

T.C
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

PARASETAMOL İNDÜKLÜ NEFROTOKSİSİTE MODELİNDE OKSİDATİF
STRES VE ESER ELEMENT ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER' İN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Safa ŞAHİN

Haziran 2019

UŞAK

T.C
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

PARASETAMOL İNDÜKLÜ NEFROTOKSİSİTE MODELİNDE OKSİDATİF
STRES VE ESER ELEMENT ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER' İN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Safa ŞAHİN

UŞAK 2019

UŞAK

Kabul ve Onay

Safa Şahin tarafından hazırlanan Parasetamol İndüklü Nefrotoksisite Modelinde Oksidatif Stres Ve Eser Element Üzerine Kafeik Asit Fenetil Esterin Koruyucu Etkisi adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN
Tez Danışmanı, Moleküler Biyoloji ve Genetik

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT
(Veteriner Fakültesi ve Temel Bilimleri, Afyon Kocatepe Üniversitesi)

Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN
(Moleküler Biyoloji ve Genetik, Uşak Üniversitesi)

Doç. Dr. Alper KARAGÖZ
(Moleküler Biyoloji ve Genetik, Uşak Üniversitesi)

Tarih: 28/06/2019

Bu tez ile Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Doç. Dr. Murat Kemal KARACAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tez Bildirimi

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(İmza)

Safa ŞAHİN

**PARASETAMOL İNDÜKLÜ NEFROTOKSİSİTE MODELİNDE OKSİDATİF
STRES VE ESER ELEMENT ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENİL ESTER' İN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Safa ŞAHİN

UŞAK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs, 2019

ÖZET

Ağrı kesici ve ateş düşürücü etkisi olan parasetamol, güvenilir, ucuz ve ulaşılabilirliği kolay olması bakımından dünyada en çok kullanılan ilaçlardan biridir. Parasetamolün yüksek doz kullanımı nefrotoksisiteye neden olur.

Propolis maddesinin aktif bileşenlerinden biri olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE), arıların bitkilerden topladığı özütün içinde bulunur.

Bu çalışmada ratlarda parasetamol ile indüklenmiş nefrotoksisite modelinde kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) koruyucu etkisi araştırıldı. Çalışmada 36 adet deney hayvanı rastgele seçilerek 6 gruba ayrıldı. Bunlar; Kontrol, parasetamol, parasetamol + CAPE, parasetamol + NAC, CAPE ve Etanol grubu. Kontrol grubu yalnızca standart yem ile beslendi. Parasetamol grubuna distile suda çözölen, 2g/kg oranında 2ml gavaj yolu ile parasetamol uygulaması yapıldı. Parasetamol + CAPE grubuna 2g/kg oral parasetamol uygulaması sonrasında, 10mikrogram/kg CAPE uygulaması yapılırken, Parasetamol +

NAC grubuna 140 mg/kg N-AsetilSistein oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda, 2 ml parasetamol uygulaması yapıldı. CAPE grubuna tek başına 10 mikrogram/kg CAPE etanol ile çözdürülüp intraperitoneal uygulandı.

Parasetamol grubunun BUN ve Kreatinin değerleri; kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur. Ayrıca parasetamol grubunda, SOD, CAT ve GSH düzeyleri ile birlikte TAS (total antioksidan seviyesi) ve analizini yaptığımız eser element değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenirken, TOS (total oksidan seviyesi) değerinde anlamlı bir artış gözlemlendi. Parasetamol MDA ve 8-OHdG değerlerinde de anlamlı bir ($p<0,05$) artış gözlemlendi. Ayrıca böbrek dokusunda yapılan histopatolojik incelemede parasetamol grubunda vakuoler dejeneratif değişiklikler görüldü.

Çalışmanın sonucunda, CAPE'nin oksidatif hasara ve parasetamol kaynaklı böbrek hasarına karşı koruyucu bir rol oynadığı ortaya konulmuştur.

Bilim Kodu:

Anahtar Kelimeler: Parasetamol, Nefrotoksisite, CAPE, Rat

Sayfa Adedi: 72

Tez Yöneticisi: Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN

**THE EFFECT OF CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON OXIDATIVE
STRESS AND TRACE ELEMENT IN PARACETAMOL-INDUCED
NEPHROTOXICITY MODEL**

(M.Sc. Thesis)

UŞAK UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

ABSTRACT

Paracetamol is a pain reliever and antipyretic effect; is one of the most used drugs in the world in terms of being reliable, cheap and easy to reach. High doses of paracetamol cause nephrotoxicity.

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), which is one of the active components of propolis, is found in the essence of plants collected by bees.

In this study, the protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in paracetamol-induced nephrotoxicity model in rats was investigated. In this study, 36 experimental animals were randomly selected and divided into 6 groups. These; Control, paracetamol, paracetamol + CAPE, paracetamol + NAC, CAPE and Ethanol group. The control group was fed with standard feed only. The paracetamol group was treated with 2 ml gavage at a rate of 2g / kg dissolved in distilled water. After paracetamol + CAPE group 2g / kg oral paracetamol administration, 10 microgram / kg CAPE was applied, and Paracetamol + NAC group received 140 mg / kg N-AcetylCysteine orally. After 1 hour, 2 ml paracetamol was administered at a dose of 2 g / kg. 10 micrograms / kg of CAPE alone was dissolved and intraperitoneal applied to the CAPE group.

BUN and Creatinine levels of paracetamol group were significantly higher ($P<0,05$) than control, Paracetamol + CAPE, Paracetamol + NAC, CAPE, Ethanol groups. In addition, there was a significant decrease in antioxidant SOD, CAT and GSH levels as well as TAS (total antioxidant level) and trace element values that we analyzed, and a significant increase in TOS (total oxidant level) was observed in the paracetamol group. A significant increase ($p<0,05$) was also observed in paracetamol MDA and 8-OHdG.

As a result of the study, it was reported that CAPE prevented kidney damage by preventing oxidative damage, accelerated treatment period and had protective effect on kidney.

Science Code:

Keywords: Paracetamol, Nephrotoxicity, CAPE, Rat

Number of Page: 72

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN



TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca hem mesleki hemde insani yönden bizlere örnek teşkil eden, her konuda bize yol gösteren, hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen değerli hocamız Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN'a en derin saygı ve sevgilirimi sunarım.

Katkılarından ötürü Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e ve çalışmamda bana yardımcı olan yüksek lisans arkadaşlarım Hande AYTUĞ, Binnaz CANTÜRK, Ecem ÖZKAN, Nuket KAMIŞ, Ali Osman ALBAYRAK, İzzet İSLAM, Can ÖZYARIM'a teşekkür ederim.

Bu çalışma 2017/TP035 BAP projesinden türetilmiştir. Katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Destek ve yardımları için Afra Melisa Kahraman'a, hayatım boyunca tüm benlikleriyle her zaman arkamda duran aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	i
Tez Bildirimi.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÇİZELGE VE TABLOLAR.....	xi
ŞEKİLLER VE GRAFİKLER.....	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Böbrek	3
2.1.1. Böbreğin Temel Fonksiyonları	3
2.1.2. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede kullanılan yöntemler	3
2.1.3. Nefrotoksisite	4
2.2. Parasetamol	4
2.2.1. Parasetamolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
2.2.2. Parasetamolun Metabolizması.....	6
2.2.3. Parasetamol Toksisitesi	8
2.2.4. Parasetamol İndüklü Böbrek Toksisitesi.....	8
2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi	9
2.3. Oksidatif Stres	10
2.3.1. Serbest Radikaller.....	10
2.3.2. Antioksidan Sistemler.....	12
2.4. Bazı Eser Elementlerin Organizmadaki Fonksiyonları	15
2.4.1. Magnezyum.....	15
2.4.2. Bakır (Cu).....	16

2.5.	Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE	20
3.	MATERYAL VE METOT	22
3.1.	Materyal	22
3.1.1.	Kullanılan Kimyasallar.....	22
3.1.2.	Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	22
3.1.3.	Deney Hayvanları	23
3.2.	Metot.....	23
3.2.1.	Deney Gruplarının Oluşturulması.....	23
3.2.2.	Serumda Yapılan Analizler.....	25
3.2.3.	Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler.....	25
3.2.4.	İstatistiksel Analizler.....	30
4.	BULGULAR	31
4.1.	BUN Sonuçları.....	31
4.2.	Kreatinin Sonuçları	32
4.3.	SOD Sonuçları	32
4.4.	CAT Sonuçları.....	33
4.5.	GSH Sonuçları	34
4.6.	TAS Sonuçları.....	35
4.7.	TOS Sonuçları.....	35
4.8.	MDA Sonuçları.....	36
4.9.	8-OHdG Sonuçları.....	37
4.10.	Eser Element Sonuçları (Mg, Cu, Zn, Se, Mn)	37
4.11.	Histopatolojik Sonuçlar	38
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	40
	KAYNAKÇA	46
	ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

APAP: Parasetamol

BUN: kan üre azotu

CAPE: Kafeik Asit Fenil Ester

CAT: Katalaz

Cu: bakır

CYP: sitokrom p450

GSH: glutatyon

H₂O: Su

H₂O₂: Hidrojen peroksit

MDA: malondialdehit

Mg: magnezyum

Mn: manganez

NAPQI: N-asetil-p-benzokuinomin

NAC: N-asetilsistein

O₂: Oksijen

Se: selenyum

SOD: Süperoksitdismutaz

TAS: total antioksidan kapasite

TOS: total oksidative stres

Zn: çinko

8-OHdG: 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin

ÇİZELGE VE TABLOLAR

Tablo 3.1. Kullanılan cihazl.....	33
Tablo 3.2. Deney Planı.....	35
Tablo 4.1. BUN değerleri.....	42
Tablo 4.2. Kreatinin değerleri.....	43
Tablo 4.3. Elde edilen SOD değerleri.....	44
Tablo 4.4. Elde edilen CAT değerleri.....	45
Tablo 4.5. GSH değerleri.....	45
Tablo 4.6. TAS değerleri.....	46
Tablo 4.7. TOS değerleri.....	47
Tablo 4.8. MDA değerleri.....	47
Tablo 4.9. 8-OHdG değerleri.....	48
Tablo 4.10. Doku eser element (Mg,Cu, Zn, Se, Mn) değerleri.....	49

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER

Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı [44].....	17
Şekil 2.2. Parasetamolün metabolik yolları [48].....	18
Şekil 2.3. Parasetamolün metabolizması [50].....	19
Şekil 2.4. Parasetamolün böbreklere geçişi [58].....	20
Şekil 4.1. Böbrek Histopatolojik inceleme.....	50

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Nefrotoksisite böbreğin toksik kimyasallar nedeniyle hasar görmesi ve fonksiyonunda azalma meydana gelmesi durumudur. Bu durumda normalde böbreklerin çıkardığı azotlu ve azotsuz atıkları olan üre ve kreatinin gibi bileşenler vücutta birikir. Bu da bazı metabolik sorunlara, sıvı dengesinin bozulmasına ve diğer organların da fonksiyonlarında bozulmalara neden olur [1-3].

Dünya genelinde acil servislere başvuran zehirlenme olaylarında ilaçlar en büyük neden olarak karşımıza çıkmaktadır. 2008 yılı Ulusal Zehir Danışma Merkezi Çalışma Raporunda en çok zehirlenme sebebi olan etkin maddeler arasında parasetamolun (asetaminofen) ilk sırada olduğu (%6.78) tespit edilmiştir [4]. İnsanın günde 4 gramdan fazla parasetamolu, uzun süreli kullanımının toksik etkiye neden olabileceği bilinmektedir. Parasetamolün toksik doz kullanımı akut tübüler nekroza (ATN) yol açabilir [5-7]. Parasetamol toksisitesinin neden olduğu akut renal yetmezlik tek başına ya da hepatik nekroz ile birlikte görülebilmektedir [6, 8-11].

Parasetamolün toksik doz kullanımının neden olduğu akut renal yetmezliğinin nedeni bir şekilde belirlenememekle birlikte geçmiş kaynaklar, böbrekler toksik doz parasetamole maruz bırakıldığında sitokrom p-450 sistemi ile meydana gelen parasetamol oksidasyonunun tübüler hasara neden olduğunu göstermiştir [5, 6, 8-12]. Parasetamol toksisitesine bağlı oluşan nefrotoksisitenin patofizyolojisinde, karaciğerde olduğu gibi böbrekte de bulunan, oksidasyon enzimleri, prostaglandin sentetaz ve deasetilaz gibi sitokrom P-450 (CYP-450) izoenzimleri ile oluşan N-asetilp-benzokinonimin (NAPQI) suçlanmaktadır [13]. Glutasyon (GSH), parasetamol ve konjugatlarının detoksifikasyonunda önemlidir ve parasetamol-sistein konjugatlarının da renal toksisiteyi ağırlaştırdığı düşünülmektedir [14]. Birçok çalışma yüksek doz parasetamolün oksidatif

stresi arttırdığı, nekroz ve apoptotik yollardan tübüler hücre ölümüne neden olduğunu göstermiştir [15-17]. Parasetamol toksisitesinde N-asetilsistein (NAC), metionin gibi ilaçlar kullanılmaktadır. NAC, parasetamole bağlı karaciğer nekrozunu önlemede önemli role sahiptir, ancak nefropatiyi önlemede karaciğerdeki kadar etki göstermediği düşünülmektedir [18]. Bu durum araştırmacıları oksidatif stresteki hasarı azalttığı düşünülen farklı antioksidan etkili tedavi yöntemlerine yönlendirmiştir.

Kafeik asit fenetil ester (CAPE), propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir [19]. 10 µM konsantrasyonda laboratuvar koşullarda nötrofiller veya ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen durdurur [20]. Yapılan çalışmalarda, CAPE'nin antienflamatuvar, antifungal, antimikrobik [21], immünomodülatör [22], antimutajenik [23] ve antioksidan [24,25] özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada parasetamol indüklü böbrek hasarı oluşturulan ratlarda, biyokimyasal ve histopatolojik analizler yapılarak, CAPE'in parasetamol kaynaklı böbrek hasarı üzerine korucu etkileri değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Böbrek

Omurgalılarda boşaltım sisteminin bir bölümünü oluşturan böbreklerin görevi kandaki zehirli maddeleri süzmek ve idarar şeklinde atmaktır. Karının arka duvarının önünde bulunurlar ve çoğunlukla 2 tanedir (tek olduğu durumlar herhangi bir sağlık problemi teşkil etmez). Boyutları 9-13cm arasında değişmektedir ve fasulye şeklindedir [155].

2.1.1. Böbreğin Temel Fonksiyonları

Plazma hacim ve içeriğinin ayarlanması, kan basıncının düzenlenmesi, kan pH'sının, su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, kanın, metabolik artıklardan, endojen ve egzogen toksiklerden temizlenmesi, hormon üretimi ve peptid hormonların yıkımı böbreğin temel fonksiyonlarından. Böbreklerde kanın süzülmesi sonucu idrar oluşur. İdrar ile birlikte pürin bazlarının ve proteinlerin metabolizması sonucu oluşan nitrojen içeren metabolizma ürünleri (ürik asit ve üre) atılır. Toksik bir madde olan amonyak önce karaciğerde üreye çevrilir ve daha sonra böbreklerde süzülür [26-27].

2.1.2. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede kullanılan yöntemler

Böbrek fonksiyonunu değerlendirmede en uygun yol GFH (Glomerüler Filtrasyon Hızı)'nin değerlendirilmesidir. GFH ölçümünde ise sık kullanılan yöntem kreatinin klirensidir. Kreatinin daha çok iskelet kasındaki kreatin ve fosfokreatinden oluşur. Böbrek,

karaciğer ve pankreasta enzim ile sentezlenen kreatin, sentezlendikten sonra kan yoluyla beyine ve kaslara gönderilir. Burada fosfokreatin ve kreatinin birbirlerine dönüşür. Kastaki serbest kreatin ve fosfokreatin % 1-2'si geri dönüşümsüz olarak kreatinine dönüşür. Her gün oluşan ve kas kütlesi ile orantılı olan kreatinin oranı zamanla değişmez. Kreatin metabolizması sonucu serbest kreatinin oluşur. Tüm vücut sıvılarında bulunur ve glomerüler filtrasyona uğrar. Kreatinin, vücut sıvılarında sabit bir hızla salınır ve renal klirensi GFH'nin bir göstergesidir. Kan ve idrardan ölçümü yapılır. Kandaki üre, kan üre azotu (BUN) olarak tanımlanır. Karaciğerde metabolize olan amino asit miktarına bağlı olarak üre ve BUN parametreleri artış göstermektedir. Oluşan fazla BUN ve üre böbreklerden atılır. Fakat renal hasar olması durumunda böbrekler görevini yerine getiremez ve kandaki düzeylerinde artış gözlenir. Deneysel çalışmalarda da BUN ve kreatinin düzeyleri böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede kullanılmaktadır [28-29].

