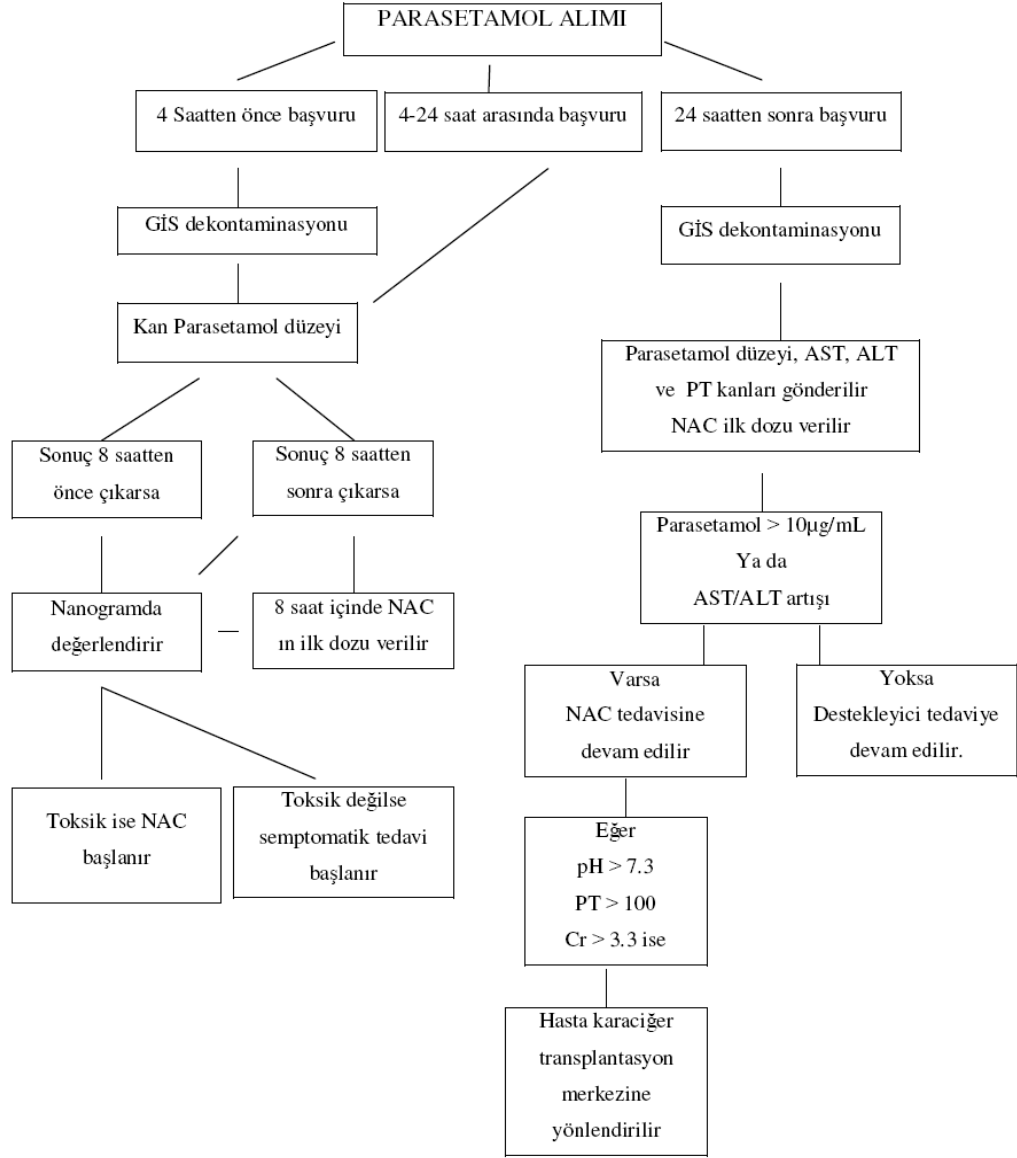
Günümüzde NAC'ın uygun iki formülasyonunun olması nedeniyle diğerinden ziyade birinin neden kullanıldığına dair sorular artmaktadır. Oral yoldan kullanım mümkün olmadığında, intravenöz formülasyon alternatif bir metot sağlar. Oral uygulamaya karşın intravenöz yolun etkinliğini direkt olarak karşılaştıran bir çalışma yoktur. Parasetamol aşırı alımının ilk 8-10 saati içinde verildiğinde oral ve intravenöz NAC eşit şekilde etkin görülmektedir. FDA'nın da onayladığı intravenöz formülasyonun avantajları; daha kısa hastane yatışını mümkün kılan kısa süreli

tedavinin yapılabilmesi ve drençli kusmalara karşın antidodal tedavinin yapılabilmesidir. Tedaviye başlamada optimal zamanın alımdan sonra 8-10 saat içinde olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte birçok hasta bu zaman aralığı içinde başvuramaz. İdeal olan 8-10 saatlik periyottan sonra başvuran hastalarda NAC tedavisini almalıdır. İntravenöz NAC alan böyle hastalarda mortalite oranının %37 buna karşın intravenöz NAC almayan hastalarda mortalite oranının %58 olduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. NAC'ın parasetamole bağlı FHY'de iyi sonuçlar vermesi oksijen dağılımını ve tüketimini artırmasına bağlı olabilir (43,46).

Parasetamol gebelik esnasında en yaygın kullanılan analjezik ilaçtır. Yapılan çalışmaların büyük kısmı gebelikte NAC tedavisinin etkin ve güvenli olduğunu göstermektedir. Parasetamol aşırı alımını takiben, gebe hastaya yaklaşım diğer hastalarla benzer şekilde olmalıdır. Halen NAC tedavisine bağlı olarak insanlarda gelişen fetal malformasyon yoktur fakat parasetamol aşırı alımını takiben birinci trimester gebe kadınlarda, NAC tedavisinin gecikmesine bağlı olarak ortaya çıkan fetal ölümler ve malformasyonlar tanımlanmıştır. Alım sonrası NAC'ın yükleme dozunun geç dönemde verildiği ya da annenin, gebeliğin erken döneminde parasetamol aşırı dozunu aldığı durumlarda, fetal ölüm olasılığında belirgin artış vardır (8,42).

2.3.5 Tedavi Protokolu

Parasetamol toksisitesi için tedavi seyri alımdan sonra acil servise başvurma süresine bağlıdır; parasetamol alımından sonra 4 saatten daha az bir sürede başvurunun olması; parasetamol alımından sonra 4 saatten fazla fakat 24 saatten daha az süre geçmesi ve parasetamol alımının süresinin bilinmemesi ya da başvuru öncesinde 24 saatten fazla sürenin geçmiş olması gibi üç zaman diliminde hastalar değerlendirilir. Bir kez NAC tedavisinin ihtiyacı belirlendiğinde daha başka serum parasetamol düzeylerinin ölçülmesi gerekli değildir. NAC ile tedaviye tam 72 saatlik (18 doz halinde) bir süreçte devam edilmelidir (8).



Şekil 7: Parasetamol zehirlenmesinde tedavi protokolü (8)

Dört saatin içinde acil servise başvuran ve belirgin parasetamol aşırı alımından yüksek olasılıkla şüphelenilen hastalar için tedavi; genellikle aktif kömürle yapılan gastrointestinal dekontaminasyon ile başlar ve alımın dördüncü saatindeki kan parasetamol düzeyleri istenir. Eğer çalışılan hastane laboratuvarı alım sonrası 8 saat içerisinde serum parasetamol düzeyini rapor edebiliyorsa klinisyen serum parasetamol düzeyinin belirlenmesi için beklemeli ve NAC tedavisinin gerekliliğini belirlemek için bu düzey nomogram üzerinde değerlendirilmelidir. Eğer hastane

laboratuvarı 8 saat içerisinde parasetamol düzeyini belirleyemeyecekse NAC'ın ilk dozu (parasetamol alımından sonra 8 saat içinde) ölçümler için beklenmeksizin ampirik olarak verilmelidir. Sonradan parasetamol düzeyi belirlendiğinde nomogram kullanımı ile ek NAC tedavisi için ihtiyaç belirlenmelidir. Parasetamol alımını takiben 4 saatten daha uzun fakat 24 saatten daha az süre geçen hastalar için serum parasetamol düzeyi laboratuvar tarafından mümkün olan en kısa zamanda belirlenmelidir. Gastrointestinal dekontaminasyon özellikle şüpheli ek ilaçlar için yapılabilir fakat bunun etkinliği başvurudaki gecikmeler nedeniyle sınırlanmıştır. 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. Ayrıca NAC tedavisinin ilk dozu mümkün olan en kısa zamanda uygulanmalıdır. Buna göre ölçülebilen bir serum parasetamol düzeyi (10 mcg/mL'den fazla) hastanın hepatotoksisite gelişimi açısından risk altında olabileceğinden şüphelendirir. Benzer şekilde yükselmiş AST ve ALT enzimleri devam eden hepatik toksisite olasılığından şüphelendirir. Bu yüzden sürekli NAC tedavisi parasetamol düzeyi ölçülebilecek düzeyde ise veya serum AST, ALT düzeyleri yükselmiş ise gereklidir. Eğer parasetamol 10 mcg/mL'den az ise ve AST, ALT düzeyleri yükselmiş ise NAC tedavisi sonradan kesilebilir. NAC tedavisine ihtiyaç duyan tüm hastalar tedavi tamamlanana kadar hastaneye yatırılmalıdırlar (8).

2.3.6 Fulminan Hepatik Yetmezlik

Maalesef parasetamol aşırı alımı bulunan hastaların küçük bir yüzdesi FHY geliştirirler. FHY, önceden herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, sıklıkla ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur. FHY olgularının % 60-80'inde etyolojik ajan belirlenebilmekte, ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise toksinler ve başta parasetamol olmak üzere ilaçlar oluşturmaktadır. İngilterede parasetamol FHY olgularının önde gelen nedenini teşkil etmektedir. Birleşik Devletlerde ise FHY olgularının %20'sinden parasetamol, %12'sinden idiyosenkrazik ilaç reaksiyonları sorumlu bulunmuştur (8,47,48).

NAC tedavisi almayan FHY'li hastalar için mortalite hızı %58-80 olarak tahmin edilmektedir. Ölümlerin çoğu aşırı doz almından sonra 3-5 günlerde meydana gelir ve bu ölümler serebral ödem, hemoraji, şok, Adult Respiratuar Distres Sendromu, sepsis ve multiorgan yetmezliği gibi hepatik komplikasyonlara bağlı olarak gelişmektedir. İnfeksiyona artan duyarlılık mortalitenin majör bir kaynağıdır, bakteriyel infeksiyonlar %44-80, fungal infeksiyonlar %32 oranında görülür. Parasetamol zehirlenmesine bağlı gelişen FHY'de mortalite oranları %30'lara yaklaşmaktadır. Sonunda FHY'den kurtulan hastalar genelde 5-7 günler arasında iyileşme bulgularını göstermeye başlarlar. Sonuç olarak hayatta kalan tüm hastalar hepatik hasarlanmada herhangi bir ilerleme olmaksızın tam bir hepatik rejenerasyon geliştirirler (8,21).

Parasetamol bağımlı FHY'ğin tedavisinde NAC faydalıdır. Kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında NAC tedavisi ile hayatta kalım %20-48 artmış, serebral ödem %40-68 azalmış, vazopressör ihtiyacı %40-68 azalmış olarak bulunur. Parasetamol bağımlı FHY'den kaynaklanan yüksek mortalite riskine sahip olan hastaları belirlemede, bazı prognostik belirleyiciler bulunmaktadır. Bu belirleyiciler sonradan karaciğer transplantasyonuna ihtiyaç duyabilecek hastalar için erken belirleyiciler olarak da hizmet ederler. Serum pH, PT, serum kreatinin ve mental durum değerlendirmesini içeren çeşitli klinik ve laboratuvar markırlar bu amaçla kullanılır.

Sıvı ve hemodinamik resusitasyona karşın pH nın 7.30 un altında olduğu metabolik asidozun varlığı veya koagülopati (PT>100), renal yetmezlik (kreatinin>3.3 mgr/dL) ve grade III-IV ensefalopatinin bulunması, kötü prognozu işaret eden belirteçlerdir (8,21,48,49).

<p><u>Parasetamol Toksisitesine Bağlı Yetmezliklerde</u></p> <p>1. Arteriyel pH nın 7.3 den az olması durumunda (ensefalopatinin derecesinden bağımsız)</p> <p>Ya da</p> <p>2. Grade III ya da IV ensefalopatinin olması ve</p> <p>3. Protrombin zamanının 100 sn den fazla olması ve</p> <p>4. Serum kreatininin 3.4 mg/dL den fazla olması</p>
<p><u>Fulminan Hepatik Yetmezliğin Tüm Diğer Nedenlerinde</u></p> <p>Protrombin zamanının 100 sn den fazla olması (ensefalopatinin derecesinden bağımsız)</p> <p>Ya da</p> <p>Aşağıdaki herhangi üç bulgunun beraber olması (ensefalopatinin derecesinden bağımsız)</p> <p>1. Yaş 10 nun altında ya da 40 ın üzerinde olması</p> <p>2. Etyolojide non-A non-B hepatitin, Halotan hepatitinin, İdiyosenkrazik ilaç reaksiyonlarının olması</p> <p>3. Ensefalopatinin başlangıcından önce yedi günden fazla sarılığın sürmesi</p> <p>4. Protrombin zamanının 50 sn den fazla sürmesi</p> <p>5. Serum bilirübininin 18 mg/dl den fazla olması</p>

Şekil 8: Fulminan Hepatik Yetmezlikte Karaciğer Transplantasyonu için King's Collage Hospital Kriterleri (50)

Karaciğer transplantasyonu için kullanılan en yaygın kriterler Londra'daki King's College Hospital'da bulunan hekimler tarafından geliştirilmiştir. Karaciğer hasarının en iyi belirleyicisi PT'dir, koagülasyon anormalliğinin derecesi ile karaciğer hastalığının ciddiyeti arasında bir ilişki vardır (21).

Parasetamole bağlı FHY için tedavi; NAC tedavisini, koagülopati ve asidozisin düzeltilmesi ve monitörizasyonunu, serebral ödemin agresif tedavisini ve

bir karaciğer transplantasyon merkezine erken sevki içerir. Erken parasetamol toksisitesinin tedavisinden farklı olarak NAC tedavisi hasta iyileşene kadar, bir karaciğer transplantasyonu yapılana kadar veya ölüme kadar 72 saatlik rejimin ötesine geçerek devam ettirilmelidir. FHY için NAC kullanımını destekleyen tüm klinik çalışmaların intravenöz NAC kullanımını desteklemesi nedeniyle, FHY'in tedavisi için intravenöz NAC oral NAC'a göre daha fazla tercih edilir (8,48).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu desteği ile (Proje no: 08.TIP.04) Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Araştırma Merkezi, Biyokimya ve Histoloji laboratuvarlarında Hayvan Etik Kurul izni alınarak yapıldı. Araştırma, US National Institutes of Health (NIH Publication no.85-23 revised 1996) tarafından yayınlanmış laboratuvar hayvanlarının korunması ve kullanımı kurallarına uygun olarak yürütüldü. Araştırmanın deneysel bölümü aynı araştırmacı tarafından yapıldı.

