

T.C
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**PARASETAMOL İNDÜKLÜ HEPATOTOKSİTE MODELİNDE KAFEİK ASİT
FENETİL ESTER' İN İNFLAMASYON ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NUKET KAMIŞ

HAZİRAN 2019

UŞAK

T.C
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**PARASETAMOL İNDÜKLÜ HEPATOTOKSİTE MODELİNDE KAFEİK ASİT
FENETİL ESTER' İN İNFLAMASYON ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NUKET KAMIŞ

UŞAK 2019

Kabul ve Onay

Nuket Kamiş tarafından hazırlanan Parasetamol İndüklü Hepatotoksisite Modelinde Kafeik Asit Fenetil Ester'in İnflamasyon ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması 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.

Prof. Dr.-
(Moleküler Biyoloji ve Genetik, Afyon Kocatepe Üniversitesi)

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

Prof. Dr.-
(Moleküler Biyoloji ve Genetik, Uşak Üniversitesi)

Tarih: 12/06/2019

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

Doç. Dr. Murat Kemal KARACAN
.....
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür V.

TEZ BİLDİRİMİ

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)

Nuket Kamış

**PARASETAMOL İNDÜKLÜ HEPATOTOKSİSİTE MODELİNDE KAFEİK ASİT
FENETİL ESTER' İN İNFLAMASYON ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

UŞAK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜTÜSÜ

Haziran, 2019

ÖZET

Parasetamol ucuz olması, kolay bulunabilmesi bakımından sık kullanılan ağrı kesici, ateş düşürücü etkisi olan bir ilaçtır. Parasetamol, karaciğerde metabolize olmaktadır. Yüksek dozda parasetamol karaciğer hasarına (hepatotoksisite) neden olmaktadır. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE); antimikrobik, antiinflamatuvar, antioksidan özelliklere sahip bir bileşendir. Uzunca aromatik ve alifatik yapıdaki karbonları olmasından dolayı hücre duvarından kolayca geçer ve etki edeceği bölgeye daha rahat ulaşır. Bu çalışmanın amacı ratlara parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulup meydana gelebilecek oksidatif stres ve enflamasyon üzerine CAPE'nin koruyucu etkisini araştırmak için tasarlanmıştır. Bunun için çalışmamızda 36 wistar erkek rat kullanıldı. Rastgele olacak şekilde altı gruba ayrıldı; kontrol: sadece yem verildi, parasetamol:2g/kg dozunda parasetamol, parasetamol+CAPE: 2g/kg dozunda parasetamol+10µg/kg CAPE, parasetamol+NAC: Parasetamol 2g/kg+NAC (140 mg/kg): 140 mg/kg N-AsetilSistein 1 saat sonrasında da 2g/kg dozunda, 2 mL parasetamol, CAPE: 10 mikrogram/kg CAPE ve etanol grubu. Veriler istatistiksel olarak SPSS-18 ANOVA ile standart sapma olarak değerlendirilmiştir. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, parasetamol indüklü hepatotoksisite modelinde kontrol grubuna göre parasetamol grubunda oksidatif stres parametrelerinin ve sitokin seviyelerinin istatistiksel olarak arttığı ($p<0.05$), CAPE'nin meydana gelen enflamasyon ve oksidatif strese karşı koruyucu bir etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Bilim Kodu:

Anahtar Kelimeler: hepatotoksisite, parasetamol, CAPE, oksidatif stres

Sayfa Adedi: 87

Tez Yöneticisi: Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN

**INVESTIGATION of CAFFEIC ACID PHENETHLY ESTER EFFECT on
INFLAMMATION and OXIDATIVE STRESS in PARACETAMOL INDUCED
HEPATOTOXICITY**

(M.Sc. Thesis)