2.1.3. Nefrotoksisite

Renal perfüzyonu azaltan nefrotoksik metabolitler, oksijenin hücrelere taşınmasını engelleyerek, ATP kullanımını artırır ve mitokondrideki enerji üretimini bozarlar [30]. Oksidatif stresin, lipid peroksidasyonu ve glutasyon tükenmesine bağlı olarak kimyasallara bağlı böbrek toksikasyonuna neden olduğu düşünülmektedir [31]. Böbreklerden atılan kimyasallar önce toksik hücresel hasar oluşturarak sonra böbrek fonksiyonlarını bozarak etkilerini gösterirler [32]. İlacın karaciğerde ve ekstrahepatik dokularda metabolize olması ile parasetamol toksisitesi oluşur [33]. Parasetamolün aşırı doz kullanımının nefrotoksisiteye sebep olduğu görülmüştür [34]. Ayrıca akut tubuler nekrozla birlikte görüldüğü tespit edilmiştir [35-37].

2.2.Parasetamol

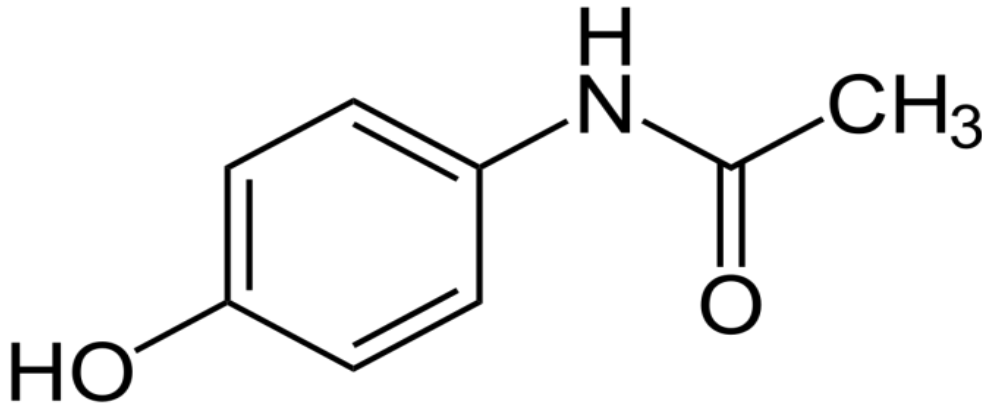
Parasetamol ilk kez p-nitrofenolün asetik asitle indirgenmesi ile oluşmuştur. Harmon Northrop Morse tarafından 1873'te bulunmasından sonra tıpta kullanılmaya başlaması için

20 sene beklenmiştir. 1948 yılında, Brodie ve Axelrod parasetamolün asetanilid gibi toksik etkili olmadığını bildirmişlerdir [38].

Parasetamol piyasaya ilk kez Amerika'da 1955 yılında, İngiltere'de ise 1956 yılında sürülmüştür. 1958 de çocuklar için özel formu üretilmiştir. İleriki yıllarda ise yaz etkisi az olduğundan büyük rağbet görmüştür. Ülkemizde ve dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavi dozlarında çocuk ve yetişkinlerde güvenilir ilaç olarak görülmektedir [39-40].

2.2.1. Parasetamolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

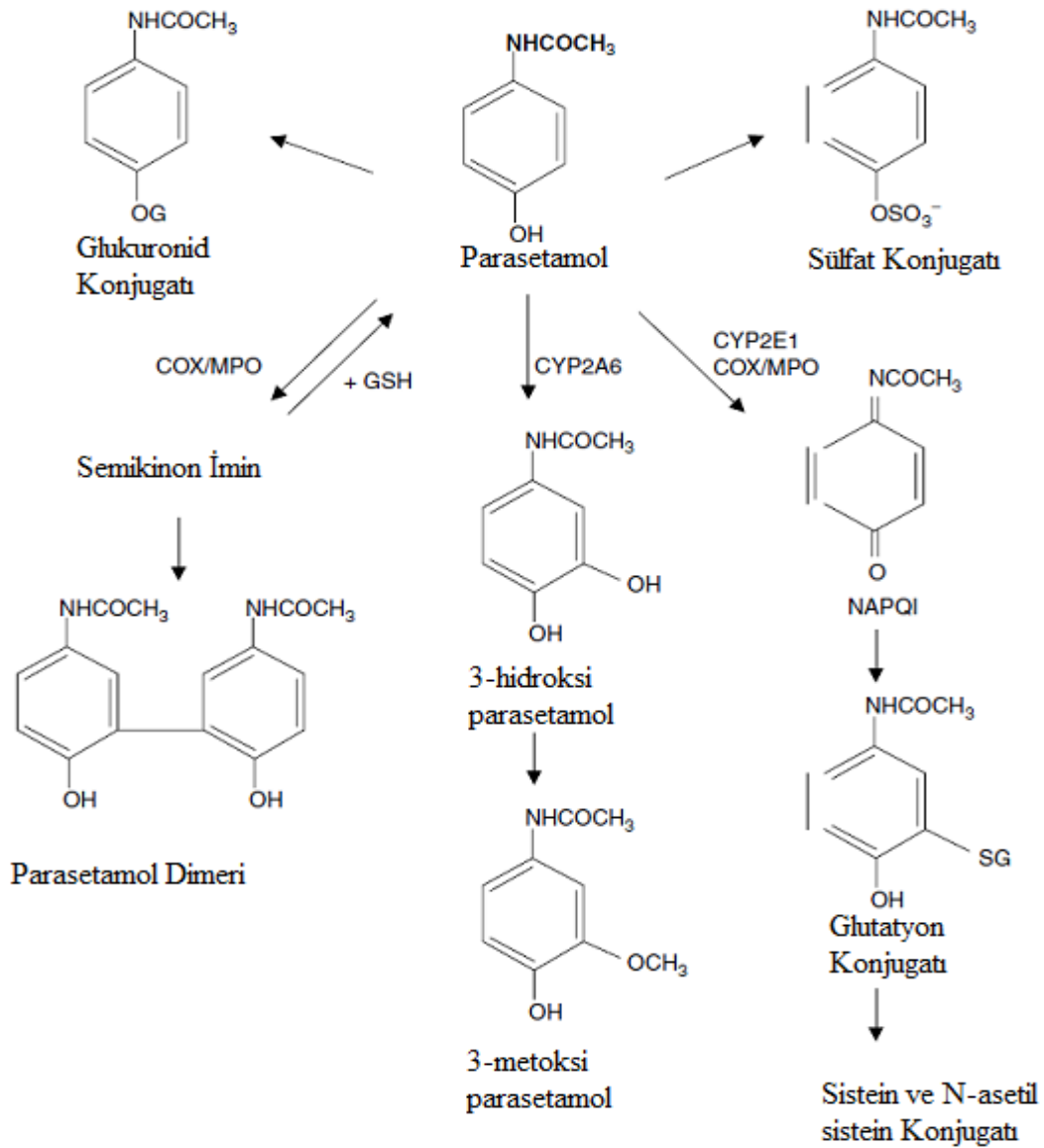
Parasetamol, sudaki çözünürlüğü az, molekül ağırlığı 151,2 g/mol olan sentetik bir bileşiktir. Zayıf bir asit olması nedeniyle ortamda anyonize şekilde bulunur [41]. Parasetamol, fenasetin metabolitlerinden biridir. Erime noktası 170 santigrad derecedir. Yoğunluğu 21 santigrad derecede 1.293 g/cm³ dür [42]. Parasetamol kristal toz bir yapıdadır. Beyaz ve kokusuzdur. [43].



Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı [44]

2.2.2. Parasetamolun Metabolizması

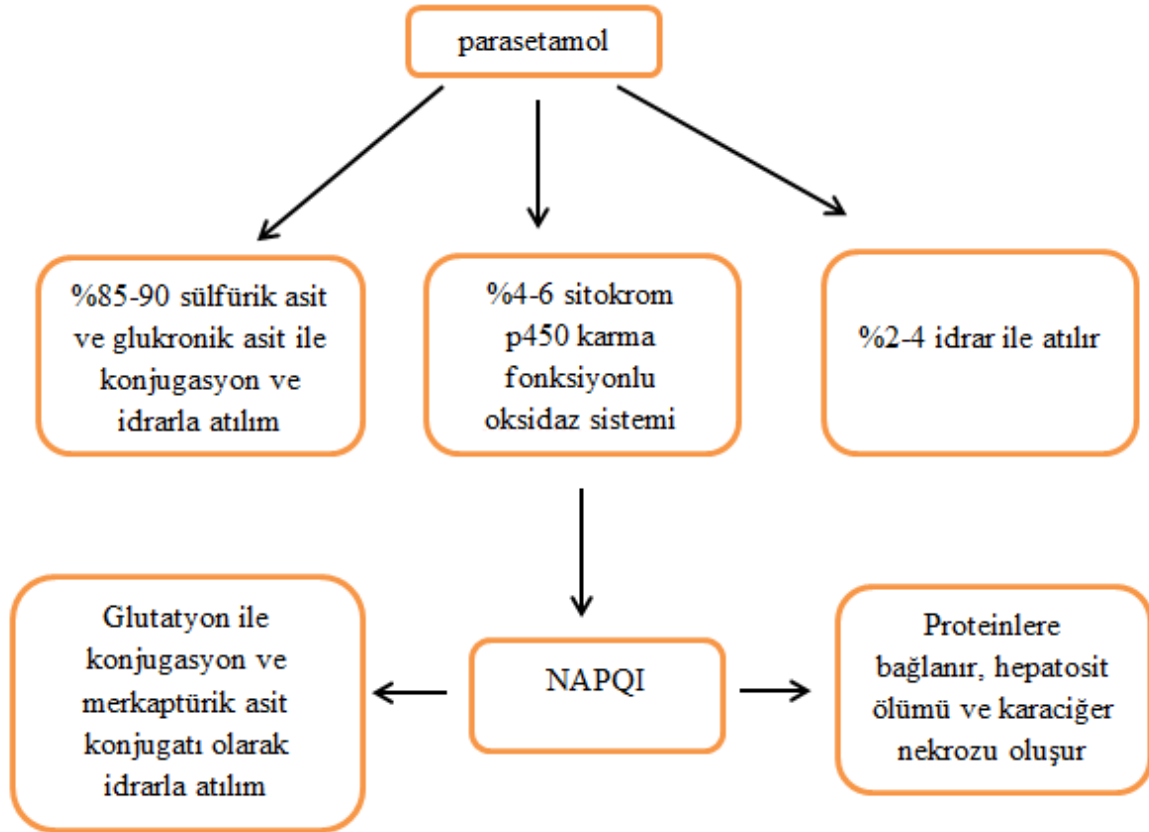
Tedavi edici dozda alınan parasetamolün büyük bir kısmı (%85-90) karaciğerde [45] metabolizma edilen parasetamolün bir kısmı da böbreklerde metabolize olur [46]. Tedavi edici dozun %2-5'i idrarla değişmeden atılır. Bir başka deyişle %80-85 glukuronid-sülfat konjugasyonu ile, %10-15i sitokrom P450 (CYP450) enzim sistemi ile metabolize edilir [47].



Şekil 2.2. Parasetamolun metabolik yolları [48]

Parasetamolun ana metabolitleri sülfat ve glukuronid konjugatlarıdır; ancak yenidoğanlarda ve küçük çocuklarda glukuronid konjugasyonu eksiktir. Parasetamol metabolizmasında sülfat konjugasyonu baskın olan metabolik yoldur [46].

Sitokrom P450 sistemi, parasetamolu bir ara metaboliti olan n-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüştürülerek metabolize eden bir enzim kompleksidir. Yüksek doz parasetamol uygulanması sitokrom P450 sistemi tarafından metabolize edilir. Bu da NAPQI toksik seviyelere çıkmasına neden olur [49].



şekil 2.3. Parasetamolün metabolizması [50]

2.2.3. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol yüksek doz alınımından sonra konjugasyon yolu ile hızla saturasyona uğrar ve CYP450 enzim sistemi ile metabolize edilerek n-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüştürülür. N-asetil-p-benzokinonimine miktarında artış olur ve bunu tolere eden hepatik GSH azalır. Hepatik GSH ortamda tükendiğinde NAPQI hızla artar. Hücre ölümüne ve nekroza neden olmaktadır [51,52].

Yapılan çalışmalar parasetamolün yüksek doz uygulanması sonucu, karaciğer yetmezliği ve karaciğer yetmezliği görülmeksizin böbrek yetmezliğine de neden olabildiğini ve ayrıca tedavi edici dozda parasetamolün uzun dönem kullanımı böbrek hastalığı riskinin arttırdığını göstermiştir [51,53].

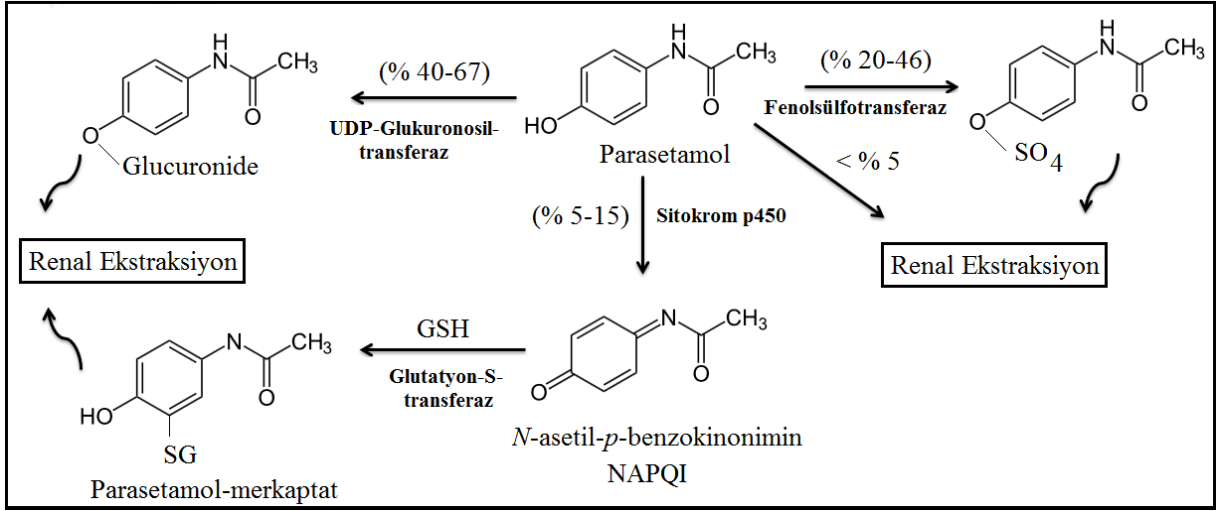
2.2.4. Parasetamol İndüklü Böbrek Toksisitesi

Yapılan çalışmalar böbrek toksisitesine CYP450, N-deasetilaz, prostoglandin endoperoksit sentaz (PGES) enzimlerini içeren yolların rol oynadığını göstermiştir [54].

Parasetamolün NAPQI oksidasyonunu katalizleyen CYP450 enzim aktivitesi karaciğer ve böbrekte benzer yapıda olmasına rağmen, CYP450 enzimleri arasında bazı farklılıklar vardır. Parasetamol kaynaklı nefrotoksisitede CYP450 enzimleri ile oksidasyonu ve GSH kaynaklı konjugatları önemli bir yere sahiptir. CYP2E1 enziminin nefrotoksisite oluşumunda önemli rolü olduğu düşünülmektedir [55].

Nefrotoksisitede GSH depolarının tükenmesiyle NAPQI ve 4-aminofenol birikir. 4-aminofenol renal makromoleküllere bağlanarak böbrekte hasar oluştururken, NAPQI membrana ve sülfidril proteinlere bağlanıp böbrekte toksisite oluşturur [56].

Parasetamol indüklü renal yetmezlik, akut tübüler nekroz ile bağlantılıdır. Renal yetmezliğin diğer sebeplerini bu durumdan ayırmak için idrar analizlerine bakılabilir. Akut tübüler nekroz esnasında idrar sedimentasyonu hematüri ve piyüri ile artmıştır. Ayrıca serumdan alınacak örneklerin üre ve kreatinin düzeyleri parasetamol indüklü nefrotoksisiteyi değerlendirmede böbrek fonksiyonlarının incelenmesi için kullanılabilir [54,57].