Çalışmamızda 6 aylık ve kiloları 250-350 gr arasında değişen toplam 54 adet erkek veya dişi, Wistar Albino tipi rat kullanıldı. Denekler Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesinden temin edildi ve çalışmadan bir hafta öncesinde rastgele örnekleme metodu ile gruplara ayrılarak özel kafeslerde tutuldu, standart laboratuvar koşullarında ve özel laboratuvar yemi ile beslenerek, oda ısısında saklandı.

3.1. Kimyasallar

Parasetamolün tablet, (Atabay ilaç fab. A.Ş. Parol 500 mg tablet, Türkiye) ticari olarak elde edildi. N-acetylcysteine ampul, (Hüsnü Arsan ilaç sanayi, Asist ampul 300 mg/3mL (%10) IV/IM, Türkiye) ticari şekilde elde edildi. Hydrogen peroxide, Thiobarbituric acid, Phosphate buffer, Buthylated hydroxytoluene, Trichloroacetic acid, EDTA, 5,5-dithio-bis-2- nitrobenzoic acid (DTNB) solution, disodium hydrogen phosphate, paraphenylendiamine, sodium azide, 2,4-dinitrophenylhydrazine, ethanol, hexane, sodium nitrite, sodium nitrate, sulfanilamide, tetrazolium chloride, N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride ve vanadium(III) chloride, hematoxylin, entellan, GSH, Katalaz, CAPE (Sigma-Aldrich Chemical Co. St. Louis, Mo USA) elde edildi. ALT; ALT kiti ve kontrollü 10x20 ml kit Bensrl marka, No. AL020, AST; AST kiti ve kontrollü 10x20 ml kit

Bensrl marka, No. AL070, AST kiti ve kontrollü 10x20 ml kit Bensrl marka, No.AL070 Glutasyon Peroksidaz (GPx); Glutathione Peroxidase Assay Kit Randox Ransel 8x20 ml No.RS505, Süperoksit Dismutaz (SOD); Ransod Superoxidase dismutase Kit 5x20 ml No.SD125 (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, U.S.A) kitleri ile ölçüldü.

3.2. Deney Grupları ve Dizaynı

Çalışma başlangıcında ratlar randomize olarak rastgele sham gurubunda 6, diğer altı gurupta 8'er adet olacak şekilde 7 gruba ayrıldı. Çalışmanın başlangıcından yaklaşık 16 saat önce aç bırakılan denekler karaciğer toksisitesi oluşturulmadan önce tartıldı.

1. Grup (Sham grubu) (n=6): Bu gruptaki ratlarda parasetamol zehirlenmesi oluşturulmadı ve herhangi bir tedavi verilmedi.

2. Grup (CAPE kontrol grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda parasetamol zehirlenmesi oluşturulmadı, sadece 50 µmol/kg dozunda CAPE (50 µmol CAPE 2 ml %70 etil alkol içinde eritildi) hemen intramusküler verildi.

3. Grup (NAC kontrol grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda parasetamol zehirlenmesi oluşturulmadı. İlki 140 mg/kg dozunda olmak üzere, sonrasında 4 saat arayla 70 mg/kg dozunda toplam 6 doz NAC intraperitoneal olarak verildi.

4. Grup (Deney kontrol grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda 1 gr/kg dozunda parasetamol (1gr parasetamol 8 cc serum fizyolojik içinde eritildi) oragastrik gavaj ile verildi. Yarım saat sonra CAPE miktarı kadar (2 ml/kg) %70 etil alkol intramuskuler olarak verildi. Ayrıca verilebilecek NAC miktarı kadar serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

5. Grup (CAPE tedavi grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda 1 gr/kg dozunda parasetamol (1gr parasetamol 8 cc serum fizyolojik içinde eritildi) oragastrik gavaj ile verildi ve yarım saat sonra 50 µmol/kg dozunda CAPE intramusküler olarak verildi. Daha sonra NAC miktarı kadar serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

6. Grup (NAC tedavi grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda 1 gr/kg dozunda parasetamol (1 gr parasetamol 8 cc serum fizyolojik içinde eritildi) oragastrik gavaj ile verildi ve ilki yarım saat sonra 140 mg/kg dozunda olmak üzere, sonrasında 4 saat arayla 70 mg/kg dozunda toplam 6 doz NAC intraperitoneal olarak verildi. Yarım saat sonra CAPE miktarı kadar (2 ml/kg) %70 etil alkol intramuskuler olarak verildi.

7. Grup (CAPE, NAC tedavi grubu) (n=8): Bu gruptaki ratlarda 1 gr/kg dozunda parasetamol (1gr parasetamol 8 cc serum fizyolojik içinde eritildi) oragastrik gavaj ile verildi ve yarım saat sonra 50 µmol/kg dozunda CAPE intramusküler ve ilki yarım saat sonra 140 mg/kg dozunda olmak üzere, sonrasında 4 saat arayla 70 mg/kg dozunda toplam 6 doz NAC intraperitoneal olarak verildi.

Tüm gruptaki ratlar 24 saat boyunca takip edildi bu sürede ratların oral alımlarına izin verildi. 24. saatin sonunda steril ortamda cerrahi işleme geçildi. Tüm ratlarda sağ bacağı intramusküler yolla, 50 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı) ve 5 mg/kg Xylazin (Rompun, Bayer) uygulanarak genel anestezi ve ratların spontan solunumu sağlandı. Ratların karın bölgesi traşı sağlandıktan sonra, % 10 Povidone İodine ile deri temizliği yapıldı. Yalnızca insizyon bölgesi açık kalacak şekilde steril örtü örtüldükten sonra orta hattın yaklaşık 4cm'lik insizyonla laparotomi gerçekleştirildi. Vena kavadan biyokimyasal parametreleri çalışmak üzere steril ortamda yaklaşık 4cc kan alınarak heparinize ve normal tüplere konuldu. Daha sonra sakrifikasyona geçildi. Histopatolojik inceleme için karaciğer çıkartıldı buzlu suyla yıkanarak % 10 formaldehit içine alındı ve -70 °C de saklandı.

Biyokimya laboratuvarlarında ratlardan alınan yaklaşık 4 cc kan ile AST, ALT ve oksidan- antioksidan düzeyleri çalışıldı.

3.3 Kanda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analizler için kan örnekleri vena kavadan alınarak heparinize edilmiş ve normal tüplerde toplandı. Heparinize edilmiş tüplerde toplanan tam kan aynı gün içinde tam kan Malodialdehid (MDA) ve GSH düzeylerinin ölçümü için çalışıldı. Heparinize edilmeden polystyrene tüplere alınan kan pıhtılaştıktan sonra +4 °C de 10 dakika 1000 g de santrifüj edildi ve serum EDTA ile yıkanmış pasteur pipetleri kullanılarak alındı. Heparinize eritrositler pH 7.4 de fosfat tamponlu salin

ile üç defa yıkandı. Elde edilen bu serum ve eritrosit örnekleri analiz zamanına kadar -70 °C de polystrene plastik tüplerde saklandı.

Serum vitamin C (askorbik asit), Retinol (vitamin A), β Karoten aktiviteleri ve aynı zamanda GSH konsantrasyonu spektrofotometre (Jenway 6305 UV/Vis) ile çalışıldı. GSH konsantrasyonunun ölçümü için tam kanın çözülmesinden ve presipitatın kaldırılmasından sonra disodyum hidrojen fosfat ve DTNB solüsyonu eklendi ve renk formasyonu 412 nm de okundu ve sonuçlar mg/dl olarak belirtildi (51). Serum vitamin C (askorbik asit) düzeyi 2,4-Dinitrophenylhydrazine ile derivatizasyondan sonra değerlendirildi. β Karoten düzeyleri 425 nm de ve Retinol düzeyleri 325 nm de serum:ethanol:hexan'ın sırasıyla 1:1:3 oranında etkileşiminden sonra belirlendi. Oksidatif stresin önemli bir belirleyicisi olarak MDA düzeyleri Jain ve arkadaşlarının metoduna uygun şekilde ölçüldü (52). Bu metodun prensibi MDA ile thiobarbituric asitin reaksiyonu esnasında meydana gelen rengin spektrofotometrik olarak ölçümüne bağlıdır. Thiobarbituric asit reaktif içeriklerinin konsantrasyonları thiobarbituric asit - malondialdehide kompleksinin beraber absorbansı tarafından hesaplandı ve sonuçlar nmol/ml olarak belirtildi.

Karaciğer hasarı AST ve ALT'nin serum aktiviteleri ölçülerek değerlendirildi, bunun için ticari olarak sağlanan ölçüm kitleri kullanıldı (ALT kiti ve kontrollü 10x20 ml kit Bensrl marka, No. AL020, AST kiti ve kontrollü 10x20 ml kit Bensrl marka, No. AL070). Daha önceden belirtilen işlemlerden geçirilerek -70 °C' de saklanan plazma AST, ALT düzeyleri için 37 °C' de otoanalizör (Hitachi 7050, Tokyo, Japan) ile çalışıldı.

Glutasyon Peroksidaz (GPx), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz gibi plazma antioksidan enzim düzeylerinin ölçümü Lee ve arkadaşlarının önceden tanımladığı metotlara göre yapıldı (53). GPx düzeyleri Glutathione Peroxidase Assay Kit Randox Ransel 8x20 ml No.RS505 ticari kiti ile çalışıldı. GPx aktivitesi spektrofotometrik olarak 340 nm de ölçüldü. Burada hidrojen peroksit varlığında GPx in glutasyonu okside etmesinden faydalanıldı. Değerler U/mg protein olarak belirtildi. SOD düzeyleri Ransod Superoxidase dismutase 5x20 ml No.SD125 ticari

kiti ile çalışıldı. 505 nm de süperoksit radikallerinin 2-iodophenyl-3-nitrophenol-5-phenyl tetrazolium chloride ile reaksiyonu ölçüldü. Katalaz düzeyleri, Sigma-Aldrich Chemical Co. St. Louis, Mo USA den sağlanan kitler ile ölçüldü. Katalaz aktivitesi bir dakika içinde 1µMol hidrojen peroksiti ayrıştırmak için gerekli enzim miktarı tanımlanarak ölçülmüştür. Hidrojen peroksinin ayrışması bir dakika içinde 240 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Seruloplazmin paraphenylenediamine nin oksidasyonunu katalizler bu reaksiyonun hızı ise spektrofotometrik ölçümlerle ölçüldü. Bu ölçüm için sodyum asetat tamponunun 0.67 mL si ve paraphenylenediamine solüsyonunun 0.33 mL si ile serumun 25 µL si karıştırıldı ve 35 °C de 610 nm dalga boyunda, 5 dakikalık süreyle 30 saniyelik aralarda optik dansiteler ölçüldü. Beş dakika civarında 610 nm deki optik dansitelerdeki değişim hesaplandı (54).

3.4 Dokuda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analiz için -70 °C de saklanan dokular SF ile yıkandı ve tartıldı. 1/10 oranında dilüe edildi. Sonrasında homojenizatörle 9600 devir/dk'da 60 saniye süreyle mekanik olarak homojenize edildi. Burada parçalanan numuneler 30 saniye süreyle sonifikasyon işlemine tabi tutuldular. Bu süre sonunda elde edilen % 10'luk homojenatlar, +4°C'de 10 dakika süreyle 5000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Bu süpernatantlarda, GSH ve MDA aktiviteleri çalışıldı. Doku biyokimyasal değerlendirmelerinde de serumda kullanılan kit ve yöntemler kullanıldı.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için alınan karaciğer doku örnekleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı'nda çalışıldı. %10 nötral tamponlu formaline konularak 24 saat tespit edilen karaciğer organı parçaları rutin doku takip basamaklarından geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Mikrotomla 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlere hematoksilin – eozin boyaması uygulandı ve preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler ışık mikroskobunda (Nikon Eclipse E600W, Tokyo, Japan) incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (Nikon Coolpix 5000, Tokyo, Japan) ile fotoğraf çekimleri yapıldı. Her gruba ait karaciğer kesitleri

histolojik olarak sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon bulguları dikkate alınarak incelendi. Her bir kesit 0-4 arasında (sırası ile hasar yok 0, düşük hasar var 1, orta derecede hasar var 2, şiddetli hasar var 3, çok ağır hasar var 4) skorlandı (55). Dokuların histopatolojik incelemesi, örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek histolog tarafından yapıldı.

3.6. Karaciğerin Mikroskopik Değerlendirilmesi

Karaciğer dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitlerde sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon bulguları dikkate alınarak incelemeler yapıldı. Her bir kesit Yağmurca ve arkadaşları tarafından kullanılan histolojik skorlama sistemi kullanılarak 0-4 arasında skorlandı (55).

Tablo 1: Histopatolojik Hasar Kriterleri

Hasar Şiddeti	Skor
Hasar yok	0
Düşük hasar	1
Orta derecede hasar	2
Şiddetli hasar	3
Çok ağır hasar	4

3.7. İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 11.5 for Windows ve WINKS SDA 6” istatistiksel paket programları kullanılarak yapıldı. Veriler tanımlayıcı istatistik ile özetlendi. Dağılımı normal olmayan veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak gösterildi. Grupların karşılaştırılmasında; verilerin normal dağıldığı durumlarda Tek Yönlü Varyans Analizi, verilerin normal dağılmadığı durumlarda ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Ayrıca farklı olan grupların belirlenmesinde Post-Hoc çoklu karşılaştırma testlerinden parametrik ve parametrik olmayan Tukey HSD testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu deneysel çalışmada Sham (Grup I), CAPE (Grup II), NAC (Grup III), Parasetamol (Grup IV), Parasetamol+CAPE (Grup V), Parasetamol+NAC (Grup VI) ve Parasetamol+CAPE+NAC (Grup VII) gruplarında elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

4.1. Kanda Biyokimyasal Değerler

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarına göre Grup I, II, III kendi arasında, Grup I, IV, V, VI ve VII kendi arasında değerlendirildi.

4.1.1. Karaciğer Fonksiyon Testleri

AST'ye bakıldığında, Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da AST değerleri Grup II ve III'de Grup I'e göre daha fazla idi. Grup I'e göre Grup IV, V, VI ve VII'deki AST değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de AST değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Tedavi grupları arasında (Grup V, VI ve VII) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da AST değerlerindeki azalma Grup V ve VI'da Grup VII'ye göre daha fazla idi ayrıca değerlerin en fazla azaldığı grup Grup V olup CAPE ile tedavi edilen grup idi.

ALT'ye bakıldığında, Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ancak Grup II ve III'deki ALT değerleri Grup I'e göre daha az olarak tespit edildi. Grup I'e göre Grup IV, V, VI, VII'deki ALT değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde

azalma tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Tedavi grupları arasında (Grup V, VI ve VII) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi, ancak ALT değerlerindeki azalma Grup V ve VI'da Grup VII'ye göre daha fazla idi.