Nuket KAMIŞ

UŞAK UNIVERSITY

INSTITUTE of SCIENCE

June, 2019

ABSTRACT

Paracetamol is a cheap, pain-relieving, fever-reducing medicine that can be easily found. Paracetamol is metabolized in the liver. At high doses, paracetamol causes liver damage which is called hepatotoxicity. Caffeic Acid Phenyl Ester (CAPE) has antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant properties. Due to its long aromatic and aliphatic carbon structure, it passes easily through the cell wall and reaches the region where it will act more easily. The aim of this study is to understand the CAPE protective effect to hepatotoxicity oxidative stress and inflammation during the application of paracetamol. In this study 36 wistar rat was used. Divided into six groups randomly. Control: given only forage. Paracetamol: 2 g/kg dose of paracetamol. Paracetamol +CAPE: 2 g/kg dose of paracetamol + 10µg/kg CAPE. Paracetamol + NAC: Paracetamol 2 g/kg + NAC (140 mg/kg): 140 mg/kg N-acetyl Sistein applied after one hour 2 g/kg dose of 2 mL paracetamol. CAPE:10 microgram/kg CAPE and ethanol group. The data is analyzed statistically SPSS-18 ANOVA standard variation. ($p<0.05$) is accepted meaningful. According to the results obtained, it is seen that hepatotoxicity induced paracetamol model has more oxidative stress statistically than the control group ($p<0.05$). The groups which were given CAPE and paracetamol group when compared, CAPE has protective effect to the occurring inflammation

Science Code:

Key Words: hepatotoxicity, paracetamol, CAPE, oxidative stress, rat

Page Number: 87

Adviser: Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimin süresince bizlere bilgi ve deneyimlerini aktaran, davranışları ile hem mesleki hem de insani yönden örnek olan değerli hocamız Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN'a,

Bugünlere gelmemde her türlü fedakârlığı gösteren, her daim yanımda olan anneme ve ablalara ayrıca bedenen yanımda olmasa ruhen yanımda hissettiğim babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Bu tez çalışması 2017/TP035 numaralı proje ile Uşak Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Uşak Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

Nuket KAMIŞ

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	viii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Parasetamol.....	3
2.1.1. Parasetamolün Tarihçesi.....	3
2.1.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri.....	3
2.1.3. Parasetamolün Metabolizması.....	4
2.1.4. Parasetamolün Toksisitesi.....	6
2.1.5. Klinik Bulgular ve Tedavisi.....	8
2.2. Karaciğer.....	10
2.2.1. Karaciğer Fonksiyonları.....	10
2.2.2. Karaciğer Enzimleri.....	11
2.2.3. Karaciğer Toksikasyonu.....	12
2.3. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE).....	12
2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	14
2.5. Antioksidanlar.....	15
2.5.1. Endojen Antioksidanlar.....	16
2.5.1.1. Enzim Olan Endojenler.....	16
2.5.1.2. Enzim Olmayan Endojenler.....	17
2.5.2. Ekzojen Antioksidanlar.....	17

2.6. Sitokinler	18
2.6.1. Tıpta Sitokinlerin Kullanımı	22
2.6.1.1 Tümör Nekroz Faktörü (TNF).....	22
2.7. İnterlökin	23
2.7.1. İnterlökin-1 β	24
2.7.2. İnterlökin-18	25
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Analizlerde Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar.....	26
3.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.3. Deney Hayvanları	28
3.4. Deney Gruplarının ve Hepatotoksisitenin Oluşturulması	29
3.4.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	29
3.4.2. Deneysel Hepatotoksisitenin Oluşturulması	30
3.5. Karaciğer Dokusu Homojenizasyonu	31
3.6. Sitokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi	31
3.6.1. TNF-alfa'nın Belirlenmesi	31
3.6.2. İnterlökin-1 β 'nin Belirlenmesi.....	32
3.6.3. İnterlökin-18'in Belirlenmesi.....	33
3.7. Total Antioksidan Seviyesi-Total Oksidan Seviyesi Ölçümleri	33
3.7.1. Total Antioksidan Seviyesi Belirlenmesi.....	33
3.7.2. Total Oksidan Seviyesi Belirlenmesi.....	34
3.8. Katalaz Seviyesi Belirlenmesi	35
3.9. Süperoksit dismutaz Seviyesinin Belirlenmesi.....	36
3.10. Glutasyon Seviyesinin Belirlenmesi	37
3.11. Malondialdehid Seviyesinin Belirlenmesi	37
3.12. Aspartat Amino Transferaz ve Alanin Amino Transferaz Ölçümlerinin Yapılması	38
4. İSTATİKSEL ANALİZ	39