Şekil 2.4. Parasetamolün böbreklere geçişi [58]

2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

2.2.5.1. N-Asetil Sistein (NAC)

Prescott ve Matthew ilk kez 1974 yılında parasetamol toksisitesinde NAC'nin antidot olarak kullanılabileceğini göstermiştir. 1977 yılında ise 15 hasta üzerinde başarılı sonuçlar elde edilmiş ve etkinliği kanıtlanmıştır [59,60]. Yüksek doz parasetamol alınması sonucu NAPQI miktarı artar ve buna bağlı olarak GSH miktarı azalır. NAC verildiğinde sisteine metabolize olur, GSH miktarını artırır ve bunun sonucu olarak NAPQI detoksifikasyonunu sağlar. Ayrıca antioksidan özellikle olduğu için serbest radikallerin yok edilmesini sağlar [61,62]. Hayvan deneylerinde parasetamol uygulamasının hemen ardından aynı dozda yapılan NAC uygulaması toksisiteyi büyük oranda engellemektedir. Artan dozun ise NAC'nin etkisini artırdığını göstermiştir [63]. Parasetamol alımı ile NAC tedavisine başlanması arasındaki süre tedavi etkisi için önemlidir. Kısa sürede NAC'ye başlanması ölüm ve toksisite riskini azaltmaktadır [64]. Yapılan bir çalışmada onbirbin yüz doksan beş denek kullanılmış. Yüksek doz parasetamol alımından hemen sonra, ilk 10 saatte verilen NAC tedavisinde %6,1, 10-14 saatleri arasındaki tedavide ise % 26.4 hepatotoksisite oranı bulunmuştur [65].

2.2.5.2. Aktif Kömür Uygulaması

Uygulama parasetamol zehirlenmesinin ilk 4 saatinde yapılır ise etkin bir tedavi yöntemi olabilir. İlk 30 dk ile 2 saat içerisinde biyoyararlanımı yüksektir. 20 hasta üzerinde denenmiş olan, gastrik gavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulaması arasında yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada aktif kömür uygulamasının kandaki parasetamol seviyesini önemli bir şekilde azalttığını göstermiş olup diğerlerinden daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Oral aktif kömür uygulaması tek doz ve 1 gr/kg olacak şekilde uygulanmaktadır [66].

2.2.5.3. Simetidin

Bir çalışmaya göre Slattery ve arkadaşları parasetamol alımından 8 saat sonra 300 mg simetidin alınmasının NAPQI oluşumunda bir azalma meydana getirdiğini ve bu nedenle simetidin uygulamasının, parasetamol alımından hemen sonra kısa sürede yapılmasının önemini vurgulamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise simetidin ve NAC nin birlikte alınmasının hepatoprotektif özelliği artırdığı gösterilmiştir [67,68].

2.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres hücre içerisindeki oksidan dengenin bozulması ile meydana gelir. Hücre içerisinde eğer bu denge bozulursa serbest radikallerin düzeyi artar ve hücre içi çeşitli moleküllere bağlanarak oksidatif stresi meydana getirmektedir [69].

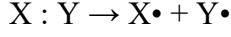
2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitalinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunan kısa ömürlü, kararsız ve reaktif özellikleri olan moleküllerdir. Biyolojik sistemde bilinen en iyi radikaller oksijen kaynaklı süperoksit, peroksit ve singlet oksijen olsa da geçiş metal iyonları ve hidroksil gibi başka radikaller de bulunur. Serbest radikaller hücrelerde metabolik dengenin sağlanması için devamlı olarak sentezlenirler. Hücrelerdeki serbest

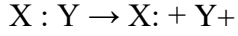
radikallerin yapısı ve etki ettiği yer farklı olduğundan dolayı hücrenin farklı yerleri risk altında olur [70-72].

Serbest radikaller üç yolla meydana gelebilirler:

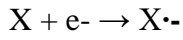
1- Bir molekülü oluşturan kovalent bağın kırılması sonucu yapısında bulunan iki elektrondan her birinin ayrı parçada kalmasıyla gelir,



2- Radikal olmayan bir molekülden tek elektron kaybıyla gelir,



3- Radikal olmayan bir moleküle tek elektronun ilavesiyle gelir,



Serbest radikaller vücutta stres durumuna bağlı olarak ya da bağışıklık sisteminin vücutta gelişen zararlı etkilerle mücadele sırasında kendiliğinden oluşabildiği gibi virüsler, sigara dumanı, ağır metaller, gübre, kirlilik, bazı kimyasal maddeler, radyasyon, enfeksiyon gibi dış nedenlerle de oluşabilmektedirler [71,72].

2.3.1.1. Süperoksit radikali (O₂·⁻)

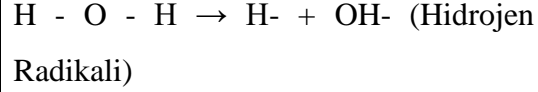
Normal aerobik metabolizmanın bir ürünü olan süperoksit radikali moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Süperoksit radikali çok iyi ve zayıf bir oksitleyici molekül olup reaktivitesi büyük ölçüde oluşturulduğu yerde bulunan çevresel koşullara bağlı olmaktadır [73].

2.3.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, genellikle ökaryotik hücre peroksizomlarında bir kaç oksidazın katalizlediği reaksiyonda iki mol O₂'nin indirgenmesi ile oluşmaktadır (Farber, 1994). Ayrıca süperoksit radikalının bir elektron alması ile oluşan peroksitin iki proton ile (H⁺) ile birleşmesi sonucu oluşmaktadır [74].

2.3.1.3. Hidroksil radikali (OH-)

H₂O₂'nin oksijen bağları bir elektron eklenmesi ile koparılabilmektedir. H₂O₂ Fenton reaksiyonu ile nispeten zararsız olan hidroksit anyonuna ve oldukça reaktif hidroksil radikaline dönüşmektedir [75, 76].



2.3.2. Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar, oksitleyici zincir reaksiyonlarının başlatılmasını veya çoğalmasını inhibe ederek diğer moleküllerin oksidasyonunu inhibe eden veya önleyebilen bileşiklerdir [77]. Antioksidan defans sisteminin biyolojik sistemde oksidatif stresin oluşmasını baskılama ya da olabilecek bir hasarı önleme gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Antioksidanlar hücre içi ve hücre dışında bulunduğu gibi membranlarda da fonksiyonu olduğu bilinmektedir [78]. Örnek olarak hücre içinde katalaz, süperoksit dismutazlar, glutatyon redüktaz; hücre dışında albümin, seruloplasmin, bilirubin, hemopeksin; membranda ise E vitamini, β karoten gösterilebilmektedir. Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki madde halinde incelenir. Endojen olarak görev yapanlar ise enzim yapıda olanlar ve nonenzimatik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Enzim yapıda olanlar ise : süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Nonenzimatik olanlar ise : bilirubin, albümin, ürik asit, α-tokoferol, selenyum, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Eksojen olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenosin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri gösterilebilmektedir [79,80].

2.3.2.1. Antioksidan Enzim Sistemleri

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon redox siklus enzimlerinden, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), GSH redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, reaktif

oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştürebilen antioksidan enzim sistemleridir.

2.3.2.1.1. Süper Oksid Dismutaz (SOD)

Süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize etmektedir. Meydana gelen H₂O₂, eğer az miktarda ise indirgenmiş GSH-Px tarafından suya ve oksijene dönüştürülerek, eğer fazla miktarda ise de katalaz enzimi devreye girerek aynı şekilde yok edilebilmektedir. Eğer yok edilemezse vücuttaki demir ve bakır iyonları tarafından hidroksil radikaline dönüştürülmektedir.

2.3.2.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi peroksizomlarda yer alan ve yapısında hem grubu içeren hemoproteinlerdir. Birçok dokuda da başka görevleri vardır. Karaciğer ve böbrek CAT'ın en fazla fonksiyonu olduğu organlardır. Katalaz hidrojen peroksiti, okside edici enzimler ile birlikte suya dönüştürmektedir. Hidrojen peroksit seviyesinin artmasıyla birlikte katalaz enziminin aktivitesinde artış gözükür. Ortamdaki hidrojen peroksit (H₂O₂) konsantrasyonu düştüğünde ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan GSH-Px gibi başka antioksidan enzimler etkileşim göstererek hidrojen peroksitin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlarlar [71,72,78].

2.3.2.2. Non enzimatik antioksidanlar

2.3.2.2.1. Malondialdehit (MDA)

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali mitokondri, nükleus, sitoplazma ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Bu da membran permeabilitesinin artışına sebep olmaktadır. Oluşan LOOH, iltihap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri dokuya doğru çekerek inflamatuvar reaksiyonu

oluştururlar. LOOH'ın yıkılmasına bağlı çoğu biyolojik olarak aktif olabilen aldehitler oluşmaktadır. Üç veya daha fazla sayıda çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu ile malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. MDA kanda ve idrarda bulunup, lipid peroksidasyonunun seviyesiyle korelasyon göstermektedir. Bu sebeple MDA düzeyi lipid peroksit seviyelerinin göstergesi olarak kullanılabilir [81,82].

2.3.2.2.2. Glutasyon (GSH)

İndirgenmiş glutasyon, hücrelerde (özellikle en çok karaciğerde) sistein, glisin, glutamik asitten sentezlenen bir tripeptit olup reaktif oksijen radikallerini ya doğrudan ya da enzimatik olarak yakalayabilmektedir. Enzimatik ve enzim dışı antioksidan mekanizmalar ise genellikle tek başlarına yalnız değil birbirleri ile etkileşim halinde bir arada çalışır ve dokuları oksidatif hasardan korumayı hedefler. Hepatik hasar, renal hasar, kardiyak hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, pulmoner hastalıklar ve kanser gibi hastalıklardan serbest oksijen radikalleri sebep tutulmaktadır [83,84]. GSH ve SOD'un dokulardaki aktivitelerinin ölçümleri, deneysel çalışmalarda serbest oksijen radikallerine bağlı sebeple oluşan oksidatif stresin yaptığı hasarı ve tedaviye verilen cevabı değerlendirmede belirteç olarak kullanılmaktadır [85,86].

2.3.2.2.3. Flavonoidler

Flavonoidler, meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bir grup polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi, oksidan inhibisyonu, demir şelatlama ve serbest radikal temizleme özelliklerinin bir kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. Böyle olunca da reaktif oksijen türleri ve organik hidroksiperoksitlerin oluşumu önlenir. Kılcal damarların geçirgenliğini ve kırılgenliğini aza indirerek vasküler hastalıklara karşı da koruma sağlarlar [87,88].

2.3.2.3. Ekzojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlara curcumin, melatonin, ve flovonoid içerikli olan polen, CAPE, propolis örnekleri verilebilir. Eksojen antioksidanlar; kanser tedavilerinde kemoterapi ve radyoterapiden sağlıklı hücreleri muhafaza etmek için kullanılmaktadır. Dışarıdan alınan antioksidanlar fizyolojik ve biyokimyasal olarak canlılarda olumlu tesirler oluşturur. Günümüzde terapötik maddelerden doğal arı ürünlerine örneğin propolis, CAPE fazla dikkat çekmektedir. Ayrıca ekzojenleri de vitamin, gıda antioksidanları olarak sıraya koymak mümkündür. Vitaminlerdeki ekzojenlere; vitamin E ve vitamin C sitokinler (TNF ve IL-1) sayılabilmektedir. Gıdalardaki ekzojenlere ise süperoksit dismutaz örnek olabilmektedir [89].

2.4. Bazı Eser Elementlerin Organizmadaki Fonksiyonları

2.4.1. Magnezyum

Organizma için gerekli ve mühim bir element olan magnezyum, vücudumuzda sentezlenmediği için gıdalarla dışardan alınmaktadır. Magnezyumun organizmadaki yeterli kaynaklarının korunması besinler yoluyla sağlandığından dolayı beslenmenin bu anlamda rolü büyüktür. Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir kişi 20-28 g magnezyum bulundurması lazımdır ve bunun vücuttaki dağılımının çok büyük bir bölümü kemik, kas ve yumuşak dokuda, %1 gibi çok az bir bölümü de ekstrasellüler sıvıda bulunur [90,91]. Magnezyum klorofilde fonksiyonel bir element olduğundan dolayı özellikle yeşil yapraklı bitkilerde, balık, badem, ceviz, taze fasülye, pırasa, muz, domates gibi besinlerde bol miktarda bulunur. Yapısında oksalat ve filik asit ihtiva eden bazı besinler magnezyumla bağ kurarak emilimini zorlaştırırlar. Ayrıca alkol ve diüretik ilaç alan kişilerde idrarla magnezyum atılımı çok fazla olduğu için magnezyum eksikliği ortaya çıkmıştır [91,92].

Magnezyum, 300'den fazla enzimin yapısında kofaktör olarak bulunmakta ve organizmada çok fazla görevi bulunmaktadır. Elektrostatik birleşme özelliğiyle oksijen ve nitrojen atomlarıyla reaksiyona girebilmektedir. Hücrelerin büyüüp gelişmesi ve yenilenmesi, DNA transkripsiyonu, protein sentezi, hücre membranının elektriksel yapısını korumak ve

geçirgenliğini sağlayabilmek, Na-K ATPaz aktivitesinde rol alır, kasların güçlenmesini sağlar, nöronlar arasındaki nörotransmitter maddelerin salınımını sağlar [93-96]. Önemli görevlere sahip magnezyumun eksikliğinde (hipomagnezemi) ya da fazlalığında (hipermagnezemi) birtakım sorunlar ortaya çıkar.

Eksikliğinde ortaya çıkan bazı durumlar: karın ağrısı, kilo kaybı, bulantı-kusma, kramp, titreme, sinirsel bozukluklar, alzheimer, halüsinasyon ve çocuklarda büyüme yetersizliği gibi durumlardır. Yapılan çalışmalarda yaşlanma ve bu sürede rastlanan birçok hastalığa etki eden iki önemli durumun magnezyum eksikliği ve oksidatif stres olduğu bildirilmiştir. Aralarındaki ilişki tam olarak bilinmese de magnezyum eksikliğinin oksidatif stresi artırdığına rastlanmıştır. Magnezyum miktarı akciğer kanserli vakalarda da kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Fazlalığında ise de dehidratasyon, düşük tansiyon, koordinasyon bozukluğu, koma ve ölüm gibi ciddi problemler ortaya çıkabilmektedir [90-92,96].

2.4.2. Bakır (Cu)

Vücudumuzda çeşitli görevlere sahip olan bakır elenmenti oksitlenmiş (Cu+2) ve redükte (Cu+1) halde bulunabilir ve böylelikle yapısında bulunduğu enzimlerin moleküler oksijene bağlanmasını sebep olarak indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında rol alır [91,96,97]. Yetişkin bir kişide ortalama bakır seviyesi 100-150 g olmalıdır. Vücudun değişik yapılarında yer alan bakır başta karaciğer olmak üzere kalp, beyin, böbrekte ve daha düşük seviyede kas ve kemikte bulunmaktadır. Fakat kas ve kemik vücudumuzun büyük bir kısmında yer aldığından bakırın yaklaşık yarısı bu dokularda yer alır. Günlük diyetle alınması gerekli bakır dozu yaklaşık 1,2 – 1,7 mg'dır ve bu alınması gerekli miktar kuru üzüm, fındık, ıstiridye, nohut ve karaciğer gibi besinlerden elde edilebilir. Daha sonra bakır-albumin ya da bakır-histidin şeklinde karaciğere taşınıp fazlası yine karaciğerde depolanmaktadır [91,96,98,99]. Bakır, vücudumuzda bir kofaktör olarak görev görür ve sitokrom c oksidaz, tirozinaz, dopamin beta hidroksilaz, ve Cu-çinko süperoksit dismutaz içinde olmak üzere değişik önemli enzimlerin yapısal ve katalitik aktiviteleri için gereklidir. Biyolojik sistemde bu enzimler büyüme, gelişme ve koruma sağlamada önemlidirler [91, 97]. Yapılan bazı çalışmalarda bakırın antioksidan etki gösterdiği ve hücreleri serbest radikallerin zararlı etkisinden koruduğu iddia edilmiş ama sistemi tam

olarak açıklanamamıştır. Başka bir çalışmada da yüksek bakır seviyesinin kanserin ilerleme hızını artırdığı bildirilmiştir. Bakır demirle beraber kanda hemoglobin oluştururlar [98,100]. Bakır nöronları sarıp koruyan miyelin kılıfın oluşumunda görev alır. Ayrıca bakır derinin rengini koyulaştırarak deriyi güneşin zararlı ışınlarından koruyan melanin pigmentinin oluşumunu sağlayan enzimle beraber çalışır [70, 79]. Başka elementlerin görevlerini de etkileyen Cu elementinin eksikliğinde ve fazlalığında çeşitli değişiklikler meydana gelmiştir. Eksiklikleri sonucunda; sitokrom c oksidaz eksikliğine bağlı sinir sisteminde sinir impluslarının iletilmesinde bozukluklar, kronik diyare, deride pigmentasyon azalması, kemiklerde kırılmalar, malabsorbsiyon, kalp yetmezlikleri, gen büyüme ve üremede sorunlar meydana gelebilir. Ayrıca bakırın genetik olarak taşınması ve depolanması sebebiyle menkes sendromu meydana gelir [96,99,101-103]. Fazlalığında ise toksikasyona yol açabilmekte ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırarak DNA ve RNA gibi makromoleküllerin hasarına, membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve proteinlerin doğrudan oksidasyonuna sebep olmaktadır. Bakırın genetik bir sorun ile karaciğer ve beyinde fazla depo edilmesi sonucu Wilsons hastalığı meydana gelmektedir. Fazla Cu karaciğerde birikerek kandaki hemoglobinin düzeyinde azalmasına neden olur [91,102,103].