4.1.2. Glutasyon Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup I'e göre Grup IV, V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup III'deki değerin Grup V'deki değere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Tedavi grupları (Grup V, VI ve VII) arasında GSH değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

4.1.3. Malondialdehid Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da MDA değerleri Grup II ve III'de Grup I'e göre daha az idi. Grup I'e göre Grup IV'de istatistiksel olarak anlamlı derecede artış vardı ($p<0.05$) (Tablo I), ancak Grup I'e göre Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Tedavi grupları olan Grup V, VI ve VII arasında MDA değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ancak Grup IV'e göre MDA değerlerindeki azalmanın en az olduğu grup Grup VI idi.

4.1.4. Karoten Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup I'e göre Grup IV, VI ve VII'deki karoten değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde az olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV ile Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da Grup I'e göre en fazla azalma Grup IV'de tespit edildi. Tedavi grupları (Grup V, VI ve VII) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

4.1.5. Retinol Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ancak Grup II'deki retinol değerlerinin Grup I ve III'e göre daha fazla olduğu görüldü. Grup I'e göre Grup IV'de retinol değerleri istatistiksel olarak anlamlı Şekilde az tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Grup I ile Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Grup IV ile Grup V, VII ve VIII'deki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ancak retinol değerindeki en fazla artış Grup VIII'de tespit edildi. Tedavi grupları arasında (Grup V, VI ve VII) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

4.1.6. Vitamin C değeri

Gruplar arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark tespit edilmedi.

4.1.7. Seruloplazmin Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı Şekilde seruloplazmin değerlerinde artış belirlendi ($p<0.05$) (Tablo I). Grup I'e göre Grup IV'de istatistiksel olarak anlamlı Şekilde artış saptandı ($p<0.05$) (Tablo I) ancak Grup I'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Tedavi grupları arasında (Grup V, VI ve VII) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

4.1.8. Süperoksit Dismutaz Değeri

Grup I'e göre Grup II'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu, ancak Grup III'de istatistiksel olarak anlamlı Şekilde artış saptandı ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV, V, VI ve VII'deki SOD değerlerinin Grup I'deki değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı Şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV ile Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı Şekilde fark tespit edilmedi. Tedavi grupları arasında (Grup V, VI ve VII) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

4.1.9. Glutatyon Peroksidaz Değeri

Grup I'e göre Grup II'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu, ancak Grup III'de istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptandı ($p<0.05$) (Tablo I). Grup IV, V ve VI'daki değerler Grup I'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olarak tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo I) ancak Grup I'e göre Grup VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Grup IV'deki değerler ile Grup V, VI, VII arasındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ancak Grup IV'e göre GPx değerlerinde en fazla artış Grup V'de tespit edilirken en fazla düşme Grup VII'de tespit edildi. Tedavi Grupları olan Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

4.1.10. Katalaz Değeri

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Tablo 2: AST, ALT, GSH, MDA, Karoten, Retinol, Vitamin C, Seruloplazmin, SOD, GPx, Katalaz Değerleri

Gruplar	Grup I (SHAM)	Grup II (CAPE)	Grup III (NAC)	Grup IV (PSR)	Grup V (PRS+CAPE)	Grup VI (PRS+NAC)	Grup VII (PRS+NAC+CAPE)
AST	122.57 ± 15.8 ^b	180.52 ± 36.55	155.64 ± 43.0	414.32 ± 40.1 ^a	220.68 ± 19.2 ^{ab}	226.51 ± 36.7 ^{ab}	283.19 ± 22.6 ^{ab}
ALT	59.56 ± 11.9 ^b	53.17 ± 15.2	52.63 ± 13.0	241.86 ± 17.8 ^a	134.13 ± 21.9 ^{ab}	133.31 ± 18.5 ^{ab}	156.55 ± 10.9 ^{ab}
GSH	58.02 ± 2.77	58.76 ± 3.51	60.08 ± 5.27	56.84 ± 5.82	51.84 ± 5.82	55.48 ± 5.54	54.99 ± 4.07
MDA	1.41 ± 0.09 ^b	1.14 ± 0.17	1.16 ± 0.16	2.03 ± 0.24 ^a	1.26 ± 0.31 ^b	1.33 ± 0.28 ^b	1.25 ± 0.12 ^b
KAROTEN	17.67 ± 3.60 ^b	16.01 ± 4.10	16.63 ± 4.06	11.66 ± 2.24 ^a	12.91 ± 0.40	12.71 ± 0.30 ^a	12.73 ± 0.34 ^a
RETİNOL	47.24 ± 2.84 ^b	49.02 ± 2.89	47.76 ± 3.19	38.09 ± 2.55 ^a	41.37 ± 5.10	43.49 ± 5.69	44.87 ± 5.52
VİT C	2.02 ± 0.12	2.08 ± 0.15	2.10 ± 0.21	1.96 ± 0.26	1.97 ± 0.28	2.11 ± 0.18	2.01 ± 0.29
SERULOPLAZMİN	61.01 ± 16.61 ^b	144.77 ± 26.29 ^a	124.54 ± 26.76 ^a	109.37 ± 31.89 ^a	102.51 ± 35.62	102.21 ± 24.06	101.36 ± 22.32
SOD	181.46 ± 4.68 ^b	187.29 ± 2.44	191.56 ± 2.51 ^a	190.27 ± 3.36 ^a	190.45 ± 4.55 ^a	189.09 ± 5.02 ^a	189.79 ± 6.38 ^a
GPx	3913.91 ± 714.35 ^b	6528.06 ± 1486.86	8587.25 ± 1419.89 ^a	7448.12 ± 1014.01 ^a	8512.14 ± 996.84 ^a	7921.30 ± 2893.00 ^a	6409.14 ± 1895.23
KATALAZ	3004.89 ± 328.14	2825.24 ± 608.81	2786.68 ± 965.42	2077.87 ± 349.14	2528.94 ± 818.32	2095.91 ± 621.20	1967.08 ± 357.19

^a: Sham'den farklıdır ($p<0.05$)

^b: Prstm'den farklıdır ($p<0.05$)

a: Grup I'e olan farkı gösterir. b: Grup IV'e olan farkı gösterir. Kruskal-Wallis H testi (minimum-maksimum) $p<0.05$ olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

4.2. Doku Düzeyinde Malondialdehid ve Glutatyon Değerleri

4.2.1. Glutatyon Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup I'e göre Grup IV'de istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo II) ancak Grup I'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup IV'e göre Grup V'de istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmadı ancak Grup VI ve VII'de Grup IV'e göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p<0.05$) (Tablo II) GSH değerlerindeki artış Grup IV'e göre en fazla Grup VII'de tespit edildi. Tedavi grupları olan Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

4.2.2. Malondialdehid Değeri

Grup I'e göre Grup II ve III'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup I'e göre Grup IV'de istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptandı ($p<0.05$) (Tablo II) ancak Grup I'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı azalmalar tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo II). Tedavi grupları olan Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ancak Grup IV'e göre MDA değerlerindeki en fazla artış Grup VII'de tespit edildi.

Tablo 3: Doku Düzeyinde MDA ve GSH Değerleri

Gruplar	Grup I (SHAM)	Grup II (CAPE)	Grup III (NAC)	Grup IV (PRS)	Grup V (PRS+CAPE)	Grup VI (PRS+NAC)	Grup VII (PRS+NAC+CAPE)
GSH	39.04 ± 1.14 ^b	38.96 ± 1.54	40.00 ± 1.23	35.85 ± 3.27 ^a	37.94 ± 1.64	38.97 ± 1.49 ^b	40.96 ± 1.77 ^b
MDA	11.50 ± 3.40 ^b	12.54 ± 2.34	14.27 ± 3.09	25.30 ± 3.33 ^a	16.87 ± 5.17 ^b	17.40 ± 4.67 ^b	17.91 ± 3.28 ^b

^a: Sham'den farklıdır ($p<0.05$)

^b: Prstm'den farklıdır ($p<0.05$)

a: Grup I'e olan farkı gösterir. b: Grup IV'e olan farkı gösterir.
Kruskal-Wallis H testi (minimum-maksimum) $p<0.05$ olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

4.3. Histopatolojik Değerlendirme Sonuları

Karaciğer dokularının ışık mikroskopisi incelemesine göre; kesitlerde sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon bulguları dikkate alınarak incelemeler yapıldı. Her bir histopatolojik bulgu Şiddet ve yaygınlığına göre 0-4 arasında (sırası ile hasar yok 0, dŐuk hasar var 1, orta derecede hasar var 2, Şiddetli hasar var 3, çok ağır hasar var 4) skorlandı.

Saptanan bu histopatolojik bulgulara ait skorların medyan değerlerinin gruplar arasındaki dağılımı Tablo III'de gösterilmiştir. Buna göre sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyona ait medyan skorlar arasında farklar mevcut idi.

4.3.1. Sinuzoidal Dilatasyonun Değerlendirilmesi

Grup I ve II'de hiçbir histopatolojik bulgu saptanmadı. Grup I'e göre Grup III'de sinuzoidal dilatasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup IV, V, VI ve VII'de Grup I'e göre sinuzoidal dilatasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup IV'e göre sinuzoidal dilatasyon açısından Grup V, VI ve VII'de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup V ve VI, VII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da sinuzoidal dilatasyonun en fazla olduğu grup Grup VI idi.

4.3.2. Hepatosit dejenerasyonunun Değerlendirilmesi

Grup I, II ve III'de hiçbir histopatolojik bulgu saptanmadı. Grup IV, V, VI ve VII'de hepatosit dejenerasyonu açısından Grup I'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de hepatosit dejenerasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da hepatosit dejenerasyonunun en fazla azaldığı grup Grup V idi.

4.3.3. Vasküler konjesyon-trombozis Değerlendirilmesi

Grup I ve II'de hiçbir histopatolojik bulgu saptanmadı. Grup I'e göre Grup III'de vasküler konjesyon-trombozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup IV, V, VI ve VII'de vasküler konjesyon-trombozis açısından Grup I'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de vasküler konjesyon-trombozis açısından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da vasküler konjesyon-trombozis en fazla olduğu grup Grup VI idi.

4.3.4. İnflamatuvar İnfiltrasyonun Değerlendirilmesi

İnflamatuvar infiltrasyon açısından bakıldığında Grup I, II ve III'de hiçbir histopatolojik bulgu saptanmadı. Grup IV, V, VI ve VII'de inflamatuvar infiltrasyon açısından Grup I'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup IV'e göre Grup V, VI ve VII'de inflamatuvar infiltrasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Tablo III). Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da inflamatuvar infiltrasyonun en fazla olduğu grup Grup VI idi.

Tablo 4: Histopatolojik bulgulara ait skorlar

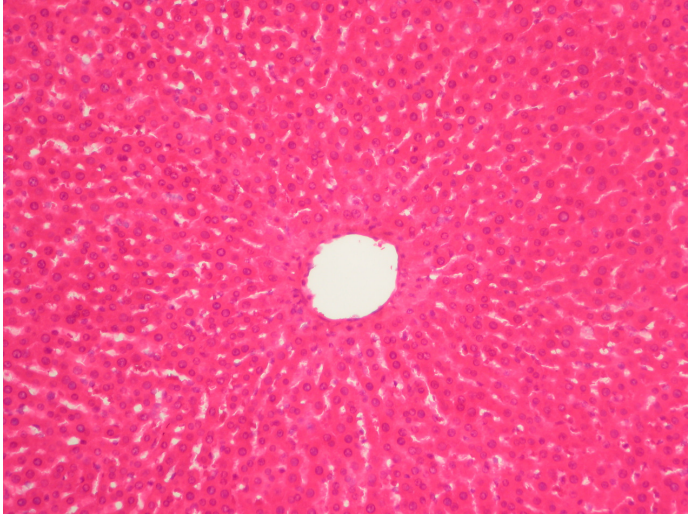
Gruplar	Grup I (Sham)	Grup II (CAPE)	Grup III (NAC)	Grup IV (PRS)	Grup V (PRS+CAPE)	Grup VI (PRS+NAC)	Grup VII (PRS+NAC+CAPE)
Sinuzoidal dilatasyon	0 ^b	0	0.25 ± 0.46	2.37 ± 0.74 ^a	1.25 ± 0.46 ^{ab}	1.37 ± 0.51 ^{ab}	1.25 ± 0.46 ^{ab}
Hepatosit dejenerasyonu	0 ^b	0	0	2.75 ± 0.70 ^a	1.25 ± 0.46 ^{ab}	1.37 ± 0.51 ^{ab}	1.37 ± 0.51 ^{ab}
Vasküler konjesyon trombozis	0 ^b	0	0.25 ± 0.46	3.00 ± 0.75 ^a	1.25 ± 0.46 ^{ab}	1.87 ± 0.64 ^{ab}	1.25 ± 0.46 ^{ab}
İnflamatuvar infiltrasyon	0 ^b	0	0	2.25 ± 0.46 ^{ab}	1.12 ± 0.35 ^{ab}	1.37 ± 0.51 ^{ab}	1.25 ± 0.46 ^{ab}

^a: Sham'den farklıdır ($p<0.05$)

^b: Prstm'den farklıdır ($p<0.05$)

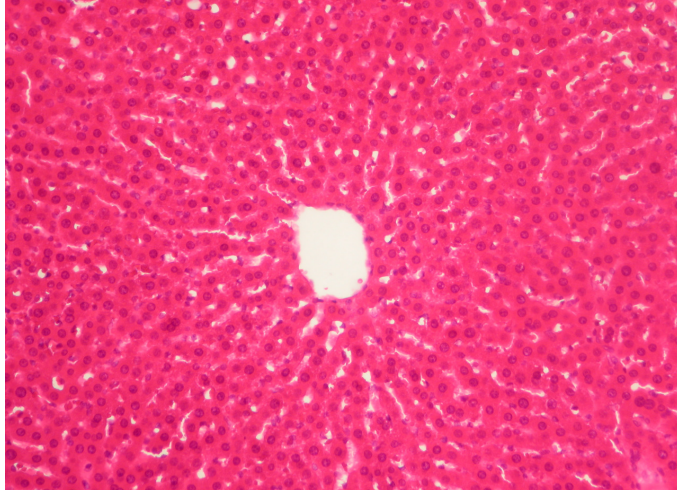
a: Grup I'e olan farkı gösterir. **b:** Grup IV'e olan farkı gösterir.
Kruskal-Wallis H testi (minimum-maksimum) $p<0.05$ olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

Sham grubu (Grup I) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde normal histolojik görünümde oldukları izlendi. Hepatositlerin santral ven etrafında ışınal tarzda yerleşerek hepatosit kordonlarını oluşturduğu izlendi. Hepatosit kordonları arasında sinüzoidler izlendi. Hepatik lobüllerin etrafında normal yapıda portal alanların olduğu gözlemlendi. Bu grupta sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyona rastlanmadı.