2.4.3. Çinko (Zn)

Biyolojik sistemlerde çinkonun en bilinen görevlerinden biri enzimlerin yapısında yer alarak onlara işlevsellik kazandırmasıdır ve bunun ilk modelini 1940 yılında karbonik anhidraz enziminin yapısında bulunması olmuştur [90,104]. Çinko vücudumuzda en çok eritrositlerde olmak üzere karaciğer, böbrek, kas, kemik, prostat ve pankreasta da bulunmaktadır. Eritrositlerde çokça bulunmasının sebebi ise karbonik anhidrazın kanda fazlaca bulunmasıdır [104]. Ortalama 70 kg olan yetişkin bir kişide bulunması gereken çinko miktarı 1,4–2,3 g olmalıdır ve bunun için diyetle alınması gerekli günlük miktar da 15 mg kadar olmalıdır ki bunu da ceviz, fındık gibi kuruyemişler; mercimek, bezelye gibi tahıl ürünleri ve sebzelerde; et, yumurta, karaciğer ve deniz ürünleri gibi gıdalardan alabilirler [91,96]. Organizma gıdalarla günlük alınan çinkonun % 20-30'unu absorbe edebilmektedir. Okside ve redükte olmayan çinko organizmada +2 değerlikli olarak yer almaktadır. Karaciğer tarafından sentezlenen metal bağlayıcı protein (metallothionein)

bağırsak mukozasında çinkoyu bağlayarak fazla emilimini önlemektedir [91]. Çinko metalloenzimlerin kofaktörü olarak rol alsa da başka önemli görevleri de vardır. Bunlardan bazıları: gen ekspresyonunda, membran yapı ve fonksiyonunda, ikinci bir haberci olarak ve moleküler depolama sistemlerinde koruyucu/tetikleyici ajan olarak rol almaz. Antioksidan defans sistemindeki görevi ise sülfhidril gruplarını oksidasyona karşı koruması ve redoks-aktif geçiş metallerini (Fe, Cu) baskılayarak serbest radikallerin zararına karşı korumasıdır. Yapılan çalışmalarda çinkonun eksikliğinde oksidatif hasarın arttığı; ROS üretiminin artması, lipid oksidasyonunun gözlenmesi ve MDA seviyelerindeki artışla gösterilmiş [105]. Çinko eksikliği vücudun birçok farklı bölgesinde hasar oluşumuna sebep olur ve bunlardan en çok bilineni büyüme geriliği ve iskelet gelişiminde gecikmedir. Daha sonra bunları az çinko yetersizliğinden aşırıya doğru: oligospermi, aşırı kilo kaybı, iştahsızlık, çocuklarda ve büyüme çağındaki gençlerde gelişimini geç tamamlama, yaraların geç iyileşmesi, karanlık ortama alışmada sorun yaşama, bağışıklık sisteminin zayıflaması, nöropsikiyatrik sorunlar, tekrarlayan enfeksiyonlar takip etmektedir [91,96,105].

Çinkonun tesir ettiği bir diğer sistem; mutasyona uğramış, hasarlı hücrelerin lizisinden sorumlu apoptozis mekanizmasını oksidatif stresin etkisinden korumaktır. Kanser oluşumunun engellenmesinde ciddi rol oynayan P53 tümör süpresör geninin de oksidasyona uğramasını engeller. Apoptozis sırasında Ca-Mg bağımlı endonükleaz enzimini inhibe ederek DNA yapısının parçalanmasını önlemektedir [106].

2.4.4. Selenyum (Se)

Selenyum serbest radikallerden sebepli hasarın önlenmesinde etkin görev alan GSH-Px'in yapısında yer alarak organizma için antioksidan özellik gösterir. Selenometiyonin ve selenosistein olmak üzere iki formda görev almaktadır. Bu bileşikler ağır metallere bağlanarak onların vücuttan atılmasına destek olur. Selenometiyonin organizmada sentezi olmadığından dışardan gıdalar aracılığıyla alınmaktadır. Besinlerle alınan selenyum seviyesi eksik olduğunda vücut bu ihtiyacını selenometiyoninden sağlamaktadır [90,96,107]. Selenosistein ise yapı bakımından sistein aminoasitine benzer, aralarındaki fark ise sisteinin yapısında kükürt bulundururken selenosisteinin selenyum bulundurmasıdır. Ancak genetik bir şifreye sahip olmadığından organizmada şifreleme işlemi gerçekleşmez.

Selenyum vücudumuzu oksidatif stresin etkisinden koruyan glutatyon peroksidaz, iyodotironin deiyodinaz, tiyoredoksin redüktaz gibi enzimlerin yapısında yer alarak organizmadaki elektron alış verişi ile redoks reaksiyonlarını gerçekleştirmektedir, T4'ün T3'e dönüşümü, immün fonksiyonları arttırması, apoptosizi önlemesi, hücre proliferasyonunu baskılama gibi önemli metabolik ve antioksidan savunma mekanizmalarında rol oynamaktadır [104,108,109]. Ayrıca selenyum bazı kanser türlerine karşı protektif tesir gösterdiği, erkeklerde üreme verimliliğini yükselttiği, astım olan hastalarda inflamatuvar oluşumu inhibe ettiği gözlenmiştir. Vitamin E ve selenyum arasında sıkı bir bağ olduğu ve hücre membranlarını oksidatif hasara karşı korudukları bilinmektedir. Bu iki maddenin yokluğunda doku hasarı ve benzer semptomlar ortaya çıkmış [101,104,102,110]. Organizmanın selenyum ihtiyacı daha çok protein içerikli besinler, deniz ürünleri, sebzeler, et, karaciğer, mantar ve sarımsak gibi çeşitli hayvansal ve bitkisel besinlerden karşılanmaya çalışılır [104,102]. Yetişkin birisinde ortalama 13-20 mg selenyum bulunmalıdır ve bunun günlük beslenme ile 0,87 µg/kg'lık kısmının alınması gerekir [104]. Birçok enzimin aktivitesinde, metabolik olaylarda, immün sistemde ve antikor savunma mekanizmasının gidişatında olması gerekli selenyum ve türevlerinin eksikliği durumunda ciddi problemler ortaya çıkmaktadır. GSH-Px enziminin kofaktörü olduğundan selenyum eksikliğinde GSH-Px enziminin çalışmasında bozulmalar meydana gelebilir ve nötrofillerde peroksit ve lipit hidroperoksitlerin toksik seviyede birikimine sebep olabilir. Antioksidan savunma mekanizmasında yer aldığından eksikliği durumunda viral ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı korunmada yetersiz olma, antikor üretimi ve fagositik hücre aktivitelerinde azalma meydana gelebilir. Erkeklerde testesteron sentezi ve spermatozoaların gelişim ve şekillenmesini sağladığında eksikliği durumunda bu mekanizmalarda ve testislerde dejenerasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca büyüme ve gelişmede aksamalar, kronik arter hastalığı, kas ağrısı ve karaciğer nekrozu gibi durumlarda da selenyum eksikliği gözlenmiştir [90,101,110,111].

2.4.5. Manganez (Mn)

Manganez birçok enzimin görevi ve yapısal bütünlüğü için ihtiyaç bir eser elementtir. Kofaktör olarak görev yaptığı iki enzim: piruvat karboksilaz ve süperoksit dismutazdır (SOD). Süperoksit dismutaz enziminin yapısında yer alarak hücreleri kimyasal maddelerin

ve radyasyonun karsinojik tesirine karşı muhafaza eder [96,98]. Değişik birçok dokuda görev alan manganezin dokulardaki miktarı 12-20 mg'dır ve vücudun günlük manganez ihtiyacı 3-8 mg'dır. Hatta kalsiyum, fosfor, ve ferrik asit seviyesinin artması manganezin emilimini azaltmaktadır. Manganez; toprak, su, avakado, ananas, yeşil yapraklı sebzeler, maden suları, fındık yumurta gibi yaygın ve çeşitli ürünlerden elde edilebilmektedir [91,98,103]. Manganezin organizmadaki görevleri ise şu şekilde sıralanabilir: fetal gelişiminde, proteinlerin birbirine dönüşümünü sağlayan arginaz, prolinaz, sistein gibi enzimlerin yapısına katılırlar ve iskelet gelişiminde, kolesterol sentezinde, üre oluşumunda, piruvat metabolizmasında, polisakkarit sentezinde görev alırlar [91,102,103]. Ayrıca mitokondri, alyuvarlar ve endotelial hücrelerini süperoksit radikallerinin tahripkar etkilerine karşı korunmasına destek olur. Bu yüzden serum manganez konsantrasyonundaki azalma hücrelerin kanserojen olasılığını arttırabilir antioksidan hücrelerin kanserojen olasılığını arttırabilir defans sistemini olumsuz etkiler [98]. Manganezin eksiliğinde ortaya çıkabilecek diğer durumlar ise: solunum sisteminde düzensizlikler, sinirsel bozukluklar, kısırlık, kan pıhtılaşmasında sıkıntılar, büyüme geriliği, serum kolesterol seviyesinde azalmalar görülebilir. Fazla olduğunda ise baş ağrısı, ödem, halsizlik ve Parkinson hastalığı gibi çeşitli problemler ortaya çıkabilmektedir [91].

2.5. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

1960'lardan sonra ilgi görmeye başlayan propolis, arılar için hem bir inşa materyali hem de savunma maddesidir. Bu maddeyi arılar kovandaki çatlak ve delikleri onarmak için kullanır [112]. Propolis; polifenoller onların esterleri olan organik ve inorganik çeşitli bileşikler içerir. Avrupanın farklı bölgelerinden elde edilen propolise yapılan kimyasal analizler, aglikonları, fenolik asitleri ve bunların esterlerinin varlığını kanıtlamıştır. Bu örnekler içerisinde 160 tan fazla bileşik tanımlanmıştır. Bitkilerin farklı kısımlarından reçineli materyalleri toplayan arılar bunu balmumuyla karıştırarak propolis üretirler [113]. Uzun zamandır geleneksel tıpta kullanılan CAPE propolisin aktif komponentidir ve flavonoid benzeri bir bileşiktir.

CAPE'nin vazorelaksan [114], antienflamatuar [115] ve immunomodulator [116] etkisi aynı zamanda antikarsinojenik [117] ve antioksidan [118] özelliği bulunmaktadır. CAPE'nin oksidatif stres nedeniyle oluşan reaktif oksijen türlerinden dokuları koruğu,

ayrıca toksik yaralanma ve iskemi durumunda lipid peroksidasyonunu azalttığı görülmüştür [119]. Yapısında bulunan hidroksil gurubu sayesinde antioksidan özellik gösterir. Araştırmalarında deney hayvanı ve hücre kültürü çalışmalarında intraperitoneal uygulandığında uygun kan konsantrasyonuna ulaştığı görülmüştür [120]. Pankreas kanser hücrelerinin apoptozuna neden olurken, kalpte SR süpürücü etki ederek miyokardiyal iskeminin apoptik etkisini önler [121,122]. Reperfüzyonun oluşturduğu hasarı ortadan kaldırır ve savunma sitemini uyarır [123].



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- Kafeik Asit Fenil Ester (Sigma)
- Parasetamol (Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul)
- N-asetil Sistein (600 mg tek tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel Gmbh, Münih-Almanya)

3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar

CİHAZLAR	Model ve Firma
Spektrometre	UV-mini-1240, UV-Vıs Spectrophotometer, Shimod 24
Elisa Cihazı	Thermo Scientific Multiskan FC program adı: Skanit RE 4.1)
Etüv	Nüve ES 120
Homojenizatör	IKA T18 basic, Ultra Turrax
Santrifüj (Soğutmalı)	Nüve NF 800R, Türkiye
Wash	Diagnostic Automation,İnc
Su Banyosu	Nüve NB 20
Distile Su Cihazı	Direct-Q® 3UV Ultrapure (Type 1) Water
Vorteks	WiseMix VM-10 ;Wisd. Laboratory Instruments
Hassas Terazi	Ohaus Proneer
pHmetre	OHAUS Starter3000
Pipet seti	Eppendorf Research Plus

Bu çalışmada Uşak Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilimsel Araştırma ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan, yukarıdaki cihaz ve malzemeler kullanılmıştır.

3.1.3. Deney Hayvanları

Bu çalışmada deney hayvanlarına yapılan müdahale Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar doğrultusunda, UŞAK HADYEK, 2017/02-02 no'lu karar ile etik kurulunun onayı ile yapıldı. Hayvanların bakımı AKÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, analizler ise Uşak Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Deneyde ağırlıkları 180-200 gram arasında değişen 2-3 aylık Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Toplam 36 adet rat, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak ve her bir kafeste 6 rat kalacak şekilde 6 guruba ayrıldı. Çalışma süresince oda sıcaklığında(22-24 °C) tutuldu ve doyana kadar su (ad libitum) ve yem (Yem Kurumu, Standart rat yemi) verildi. Ayrıca stresten olumsuz etkilenmemeleri için araştırmadan 1 hafta önceden laboratuvar gözlem altına alınan ratların deney ortamına adapte olmaları sağlanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyde hayvanlar rastgele seçilmiş olup, 1 kontrol grubu ve 5 deney grubu olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Her bir grupta 6 adet olmak üzere toplam 36 adet rat kullanılmıştır.

Grup 1: Kontrol grubu (n=6) : Çalışma süresince standart yemle beslenmiş ratlardan oluşmuştur. 2 ml PBS (%1'lik CMC içeren), gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup 2: Parasetamol grubu (n=6): 2 g/kg dozunda, 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup 3: Parasetamol + CAPE (n=6) : 2 g/kg oral parasetamol uygulaması sonrasında, 10 µmol/kg CAPE intraperitoneal uygulaması yapıldı.

Grup 4: Parasetamol + NAC (n=6) : Parasetamol 2 g/kg + NAC (140 mg/kg) grubu. 140 mg/kg N-AsetilSistein gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda, 2 ml parasetamol uygulaması yapıldı. 12 saat sonra NAC uygulaması bir kere daha yapıldı.

Grup 5: CAPE (n=6) : Tek başına 10 µmol/kg CAPE etanolle çözdürülüp intraperitoneal uygulaması yapıldı.

Grup 6: Etanol grubu (n=6) : %40'lık 1ml/kg etanol intraperitoneal uygulandı.

Çalışmamızda deneysel hepatoksisitenin oluşturulması için klinikte kullanılan N-asetil sistein (NAC), parasetamol zehirlenmelerinde kullanılan tek ilaçtır. Çalışmada, parasetamolün rat başına 2g/kg dozu 2ml'ye denk gelecek şekilde Phosphate buffer saline'nin (PBS) %1'lik Karboksi Metil Selüloz (CMC) çözeltisinde süspanse edilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan süspanسیون gastrik sonda yardımıyla oral yoldan uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlendi [124,125].

Parasetamol uygulanmasından 4 saat sonra tüm gruplardaki ratlara deney sonuna kadar yeteri kadar su ve yem verildi.

NAC uygulaması ise çalışma için %0,9'luk NaCl çözeltisinde hazırlanan 600mg tek tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Münih-Almanya) gavaj yoluyla oral yoldan verildi. NAC uygulaması parasetamol verildikten 1 saat ve 12 saat sonra tekrarlandı.

Tablo 3.2. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Uygulama	Doz
I	6	Kontrol	2 ml PBS
II	6	PARA	2 g/kg

Tablo 3.2. Devam Deney Planı

III	6	PARA+CAPE	2 gr/kg
IV	6	PARA+NAC	2 gr/kg
V	6	CAPE	2 g/kg+140 mg/kg(2 doz)
VI	6	Etanol	1ml/kg

PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, CAPE: Kafeik Asit Fenetil Ester

Çalışmanın Sonlandırılması;

Parasetamol uygulamasını takiben 1 saat sonra ratların yeme içmesine izin verildi ve 24 saat beklemeden sonra hayvanlar sakrifiye edildi. Ketamin (65 mg/kg, i.p) - ksilazin (7 mg/kg, i.p) anestezi altında kalplerinden kan örnekleri alındı. Aynı zamanda tüm grupların böbrekleri hızla çıkarılarak biyokimyasal analizler için -80 °C’de analiz gününe kadar saklandı.

3.2.2. Serumda Yapılan Analizler

3.2.2.1. BUN Kreatinin ölçümü için serumun elde edilmesi:

Ratlardan alınan kan örnekleri kanlar antikogülükansız tüplere alındı ve 4000 rpm’de 10 dakika +4 °C’de santrifüj edildi. Örnekler önceden numaralandırılmış tüplere alındı ve hizmet alımı ile Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nde “Abbott Architect ci4100” marka otoanalizör ile BUN ve Kreatinin düzeyleri otomatik olarak ölçüldü.

3.2.3. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

Potasyum fosfat tamponu:

8,0gr NaCl (sodyum klorür)	}	distile su ile 1000ml e tamamlanır. (Ph 7,4)
0,2gr KCL (potasyum klorür)		
1,15gr disodyumhidrojen fosfat		
0,2gr potasyum hidrojen fosfat		

Analiz zamanına kadar -80 °C’de saklanan böbrek dokuları deneyden bir saat öncesinde oda sıcaklığında çözüldü. Önce hassas terazi ile tartılan ve ağırlıkları 0,3-0,5 gr arasında olacak şekilde ayarlanan dokular sonra ultra turrax doku homojenizatörü ile her örnek için 5 ml pH 7,4 olan fosfat tamponu eklenerek homojenize edildi. Homojenize edilen doku örnekleri cam tüplere alınarak uygun şekilde numaralandırıldıktan sonra, Nüve NF 800R soğutmalı santrijde +4 °C 4000 prm de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatat kısmı numaralandırılmış ayrı tüplere çalışılmak üzere alındı.

3.2.3.1 Eser Element (Mg, Cu, Mn, Zn, , Se) Düzeylerinin Belirlenmesi

Uşak Üniversitesi Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde hizmet alımı ile yapılan bu analizde İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) (Neslab Thermoflex 2500, Thermoscientific) kullanılmıştır. 1 ml numune + 9 ml % 3’lük HNO₃ (nitrik asit) ile seyreltme işlemi yapıldı. Daha sonra 4000 rpm’de 10 dk +4 °C santrifüj yapıldıktan sonra üstte kalan kısım filtrelendi ve nitrik asit çözeltisi ile numunelerdeki organik maddeler uzaklaştırıldı. Cihaza 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm ve 5 ppm şeklinde standartların verisi girildikten sonra önce kalibre edildi sonrada numuneler cihaza verildi. Sonuçlar ppm cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.3.2. SOD (Süperoksit dismutaz) Analizi

SOD (Süperoksit dismutaz) analizinde SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanılmıştır. Klorometrik olarak ölçülmüştür.

Kit prosedürüne göre standartlar 64ng/ml’den başlayıp sırasıyla 32ng/ml, 16ng/ml, 8ng/ml, 4ng/ml şeklinde seyreltildi. Plate’e önce blank ve standartlar sonra sıradaki kuyucuktan

itibaren 40µl numuneler koyuldu. Üzerilerine 10 µl Biotin-SOD antibody ve blank dahil tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin-HRP koyuldu. Plate'in üzeri kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de bekletildi. Sonra plate, mikroplate yıkayıcı ile 5 defa yıkandı ve tüm kuyucuklara 50µl kromojen A ve 50µl kromojen B koyuldu. Plate 37°C'de 10 dakika daha bekletildi ve her kuyucuğa 50 µl stop solution eklendi. Stop solution eklendikten 10 dakika sonra ELISA cihazı kullanılarak örnekler 450nm'de okutuldu ve sonuçlar ng/ml biriminde verildi.

3.2.3.3. CAT (Katalaz) Analizi

Cat (katalaz) analizinde SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanılmıştır. Klorometrik olarak ölçülmüştür.

Kit prosedürüne göre standartlar 160ng/ml'den başlayıp sırasıyla 80ng/ml, 40ng/ml, 20ng/ml, 10ng/ml şeklinde seyreltildi. Plate'e önce blank ve standartlar sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler koyuldu. Üzerilerine 10 µl Biotin-CAT antibody ve blank dahil tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin-HRP koyuldu. Plate'in üzeri kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de bekletildi. Sonra plate, mikroplate yıkayıcı ile 5 defa yıkandı ve tüm kuyucuklara 50µl kromojen A ve 50µl kromojen B koyuldu. Plate 37°C'de 10 dakika daha bekletildi ve her kuyucuğa 50 µl stop solution eklendi. Stop solution eklendikten 10 dakika sonra ELISA cihazı kullanılarak örnekler 450nm'de okutuldu ve sonuçlar ng/ml biriminde verildi.

3.2.3.4. GSH (Glutasyon) Analizi

GSH analizinde (Glutasyon) SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanılmıştır. Klorometrik olarak ölçülmüştür.

Kit prosedürüne göre standartlar 120ng/ml'den başlayıp sırasıyla 60ng/ml, 30ng/ml, 15ng/ml, 7,5ng/ml şeklinde seyreltildi. Plate'e önce blank ve standartlar sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler koyuldu. Üzerilerine 10 µl Biotin-GSH antibody ve blank dahil tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin-HRP koyuldu. Plate'in üzeri kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de bekletildi. Sonra plate, mikroplate yıkayıcı ile 5 defa yıkandı ve tüm kuyucuklara 50µl kromojen A ve 50µl kromojen B koyuldu. Plate 37°C'de 10 dakika daha

bekletildi ve her kuyucuğa 50 µl stop solution eklendi. Stop solution eklendikten 10 dakika sonra ELISA cihazı kullanılarak örnekler 450nm'de okutuldu ve sonuçlar ng/ml biriminde verildi.

3.2.3.5. TAS (Total Antioksidan Seviye) Analizi

Total antioksidan seviye analizinde Rel Assay Diagnostics; lot no: DR16069A kiti kullanıldı. Kitteki prosedürüne göre ayıraçlar :

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponunda (pH: 1.8) 10 mM o-dianisidine dihydrochloride ve 45 uM amonyum ferroz sülfat çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: Clark tamponu (Ph: 1.8) içerisinde 7,5 mM H₂O₂ çözdürülerek hazırlandı.

240 nm'de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapıldı. Ölçüm Trolox ile kalibre edildi ve sonuçları mmol Trolox ekivalent/L olarak ifade edildi.

Hesaplama: A₂ – A₁ = Δabsorbans (standart veya numune)

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{absorbans H}_2\text{O}) - (\Delta\text{absorbans numune})]}{[(\Delta\text{absorbans H}_2\text{O}) - (\Delta\text{absorbans standart})]}$$

Birimler = mmol/L

3.2.3.6. TOS (Total Oksidan Seviye) Analizi

Total antioksidan seviye analizinde Rel Assay Diagnostics; lot no: DR160800 kiti kullanıldı. Kitteki prosedürüne göre ayıraçlar:

Reaktif 1: 140 mM NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek temel eriyik hazırlandı.

temel eriyikte önce % 10 oranında glycerol çözdürüldü. Bundan sonra 250 uM xilenol orange çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: Temel eriyik içerisinde başlangıçta 10 mM o-dianisidine dihydrochloride çözdürülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülüp hazırlandı.

560 nm'de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapıldı. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ ekivalent/L olarak ifade edildi.

Hesaplama: $A_2 - A_1 = \Delta \text{absorbans (standart veya numune)}$

$$\text{Sonuç} = \frac{\Delta \text{absorbans (numune)}}{\Delta \text{absorbans (standart)}} \times 10^*$$

*Standart konsantrasyonu

3.2.3.7. Malondialdehit (MDA) Analizi

Tiyobarbitürik asit (TBA) yüksek sıcaklıkta MDA ile reaksiyona girer ve ortaya rengi pembe kromojen çıkar. Oluşan pembe renk konsantrasyonu spektrofotome ile 532 nm'de okunur. Değerler nmol/mg protein olarak verilir.

Kullanılan reaktifler: Sodyum dodesil sülfat (%8,1), Asetik asit (%20, pH 3,5), Tiyobarbitürik asit (TBA, %0,8), Distile su, 1,1,3,3-tetraetoksiopropan Önceden numaralandırılmış tüplere santrifüj edilen örneklerin süpernatantları 200 µl olacak şekilde aktarıldı. Daha sonra tüplere, 100 µl sodyum dedosil sülfat, 750 µl asetik asit, 300 µl Tiyobarbitürik asit (TBA) ve 300 µl distile su eklenip 90 dakika 95 oC'de su banyosu yapıldı. Daha sonra soğumaya bırakılan tüpler soğuduktan sonra 500 µl distile su ve 1500 µl n-bütanol eklenip ve 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Spektrofotometrede, örneklerden alınan 1er ml süpernatant 523 nm'de okutuldu.

3.2.3.8. 8-OHdG (8-hidroksi-2'- deoksiguanozin) Analizi

8-OHdG (8-hidroksi-2'- deoksiguanozin) analizinde SunRed Biotechnology Company: lot no: 201709 kit kullanılmıştır. Klorometrik olarak ölçülmüştür.

DNA örneklerden DNA Ekstraksiyon kiti ile çıkarıldıktan sonra ekstre edilen DNA suda 1-5 mg / mL'de çözüldü. Numune 5 dakika boyunca 95°C'de inkübe edip hızlıca buz üzerinde soğutmak suretiyle DNA numunesini tek iplikli DNA'ya dönüştürüldü. DNA 5-20 ünite nükleaz P1 ile 2 saat boyunca 37 °C'de 20 mM Sodyum Asetat, pH 5.2'de inkübe edilmesiyle ve 100 mM Tris, pH 7.5'te 37 ° C'de 1 saat 5-10 ünite alkalın fosfataz muamelesi ile nükleozidlere denatüre edildi. Reaksiyon karışımı 5 dakika 6000 g'de

santrifüjlendi ve süpernatant 8-OHdG tahlili için kullanıldı. Sonuçlar ng/ml biriminde verildi.

3.2.3.9.Histopatolojik Analizler

Histopatolojik incelemeler için böbreklerden alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edilmiştir. Formalin tespitindeki doku örnekleri 2-3 mm kalınlıkta ve uygun büyüklüklerde küçültülerek doku takip kasetlerine alınmıştır. Çeşme suyunda bir gece yıkandıktan sonra 50, 70, 80, 96'lık ve absolüt alkol ile ksilol, ksilollü parafin ve 56-58 °C'de erimiş parafinde 2'şer saat tutulmuş ve sonra da parafinde bloklanmıştır. Her parafin bloktan mikrotom (Leica, RM 2245) ile 5 mikron kalınlığında kesilen örnekler su banyosu (Leica, HI 1210) aracılığıyla lamlara alınmıştır. On dakika etüvde kurutularak (Thermo, OGH 60) histopatolojik yöntemlerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Tüm kesitler absolüt, 96, 80, 70 ve 50'lik alkol serileri ile ksilol serilerinden geçirilerek hematoksilin-eosin (HE) ile metoduna göre boyanmıştır. (Luna, 1968). Boyamaları yapılan preparatlar, binokuler başlıklı ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse Ci, Tokyo, Japan) incelenmiştir. Gerekli görülen preparatlardan mikroskopik resimler çekilmiştir. (Nikon DS Fi 3, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Deneyde elde edilen verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics 18.0 bilgisayar programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (Ort \pm SD) olarak ifade edildi. Grupların kendi içinde ve gruplar arası test edildi. Gruplar arası farklılığı bulmak için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) testinde post-hoc testlerinden Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

24 saatlik çalışma sonunda ratlardan elde edilen böbrek doku örneklerinden; histopatoloji, total oksidan durum (TOS), total antioksidan durum (TAS), düzeyleri, MDA, SOD, GSH, CAT, 8-HdG doku örnek incelemeleri, serum BUN ve Kreatinin analizleri yapılmıştır. Gruplar kendi aralarında aynı zamanda kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır.

4.1. BUN Sonuçları

Ratlardan elde edilen serum BUN (kan üre azotu) değerlerine göre; parasetamol gurubunun BUN değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol+NAC ve Parasetamol+CAPE gurubunun BUN değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak düşük iken kontrol, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, CAPE ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.1. BUN değerleri

Grup	BUN (μL)
Kontrol	13.33 \pm 2,8 ^c
Parasetamol	30,52 \pm 2,07 ^a
Parasetamol+CAPE	18,83 \pm 2,78 ^b
Parasetamol+NAC	17,5 \pm 2,66 ^b
CAPE	14,33 \pm 1,36 ^c
Etanol	14,51 \pm 1,04 ^c

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). BUN: Kan üre azotu, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.2. Kreatinin Sonuçları

Ratlardan elde edilen Kreatinin değerlerine göre; parasetamol gurubunun Kreatinin değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Parasetamol+CAPE gurubunun Kreatinin değeri Parasetamol grubuna göre anlamlı olarak düşük iken kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (P<0,05). Ayrıca kontrol, Parasetamol+NAC, Cape ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.2. Kreatinin değerleri

Grup	CREA (ul/L)
Kontrol	0,25±0,08 ^c
Parasetamol	0,51±0,08 ^a
Parasetamol+CAPE	0,33±0,22 ^b
Parasetamol+NAC	0,29±0,09 ^c
CAPE	0,29±0,08 ^c
Etanol	0,29±0,14 ^c

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.3. SOD Sonuçları

Ratlardan elde edilen SOD değerlerine göre; parasetamol gurubunun SOD değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak

düşük ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol+CAPE gurubunun SOD değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak yüksek iken, kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.3. SOD değerleri

Grup	SOD (ng/ml)
Kontrol	1,05±0,5 ^a
Parasetamol	0,03±0,01 ^b
Parasetamol+CAPE	1,02±0,12 ^a
Parasetamol+NAC	1,06±0,04 ^a
CAPE	1,06±0,04 ^a
Etanol	1,05±0,04 ^a

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($P<0,05$). SOD: Süperoksit dismutaz, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.4. CAT Sonuçları

Ratlardan elde edilen CAT değerlerine göre; parasetamol gurubunun CAT değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol+CAPE gurubunun CAT değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak düşük kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.4. CAT değerleri

Grup	CAT (ng/ml)
Kontrol	1,81±0,17 ^a
Parasetamol	0,41±0,25 ^b
Parasetamol+CAPE	1,8±0,15 ^a
Parasetamol+NAC	2,04±0,34 ^a
CAPE	1,83±0,19 ^a
Etanol	1,78±0,05 ^a

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). CAT: Katalaz, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.5. GSH Sonuçları

Ratlardan elde edilen GSH değerlerine göre; parasetamol gurubunun GSH değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak düşük (P<0,05) bulunmuştur. Ayrıca kontrol, Parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, Cape ve Etanol gurupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.5. GSH değerleri

Grup	GSH (nmol/ml)
Kontrol	2,91±0,18 ^a
Parasetamol	0,53±0,17 ^b
Parasetamol+CAPE	1,9±0,14 ^a
Parasetamol+NAC	2,02±0,22 ^a
CAPE	2,74±0,14 ^a
Etanol	2,02±0,04 ^a

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). GSH: Glutasyon, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.6. TAS Sonuçları

Ratlardan elde edilen TAS değerlerine göre; parasetamol gurubunun TAS değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol+CAPE ve Parasetamol+NAC gurubunun TAS değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak düşük iken kontrol, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, CAPE ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.6. TAS değerleri

Grup	TAS (mmol Trolox Equivalent/L)
Kontrol	0,13±0,01 ^a
Parasetamol	0,08±0,009 ^c
Parasetamol+CAPE	0,11±0,01 ^b
Parasetamol+NAC	0,10±0,007 ^b
CAPE	0,12±0,04 ^a
Etanol	0,12±0,02 ^{a,b}

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($P<0,05$). TAS: Total antioksidan seviyesi, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.7. TOS Sonuçları