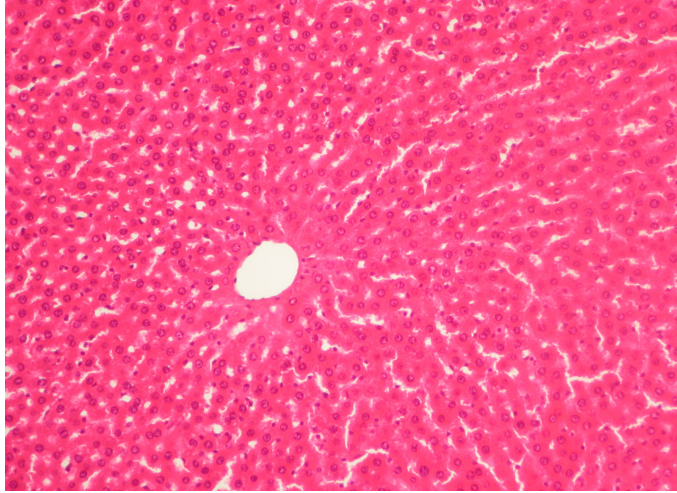
Şekil 9: Sham grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatositler ve sinüzoidal yapılar normal izlenmekte. H-E X 20.

CAPE kontrol grubu (Grup II) ratlardan alınan karaciğer kesitlerindeki bulguların sham grubu ratlarından herhangi bir farklılık göstermediği izlendi.



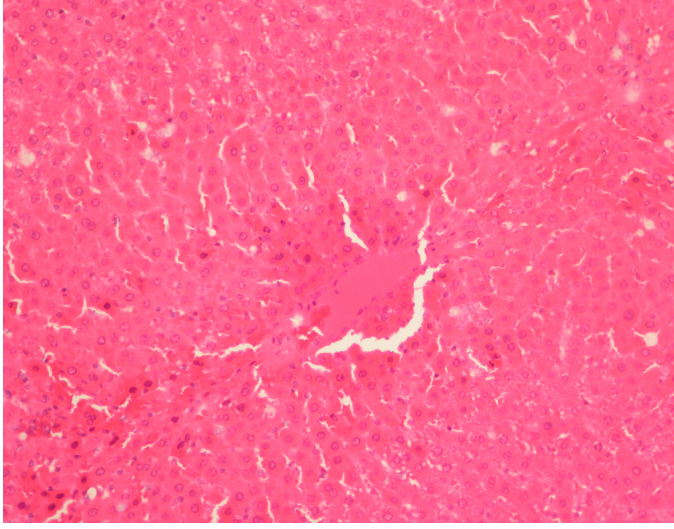
Şekil 10: CAPE kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatositler ve sinüzoidal yapılar normal izlenmekte. H-E X 20.

NAC kontrol grubu (Grup III) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinin sham grubu ile benzer bulgular sergilediği gözlemlendi.



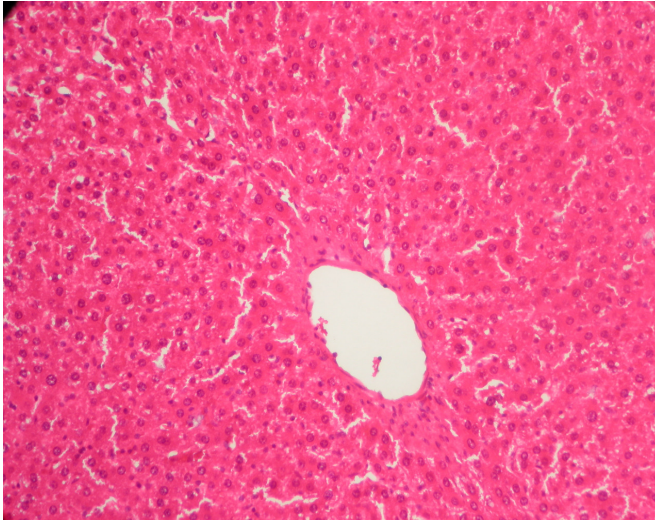
Şekil 11: NAC kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatositler ve sinüzoidal yapılar normal izlenmekte. H-E X 20.

Deney kontrol grubu (Grup IV) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinin incelemesinde sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon izlendi.



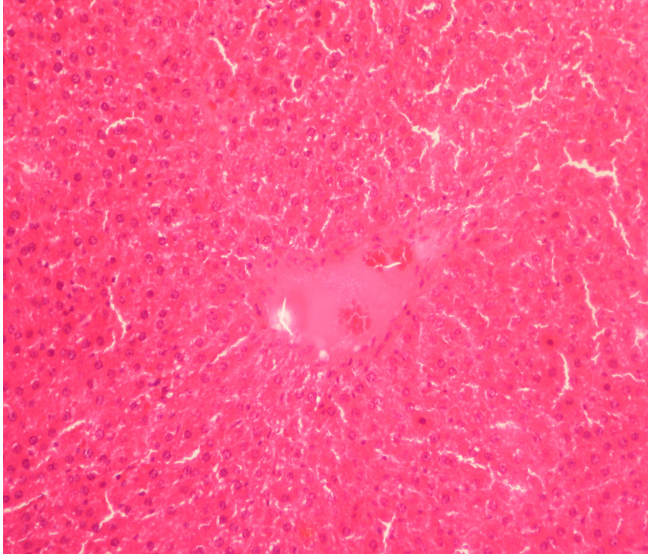
Şekil 12: Deney kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon ve tromboz izlenmekte. H-E X 20.

CAPE tedavi grubu (Grup V) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde deney kontrol grubunda izlenen değişikliklerin belirgin olarak azaldığı gözlemlendi.



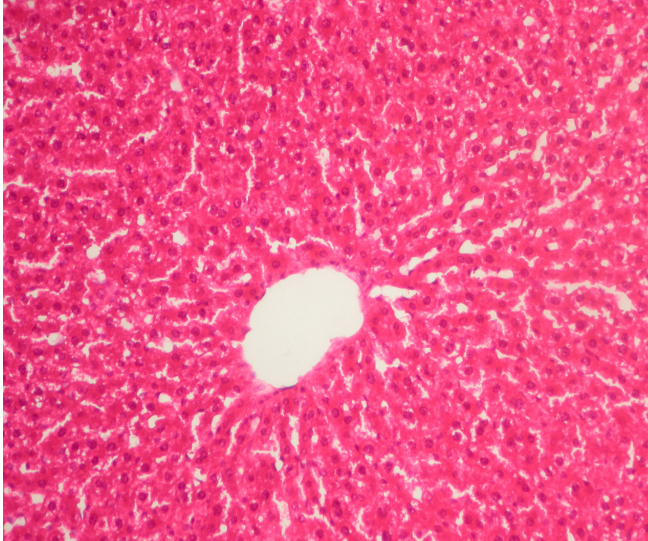
Şekil 13: CAPE tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatosit denejerasyonu ve vasküler konjesyon ve trombozun belirgin derecede azalmış olduğu izlenmekte. H-E X 20.

NAC tedavi grubu (Grup VI) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde deney kontrol grubunda izlenen değişikliklerin kısmen azalma gösterdiği izlendi.



Şekil 14: NAC tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Belirgin vasküler konjesyon ve tromboz, kısmen azalmış hepatosit dejenerasyonu izlenmekte. H-E X 20.

CAPE + NAC tedavi grubu (Grup VII) ratlardan alınan karaciğer kesitlerinin deney kontrol grubunda izlenen değişiklikler açısından kısmen düzelmeye gösterdiği izlendi.



Şekil 15: CAPE+ NAC tedavi grubuna ait sıçan karaciğerinden histolojik bir görünüm. Hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon ve trombozda azalma olduğu izlenmekte. H-E X 20.

5. TARTIŞMA

Parasetamol yaygın olarak kullanılan, tedavi edici dozlarda güvenli, etkin analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol toksisitesi ABD ve İngiltere’de transplantasyon gerektiren ilaca bağlı akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın, toksik ilaç alımlarının ise en yaygın ikinci nedenidir (1). Yılda tahminen 56.000 hasta parasetamol aşırı alımına bağlı olarak acil servislere başvurmakta ve bu hastaların 26.000’i hastaneye yatarak tedavi görmektedir. Vakaların büyük kısmında alımlar kasıtlı olarak oluşurken, %8-26 vakada alımlar kazara oluşmaktadır. Amerikan Zehir Kontrol Veri Merkezi verilerine göre ölüm oranları 1997’den 2001’e kadar yaklaşık iki kat artmıştır ve her yıl parasetamol aşırı alımına bağlı olarak yaklaşık 458 ölüm meydana gelmektedir (56). Bu nedenle parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının gerçek bir iş yükünü oluşturmaktadır (2).

Parasetamol aşırı alımı, deneysel hayvan modelleri ve insanlarda ciddi hepatotoksisiteye ve hatta karaciğer yetmezliğine neden olabilir. Son 30 yıldır yapılan yoğun çalışmalara karşın parasetamole bağlı karaciğer hücre hasarının mekanizması halen tam olarak anlaşılammıştır. Büyük ölçüde kabul edilen görüşe göre bu hasarlanma süreci, parasetamolün toksik reaktif bir metabolit olan NAPQI’ya metabolize olmasıyla başlar. Bu metabolit ilk olarak GSH’yı tüketir ardından mitokondriyal proteinleri de içeren bir takım hücresel proteinlere bağlanır. Bu sürecin sonucunda, mitokondriyal solunumun baskılanması, ATP’nin tüketimi ve mitokondriyal oksidatif stres gözlenebilir. ATP tüketimi hepatositler ve sinüzoidal endotelial hücrelerde, selüler onkotik nekroza yol açar (57).

Günümüzde kullanılan çağdaş tedavi yöntemlerinin hemen hepsi hayvan deneyleri sonrası edinilen bilgilere dayanmaktadır. Kamanaka ve arkadaşları tarafından oluşturulan bir deneysel hayvan modelinde ratlara 1gr/kg dozunda parasetamol, intraperitoneal olarak verilmiş ve toksisite oluşturulmuş (58). Manautou

ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada parasetamol gavaj ile farelere verilerek Klofibratın koruyucu etkileri araştırılmış (59). Yine Ayantika ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 300 mg/kg dozunda parasetamol farelere oral yolla uygulanmış ve Cajanus Indicus isimli maddenin antioksidan etkileri araştırılmış (60). Bu üç çalışmaya benzer şekilde bizim yapmış olduğumuz çalışmada da 1gr/kg dozunda parasetamol ratlara oragastrik gavaj yoluyla uygulandı. Böylece klinikte oluşan zehirlenme şekline daha uygun bir model oluşturmaya çalıştık.

NAC, amino asit L-sistein ve GSH'nın her ikisinin asetillenmiş bir prekürsörüdür ve uzun yıllardır parasetamol aşırı alımlarına bağlı hepatotoksisitenin önlenmesi için bir antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarıyla NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmaktadır (61). NAC, yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda değişik dozlarda kullanılmış. Şener ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada NAC 150 mg/kg dozunda zehirlenmeden 30 dk önce profilaktik olarak tek doz intraperitoneal olarak verilmiş ve parasetamol toksikasyonuna bağlı olarak, artan AST ve ALT değerlerinin, NAC tedavisi ile gerilediği tespit edilmiş (6). Bizim çalışmamızda ise klinikteki kullanıma uygun olarak, ratlara ilki zehirlenmeden yarım saat sonra 140 mg/kg dozunda olmak üzere, sonrasında 4 saat arayla 70 mg/kg dozunda toplam 6 doz NAC intraperitoneal olarak verildi. NAC güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bir tiol bileşiğidir. Antioksidan etkisinin GSH sentezini stimüle etme yeteneğinden kaynaklandığına inanılmaktadır. Günümüzde de NAC, klinik olarak oksidatif strese bağlı gelişen parasetamol toksikasyonu gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde, rutin olarak kullanılmaktadır (62). Biz bu çalışmada asıl, güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu birçok çalışmada kanıtlanmış olan CAPE'nin etkisini araştırmayı amaçladık. Gerek tek başına gerekse NAC ile kombine şekilde kullanımının etkinliğini gösterebilmek için bu deneysel çalışma planlandı. Etkisini araştırdığımız CAPE, Fidan ve arkadaşlarınca yapılan ve sepsise bağlı akciğer hasarı ve mortalitenin CAPE tarafından azaltıldığı araştırıldığı çalışmada olduğu gibi 50 µmol/kg dozunda intramuskuler olarak uygulanmıştır (12). Zehirlenme oluşturulmayıp sadece CAPE ve NAC uygulan gruplarda (Grup II ve III)

karaciğer üzerine herhangi bir toksik etki tespit edilmedi. Bunun da yukarıdaki dozlarda bu ilaçların güvenle kullanılabilceğini göstermesi açısından önemli bir bulgu olduğunu düşünmekteyiz. Ancak CAPE dozunun tespit edilmesi adına daha başka çalışmaların gerekli olduğuna inanmaktayız.

Daha önceden yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi toksik dozlarda parasetamol alımları, oksidatif yolla hepatosit hasarlanmasına yol açar, inflamatuvar reaksiyonları artırır ve serum AST ve ALT değerlerini artırır. AST ve ALT transaminazlar olarak da bilinen ve karaciğerde bulunan intraselüler enzimlerdir. ALT ve AST hepatoselüler hasar ya da nekroza bağlı olarak artan, en güvenilir iki markırdır (63).

Manda ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada parasetamol oral yolla verilerek ratlarda zehirlenme oluşturulmuş ve güçlü bir antioksidan olan β -Karotenin tedavi edici etkisi araştırılmış. Yapılan bu çalışmada AST ve ALT değerlerinin zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre belirgin şekilde artmış olduğu saptanmış (64). Ahmed ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak zehirlenme oluşturulmuş ve *Ambrosia Maritima* isimli bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmış. Yapılan ölçümlerde AST ve ALT değerleri zehirlenme grubunda, kontrol grubuna göre belirgin artmış olarak saptanmış (65). Bizim çalışmamızda da parasetamol toksikasyonu oluşturulduktan 24 saat sonra alınan kan örneklerinden yapılan ölçümlerde, zehirlenme grubunda AST ve ALT değerlerinde üç ile dört kat düzeyinde belirgin artışlar saptandı. CAPE tedavisinin gerek tek başına kullanımda gerekse NAC ile kombine kullanımda, karaciğer hasarı nedeniyle salınan AST ve ALT değerlerini, zehirlenme grubuna göre belirgin şekilde daha az yükselttiği tespit edildi. Serum AST ve ALT değerlerinin CAPE ile tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı belirlendi. Bu sonuçlar CAPE ile yapılan tedavinin dramatik olarak parasetamole bağlı hepatik hasarı baskıladığını göstermiştir. Diğer bazı karaciğere toksik ajanlar ile yapılan deneysel çalışmalarda da bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kyung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farelerde Karbon Tetraklorid ile hepatotoksisite oluşturulmuş ve CAPE'nin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Oluşturulan toksisite ile

AST ve ALT değerleri zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış ve oluşturulan u ayrı dozda CAPE tedavisi ile CAPE dozu arttırıldıķca değerlerdeki azalma belirgin hale gelmiştir (66). Kart ve arkadaşlarınca yapılan diğer bir çalışmada ise yüksek doz Sisplatin ile tavşanlarda oksidatif hasar yoluyla hepatotoksisite oluşturulmuş ve CAPE'nin iyileştirici etkisi araştırılmış. Serum AST ve ALT düzeyleri, Sisplatin ile zehirlenme grubunda, kontrol grubuna göre yüksek olarak belirlenmiş ve CAPE ile tedavi sonrasında bu değerlerin azaldığı tespit edilmiş (67).

Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı karaciğer hasarına neden olan en önemli mekanizmalardan biridir ve serbest oksijen radikallerine bağlı olarak ortaya çıkar. Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerine etkisi sonucu başlar. Lipit peroksidasyonunun oksidatif stres altında bulunan dokulardaki hücre fonksiyon kaybında majör bir rolü olduğu rapor edilmiştir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir. Oksidatif strese maruz kalan dokularda, düzeylerinde artış görülür. Başka bir deyişle plazma MDA düzeyi oksidatif stres için potansiyel bir biyomarker olarak kullanılabilir (68).

Yapar ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada fareler parasetamol ile zehirlenmiş ve L- Karnitinin hepatoprotektif etkileri araştırılmış. Bu çalışmada 24 saat sonra alınan kan örneklerinde MDA değerleri, zehirlenme gurubunda artmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile MDA değerlerinin azaldığı tespit edilmiş (7). Cheng-chin ve arkadaşlarınca yapılan bir başka çalışmada fareler parasetamol ile intraperitoneal olarak zehirlenmiş ve S-allyl ile S-propyl'in koruyucu etkileri araştırılmış. Bu alışmada MDA'nın zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre arttığı ve verilen tedaviyle değerlerin azaldığı tespit edilmiş (69). Çalışmamızda, benzer şekilde 24 saat sonra alınan kan ölçümlerinde MDA değerinin, zehirlenme grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu saptandı. Bu sonuçta lipit peroksidasyonunun parasetamole bağlı doku hasarı ile yakın ilişkili olduğunu desteklemektedir.

Pari ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada ratlarda alkole bağlı oluşan oksidatif hasar oluşturulmuş ve oluşan biyokimyasal değişikliklere karşı CAPE'nin koruyucu etkileri araştırılmış. Kan MDA değerleri etanol verilen grupta kontrol grubuna göre artış göstermiş, CAPE ile tedavi verilen grupta bu yüksek değerlerde azalma saptanmış (70). Serarşlan ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada CAPE'nin insizyonel yara modelinde plazma lipit peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit seviyesi üzerine etkisi araştırılmış. Bu çalışmada insizyon sonrası birinci günde CAPE'nin kan MDA düzeyinde belirgin azalma yaptığı saptanmış (71). Bizim yaptığımız çalışmada da benzer şekilde artmış olarak tespit edilen kan MDA düzeylerinin CAPE tedavisi ile anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Burada CAPE'nin parasetamole bağlı gelişen oksidatif hasara karşı savunma oluşturarak lipit peroksidasyonunun önlenmesinde etkili olduğu ve hücre zarının bütünlüğünün sağlandığı gösterilmiştir. Bu durum CAPE'nin lipit peroksidasyonunu baskıladığını, peroksidasyon ürünlerini azalttığını, ve kuvvetli bir antioksidan rolü olduğunu doğrulamaktadır.

Kılçksız ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada, ratlarda radyasyona bağlı olarak oksidatif hasar oluşturulmuş ve biyomarkırlar üzerine NAC'ın etkileri araştırılmış. Yapılan bu çalışmada radyasyon oluşturulan gruptaki serum MDA değerleri kontrol grubuna göre artmış olarak tespit edilmiş, bu yükselen değerlerin NAC tedavisi verilen grupta ise azaldığı tespit edilmiş (72). Yürümez ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada farelerde organofosfat toksisitesi oluşturulmuş ve buna karşı NAC'ın faydalı etkileri incelenmiş. Bu çalışmada toksikasyon oluşturulan gruptaki serum MDA değerleri kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiş, bu yükselen değerlerin tedavi edici NAC verilen Grup IV'de azalmış olduğu tespit edilmiş (62). Bizim çalışmamızda artmış olan serum MDA değerleri, NAC tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmış olarak tespit edildi. Bu şekilde NAC'ın antioksidan etkilerle lipit peroksidasyonunu azalttığı gösterildi. Antioksidan özelliklere sahip olan NAC'ta, CAPE'ye benzer şekilde lipit peroksidasyonunun önlenmesinde etkili olarak bulunmuştur. Bu çalışmada tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ancak en fazla azalmanın CAPE+NAC ile tedavi edilen grupta olduğu saptandı. Bu sonucun özellikle NAC tedavisine destek olarak CAPE'nin

kullanılması konusunda yapılacak çalışmalara öncülük etmesi adına faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Cheng-chin ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 24 saat sonra alınan karaciğer dokularında ölçülen MDA değerinin zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiş, verilen S-allyl ve S-propyl ile bu değerlerin azaldığı saptanmıştır (69). Yapar ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 24 saat sonra alınan karaciğer doku örneklerinde MDA'nın zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiş ve L-Karnitin ile tedavi sonrasında değerlerin azaldığı saptanmış (7).

Bizim yaptığımız çalışmada parasetamol zehirlenmesi oluşturduğumuz ratlardan 24 saat sonra aldığımız karaciğer doku örneklerinde MDA'nın zehirlenme grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu tespit edildi. Parasetamol toksisitesinde oksidatif strese bağlı olarak artan lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın zehirlenme grubunda artış gösterdiği saptanmıştır.

Ashwag ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada zehirlenmeden 24 saat sonra alınan doku örneklerinde tamoxifene bağlı hepatotoksisite oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre doku MDA değerlerinin arttığı ve CAPE ile tedavi edilen grupta bu değerlerin azaldığı tespit edilmiş (73). Kart ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada doku MDA düzeyleri Sisplatin ile zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak belirlenmiş ve CAPE ile tedavi sonrasında bu değerlerin azaldığı tespit edilmiş (67). Yaptığımız bu çalışmada parasetamol ile zehirlenme grubunda artan bu doku MDA düzeylerinin CAPE ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Antioksidan özellikli CAPE'nin etkisiyle azalan lipit peroksidasyonunun bir sonucu olarak doku düzeyinde MDA değerlerinde azalmalar tespit edilmiştir.

Şener ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada deneklerden 24 saat sonra doku örnekleri alınmış ve MDA düzeyleri araştırılmış. Doku MDA düzeyleri parasetamol ile zehirlenen grupta, kontrol grubuna göre artış göstermiş ve tek başına NAC

tedavisi verilen grupta değerler azalma göstermiştir (6). Terneus ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan grupta MDA değerleri kontrol grubuna göre artış göstermiş ve bu değerler NAC ile tedavi sonrasında azalma göstermiştir (74).

Yaptığımız bu çalışmada NAC ile tedavi uygulanan grupta MDA düzeyi azalmış olarak tespit edildi. CAPE'ye benzer şekilde antioksidan zellikli NAC'a bağlı olarak lipit peroksidasyonundaki azalmanın bir sonucu olarak doku düzeyinde MDA değerlerinde azalmalar tespit edilmiştir. Tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi.

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

Manda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kan GSH değerleri parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış, verilen β -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir (64). Yapar ve arkadaşlarınca yapılan benzer bir çalışmada oluşturulan zehirlenme grubunda serum GSH değerleri azalmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile bu azalmış GSH değerlerinin arttığı tespit edilmiş (7). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da serum GSH değerinin zehirlenme grubunda azaldığı tespit edildi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Parasetamol zehirlenmesi ile ortaya çıkan NAPQI metaboliti oksidatif stresin bir mediatörü olarak bilinir ve

GSH'nın azalmasına, lipidlerin peroksidasyonuna, DNA'nın hasarına ve proteinlerin oksidasyonuna yol açar (57). Bu çalışmada GSH'nın, hasarı en alt düzeyde tutabilmek için ratlar tarafından fazla miktarda üretilmiş olabileceğini ve bu yüzden aşırı miktarda düşmemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Pari ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada, kan GSH değerleri etanol verilen grupta kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiş, CAPE ile tedavi verilen grupta bu düşük değerlerde artış saptanmış (70). Kyung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oluşturulan toksisite ile serum GSH değerleri zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak azalmış ve oluşturulan üç ayrı dozda CAPE tedavisi ile CAPE dozu artırıldıkça değerlerdeki artma belirgin hale gelmiştir (66).

Yukarıda belirtilen çalışmalarda GSH değerlerinde belirgin azalma saptanmış olup antioksidan tedavinin GSH düzeyini artırdığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda o çalışmalardan farklı olarak gerek CAPE ile gerekse NAC ile tedavi edilen gruplarda GSH düzeyinin artmamış olduğu tespit edildi.

Cheng-chin ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 24 saat sonra alınan karaciğer dokularında ölçülen GSH değerleri zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiş, verilen S-allyl ve S-propyl ile bu değerlerin arttığı saptanmıştır (69). Yapar ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 24 saat sonra alınan karaciğer doku örneklerinde GSH'nın zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiş ve L-Karnitin ile tedavi sonrasında değerlerin arttığı saptanmış (7). Bizim yaptığımız çalışmada parasetamol zehirlenmesi oluşturduğumuz ratlardan 24 saat sonra aldığımız karaciğer doku örneklerinde GSH'nın zehirlenme grubunda, sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu tespit edildi. Parasetamol toksisitesinin patofizyolojisinde karaciğer dokusunda bulunan GSH'nın azalması önemli bir faktör olarak gösterilmektedir. Parasetamol toksisitesini takiben doku GSH düzeylerinde ve GPx aktivitesinde azalmalar ortaya çıkar. Çalışmamızda kan düzeyinde GSH'da ciddi düşüş olmamasına rağmen patofizyolojide daha önemli olan doku GSH düzeylerindeki azalmanın daha önceden yapılan birçok araştırmada

belirtildiği gibi parasetamole bağı oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıktığını belirledik.

Ashwag ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Tamoksifen ile hepatotoksisite oluşturulan ratlarda CAPE'nin antitümöral etkinliği araştırılmış. Bu çalışmada zehirlenmeden 24 saat sonra alınan doku örneklerinde; hepatotoksisite oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre doku GSH değerlerinin azaldığı ve CAPE ile tedavi edilen grupta bu değerlerin arttığı tespit edilmiş (73). Kart ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada, tavşanlarda oluşturulan ovaryal iskemi reperfüzyon hasarında CAPE'nin antioksidan olarak önleyici etkisi araştırılmış. Bu çalışmada yapılan doku düzeyindeki araştırmada GSH değerlerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu tespit edilmiş, CAPE tedavisi verilen gruptaki değerlerin ise arttığı tespit edilmiş (75). Çalışmamızda parasetamol zehirlenme grubundaki (Grup IV) doku GSH değerlerindeki azalmanın CAPE ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan şekilde arttığı tespit edildi. Bu sonuçta CAPE'nin parasetamol zehirlenmesindeki antioksidan özelliğini desteklemektedir.

Şener ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada doku GSH düzeyleri parasetamol ile zehirlenen grupta, kontrol grubuna göre azalma göstermiş ve tek başına NAC tedavisi verilen grupta değerler artış göstermiştir (6). Terneus ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan farelerde NAC ve S-adenozil-l-metiyonin'in tedavi edici etkileri karşılaştırılmış. Bu çalışmada doku düzeyinde GSH değerleri parasetamol ile zehirlenme oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalma göstermiş ve bu değerler NAC ile tedavi sonrasında artış göstermiştir (74). Çalışmamızda CAPE'ye benzer şekilde antioksidan özellikteki NAC'ın GSH'nın oksidatif yolla tüketilmesine engel olarak doku düzeylerinde artışa yol açtığını belirledik. Bu artışın özellikle CAPE+NAC ile tedavi edilen grupta daha belirgin olduğu tespit edildi. Bu da bundan sonraki çalışmalara yol göstermesi açısından tıpkı MDA üzerine etkisinde olduğu gibi önemli bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

SOD süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksida dismutasyonunu katalizleyen bir enzim ailesidir. Bu nedenle oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Süperoksit hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve bu nedenle SOD anahtar bir antioksidan rol oynar. Katalaz ve SOD gibi antioksidan enzimler lipit peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri tarafından kolayca inaktive olurlar ve bu nedenle parasetamol toksisitesinde bu enzim aktivitelerinde azalmalar saptanır (76).

Hua ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada farelere parasetamol verilerek akut karaciğer hasarı oluşturulmuş ve giderek artan dozlarda antioksidan özellikli Picroside II verilerek bu maddenin mitokondriyal koruyucu etkileri incelenmiş. Farelerden elde edilen serumda yapılan ölçümlerde parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta SOD değerlerinde azalma izlenmiş, daha sonra giderek artan dozlarda Picroside II verilerek bu düşük SOD değerlerinde artan dozla doğru orantılı şekilde artış saptanmış (77). Xin ve arkadaşlarınca yapılan diğer bir çalışmada Cu, Zn-süperoksit dismutaz yetersizliği olan farelerde, parasetamol zehirlenmesine karşı olan dirençleri araştırılmış. Farelerden elde edilen kan örneklerinde yapılan çalışmada serum SOD değerlerinin parasetamol ile zehirlenen normal farelerde azaldığı belirlenmiş (78).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada Sham grubuna göre diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı yükselmeler saptandı. Yapılan çalışmaların aksine çalışmamızda zehirlenme oluşturulan grupta SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olan bu artış verilen antioksidan tedavilerle değişmemiştir.

Kyung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farelerde Karbon Tetraklorid ile oluşturulan toksisite ile serum SOD değerleri zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak azalmış ve oluşturulan üç ayrı dozda CAPE tedavisi ile CAPE dozu artırıldıkça değerlerdeki artma belirgin hale gelmiştir (66). Parlakpınar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada myokardial iskemi–reperfuzyona bağlı apoptotik hücre ölümü üzerine CAPE'nin koruyucu etkileri araştırılmış. Bu çalışmada ratların sol koroner arterlerine bant ligasyonu ve bunun serbestleştirilmesi yoluyla kardiyak

iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş. Bu hasara bağlı olarak gelişen apoptotik hücre ölümünde reaktif oksijen ürünlerinin etkili olduğu belirtilmiş. Oksidatif olarak oluşturulan bu hasar sonrası yapılan kan SOD ölçümlerinde iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan gruptaki değerlerin kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiş, daha sonra verilen CAPE tedavisi ile bu değerlerde artış saptanmış (79). Aydın ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada ratların plazmasında ve beyin dokusunda NAC'ın antioksidan sistem üzerinden, etanole bağlı etkileri azaltıp azaltmadığı araştırılmış. Yapılan bu çalışmada alkol verilerek hasar oluşturulan gruptaki serum SOD değerleri kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmıştır. Daha sonra verilen NAC tedavisi ile bu SOD değerlerinde belirgin artış saptanmıştır (80). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada zehirlenme grubunda SOD değerlerinde yukarıdaki çalışmaların aksine artış tespit edildi. Bu organizmanın antioksidan olarak SOD'ı ürettiğini ve SOD'ı tüketecek kadar ağır bir zehirlenme olmadığını düşündürmektedir.