Ratlardan elde edilen TOS değerlerine göre; parasetamol gurubunun TOS değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol+CAPE ve Parasetamol+NAC gurubunun TOS değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak düşük kontrol, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, Parasetamol+NAC, CAPE ve Etanol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.7. TOS değerleri

Grup	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L)
Kontrol	0,08 \pm 0,01 ^b
Parasetamol	0,16 \pm 0,01 ^a
Parasetamol+CAPE	0,06 \pm 0,01 ^c
Parasetamol+NAC	0,06 \pm 0,01 ^c
CAPE	0,071 \pm 0,01 ^{b,c}
Etanol	0,075 \pm 0,01 ^{b,c}

a,b,c: Aynı sütünnda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). TOS: Toal oksidan seviyesi, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.8. MDA Sonuçları

Ratlardan elde edilen MDA değerlerine göre; parasetamol gurubunun MDA değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek (P<0,05) bulunmuştur. Parasetamol+CAPE ve Parasetamol+NAC gurubunun MDA değeri Parasetamol gurubuna göre anlamlı olarak düşük kontrol, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (P<0,05). Ayrıca kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE ve Etanol gurupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.8. MDA değerleri

Grup	MDA (nmol/mg protein)
Kontrol	0,13 \pm 0,17 ^c
Parasetamol	1,42 \pm 0,6 ^a
Parasetamol+CAPE	0,17 \pm 0,01 ^{b,c}
Parasetamol+NAC	0,20 \pm 0,02 ^b
CAPE	0,13 \pm 0,02 ^c
Etanol	0,15 \pm 0,01 ^c

a,b,c: Aynı sütünnda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05). MDA: Malondialdehit, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.9. 8-OHdG Sonuçları

Ratlardan elde edilen 8-OHdG değerlerine göre; parasetamol ve Parasetamol+NAC gurubunun 8-OHdG değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur. Parasetamol ve parasetamol+NAC gurubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Etanol gurubunun 8-OHdG değeri Parasetamol ve parasetamol+NAC gurubuna göre anlamlı olarak düşük kontrol, CAPE ve etanol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca kontrol, Parasetamol+CAPE, CAPE ve Etanol gurupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.9. 8-OHdG değerleri

Grup	8-OHdG (ng/ml)
Kontrol	1,24±0,02 ^b
Parasetamol	1,56±0,04 ^a
Parasetamol+CAPE	1,33±0,06 ^b
Parasetamol+NAC	1,52±0,05 ^a
CAPE	1,22±0,10 ^b
Etanol	0,99±0,29 ^c

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan guruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($P<0,05$). 8-OHdG: 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin, PARA: Parasetamol, NAC: N-asetil sistein, CAPE: Kafeik asit fenetil ester.

4.10. Eser Element Sonuçları (Mg, Cu, Zn, Se, Mn)

Ratlardan elde edilen eser element (Mg, Cu, Zn, Se, Mn) değerlerine göre; parasetamol grubunun eser element değerleri (Mg, Cu, Zn, Se, Mn), kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulunmuştur. Ayrıca parasetamol+CAPE ile parasetamol+NAC guruplarının Zn, Se, Mn element düzeyleri arasında anlamlı bir fark ($P<0,05$) bulunamamıştır.

Tablo 4.10. Doku eser element (Mg,Cu, Zn, Se, Mn) değerleri. Aynı sütundaki farklı harfler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlıdır P<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Grup	Mg (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Se (ppm)	Mn (ppm)
Kontrol	19,57±5,15 ^a	0,52±0,05 ^a	1,97±0,45 ^a	0,81±0,11 ^{a,b}	0,19±0,11 ^a
Parasetamol	11,72±1,81 ^c	0,32±0,02 ^b	0,80±0,04 ^b	0,42±0,44 ^c	0,08±0,06 ^c
Parasetamol+CAPE	15,30±1,47 ^b	0,33±0,03 ^b	1,77±0,40 ^a	0,71±0,05 ^b	0,12±0,11 ^b
Parasetamol+NAC	19,17±3,78 ^a	0,51±0,05 ^a	2,10±0,51 ^a	0,76±0,11 ^{a,b}	0,13±0,11 ^b
CAPE	18,75±1,71 ^{a,b}	0,53±0,53 ^a	2,07±0,24 ^a	0,85±0,12 ^a	0,14±0,10 ^b
Etanol	18,8±2,18 ^{a,b}	0,49±0,24 ^a	2,09±0,10 ^a	0,82±0,05 ^{a,b}	0,19±0,11 ^a

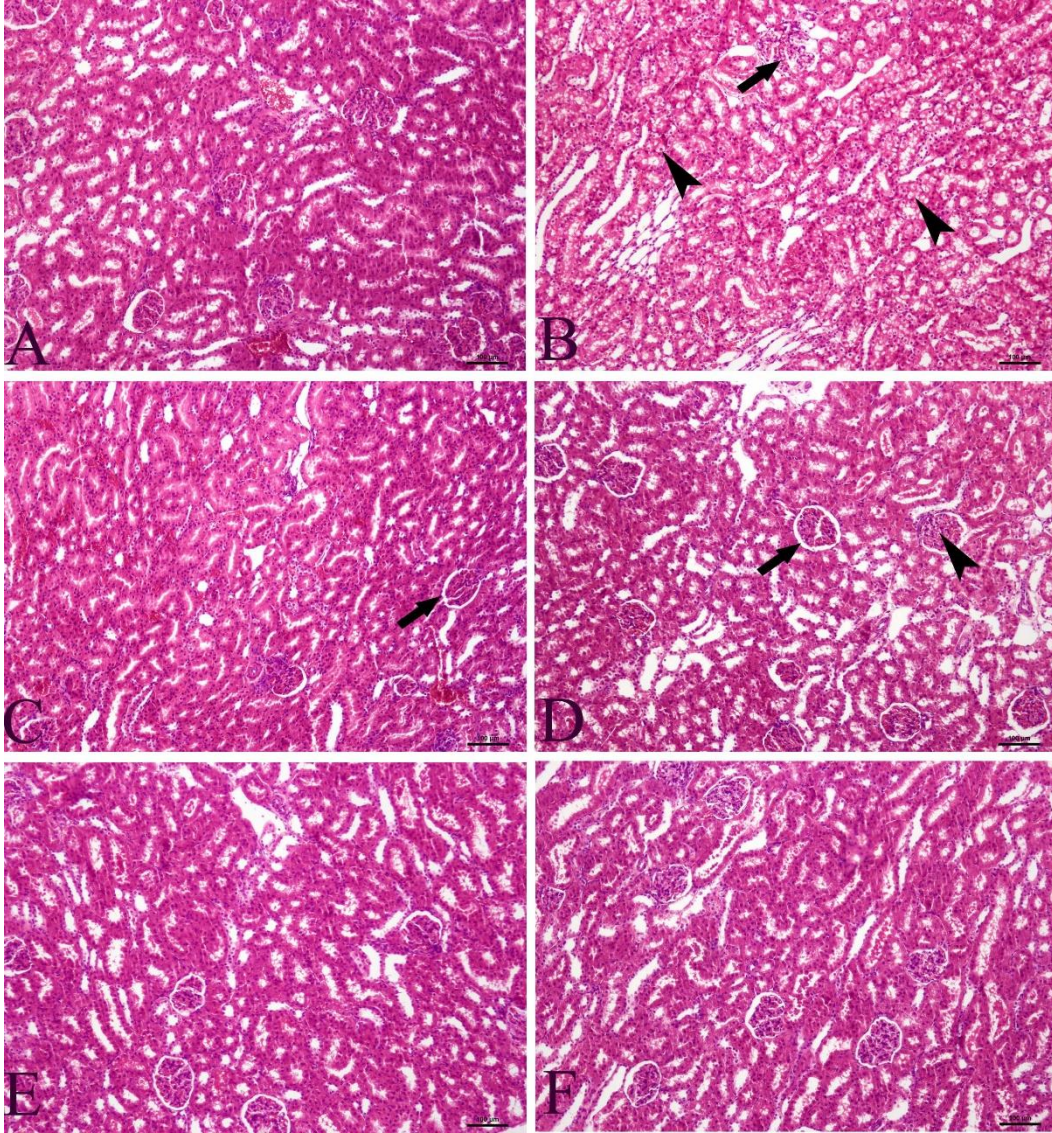
4.11. Histopatolojik Sonuçlar

Sağlıklı gruba ait kesitlerde böbreğe ait yapılar normal olarak değerlendirilirken, parasetamol grubunda bu yapılar da dejenerasyonlar gözlemlendi. Bunlar; tubulus epitelyum hücrelerinde vakuoler dejeneratif değişiklikler ve tubulus lümeninde dökülmüş epitel hücreleri izlendi. Parasetamol+NAC uygulanan gruba bakıldığında, tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejeneratif değişiklikler görüldü. Parasetamol+CAPE uygulanan gruptaki histopatolojik değişikliklere baktığımızda ise böbrek dokularında parasetamol+NAC grubuna göre az miktarda histopatolojik değişiklik görüldü. CAPE ve Etanol gruplarının böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler normal olarak izlendi.

Alınan böbrek dokusu örneklerinin histopatolojik analiz görüntüleri Şekil 4.1. de gösterilmiştir.

Gruplar aŐaęıdaki gibi ifade edilmiştir.

A: Kontrol Grubu, **B:** Parasetamol Grubu, **C:** Parasetamol+CAPE grubu, **D:** Parasetamol+NAC Grubu, **E:** CAPE grubu , **F:** Etanol grubu.



Şekil 4.1. Böbrek Histopatolojik inceleme

Ok: Tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejeneratif değişiklikler

Ok başı: Tubulus lümeninde dökülmüş epitel hücreleri

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Parasetamol ağrı ve ateşin tedavisi için günümüzde çok yaygın bir şekilde kullanılan ve piyasada bulunması, ulaşılması kolay olan antipiretik, analjezik ilaçtır. Terapötik dozda alındığında oldukça güvenlidir.

Yüksek doz alındığında ise parasetamolün bir kısmı sitokrom-p aracılı N- hidroksilasyonla reaktif bir ara ürün olan NAPQI'ya dönüşür. Böylece NAPQI miktarında artış görülür [126-128]. Hepatik glutatyon NAPQI'yı böbrekten elimine eder ve toksik olmayan asetaminofen-merkapturata dönüşür. Yüksek doz parasetamol alındığında, NAPQI aşırı oluşur ve karaciğerde bulunan GSH depolarını tüketirler. Daha sonra lipidler, proteinler ve DNA gibi alternatif hedeflerle reaksiyona girerler [129]. Yüksek doz parasetamol, öncelikle karaciğerde metabolize olduğu için intraselüler proteinlere bağlanır ve ciddi hepatotoksisiteye sebep olur. GSH miktarının tükenmesi serbest radikallere karşı vücudu savunmasız bırakır [129]. Bu durumda ortaya oksidatif stres çıkar. Akabinde antioksidan savunma sistemlerinin bozulmasıyla reaktif oksijen türlerinin düzeylerinde artış görülür. Bu da karaciğer hasar oluşumuna etki eder. Nefrotoksisite, hepatotoksisitenin ileriki evrelerinde görülür. Bazen de hepatotoksisite olmadan tek başına görülebilmektedir [130]. MDA'nın lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılan reaktif bir karbon bileşenidir [131]. GSH, antioksidan sistemin oksijen radikallerini nötralize etmesi için şart olduğundan, hücre içi GSH konsantrasyonu, böbrek hasar belirleyicisidir [132].

Yapılan bir çalışmada yüksek doz parasetamol alımının, GSH düzeylerini azaltırken, lipid peroksidasyonunun artmasına ve bu nedenle MDA düzeyinin artmasına neden olmuştur. Abdul Hamid ve arkadaşları 7 gün süren çalışmalarında, günlük 750 mg/kg parasetamol verdikleri grubun böbrek MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli derecede arttığını, ve GSH düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğunu bulmuşlardır [133].

Santra A. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sitokrom p450 uygulaması sonucunda MDA, hidrojen peroksit ve nitrit düzeylerinde artışın, GSH düzeyinde ise azalmanın

olduğu tespit edilmiştir. MDA, hidrojen peroksit ve nitrit düzeylerindeki artışın, GSH düzeyindeki azalmanın sitokrom p450 ile indüklenen oksidatif strese bağlı bir sonuç olduğunu bulmuşlardır [134].

Tripathi P. ve arkadaşları yine aynı şekilde sitokrom p450 uygulaması ile farelerin karaciğerinde SOD ve GSH düzeylerinde azalma, MDA düzeyinde ise artma tespit etmiştirler [135].

Yine bir başka çalışmada Galal ve arkadaşları tek doz (2 g/kg) uyguladıkları parasetamol grubunu kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında; parasetamol grubu karaciğer MDA seviyelerinde artışın; GSH seviyelerinde ise %66 oranında azalmanın olduğunu yüzdeler olarak göstermişlerdir [136].

Yapılan çalışmada elde edilen verilere göre parasetamol grubunun MDA düzeyi; kontrol, Parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE ve etanol guruplarına göre anlamlı olarak yükseldi ($P<0,05$) ve aynı zamanda parasetamol grubunun GSH düzeyi; kontrol, Parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE ve etanol guruplarına göre anlamlı olarak düştü ($p<0,05$).

SOD, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korunurken Abdul Hamid ve ark. parasetamole bağlı nefrotoksisitede *ZINGIBER ZERUMBET* ekstresinin rolünü araştırmışlar ve oluşan oksidatif hasarı SOD, GSH düzeyleri ile değerlendirmişlerdir. alışmalarında, oksidatif hasarı değerlendirmede kullandıkları SOD aktivitesi ve GSH düzeyleri karşılaştırıldığında Parasetamol grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi [137].

Ghosh ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sıçanlara parasetamol vererek böbrek toksisitesi oluşturmuşlar ve arjunolik asidin akut böbrek toksisitesindeki etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada akut böbrek toksisitesi oluşturulan grupta kontrol grubuna göre böbrek SOD ve GSH seviyesinde azalma, lipid peroksidasyon belirteci olan MDA seviyesinde artış görülmüştür [138.]

Parmar ve ark. (2010) parasetamol uyguladıkları çalışmada hepatotoksisite oluşturulan grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin düştüğü tespit edilmiştir [139].

Yapılan alışmada SOD ve CAT değerlerine bakıldığında parasetamol grubunun değerleri; kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulundu. Parasetamolun sebep olduğu toksisite sonucunda

oksidatif stres meydana gelebilir ve bunun sonucu olarakta böbrek hasarı oluşabilir. Oksidatif stres antioksidan seviyelerinin düşmesine neden olabilir.

Yapılan bir çalışmada karzonin ve melatoninin asetaminofen aracılı akut hepatotoksisite üzerine etkileri araştırılmıştır. Asetaminofen grubunun TOS ve oksidatif stres indeksi değerleri kontrol grubuna göre artış gösterirken asetaminofen ile birlikte karzonin ve melatonin verilen grupların yükselen TOS ve OSİ değerlerini anlamlı olarak düşürdüğü bildirilmiştir. Karzoninin etkisi bu anlamda melatonine göre daha yüksek bulunmuştur. TAS değerlerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır [143].

Elde edilen verilerde, parasetamol grubu TOS düzeyi; kontrol, parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE ve etanol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseldi ($P<0,05$), parasetamol TAS düzeyi ise: kontrol, parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE ve etanol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulundu ($P<0,05$). Bu da bize parasetamol grubunun oksidatif stres nedeniyle total antioksidan seviyesinin düştüğünü ve oksidan seviyesinin arttığını göstermiştir. Parasetamol+CAPE ve parasetamol+NAC gruplarının, CAPE ve NAC'nin antioksidan özelliği nedeni ile parasetamol grubuna göre; TOS değerleri düşük, TAS değerleri ise yüksek bulundu.

Salonen ve arkadaşları tarafından plazma Cu seviyesi yüksek insanlarda lipid peroksidasyonun damar duvarına olumsuz etkileri sonucu, miyokard enfarktüs riskinin normal popülasyonla kıyaslandığında 4 kat fazla olduğu gösterilmiştir [150]. Eser elementlerin ve bunlardan özellikle Zn, Cu ve Fe'nin lipid peroksidasyon üzerine etkileri vardır [151].

Superoksitdizmutaz (SOD) enziminin kofaktörü olan Zn, serbest oksijen radikal tutulmasında rol oynamaktadır [152].

Semra Özdemir ve arkadaşları, selenyum alımının, kurşun etkisiyle artan malondialdehit seviyesini azaltarak, testis çinko ve bakır düzeyleri üzerinde düzenleyici bir rol oynadığını göstermektedir [153].

Cu ve Zn oksidan/antioksidan sistemlerde reaksiyonların etkileşiminde değişime uğrayan önemli elementlerdir [154].

Bizde bazı antioksidanların kofaktörü olan eser element düzeylerini inceledik ve elde ettiğimiz sonuçlar, eser elementlerin aynı guruplarda benzer sonuçlar verdiğini göstermiştir. Mg, Cu, Zn, Se, ve Mn değerlerine baktığımızda; parasetamol grubunun Mg, Cu, Zn, Se, ve Mn değerleri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE,

Etanol gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulunmuştur. Aynı şekilde parasetamol grubunda elde edilen SOD, CAT, GSH gibi antioksidan seviyeleri ve TAS seviyeleri; kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($P<0,05$) bulunmuştur.

Artmış serum üre ve kreatin değerleri, klinik öncesi, klinik sonrası çalışmalarda ve klinik bakımdan böbrek toksisitesini tespit etmek için kullanılan yaygın parametrelerdir [140]. Parasetamolün karaciğer toksisitesinin yanı sıra önemli derecede renal bozukluğa yol açtığı plazma üre ve kreatin değerleriyle kanıtlanmıştır. Renal hastalıklarda üre üretim hızının artması nedeniyle serumda üre birikimi olur çünkü serum üre üretim hızı klerans hızını geçer [141].

Yousef ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sıçanlarda parasetamol indüklemesi ile oluşturdukları böbrek hasarı, böbrek fonksiyonlarında bozulmanın yanı sıra hepatotoksisite oluşturmuşlar ve plazma, beyin, mide, kalp, karaciğer, böbrek, testis gibi dokularda quercetin ve curcumin isimli maddelerin potansiyel koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta kontrol, sağlıklı ve tedavi gruplarına nazaran serum üre ve kreatinin seviyelerinde belirgin bir artış olduğunu bulmuşlardır [142].

Yapılan bu deneysel çalışmada BUN ve Kreatinin düzeyleri ölçüldü, böbrek toksisitesi değerlendirilmiştir. Böbrek fonksiyonlarına CAPE'nin etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmada elde edilen verilere bakıldığında parasetamol grubunun BUN ve kreatinin değerleri kontrol, CAPE ve etanol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artarken ($p<0,05$), paraetamol+NAC ve parasetamol+CAPE uygulanan gruplarda aynı istatistiksel artış gözlenmedi. Parasetamol+NAC ve parasetamol+CAPE grupları kendi aralarında karşılaştırıldı. BUN düzeyleri arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmazken ($p<0,05$), kreatinin düzeylerine baktığımızda parasetamol+NAC grubunun düzeyi parasetamol+CAPE grubuna göre daha düşük bulundu. Bu sonuçlar CAPE'nin parasetamol toksisitesinde böbrek fonksiyonları üzerine olumlu etkilerini destekledi.

8-OHdG oluşan, oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir [144].

Reaktif oksijen türleri DNA da oksidatif baz hasarlarına oluşmasına neden olmaktadır ve 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin (8-OHdG) oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir [145].

Yapılan çalışmada 8-OHdG seviyeleri ölçüldü. Elde edilen 8-OHdG değerine bakıldığında; parasetamol grubunun 8-OHdG değeri, kontrol, parasetamol+CAPE, Parasetamol+NAC, CAPE, Etanol guruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($P<0,05$) bulundu. Ayrıca parasetamol+CAPE grubunun 8-OHdG değeri, Parasetamol+NAC grubunun 8-OHdG değerinden olarak düşük ($P<0,05$) bulundu. Bu da bize parasetamol grubunun yüksek olması nedeniyle, parasetamolun oksidatif DNA hasarı oluşturabileceğini ve CAPE'nin DNA üzerine koruyucu özelliğinin, NAC'den daha etkili olduğunu gösterdi.

Parasetamol zehirlenmesinin standart tedavisi NAC'dir. NAC, amino asit L-sistein ve GSH'nın her ikisinin asetilenmiş bir prekürsörüdür ve yıllardır parasetamol aşırı alımlarına bağlı toksisitenin önlenmesi için bir antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarıyla NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmaktadır [146]. Bu sebeple CAPE nin böbrekler hasarı üzerindeki koruyucu etkisini, NAC uygulaması ile kıyaslayarak çalıştık. Ayrıca CAPE'yi etanolde çözüp deney hayvanlarına uyguladığımız için CAPE nin içindeki seyreltik etanolün bir etkisinin olup olmadığını anlayabilmek için, ayrı bir etanol gurubu da oluşturduk.

Provoost ve arkadaşları da yaptığı çalışmada amikasin ve gentamisinini genç ve erişkin ratlara uygulamışlar, bu çalışmada da genç ratların proksimal tübüllerinde erişkin ratlar göre daha az hasar ve histopatolojik değişiklik görülmüştür. Her iki grupta da aminoglikozidin renal geri alımı benzer bulunmuş, fakat genç ratlarda böbrekteki aminoglikozid konsantrasyonu erişkin ratlardan anlamlı olarak az bulunmuştur. Bu farkın genç ratlarda vücut ağırlığına oranla yaş böbrek ağırlığının relatif olarak fazla olmasına bağlandığı bildirilmiştir [146].

Yousef ve arkadaşları Parasetamol ile oluşturdukları hepatotokside ışık mikroskopu altında karaciğer doku kesitlerini incelediler ve parasetamol grubu histolojik görüntülerinde şişmiş sentrilobüler hepatositler, oldukça fazla vakuolleşmiş sitoplazma ve lekeli çekirdek yapısı görmüşlerdir [147].

Yine bir başka çalışmada Naguib ve arkadaşları Parasetamol ile indüklenmiş hem karaciğer hemde böbrek dokusunda ortaya çıkan hasarı mikroskopik olarak incelemişlerdir. Karaciğerde sentrilobüler nekrozun, yağlanmanın ve karaciğer parankimine sızmış

lenfositlerin varlığından bahsetmişlerdir. Böbrekte ise proksimal tübülün kogülatif nekrozundan ve yer yer kanamaların olduğunu ortaya koymuşlardır [148].

Hagar ve arkadaşlarının sisplatin ile oluşturdukları nefrotoksisitede koruyucu olarak betain kullandıkları çalışmada böbrek kesitlerini ışık mikroskobu altında incelemişlerdir. Sisplatin uyguladıkları grubun görüntülerinde proksimal tübüllerde dilatasyon, vakuoler dejenerasyon, epitelyal deskuamitasyonu takip eden nekroz gösterilmiştir. Betainin koruyucu olarak uygulandığı grupta ileri derecede iyileşmenin olduğu, dejenerasyonun ve proksimal tübüllerdeki dilatasyonun azaldığından bahsetmişlerdir [149].

Yapılan çalışmada, sağlıklı gruptan alınan dokulardaki histopatolojik incelemede, fare böbrek dokularında glomerüller ve tübüler yapılar normal histolojik görünümdeydi. Parasetamol grubunda ise, vakuoler dejeneratif değişiklikler görüldü. CAPE+Parasetamol verilen grupta ise çok az dejenarasyon ve normal histopatolojik görüntüler izlendi. Yapılan histopatolojik analizlerimiz, biyokimyasal değerlendirmelerimizi destekler nitelikteydi.

Sonuç olarak; CAPE parasetamol indüklü nefrotoksisite modelinde koruyucu olarak etkin bir sonuç göstermiştir. Parasetamol ile CAPE birlikte alındığında, antioksidan parametrelerini iyileştirdiği ve serbest radikal oluşumunu indirdiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada ilk kez parasetamol indüklü nefrotoksisite modelinde CAPE'nin koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın nefrotoksisitenin tedavi yöntemi ve mekanistik işleyişi bakımından literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Bywaters EG, Beall D. Crush Injuries with Impairment of Renal Function. British medical journal, 1941, 1: 427-432
- [2] Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. The Journal of clinical investigation, 2004, 114: 5-14.
- [3] Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. The New England journal of medicine, 2004, 351: 159-169.
- [4] Ulusal Zehir Danışma Merkezi 2008 Yılı Çalışma Raporu Özeti, 2009.
- [5] Lippman M. Medical Emergencies. Baskı.
- [6] Esener ZK. Klinik Anestezi Genişletilmiş. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 2004.
- [7] Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. Toxicology letters, 2003, 144: 279-88.
- [8] Miller RD. Anesthesia. Second Baskı. Churchill Livingstone, 1986.
- [9] Barash, GP, Bruce FC, Stoelding R. Klinik Anestezi El Kitabı. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 1989: 129-134.
- [10] Morgan G, Mikhail M, Murray M, Larson C. Clinical Anesthesiology. 3rd Baskı. Lange, 2001.
- [11] Mazze RI. The Safety of Sevoflurane in Humans. Anesthesiology, 1992, 77: 1062-1063.
- [12] Kandel L, Laster MJ, Eger EI, Kerschmann RL, Martin J. Nephrotoxicity in Rats Undergoing a One-Hour Exposure to Compound-A. Anesthesia and Analgesia, 1995, 81: 559-563.
- [13] Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. Critical Reviews in Toxicology, 2001, 31: 55-138.
- [14] Stern ST, Bruno MK, Hennig GE, Horton RA, Roberts JC, Cohen SD. Contribution of acetaminophen-cysteine to acetaminophen nephrotoxicity in CD-1 mice: I. Enhancement of acetaminophen nephrotoxicity by acetaminophen-cysteine. Toxicology and Applied Pharmacology, 2005, 202: 151-159.

- [15] Ucar F, Taslipinar MY, Alp BF, Aydin I, Aydin FN, Agilli M, Toygar M, Ozkan E, Macit E, Oztosun M, Cayci T, Ozcan A. The effects of N-acetylcysteine and ozone therapy on oxidative stress and inflammation in acetaminophen-induced nephrotoxicity model. *Renal Failure* , 2013, 35: 640-647.
- [16] Ahmad ST, Arjumand W, Nafees S, Seth A, Ali N, Rashid S, Sultana S. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in Wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicology Letters*, 2012, 208: 149-161.
- [17] Lorz C, Justo P, Sanz A, Subira D, Egido J, Ortiz A. Paracetamol-induced renal tubular injury: a role for ER stress. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2004, 15: 380-389.
- [18] Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Journal of Medical Toxicology*, 2008, 4: 2-6.
- [19] Mirzoena OK, Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins, Leukot and Essent Fatty Acids* 55:441-449, 1996.
- [20] Şahin Ş, Söğüt S, Özyurt H, Uz E, İlhan A, Akyol Ö. Tissue xantine oxidase activity and nitric oxide levels after spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: comparison of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and methylprednisolone. *Neurosci Res Commun* 31: 111-121, 2002.
- [21] Dobrowolski JW, Vohoraq SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SAH, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiameobic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 35: 77-82, 1991.
- [22] Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the watersoluble derivate. *Vaccine* 10: 817-823, 1992.
- [23] Edenharder R, von Petersdorff I, Rauscher R. Antimutagenic effects of flavanoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino- 3 methylimidazol (4,5-f) quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res* 287: 261-74, 1993.
- [24] Krol W, Czuba Z, Scheller S, Gabrys J, Grabiec S, Shani J. Anti-oxidant property of etanolic extract of propolis (EEP) evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int* 21: 593-97, 1990.
- [25] Pascual C, Gonzales R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 41: 9-13, 1994.
- [26] Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334:.
- [27] Keener, James; Sneyd, James (2004). "20: Renal Physiology". In Marsden, J.E. *Mathematical Physiology (Book)*. Interdisciplinary Mathematics. *Mathematical Biology* Vol. 8. Sirovich, Wiggins (1st ed.). New York, NY: Springer Science +Business Media LLC. s. 6.

- [28] El-Sayed EM. Thymol and Carvacrol Prevent Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Abrogation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2014.
- [29] Somchit MN, Sanat F, Hui GE, Wahab SI, Ahmad Z. Mefenamic Acid induced nephrotoxicity: an animal model. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2014, 4: 401- 404.
- [30] Weinberg JM. *The cellular basis of nephrotoxicity* 5. Baskı. Boston, Brown and Company, 1993: 1031-1098.
- [31] Somani SM, Husain K, Whitworth C, Trammell GL, Malafa M, Rybak LP. Dosedependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: Antioxidant defense system. *Pharmacology & Toxicology*, 2000, 86: 234-241.
- [32] Hayes W. *Principles and Methods of Toxicology* 5 Baskı. Philadelphia, 2006: 1509
- [33] Gu J, Cui H, Behr M, Zhang L, Zhang QY, Yang W, Hinson JA, Ding X. In vivo mechanisms of tissue-selective drug toxicity: effects of liver-specific knockout of the NADPH-cytochrome P450 reductase gene on acetaminophen toxicity in kidney, lung, and nasal mucosa. *Molecular Pharmacology*, 2005, 67: 623-630
- [34] Curry RW, Jr., Robinson JD, Sughrue MJ. Acute renal failure after acetaminophen ingestion. *JAMA*, 1982, 247: 1012-1014.
- [35] Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American Journal of Kidney Diseases*, 1996, 28: S3-6.
- [36] Blakely P, McDonald BR. Acute renal failure due to acetaminophen ingestion: a case report and review of the literature. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1995, 6: 48-53.
- [37] Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 1982, 284: 21-22.
- [38] Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
- [39] Kittisupamongkol W. Liver injury from diclofenac or acetaminophen? *The American journal of gastroenterology*, 2009, 104: 1862.
- [40] Boyland E, Chasseaud LF. The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 1969, 32: 173-219
- [41] Slattery JT, Levy G. Pharmacokinetic model of acetaminophen elimination. *American journal of hospital pharmacy*, 1979, 36: 440.
- [42] Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics*. 78th ed. Boca, Raton: CRC Press. 1997.

- [43] Verschueren K. Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. 3rd ed. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1996: 1444.
- [44] Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 2006, 12: 250-275.
- [45] Küçükardalı, Y., Cinan, U., Acar, H. V., Özkan, S., Top, C., Nalbant, S., Danacı, M. (2002). Comparison of the Therapeutic Efficacy of 4- Methylpyrazole and N-Acetylcysteine on Acetaminophen (Paracetamol) Hepatotoxicity in Rats. *Current Medical Research and Opinion*, 18(2): 78-81.
- [46] Prescott, L. F. (1980). Kinetics and metabolism of Paracetamol and Phenacetin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 10: 291-298.
- [47] Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Citil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and toxicologic pathology: official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, 2007, 59: 121-128.
- [48] Graham, G. G., Scott, K. F., & Day, R. O. (2005). Tolerability of Paracetamol. *Drug Safety*, 28(3): 227-240.
- [49] Pacifici, G. M., & Allegaert, K. (2015). Clinical Pharmacology of Paracetamol in Neonates: A Review. *Current Therapeutic Research*, 77: 24-30.
- [50] Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in pharmacological sciences*, 2003, 24: 154-157.
- [51] Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.
- [52] Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Citil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, 2007, 59: 121-128.
- [53] Prescott LF. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *British journal of clinical pharmacology*, 1980, 10 Suppl 2: 291-298.
- [54] Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 1996, 28: 3-6.
- [55] Hu JJ, Lee MJ, Vapiwala M, Reuhl K, Thomas PE, Yang CS. Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicology and applied pharmacology*, 1993, 122: 16-26.
- [56] Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology letters*, 1997, 93: 15-22.

- [57] Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 1982, 284: 21-22.
- [58] Tintinalli JE. *Tintinalli's Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide*, 7th ed. New York, McGrawHil, 2011: 1246-1252.
- [59] Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.
- [60] Prescott LF, Matthew H. Cysteamine for paracetamol overdose. *Lancet*, 1974, 1: 998.
- [61] Çalışkan, D., 2014, "Ratlarda parasetamole bağlı akut karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu etkisi", Uzmanlık Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Isparta, 1-18.
- [62] Havare, P., 2011, "Parasetamol kullanımının rat karaciğer serbest radikal metabolizması ile ilişkisi: N-asetilsistein'in etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 24-46.
- [63] Rayle AD, Kulis S, Okamoto SK, Tann SS, Lecroy CW, Dustman P, Burke AM. Who is Offering and How Often?: Gender Differences in Drug Offers Among American Indian Adolescents of the Southwest. *The Journal of early adolescence*, 2006, 26: 296-317.
- [64] Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of clinical gastroenterology*, 1991, 13: 79-82.
- [65] Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*, 2001, 24: 503-512.
- [66] Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ippecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of emergency medicine*, 1990, 7: 148-154.
- [67] Polat, M., 2013, "Parasetamol zehirlenmesi ile oluşturulan karaciğer hasarında Leptin'in karaciğer hasarı üzerine etkisinin değerlendirilmesi", Uzmanlık Tezi, *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Erzurum, 6-14.
- [68] Yetkin, İ., 2013, "Febril konvulsiyonla başvuran çocuklarda serum S100B düzeyi ve oksidatif durumun ilişkisinin araştırılması", Uzmanlık Tezi, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Şanlıurfa, 28-41.
- [69] Çakatay, U., & Kayalı, R. (2006). Serbest radikal biyokimyasımın tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37: 162-167.
- [70] Polat, M., 2013, "Parasetamol zehirlenmesi ile oluşturulan karaciğer hasarında Leptin'in karaciğer hasarı üzerine etkisinin değerlendirilmesi", Uzmanlık Tezi, *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Erzurum, 6-14.