Glutasyon Peroksidaz, peroksidaz aktivitesi gösteren bir enzim ailesinin genel adıdır. Bu enzim ailesinin ana biyolojik rolü organizmayı oksidatif hasardan korumaktır. GPx'in biyokimyasal fonksiyonu lipit hidroperoksidi ilgili alkollere indirmek ve serbest hidrojen peroksidi suya indirgemektir (85).

Cheng-chin ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 24 saat sonra alınan kan değerlerinde GPx'in zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre azaldığı ve verilen antioksidan tedaviyle değerlerin arttığı tespit edilmiştir (69). Manda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise kan GPx değerlerinde zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre azalma saptanmıştır, verilen β -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir (64). Gökalp ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada kırmızı küre hücrelerinde İzoniazid ile oluşturulan oksidatif hasara karşı CAPE nin iyileştirici etkisi araştırılmış. Bu çalışmada kan GPx düzeyleri izoniazid ile oluşturulan zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre azalmış şekilde tespit edilmiş ve verilen CAPE tedavisi ile bu azalan değerlerde artış saptanmış (81). Yagmurca ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada ratlarda Doksorubisin ile nefrotoksisite oluşturularak CAPE'nin koruyucu etkisi araştırılmış. Bu çalışmada ratlardan alınan

plazma GPx değerlerine bakıldığında Doksorubisin ile zehirlenen ratlardaki değerler kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiş, daha sonra verilen CAPE tedavisi ile azalmış olan bu değerlerin arttığı görülmüş (82). Bizim yaptığımız bu çalışmada zehirlenme grubundaki serum GPx değerleri tıpkı SOD'da olduğu gibi yapılmış olan yayınların aksine istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olarak belirlendi. Bu organizmanın antioksidan olarak tıpkı SOD gibi GPx'i de fazla miktarda ürettiğini ve GPx'i tüketecek kadar ağır bir zehirlenme olmadığını düşündürmektedir. Dolayısıyla her iki değerde normal değerin üstünde olduğu için verilen her iki antioksidan tedavi ile de bu değerlerde artış tespit edilmedi.

Katalaz oksijene maruz kalan neredeyse tüm yaşayan canlılarda bulunan, hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Antioksidan sistemin primer bir komponentidir. Parasetamol zehirlenmesinde lipit peroksidazlar ve reaktif oksijen radikallerine bağlı olarak kolayca inaktive olurlar ve serum enzim aktivitelerinde düşüklük tespit edilir (83).

Cheng-chin ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada plazma Katalaz düzeyleri parasetamol ile zehirlenen grupta kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiş, verilen antioksidan tedavi ile bu değerlerde artış tespit edilmiş (69). Aydın ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada etanol ile oksidatif hasar oluşturulan gruptaki plazma Katalaz düzeyleri azalmış olarak tespit edilmiş, verilen NAC tedavisi ile bu değerlerde artış saptanmış (80).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol ile zehirlenen gruptaki plazma düzeyinde Katalaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmış idi. CAPE tedavisi verilen grupta (Grup V) Katalaz aktivitesi tedavi grupları içinde en belirgin artışı gösterdi ancak bununda istatistiksel bir anlamı yoktu. Yapılan birçok çalışmada oluşturulan oksidatif hasara bağlı olarak serum Katalaz aktivitesinde azalma ve verilen antioksidan tedavi ile bu değerlerde artış saptanmıştır. Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmada ise saptanan serum Katalaz değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklar tespit edilemedi.

Beta Karoten birçok durumda güçlü antioksidan özellikler gösteren, güçlü bir oksijen giderici ajandır. Kanserler, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok kronik hastalık durumunda oksidatif stres ortaya çıkar. Bu hastalıkların gelişimini önlemede ve oksidatif stresi önlemede β -Karotenin antioksidan ve serbest radikal giderici özellikleri geniş ölçüde kullanılmaktadır (98).

Petra ve arkadaşlarınca Kistik Fibrozisli 24 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada uzun süreli oral β -Karoten desteğinin bu hastalarda antioksidan durum ve pulmoner fonksiyonlar üzerindeki etkinliğinin araştırılması hedeflendi. Çalışmanın başlangıcında kan β -Karoten değerlerinin Kistik fibrozisli hastalarda kontrol grubu hastalarına göre düşük olduğu saptanmış ve bunun nedeninin bu kronik hastalıkta ortaya çıkan fazla miktardaki serbest radikallere bağlı olduğu belirlenmiş. Çalışmada özellikle pulmoner enfeksiyonlara bağlı ortaya çıkan serbest radikallere karşı önemli bir koruyucu ajan olması nedeniyle β -Karotenin kistik fibrozisli hastalar için önemli olduğu sonucuna varılmış. Ayrıca hastalarda serbest oksijen radikallerinin yüksek oranına bağlı olarak peroksidasyonunun fazla olduğu ve β -Karotenin bu lipit peroksidasyonunu önlemede etkin olduğu saptanmış. Uzun süreli β -Karoten oral desteğinin plazma MDA düzeyinde belirgin bir azalmaya yol açtığı belirlenmiş. Oral β -Karoten desteğinin on ikinci haftasında plazma β -Karoten düzeyi ile plazmadaki total antioksidatif kapasite arasında pozitif bir korelasyon saptanmış. Ayrıca hastalardaki pulmoner fonksiyonların FEV₁ ölçümlerine dayanarak β -Karoten tedavisi ile daha iyi olduğu saptanmış (84).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol zehirlenmesi ile oksidatif hasar oluşturduğumuz grupta (Grup IV) serum Karoten değerleri Sham grubuna (Grup I) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi. Bunun Kistik Fibrozisli hastaların başlangıç kan ölçümlerindeki düşük β -Karoten değerlerine benzer şekilde parasetamole bağlı yüksek oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıktığını düşünmekteyiz. Antioksidan tedavi vermiş olduğumuz Grup V, VI ve VII'deki karoten değerleri zehirlenme grubuna göre istatistiksel anlamlı olmayan şekilde yüksek tespit edildi. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar yoktu ancak serum Karoten değerlerindeki en fazla artış CAPE tedavi grubunda (Grup V)

saptandı. Yüksek oksidatif stres altında beta karoten gibi bir antioksidana olan ihtiyaç fazladır, vermiş olduğumuz antioksidan tedavi ile bu ihtiyacın azaltılarak beta karoten plazma değerlerinde artışın meydana geldiğini düşünmekteyiz.

Farmakolojik dozlarda Vitamin A (Retinol) nın oksidatif stresi ve bununla bağlantılı olan lipit peroksidasyonunu azalttığı tespit edilmiş ve Vitamin A ile zenginleştirilmiş membranların in vivo olarak oksidatif strese karşı korunduğu ve in vitro olarak lipit peroksidasyona karşı dirençli olduğu rapor edilmiştir (85).

Narayanan ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada ratlara intratrakeal olarak Bleomisin verilmiş ve deneysel pulmoner fibrozis oluşturulmuş. Bleomisine bağlı olarak gelişen oksidatif hasar üzerine Epigallocatechin-3-gallate isimli antioksidan maddenin etkisi incelenmiş. Burada intratrakeal Bleomisin uygulanmasına bağlı olarak gelişen oksidatif hasar ile enzimatik antioksidanların (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) ve nonenzimatik antioksidanların (GSH, Vitamin C, Vitamin E ve Retinol) düzeylerinde belirgin azalmalar saptanmış. Ardından verilen Epigallocatechin-3-gallate isimli antioksidan maddenin bu enzimatik ve nonenzimatik antioksidan düzeylerinde artış yaptığı belirlenmiş (86). Ramakrishna ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada insüline bağlı diyabeti bulunan hastalarda oksidatif stresin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Oksidatif stres bazı diyabetik komplikasyonların gelişiminde ana faktör olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. On beşi diyabetik 20'si sağlıklı otuz beş hasta ile yapılan bu çalışmada plazma retinol düzeyleri ile beraber diğer oksidan antioksidan düzeyleri hastalarda çalışılmış. Oksidatif stres altındaki insüline bağlı diyabetik hastalarda, plazma retinol düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğu saptanmış (87).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada oksidatif hasar yoluyla zehirlenme oluşturduğumuz Grup IV'de Retinol düzeyleri Sham grubuna (Grup I) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olarak tespit edildi. Çalışmamızda parasetamolün ortaya çıkardığı yüksek lipit peroksidasyonu ve oksidatif strese bağlı olarak kan Retinol düzeylerinin azaldığı tespit edildi ancak antioksidan tedavi verdiğimiz ratlarda istatistiksel olarak anlamlı olamasa da retinol düzeylerinde

artışlar saptandı. Verdiğimiz antioksidan tedavi ile oksidatif stres düzenlenmiş ve plazma Retinol düzeylerinde artış saptanmıştır.

Vitamin C güçlü bir antioksidandır ve birçok organ hasarına neden olduğu bilinen serbest oksijen radikallerine karşı önemli bir koruyucu olduğu bulunmuştur. Vitamin C'nin in vivo ve in vitro olarak antioksidan, serbest radikal giderici rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca Vitamin C ile önceden yapılan tedavinin hayvanlarda parasetamole bağlı hepatotoksisiteye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (88,89).

Jyotika ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada kurşun ile oluşturulan hipertansiyon hayvan modelinde oksidatif DNA hasarı üzerine Vitamin C'nin etkileri araştırılmış. Bu çalışmada kurşun uygulanan grupta kan basıncı ve lipit peroksidasyonunda belirgin bir artış saptanmış ve DNA'da oksidatif hasar ortaya konmuş. Ayrıca NO metabolitlerinde ve total antioksidan düzeylerinde azalmalar belirlenmiş. Verilen antioksidan Vitamin C tedavisi ile hipertansiyonun düzeldiği, NO düzeylerinin normale geldiği ve lipit peroksidasyonun ortadan kalktığı saptanmış (90). Pari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada alkol ile oluşturulan oksidatif karaciğer hasarında, hasar oluşturulan gruptaki Vitamin C serum düzeyleri kontrol grubuna göre düşük tespit edilmiş ve verilen Caffeic Acid tedavisi ile bu düşük değerlerin artış gösterdiği saptanmış (70).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada oluşturulan gruplar arasında Vitamin C düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı. Bu çalışmada zehirlenme grubunda Vitamin C düzeylerindeki azalmanın yüksek oksidatif strese bağlı Vitamin C ihtiyacındaki artışa bağlı olarak ortaya çıktığını ve verilen antioksidan tedavi ile bu ihtiyacın dengelenerek Vitamin C düzeylerinde artış olduğunu saptadık. CAPE iyi bir antioksidan olarak etki edip endojen antioksidanların tüketimini sınırlamaktadır ve Vitamin C gibi nonenzimatik endojen antioksidanların düzeyini artırmaktadır.

Seruloplazmin karaciğere sentezlenen, yapısında altı bakır atomu içeren ve plazmada bakırın %90 nını taşıyan bir enzimdir. Ayrıca Seruloplazmin memelilerde

kan plazmasının ana antioksidanıdır ve organizmadaki özellikle hücre membranlarının yüzeyindeki serbest radikal işlemlerini düzenler. Seruloplazminin oksijen içeren radikallerin etkilerine engel olarak, lipit peroksidasyonunu olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (91).

Krishnananda ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada intruterin inseminasyon uygulanan kadınlarda Plazma protein tiol, Seruloplazmin, C-reaktif protein ve eritrosit asetilkolinesteraz düzeyleri araştırılmış. Bu çalışmada intarauterin inseminasyon uygulaması ile uterus içinde nötrofil artışının olduğu ve bununda oksidatif bir stres ortaya çıkardığı belirlenmiş. Çalışmaya alınan 42 kadında uygulama öncesi ve sonrası kan tiol, Seruloplazmin, C-reaktif protein ve eritrosit asetilkolinesteraz düzeyleri incelenmiş. Hastalarda uygulama öncesi kan seruloplazmin düzeyinin uygulama sonrasında azaldığı belirlenmiş. Bu azalmanın uygulama ile ortaya çıkan nötrofil infiltrasyonuna bağlı oksidatif stresin bir sonucu olduğu belirlenmiş (92). Srivatsan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diyabetik hastalarda antioksidanlar ve lipit peroksidasyonunun durumu araştırılmış. Bu çalışmada diabetes mellitus patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı belirlenmiş. Sağlıklı diyabetik olmayan, komplikasyonsuz diyabetikler ve komplikasyonlu diyabetikler olarak üç grup oluşturulmuş. Oksidatif stres altındaki komplikasyonsuz diyabetik grupta kan Seruloplazmin değerlerinin sağlıklı diyabetik olmayan kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiş, bunun nedeni olarak pro-oksidan durumdaki diyabetik hastalarda seruloplazminin düşük olmasının adaptif bir cevap olduğu belirlenmiş. Komplikasyonlu diyabetiklerde çıkan yüksek seruloplazmin değerleri ise serbest radikallere bağlı hasara karşı koruyucu mekanizma olarak değerlendirilmiş (93).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol zehirlenme grubunda (Grup IV), kan Seruloplazmin değerleri Sham grubuna (Grup I) göre belirgin yüksek tespit edildi. Bu sonuçlarla Srivatsan ve Krishnananda'nın yaptıkları çalışmalara zıt şekilde oksidatif hasarın kan seruloplazmin değerlerini artırdığını tespit ettik. Antioksidan tedavi verilen gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüşler tespit

edildi. Ancak bahsedilen bu iki çalışmaya benzer şekilde, CAPE kontrol grubunda (Grup II) ve NAC kontrol grubunda (Grup III) kan Seruloplazmin değerleri Sham grubuna (Grup I) göre belirgin yüksek tespit edildi.

Yapmış olduğumuz çalışmada, karaciğer dokularının ışık mikroskopisi incelemesine göre; kesitlerde sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon bulguları dikkate alınarak incelemeler yapıldı. Her bir histopatolojik bulgu şiddet ve yaygınlığına göre 0-4 arasında (sırası ile hasar yok 0, düşük hasar var 1, orta derecede hasar var 2, şiddetli hasar var 3, çok ağır hasar var 4) skorlandı. Fakurazi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlarda parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulmuş ve Moringa Oleifera isimli bir maddenin antioksidan ve hepatoprotektif etkileri araştırılmış. Yapılan bu çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede; sentrilobüler hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve masif nötrofil, lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir. Parasetamol zehirlenmesi öncesi Moringa Oleifera isimli antioksidanın verildiği grupta ise hepatoselüler değişikliklerde belirgin iyileşme gözlenmiştir. (94). Ko ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı Silene Aprica isimli antioksidan bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmış ve bu etki Karbon Tetraklorür ile oluşturulan toksisite ile karşılaştırılmış. Bu çalışmada alınan karaciğer kesitlerindeki histopatolojik incelemede parasetamol toksitesi oluşturulan grupta diffüz nekroz alanları, sinusoidal konjesyon ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir (95). Basu ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada ratlarda parasetamole bağlı hepatotoksisite oluşturulmuş ve Andrographis Echoides isimli antioksidan bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmış. Ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde histopatolojik incelemeler yapılmış. Burada ciddi hepatosit dejenerasyonu ve nekrozu, aşırı vasküler dejeneratif değişiklikler gözlenmiş (96).

Fakurazi, Ko ve Basu'nun yapmış oldukları çalışmalara benzer şekilde bizim yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinin incelemesinde belirgin sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-tromboz ve inflamatuvar infiltrasyon izlendi.

Ateş ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada soğuk strese maruz kalan ratların karaciğerlerinde CAPE'nin koruyucu etkisi araştırılmış. Bu çalışmada soğuk maruziyetinin oksidatif yolla hasar oluşturduğu belirtilmiş. Ratlardan alınan karaciğer dokusu kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede soğuk maruziyeti oluşturulan gruptaki ratlarda dejenere hepatositler, sinuzoidal dilatasyon, vasküler dilatasyon, kollagen depolanması ve konjesyonu ayrıca geniş kanama alanları saptanmış. Antioksidan CAPE tedavisi uygulanan grupta ise minimal vasküler konjesyon ve dilatasyon haricinde histolojik görünüm normal olarak saptanmış (97). Terneus ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada parasetamole bağlı hepatik toksisite oluşturulmuş ve S-Adenozil-L-methiyonin ve N-acetylcysteine'nin koruyucu etkileri araştırılmış. Yapılan bu çalışmada parasetamol ile toksisite grubundan alınan karaciğer örneklerinden yapılan histopatolojik incelemede sentrilobüler nekroz, sinuzoidal dilatasyon ve iltihabi hücre infiltrasyonu aşikar olarak gözlenmiş. Giderek artan dozda verilen NAC tedavisi ile hepatik hasarın giderek düzeldiği belirlenmiş (74).

Ateş ve Terneus un yaptıkları çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da oksidatif bir hasar oluşturuldu ve antioksidanların etkileri araştırıldı. Bizim antioksidan olarak tedavi verdiğimiz CAPE (Grup V) ve NAC (Grup VI) tedavi gruplarında karaciğer kesitlerinde deney kontrol grubunda (Grup IV) izlenen değişikliklerin belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. Ancak tedavi grupları olan Grup V, VI ve VII arasında istatistiksel olarak anlamlı bir histopatolojik fark saptanamadı.

Sonuç olarak; Parasetamol toksisitesi sonucu meydana gelen karaciğer hasarına karşı CAPE'nin tedavi edici etkisinin olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterildi. Ancak klasik tedavide kullanılan NAC'a karşı bir üstünlüğünün olmadığı, kombine tedavide de ciddi bir üstünlüğünün olmadığı belirlendi. Bununla beraber bu tedavi yönteminin kesin etkinliğini gösterebilmek için farklı dozlarda ve sürelerde CAPE tedavisinin uygulandığı başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda caffeic acid phenethyl ester'in tedavi edici etkisinin araştırıldığı bu çalışma şu sonuçları ortaya koymuştur:

1- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan AST ve ALT düzeyleri, belirgin olarak artmış ve verilen CAPE tedavisi ile değerlerin belirgin olarak azalmış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Tüm tedavi gruplarının (CAPE, NAC, CAPE+NAC) birbirlerine karşı bir üstünlüğü belirlenmedi ($p>0.05$).

2- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan GSH düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmış olarak tespit edildi ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerlerin azaldığı saptandı.

3- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, doku GSH düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.05$) ve CAPE tedavisi ile bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artmıştır ($p>0.05$). Tüm tedavi gruplarının (CAPE, NAC, CAPE+NAC) birbirlerine karşı bir üstünlüğü belirlenmedi ($p>0.05$).

4- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan MDA düzeyleri anlamlı şekilde artmış ve CAPE tedavisi ile azalmış olarak tespit edildi ($p<0.05$). Tüm tedavi gruplarının (CAPE, NAC, CAPE+NAC) birbirlerine karşı bir üstünlüğü belirlenmedi ($p>0.05$).

5- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, doku MDA düzeyleri anlamlı şekilde artmış ve verilen CAPE tedavisi ile azalmıştır ($p<0.05$). Tüm tedavi gruplarının (CAPE, NAC, CAPE+NAC) birbirlerine karşı bir üstünlüğü belirlenmedi ($p>0.05$).

6- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan SOD değerleri anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.05$) ancak verilen CAPE tedavisi ile bu değerler değişim göstermemiştir.

7- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan GPx değerleri anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.05$) ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış göstermiştir ($p>0.05$).

8- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan Katalaz değerleri azalmış ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler artış göstermiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değişim olmamıştır ($p>0.05$).

9- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan Karoten değerleri anlamlı şekilde azalmış ($p<0.05$) ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış göstermiştir ($p>0.05$).

10- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan Retinol değerleri anlamlı şekilde azalmış ($p<0.05$) ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış göstermiştir ($p>0.05$).

11- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan Vitamin C değerleri azalmış ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler artış göstermiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değişim olmamıştır ($p>0.05$).

12- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda, kan Seruloplazmin değerlerinde anlamlı şekilde artmış ($p<0.05$) ve verilen CAPE tedavisi ile bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmıştır ($p>0.05$).

13- Oral yolla parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta (Grup IV) 24 saatin sonunda alınan karaciğer doku kesitlerinde; sinuzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, vasküler konjesyon-trombozis ve inflamatuvar infiltrasyon anlamlı şekilde artmış olarak tespit edildi ve verilen CAPE tedavisi ile anlamlı şekilde azalma saptandı ($p<0.05$). Tüm tedavi gruplarının (CAPE, NAC, CAPE+NAC) birbirlerine karşı bir üstünlüğü belirlenmedi ($p>0.05$).

14- Yukarıdaki tüm veriler dikkate alındığında parasetamol toksisitesi sonucu meydana gelen karaciğer hasarına karşı CAPE'nin tedavi edici etkisinin olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gözlenmektedir. Ancak klasik tedavide kullanılan NAC'a karşı bir üstünlüğünün olmadığı, kombine tedavide de ciddi bir üstünlüğünün olmadığı belirlendi. Bununla beraber bu tedavi yönteminin kesin etkinliğini gösterebilmek için farklı dozlarda ve sürelerde CAPE tedavisinin uygulandığı başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. ÖZET

PARASETAMOL TOKSİSİTESİ İLE KARACİĞER HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER'İN TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ

Bu çalışmanın amacı parasetamol zehirlenmesine bağlı meydana gelen karaciğer hasarı üzerine Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)'nin tedavi edici etkisinin olup olmadığını belirlemek ve CAPE'nin rutin olarak kullanılan N-acetylcysteine (NAC) tedavisine olan etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Çalışmamızda toplam 54 adet Wistar Albino tipi rat; sham gurubunda 6, diğer altı gurupta 8'er adet olacak şekilde 7 gruba ayrıldı. Tüm gruplarda deney 24. saatte sonlandırıldı. Sham grubundaki ratlarda parasetamol toksikasyon oluşturulmadı ve herhangi bir tedavi verilmedi. Grup II'de sadece CAPE, 50 µmol/kg (50 µmol CAPE 2 ml %70 etil alkol içinde eritildi) dozunda hemen intramusküler olarak uygulandı. Grup III'de sadece NAC, ilki 140 mg/kg dozunda, sonrasında 4 saat arayla 70 mg/kg dozunda toplam 6 doz halinde intraperitoneal olarak uygulandı. Grup IV'te 1gr/kg dozunda parasetamol oral yolla verilerek zehirlenme oluşturulduktan yarım saat sonra CAPE miktarı kadar (2 ml/kg) %70 etil alkol ve NAC dozu kadar da serum fizyolojik uygulandı. Grup V'te toksikasyon oluşturulduktan yarım saat sonra CAPE ve NAC dozu kadar da serum fizyolojik verildi. Grup VI'da toksikasyon oluşturulduktan, yarım saat sonra NAC ve CAPE miktarı kadar (2 ml/kg) %70 etil alkol verildi. Grup VII'de toksikasyon oluşturulduktan yarım saat sonra CAPE ve NAC verildi. Tüm gruplardan 24 saat sonra alınan kan örneklerinde; Alanin Amino Transferaz (ALT), Aspartat Amino Transferaz (AST), Redükte Glutasyon (GSH), Malondialdehid (MDA), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GP_x),

Katalaz, Karoten, Vitamin C, Retinol ve Seruloplazmin düzeyleri ölçüldü. Ayrıca alınan doku örneklerinde GSH ve MDA düzeyleri ölçüldü ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

İlk üç grup kendi arasında, son dört grup ise kendi arasında karşılaştırıldı. CAPE ve NAC ile tedavi edilen grupta; zehirlenme grubunda, artan karaciğer fonksiyon testlerinin (AST, ALT) ve MDA değerlerinin anlamlı şekilde azaldığı ($p<0.05$), azalan GSH değerlerinin ise daha da azaldığı tespit edildi. Doku düzeyinde yapılan değerlendirmelerde de CAPE ve NAC ile tedavi edilen grupta; anlamlı olarak azalan GSH düzeylerinde artış ve artan MDA düzeylerinde azalma saptandı ($p<0.05$). Zehirlenme grubunda, SOD ve GPx değerlerinin artmış olduğu saptandı ($p<0.05$) ve SOD değerlerinin CAPE ve NAC tedavisiyle değişmediği, GPx değerlerinin ise daha da artmış olduğu tespit edildi ($p>0.05$). CAPE ve NAC ile tedavi edilen grupta, zehirlenme grubunda azalmış olan Katalaz, Karoten, Retinol, Vitamin C değerlerinin anlamlı olmayan bir şekilde artmış olduğu saptandı ($p>0.05$). Kan Seruloplazmin değerleri zehirlenme grubunda anlamlı şekilde artmış olarak saptandı ($p<0.05$), verilen CAPE ve NAC tedavisiyle anlamlı olmasa da değerlerde düşüşler belirlendi ($p>0.05$). Yapılan histopatolojik incelemede CAPE ve NAC tedavi gruplarında, zehirlenme grubunda ortaya çıkan patolojik değişikliklerinin belirgin olarak azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Tüm tedavi grupları (CAPE, NAC, CAPE+NAC) arasında biyokimyasal parametreler ve histopatolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Sonuç olarak; Parasetamol toksisitesi sonucu meydana gelen karaciğer hasarına karşı CAPE'nin tedavi edici etkisinin olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterildi. Ancak klasik tedavide kullanılan NAC'a karşı bir üstünlüğünün olmadığı, kombine tedavide de ciddi bir üstünlüğünün olmadığı belirlendi. Bununla beraber bu tedavi yönteminin kesin etkinliğini gösterebilmek için farklı dozlarda ve sürelerde CAPE tedavisinin uygulandığı başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan, Caffeic Acid Phenethyl Ester, Karaciğer Hasarı, N-acetylcysteine, Parasetamol Toksisitesi

8. SUMMARY

THE THERAPEUTIC EFFECT OF CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON LIVER INJURY THAT INDUCED BY PARACETAMOL TOXICITY IN RATS

The aim of this study is to determine whether therapeutic effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on liver injury that induced by paracetamol toxicity and to investigate the CAPE's effect on the classically used N-acetylcysteine (NAC) therapy by biochemical and histopathological examination.

In our study fiftyfour Wistar Albino rats were divided into seven groups; there were six rats in Sham group and eight rats in each of other groups. The study was terminated at twenty fourth hour in all groups. Sham group was not toxicated by paracetamol and anything was not given. In group II only 50 $\mu\text{mol/kg}$ CAPE (50 $\mu\text{mol/kg}$ CAPE was dissolved in 2 mL of 70% ethyl alcohol) was immediately injected intramuscularly. In group III only NAC therapy was applied intraperitoneally; first dose was 140 mg/kg and other 70 mg/kg six doses were applied at four hours intervals. In group IV paracetamol toxication was induced by given 1 gr/kg paracetamol orally and thirty minutes after toxication, at the same dose with CAPE, (2 ml/kg) %70 ethyl alcohol and at the same dose with NAC, saline was applied. In group V thirty minutes after induced paracetamol toxication, CAPE and at the same dose with NAC, saline was given. In group VI thirty minutes after paracetamol toxication, NAC and at the same dose with CAPE, (2 ml/kg) %70 ethyl alcohol was given. In group VII thirty minutes after paracetamol toxication, NAC and CAPE was given. In all groups after twenty four hours from the beginning of the study, blood samples were collected for assessment of Alanine Transaminase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Rreduced Glutathione (GSH), Malondialdehyde

(MDA), Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx), Catalase, Carotene, Vitamin C, Retinol and Ceruloplasmin values. Additionally hepatic tissue samples were taken for assessment of GSH, MDA values and histopathological examination.

The first three groups were compared and the last four groups were compared between themselves separately. In CAPE and NAC therapy groups increased liver function tests (AST, ALT) and MDA values that in toxicity group has been found significantly decreased ($p < 0.05$) and GSH values that decreased in toxicity group found more decreased. Analyzing the tissue levels, GSH values that decreased in toxicity group has been found increased and MDA values that increased in toxicity group has been found decreased in CAPE and NAC therapy group. SOD and GPx values has been found increased in toxicity group ($p < 0.05$) but in therapy groups SOD values has not been changed, GPx values were found more increased. Catalase, Carotene, Vitamin C, Retinol values has been found decreased in toxicity group, this decreased values were found increased in CAPE and NAC therapy group without being statistically significant ($p > 0.05$). Blood Ceruloplasmin levels were found significantly increased in toxicity group and this values were found decreased with CAPE and NAC therapy without being statistically significant ($p > 0.05$). Among all therapy groups (CAPE, NAC, CAPE+NAC) statistically significant difference was not found on biochemical parameters ($p > 0.05$). In histopathologic examination, pathologic changes seen in toxicity group has been decreased significantly in CAPE and NAC therapy groups ($p < 0.05$). But among all therapy groups (CAPE, NAC, CAPE+NAC) there was no statistically significant histopathologic difference determined ($p > 0.05$).

Consequently; it has been shown that CAPE has a treatable effect on liver injury that induced by paracetamol toxicity histopathologically and biochemically. But superiority of CAPE therapy was not determined significant to classically used N-acetylcysteine (NAC) therapy and combined therapy. However its thought, there is need for more study using different doses and duration of CAPE therapy to determinate the definitive efficiency of therapy.

Key Words: Antioxidants, Caffeic Acid Phenethyl Ester, Liver Injury, N-acetylcysteine, Paracetamol Toxicity.