- [71] Yetkin, İ., 2013, “Febril konvulsiyonla başvuran çocuklarda serum S100B düzeyi ve oksidatif durumun ilişkisinin araştırılması”, Uzmanlık Tezi, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Şanlıurfa, 28-41.
- [72] Yıldırım, H., 2016, “Süleymanşah konaklama tesislerinde Leishmaniazis (şark çıbanı) olan çocuk hastalarda adenozin deaminaz (ADA) ve oksidatif stres parametrelerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 13-20.
- [73] Chabot, F., Mitchell, J. A., Gutteridge, J. M., & Evans, T. W. (1998). Reactive oxygen species in acute lung injury. *European Respiratory Journal*, 11: 745-757.
- [74] Şahin, F. (2011). Piaglitazonun böbrek iskemi-reperfüzyonu üzerine olan koruyucu etkisinin incelenmesi. Uzmanlık tezi, Trakya Üniversitesi, Trakya.
- [75] Farber, J. L. (1994). Mechanism of Cell Injury by Activated Oxygen Species. *Environmental Health Perspective*, 102: 17-24.
- [76] Bruckdorfer, R. (2005). The basics about nitric oxide. *Molecular Aspects of Medicine*, 26: 3-31.
- [77] Velioğlu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D., 1998, “Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products”, *J. Agric. Food Chem.*, 46: 4113-4117.
- [78] Ecevit, H., 2013, “Orak hücreli anemili hastalarda, oksidatif stres belirteci olarak 8-hidroksi deoksi guanozin, malonil dialdehit ve protein karbonil düzeylerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Hatay, 22-47.
- [79] Kartal, Ş., 2013, “Karbonmonoksit zehirlenmesi hastalarda oksidan/antioksidan ve oksidatif stres indeks seviyelerinin değerlendirilmesi”, Uzmanlık Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Gaziantep, 14-20.
- [80] Çobanoğlu, S., 2011, “Deneyisel ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda L-arjinin, TAS, TOS ve oksidatif stres indeksine etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Edirne, 16-18.
- [81] Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.
- [82] Pacifici RE, Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 1991, 37: 166-180.
- [83] Capellini VK, Celotto AC, Baldo CF, Olivon VC, Viaro F, Rodrigues AJ, Evora PR. Diabetes and vascular disease: basic concepts of nitric oxide physiology, endothelial dysfunction, oxidative stress and therapeutic possibilities. *Current Vascular Pharmacology*, 2010, 8: 526-544.
- [84] Fiorentino TV, Prioleta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19: 5695-5703.

- [85] Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 2012, 44: 88-106.
- [86] Dimova S, Hoet PH, Dinsdale D, Nemery B. Acetaminophen decreases intracellular glutathione levels and modulates cytokine production in human alveolar macrophages and type II pneumocytes in vitro. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37: 1727-1737.
- [87] Escamilla Jiménez, C. I., Cuevas Martínez, E. Y., Guevara Fonseca, J., 2009, "Flavonoides y sus acciones antioxidantes", *Medigraphic Artemisa*, 52(2): 73-75.
- [88] Torel, J., Cillard, J., Cillard, P., 1986, "Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical", *Phytochemistry*, 25(2): 383-385.
- [89] Busch, DB., 1993, 'Radiation and chemotherapy injury: pathophysiology, diagnosis, and treatment', *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 15: 49-89.
- [90] Başkol, G., 2001, "Down sendromlularında plazma çinko, selenyum, magnezyum, serum serbest T3, serbest T4, TSH ve plazma total antioksidan kapasitenin incelenmesi", Uzmanlık Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Samsun, 4-30.
- [91] Arslan, A., 2012, "Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda katalaz ve karbonik anhidraz enzim aktiviteleri ve bazı mineral, eser element ve ağır metal düzeylerinin araştırılması", Doktora Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 4-12.
- [92] Solak Görmüş, I. Z., Ergene, N., 2003, "Magnezyumun klinik önemi", *Genel Tıp Dergisi*, 12(2): 69-75.
- [93] Demirkan, F. G., 2016, "Hışıltılı çocuklarda magnezyum düzeyi", Tıpta Uzmanlık Tezi, *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Kayseri, 15-39.
- [94] Büyükgedikli, F., 2016, "Plazma magnezyum düzeyleri ile infantil kolik arasındaki ilişki", Tıpta Uzmanlık Tezi, *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Kayseri, 11-12.
- [95] Özçalışkan, H., 2015, "Tıp 2 diyabetik bireylerde diyet magnezyum alımı ve serum magnezyum düzeyi ile metabolik kontrol parametreleri arasındaki ilişkinin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 18-32.
- [96] Ateş Alkan, F., 2014, "Akut böbrek hasarlı hastalarda farklı hemofiltrasyon modellerinin eser elementler üzerine etkilerinin araştırılması", Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 23-34.
- [97] Gaetke, L. M., Chow, C. K., 2003, "Copper toxicity, oxidative stress and antioxidant nutrients", *Elsevier Toxicology*, 189: 147-163.
- [98] Canbey, Ö., 2014, "Mesane tümörlü hastalarda ve normal mesane dokularında eser element düzeylerinin karşılaştırılması", Uzmanlık Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Van, 34-45.

- [99] Altiner, P., 2013, “Eser elementlerin yol açtığı DNA hasarlarının seminal plazma ve sperm kromatin yapısı üzerine etkisinin tek hücre jel elektroforez (COMET ASSAY) yöntemi ile analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 16-19.
- [100] Mira, L., Fernandez, M. T., Santos, M., Rocha, R., Florencio M. H., Jennings, K. R., 2002, “Interactions of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity”, *Free Radical Research*, 36(11): 1199-1208.
- [101] Özalp, C., 2013, “Ekstrakorporal dolaşımda venöz kandaki eser elementlerin T.A.S (total antioksidan seviyesi) T.O.S (total oksidan seviyesi) O.S.İ (oksidatif stres indeksi) ile ilişkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 57-75.
- [102] Araz, Ö., 2017, “Doğumsal aminoasit metabolizması bozukluğuna bağlı düşük proteinli beslenme tedavisi alan çocuklarda plazma eser element düzeylerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 23-33.
- [103] Kam, K., 2016, “Kist hidatidli koyunlarda serum ve kist sıvısının mineral içeriğinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Van, 18-31.
- [104] Şahin, E., 2014, “Eser element (selenyum ve çinko) ve antioksidan enzim (glutasyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz) düzeylerinin diabetes mellitus gelişimi ve komplikasyonlarının belirlenmesindeki rolünün araştırılması”, Uzmanlık Tezi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Kahramanmaraş, 14-19.
- [105] Bray, T. M., Bettger W. J., 1990, “The physiological role of zinc as an antioxidant”, *Free Radical Biology & Medicine*, 8: 281-291.
- [106] Akdeniz, V., Kınık, Ö., Yerlikaya, O., Akan, E., 2016, “İnsan sağlığı ve beslenme fiziolojisi açısından çinkonun önemi”, *Sidas Medya Akademik Gıda*, 14(3): 307-314.
- [107] Venardos, K. M., Kaye, D. M., 2007, “Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems and selenium : A review”, *Current Medicinal Chemistry*, 14: 1539-1549.
- [108] Battin, E. E., Perron, N. R., Brumaghim, J. L., 2006, “The central role of metal coordination in selenium antioxidant activity”, *Inorganic Chemistry Communication*, 45: 499-501.
- [109] Sunay, M., 2010, “Selenyum ve vitamin E'nin prostat kanseri riski üzerine etkileri”, *Türk Üroloji Seminerleri*, 1: 164-167.
- [110] Rayman, M. P., 2012, “Selenium and human health”, *Lancet*, 379: 1256-68.
- [111] Başardı, A., 2012, “Akrolein ve selenyum verilmiş ratlarda (*Wistar albino*) karaciğerde meydana gelen histolojik değişikliklerin ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması”, Doktora Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 53-59.

- [112] Bankova V. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *J ApiProd ApiMed Sci*. 2009;1(2): 23–8.
- [113] Crane E. *Bees and beekeeping*, Heinemann Newnes 1990.
- [114] Cicala C, Morello S, Iorio C, Capasso R, Borrelli F, Mascolo N. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life Sci*. 2003;73(1): 73–80.
- [115] Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;299(3): 915–20.
- [116] Márquez N, Sancho R, Macho A, Calzado MA, Fiebich BL, Muñoz E. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-kappaB transcription factors. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;308(3): 993–1001.
- [117] Su ZZ, Grunberger D, Fisher PB. Suppression of adenovirus type 5 E1A-mediated transformation and expression of the transformed phenotype by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Mol Carcinog* 1991;4(3): 231–42.
- [118] Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*. 2002;73: 21–9.
- [119] Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz HR. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. Prognostic value of malondialdehyde, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and nitric oxide determination. *Mol Cell Biochem*. 2005;277(1-2): 73–80.
- [120] da Cunha-Fernanda M, Duma D, Assreuy J, Buzzi FC, Niero R, Campos MM, Calixto JB. Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. *Free Radic Res*. 2004;38(11): 1241– 53.
- [121] Chen M, Chang W, Lin C, Liu C, Wang T, Chu C, Shih S, Chen Y. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis of human pancreatic cancer cells involving caspase and mitochondrial dysfunction. *Pancreatol*. 2008;8(6): 566–76.
- [122] Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology*. 2005;209(1): 1–14.
- [123] Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Aydinç M, Karaman A, Gültek A, Akyol O, Gürsoy MH, Aydın E. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg*. 1999;34(10): 1458–62.
- [124] Karcıoğlu, S.S., Palabiyik, S.S., Bayir, Y., Karakus, E., Mercantepe, T., Halici, Z., Albayrak, A., 2016, 'The Role of RAAS Inhibition by Aliskiren on Paracetamol-Induced Hepatotoxicity Model in Rats', *Journal of Cellular Biochemistry*, 117:638–646.
- [125] Uzkeser, M., Karakus, E., Albayrak, A., Kiki, İ., Bayir, Y., Cadirci, E., Unal, D., Halici, Z., and Karadeniz, A., 2012. Protective effect of Panax ginseng against N-acetyl-p-

aminophenol-induced hepatotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 6(36), 2634-2642

[126] Yayla, M., 2012, “Bosentanın parasetamolle indüklenen akut karaciğer toksisitesi üzerine etkilerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 1-64.

[127] Bozoğluer, E., 2009, “Ratlarda oluşturulan parasetamol hepatotoksitesisi üzerine flumazenilin terapötik etkinliğinin araştırılması”, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 5-20.

[128] Ghanem, I. C., María, j. P., Manautou, J. E., Mottino, D. A., 2016, “Acetaminophen; from liver to brain: new insights into drug pharmacological action and toxicity”, *Pharmacol Res.* 109: 119-131.

[129] Ferah, I., 2012, “İnflksimabın parasetamolle indüklenen akut karaciğer toksisitesi üzerine etkilerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 7-72.

[130] Ozkaya O, Genc G, Bek K, Sullu Y. A case of acetaminophen (paracetamol) causing renal failure without liver damage in a child and review of literature. *Renal Failure*, 2010, 32: 1125-1127.

[131] Ozkol HU, Musa D, Tuluce Y, Koyuncu I, 2012: Ameliorative influence of *Urtica dioica* L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Drug and Chemical Toxicology*, 35, 3, 251-257.

[132] Felgines C, Texier O, Morand C, Manach C, Scalbert A, Régerat F, Remesy C, 2000: Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279, 6, G1148-G1154.

[133] Hamid, Z. A., Budin, S. B., Jie, N. W., Hamid, A., Husain, K., & Mohamed, J. (2012). Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 13(3): 176-185.

[134] Santra A, Chowdhury A, Chaudhuri S, et al. Oxidative stress in gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. *Indian J Gastroenterol* 2000; 19: 21-3.

[135] Tripathi P, Patel RK, Tripathi R, et al. Investigation of antigenotoxic potential of *Syzygium cumini* extract (SCE) on cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Drug Chem Toxicol* 2013; 36:396-402.

[136] Galal, R. M., Zaki, H. F., El-Nasr, M. M., & Agha, A. M. (2012). Potential Protective Effect of Honey Against Paracetamol-induced Hepatotoxicity. *Archives of Iranian Medicine*, 15(11): 674-680.

[137] Abdul Hamid Z, Budin SB, Wen Jie N, Hamid A, Husain K, Mohamed J. Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2012, 13: 176-185.

- [138] Ghosh J, Das J, Manna P, Sil PC. Acetaminophen induced renal injury via oxidative stress and TNF-alpha production: therapeutic potential of arjunolic acid. *Toxicology*, 2010, 268: 8-18.
- [139] Parmar SR, Vashrambhai PH, Kalia K, 2010: Hepatoprotective activity of some plants extract against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 4, 101- 106.
- [140] Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *J Med Toxicol*, 2008, 4: 2-6.
- [141] Mayne TJ, Norcross JC, Sayette MA. Admission requirements, acceptance rates, and financial assistance in clinical psychology programs. Diversity across the practitioner research continuum. *Am Psychol*, 1994, 49: 806-11.
- [142] Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 3246-61.
- [143] Fedakar, Ö., 2010, “Karzonin ve melatoninin asetaminofen aracılı akut karaciğer toksisitesi üzerine olan etkilerinin araştırılması”, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, 36-42.
- [144] Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J, 2003: Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 531, 1, 5-23.
- [145] De Martinis BS, De Lourdes Pires Bianchi M (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res*, 46 (2): 129-31.
- [146] Provoost AP, Adejuyigbe O, Wolff ED. Nephrotoxicity of aminoglycosides in young and adult rats. *Pediatr Res*. 1985;19(11):1191-1196
- [147] Hagar, H., El Medany, A., Salam, R., El Medany, G., & Nayal, O. A. (2015). Betaine supplementation mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative/nitrosative stress and suppression of inflammation and apoptosis in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67: 133-141.
- [148] Naguib, Y. M., Azmy, R. M., Samaka, R. M., & Salem, M. F. (2014). Pleurotus ostreatus opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen-induced hepato-renal injury. *Complementary and Alternative Medicine*, 14:494.
- [149] Yousef, M. I., Omar, S. A., El-Guendi, M. I., & Abdelmegid, L. A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 3246-3261.
- [150] Salonen JT, Salonen R, Korpela H, Suntioinen S, Tuomiletho J. Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: A prospective study in men in Eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1991;134:268-74.
- [151] . Halliwell B, GuHeridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984;219:1-14.

[152] Khaled S, Brun JF, Bardet ML, Cassanas G, Monnier JF, Orsetti A. Serum zinc and blood rheology in sportsmen. *Cli Hemorheol Microcirc* 1997;17:47-58.

[153] Semra ÖZDEMİR, Şefik DURSUN, Testis Dokusunda Kurşun Toksikitesi ve Eser Element İlişkisi Üzerine Selenyum ve Kateşinin Rolü, *Cerrahpafla Tıp Dergisi* 2007; 38: 95 - 98 ISSN:1300-5227.

[154] Batra N, Nehru B, Bansal MP. The effect of zinc supplementation on the effects of lead on the rat testis. *Reproductive Toxicology* 1998; 12: 535-540.

[155] Prof. Dr. Zeki Zeren İnsan Anatomisi Ekin Yayınları İstanbul 1975.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞAHİN, Safa

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 05.04.1990 İzmir

Medeni hali : Bekar

Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans Öğrencisi

Telefon : 0553 127 25 01

E-mail : safasahin57@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Uşak Üniversitesi / Moleküler Biyoloji ve Genetik	
Lisans	Uşak Üniversitesi / Moleküler Biyoloji ve Genetik	2016
Lise	Eskişehir Hoca Ahmed Yesevi Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
06.2016-08.2016	Aarhus Üniversitesi–Danish Centre For Food and Agriculture	Stajyer

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Spor, fotoğraf, müzik, kitap