9. KAYNAKLAR

1. Bernal W, Julia W, Mohamed R, Use and Outcome of Liver Transplantation in Acetaminophen-Induced Acute Liver Failure. *Hepatology*. 1998; 27: 1050-1055.
2. Geeta G. G, Chirag R, Parikh F, Acetaminophen toxicity: suicidal vs accidental. *Critical Care* 2002; 20: 155-159, <http://ccforum.com/content>.
3. Insel P. A, Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Agents: Drugs Employed In The Treatment Of Rheumatoid Arthritis and Gout (8. ed) In: Goodman-Gilman A. Rall T. W. Nies A. S. Taylor P. eds. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* 1990; 26: 656-659.
4. Paracetamol From Wikipedia, the free encyclopedia 2009
<http://en.wikipedia.org/>.
5. Hendrickson R. G, Acetaminophen (8. ed.) In: Flomenbaum, N. E. Goldfrank, L. R. Hoffman, R. S. eds. *Toxicological Emergency* 2006 Chapter 34 pp. 656-659 McGraw-Hill.
6. Goksel S, Ahmet O, Sehirli G, Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study. *Journal Pineal Research*. 2003; 35: 61-68.
7. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2007; 59 :121-128.
8. Oliver L. Acetaminophen (6. ed) In: Judith E. Tintinalli, Gabor D. Kelen, J. Stapczynski S. eds *Emergency Medicine : a comprehensive study guide*. 2004; Chapter 171 pp. 1088-1094 McGraw-Hill.
9. Kondala R. A, John J. M, Leonard A. H, N-Acetylcysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*. 2007; 7: 355-359.

10. Kanter M. Z, Comparison of oral and İ.V. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. American Society of Health-System Pharmacists. 2006; 63: 1821-1826.
11. Iraz M, Ozerol E, Gulec M, Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. Cell biochemistry and function. 2006; 24: 357-361.
12. Fidan H, Sahin O, Yavuz Y, Caffeic acid phenethyl ester reduces mortality and sepsis-induced lung injury in rats. Crit Care Med. 2007; 35: 2822-2829.
13. Sud'ina G.F, Mirzoeva O.K, Pushkareva M.A, Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. Federation of European Biochemical Societies. 1993; 329: 21-24.
14. Susan E. F, Emergency Medicine, Toxicity Acetaminophen, emedicine medical reference. 2009 <http://www.emedicine.com//>.
15. Alfio B, Anna F, Alessandra O, Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. CNS Drug Reviews. 2006; 12: 250–275.
16. Kayaalp S. O, Melli M, Non-Steroidal Antiinflatuar ilaçlar. Kayaalp S. O. ed. Tıbbi Farmakoloji 2000 9. baskı 2. cilt S: 1039-1042.
17. Mazer M, Perrone J, Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. Journal Of Medical Toxicology. 2008; 4: 2-5.
18. Germaine L D, Tucker J. R, Toxicity Acetaminophen 2008 <http://emedicine.medscape.com/article/>.
19. Saccomano S, DeLuca D. A, Too Toxic. Men in Nursing 2007; pp. 42-48 [/www.mennursingjournal.com](http://www.mennursingjournal.com).
20. Smith D. H, Acetaminophen Toxicity Nursing 2007; pp 59-63 www.nursing2007.com.
21. Chun L. J, Tong M. J, Busuttill R. W, Acetaminophen Hepatotoxicity and Acute Liver Failure. J Clin Gastroenterol. 2009; 43: 342–349.
22. Lowell G. Acetaminophen toxicity and treatment 2005 <http://pediatrics.uchicago.edu/>.
23. From Wikipedia, the free encyclopedia Caffeic acid 2009 <http://en.wikipedia.org/>.

24. Bankova V. S, De Castro S. L, Marcuccic M. C, Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000; 31: 3–15.
25. Chen Y. J, Shiao M. S, Wang S. Y, The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. *Anti-Cancer Drugs* 2001; 12: 143-149.
26. Banskota A. H, Tezuka Y, Kadota S, Recent progress in pharmacological research of propolis *Phytotherapy Research*. 2001; 15: 561–571.
27. Tosi B, Donini A, Romagnoli C, Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy Research*. 1996; 10: 335–336.
28. Rossi A, Longo R, Russo A, The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia*. 2002; 73: 30-37.
29. Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the watersoluble derivate. 1992; 10: 817-823.
30. Kimoto T, Arai S, Kohguchi M, Apoptosis and suppression of tumor growth by artemillin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Preview*. 1998; 22: 506-515.
31. Gonzalez R, Corcho I, Ramirez D. Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Phytotherapy Research*. 1995; 9: 14–17.
32. Ilhan A, Koltuksuz U, Ozen S, The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 1999; 16: 458-463.
33. Takaisi-Kikuni NB, Schilcher H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medical*. 1994; 60: 222-227.
34. Lee YJ, Liao PH, Chen WK, Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. *Cancer Letters*. 2000; 153: 51-56.

35. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 200; 273: 1-6.
36. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Research*. 1995; 15: 3576-3583.
37. Black R. J. Vulval eczema associated with propolis sensitization from topical therapies treated successfully with pimecrolimus cream *Clinical and Experimental Dermatology*. 2004; 30: 87-97.
38. Larson A. M., Polson J., Fontana R. J. et. al. () Acetaminophen-Induced Acute Liver Failure. *Hepatology*. 2005; 54: 78-96.
<http://www.interscience.wiley.com>.
39. Adam K. R, Norvell J, Eldridge D. L, Updates on Acetaminophen Toxicity *Med Clin N Am* 2005; 89: 1145-1159.
40. Johnson J. M. Over-the-Counter Overdoses A Review of Ibuprofen, Acetaminophen, and Aspirin Toxicity in Adults. *Advanced Emergency Nursing Journal*. 2008; 30: 369-378.
41. Marzullo L. An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Current Opinion in Pediatrics*. 2005; 17: 239-245.
42. Wilkes J. M, Clark L. E, Herrera J. L, Acetaminophen Overdose in Pregnancy, 2005 Southern Medical association. 2005; 98: 1118-1121.
43. Barton S. Acetylcysteine For Acetaminophen Overdose. Utah Poison Control Center, Utox Update 2005; 7: 1 <http://uuhsc.utah.edu/poison/>.
44. From Wikipedia, the free encyclopedia Paracetamol toxicity http://en.wikipedia.org/wiki/Paracetamol_poisoning.
45. Kozler E, Koren G, Management Of Paracetamol Overdose Current Controversies Review Article *Drug Safety*. 2001; 24: 503-512.
46. Acetylcysteine for Acetaminophen Overdose <http://uuhsc.utah.edu/poison/> 2005; 7: 1-5.
47. Özdemir S, Akin P, Fulminan Karaciğer Yetersizliği: Etiyolojik, Klinik ve Prognostik Özellikleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2003; 34: 58-66.

48. Tan H. H, Chang C. Y, Martin P, Acetaminophen Hepatotoxicity: Current Management. *Mount Sinai Journal Of Medicine* 2009; 76: 75–83.
49. Robert L, Carither J, Liver Transplantation. *Liver Transplantation*. 2000; 6: 122-135.
50. Gotthardt D, Riediger C, Karl Heinz W, Fulminant hepatic failure: etiology and indications for liver transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 5-8.
51. Buetler E, Dubon O, Kelly B.M, Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal Laboratory Clinical Medical*. 1963; 61: 882-888.
52. Jain S.K, McVie R, Duett J, Erythrocytemembrane lipid peroxidase and glycolylated hemoglobin in Diabetes. *Diabetes*. 1989; 38: 1539-1543.
53. Lee K.J, Panzera A, Rogawski D, Greene L.E, Cellular prion protein protects neuronal cells from the effects of huntingtin aggregation. *Journal Cell Science*. 2007; 120: 2663-2671.
54. Macintyre G, Klaus S, Gutfreund W. R, Value Of An Enzymatic Assay For The Determination Of Serum Ceruloplasmin. *Journal Laboratory Clinical Medical*. 2004; 144: 294-301.
55. Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Archives of Medical Research*. 2007; 38: 380-385.
56. Arundel C, Lewis J. H, Drug-induced liver disease in 2006. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2007; 23: 244–254.
57. Jaeschke H, Knight T. R, Bajt M. L, The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology Letters*. 2003; 144: 279-288.
58. Kamanakaa Y, Kawabatab A, Matsuya H, Effect of a potent iNOS inhibitor (ONO-1714) on acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. *Life Sciences*. 2003; 74: 793–802.
59. Manautou J. E, Emeigh Hart S. G, Khairallah E. A, Protection against Acetaminophen Hepatotoxicity by a Single Dose of Clofibrate: Effects on Selective Protein Arylation and Glutathione Depletion. *Fundamental And Applied Toxicology*. 1995; 29: 229-237.

60. Ghosh A, Sil P. C, Anti-oxidative Effect of a Protein from *Cajanus indicus* L against Acetaminophen-induced Hepato-nephro Toxicity. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2007; 40: 1039-1049.
61. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*. 2000; 5: 467-471.
62. Yurumez Y, Yavuz Y, Birdane Y. O, Buyukokuroglu M. E, Beneficial Effect of N-Acetylcysteine against Organophosphate Toxicity in Mice. *Biol. Pharm. Bull*. 2007; 30: 490-494.
63. Giboney P. T, Mildly Elevated Liver Transaminase Levels in the Asymptomatic Patient. *American Family Physician*. 2005; 71: 1105-1110.
64. Manda K, Bhatia A. L, Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*. 2003; 23: 1097-1103.
65. Ahmed M. B, Khater M. R, Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001; 75: 169-174.
66. Lee K. J, Choia J. H, Khanal T, Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology*. 2008; 248: 18-24.
67. Kart A, Cigremis Y, Karaman M, Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2009; 8: 1-8.
68. Nielsen F, Mikkelsen B. B, Nielsen J. B, Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 1997; 43: 1209-1214.
69. Hsu C. C, Lin C. C, Liao T. S, Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2006; 44: 393-397.
70. Pari L, KarthiKesan K, Protective role of caffeic acid against alcohol-induced biochemical changes in rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2007; 21: 355-361.
71. Serarslan G, Altu M.E, Kontafl T. Kafeik Asid Fenetil Ester'in insizyonel Yara Modelinde Plazma Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Durum ve Nitrik Oksit Seviyesi Üzerine Etkisi. *Türkderm*. 2007; 41: 11-14.

72. Kilciksiz S, Demirel C, Erdal N, Gürgül S The effects of N- Acetylcysteine on biomarkers for Radiation-induced oxidative damage in a rat model. *Acta Medica Okayama*. 2008; 62: 403-409.
73. Ashwag A. A, Hana M. G, Hesham A, Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47: 1689–1695.
74. Terneus M. V, Brown J. M, Carpenter A. B, Comparison of S-adenosyl-l-methionine (SAME) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. *Toxicology*. 2008; 244: 25–34.
75. Kart A, Cigremis Y, Ozen H, Dogan O, Caffeic acid phenethyl ester prevents ovary ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47: 1980–1984.
76. Chularojmontri L, Wattanapitayakul S, Herunsalee K, Antioxidative And Cardioprotective Effects Of Phyllanthus Urinaria L. On Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Biol. Pharm. Bull*. 2005; 28: 1165-1171.
77. Hua G, Ya-Wei Z, Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picoside II. *World J Gastroenterol*. 2005; 11: 3671-3674.
78. Xin G. L, Jian-Hong Z, James P. Mice deficient in Cu, Zn-superoxide dismutase are resistant to acetaminophen toxicity. *Biochemistry Journal*. 2006; 399: 455–461.
79. Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia–reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology*. 2005; 209: 1–14.
80. Aydın S, Özaras R, Uzun H, Belce A N-Acetylcysteine reduced the effects of ethanol on antioxidant system in rat plasma and brain tissue. *Tohoku Journal Experimental Medicine*. 2002; 198: 71-77.
81. Gokalp O, Uz E, Cicek , Ameliorating role of Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against isoniazid-induced oxidative damage in red blood cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2006; 290: 55-59.

82. Yagmurca M, Erdogan H, Iraz M, Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clinica Chimica Acta*. 2004; 348: 27-34.
83. Mark R. S, O'brien P. J, Fully-Automated Spectrophotometric Method for Measurement of Antioxidant Activity of Catalase. *Clinical Biochemistry*. 2000; 33: 525–534.
84. Petra R, Irmgard E, Sabine R, Long-Term Oral β -Carotene Supplementation in Patients with Cystic Fibrosis–Effects on Antioxidative Status and Pulmonary Function. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2000; 44: 30-37.
85. Lima E. S, Roland I. A, Maroja M. F, Vitamin A And Lipid Peroxidation In Patients With Different Forms Of Leprosy. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. 2007; 49: 211-214.
86. Narayanan S, Srinivasan K, Ganapasam S, Enhancement of Antioxidant Defense System by Epigallocatechin-3-gallate during Bleomycin Induced Experimental Pulmonary Fibrosis. *Biol. Pharm. Bull*. 2008; 31: 1306-1311.
87. Ramakrishna V, Jailkhani R, Evaluation of oxidative stress in Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) patients. *Diagnostic Pathology*. 2007; 2: 2-6.
88. Pohle T, Brzozowskià T, Becker J. C, Role of reactive oxygen metabolites in aspirin-induced gastric damage in humans: gastroprotection by vitamin C. *Aliment Pharmacological Theraphy*. 2001; 15: 677-687.
89. Abraham P, Mega Dose Of Vitamin C Augments The Nephrotoxicity Of Paracetamol. *Nephrology*. 2005; 10: 623–625.
90. Jyotika A, Veena D, Safrun M, Effect of Vitamin C Supplementation on Oxidative DNA Damage in an Experimental Model of Lead-Induced Hypertension. *Annals Nutrition and Metabolism*. 2003; 47: 294-301.
91. Berdinskih N. K, Gogal S. V, Gunina L. M, Membrane protective action of ceruloplasmine upon the use of doxorubicin *In Vivo*. *Experimental Oncology*. 2002; 4: 284-287.
92. Krishnananda P, Pratap K, Satish K. A, Plasma protein thiols, ceruloplasmin, C-reactive protein and red blood cell acetylcholinesterase in patients

- undergoing intrauterine insemination. *Journal Human Reproduction Science*. 2009; 2: 27-29.
- 93.** Rama S, Sujata D, Ranjita G, Kumar K. M, Antioxidants and Lipid Peroxidation Status in Diabetic Patients with and without Complications *Arch Iranian Medical*. 2009; 12: 121-127.
- 94.** Fakurazi S, Nanthini U, Hairuszah I, Hepatoprotective and antioxidant action of *Moringa Oleifera* Lam. againsts acetaminophen induced Hepatotoxicity in rats. *International Journal of Pharmacology*. 2008; 4: 270-275.
- 95.** Ko Y.J, Hsieh W.T, Wu Y.W, Ameliorative Effect of *Silene aprica* on Liver Injuries Induced by Carbon Tetrachloride and Acetaminophen. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2002; 30: 235–243.
- 96.** Basu S. K, Rupeshkumar M, Kavitha K, Hepatoprotective and antioxidant effect of *Andrographis echiodides* N. Againsts acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Biological Sciences*. 2009; 9: 351-356.
- 97.** Ates B, Dogru M. I, Gul M, Erdogan A, Protective role of caffeic acid phenethyl ester in the liver of rats exposed to cold stres. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2006; 20: 283–289.
- 98.** Zhang P, Omaye S. T, Beta-Carotene: interactions with a-tocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2001; 12: 38–45.