5. BULGULAR	40
5.1. TNF- α Sonuçları	40
5.2. Interlökin-1 β Sonuçları	41
5.3. Interlökin-18 Sonuçları	41
5.4. Total Antioksidan Seviyesi Sonuçları	42
5.5. Total Oksidan Seviye Sonuçları	42
5.6. Malondialdehid Sonuçları	43
5.7. Speroksidismutaz Sonuçları	44
5.8. Katalaz Sonuçları	45
5.9. Glutasyon Sonuçları	45
5.10. Aspartat Amino Transferaz Sonuçları	46
5.11. Alanin Amino Transferaz Sonuçları	46
6. TARTIŞMA	48
7. SONUÇ ve ÖNERİLER	58
8. KAYNAKÇA	60
9. ÖZGEÇMİŞ	72

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelgeler	Sayfa
Çizelge 3.1. Deney hayvanlarının gruplara ayrılması	29
Çizelge 5.1. Karaciğer dokusu TNF-alfa seviyeleri	40
Çizelge 5.2. Karaciğer dokusu interlökin-1β seviyeleri	41
Çizelge 5.3. Karaciğer dokusu interlökin-18 seviyeleri	41
Çizelge 5.4. Karaciğer dokusu TAS seviyeleri	42
Çizelge 5.5. Karaciğer dokusu TOS seviyeleri	43
Çizelge 5.6. Karaciğer dokusu MDA seviyeleri	43
Çizelge 5.7. Karaciğer dokusu SOD seviyeleri	44
Çizelge 5.8. Karaciğer dokusu CAT seviyeleri	45
Çizelge 5.9. Serum GSH düzeyleri	45
Çizelge 5.10. Serum AST düzeyleri	46
Çizelge 5.11. Serum ALT düzeyleri	47

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekiller	Sayfa
Şekil 2.1. N-(4-hidroksifenetil) etanamid'in (parasetamol) kimyasal yapısı	3
Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması	6
Şekil 2.3. Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi	7
Şekil 2.4. CAPE'nin kimyasal yapısı	13
Şekil 2.5. Sitokinler otokrin, parakrin ve endokrin etkileri	19
Şekil 2.6. Sitokinlerin biyolojik etkileri	21
Şekil 2.7. TNF'nin kromozom üzerindeki yeri	22
Şekil 2.8. IL-1beta'nın kromozom üzerindeki yeri	25
Şekil 2.9. IL-18'in kromozom üzerindeki yeri	25

RESİMLERİN LİSTESİ

Resimler	Sayfa
Resim3.1 Santrifüj.....	27
Resim 3.2.Spektrometre.....	27
Resim 3.3. Elisa Cihazı	27
Resim 3.4. Otomatik Multikanal Pipet	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

%

Açıklama

Yüzde

mL

Mililitre

g

Gram

cm³

Santimetreküp

mg

Miligram

kg

Kilogram

kDa

Kilodalton

nm

Nanometre

ng

Nanogram

mmol

Milimol

Kısaltmalar

Açıklama

ALP

Alkalen fosfataz

ALT

Alanin Amino Transferaz

APAP

Parasetamol

AST

Aspartat Amino Transferaz

CAPE

Kafeik Ait Fenetil Ester

CAT

Katalaz

CCL₄

Karbon tetraklorür

CMC

Karboksi Metil Selüloz

GSH

Glutatyon

H₂O

Su

H₂O₂

Hidrojen peroksit

IFN

Interferon

IL

Interlökin

IL-1B

Interlökin-1B

IL-18	Interlökin-18
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
NAPQI	N-asetil-p-benzokuinomin
O₂	Oksijen
OSİ	Oksidatif stres indeksi
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksitdismutaz
TAS	Total antioksidan kapasite
TBA	Tiyobarbütirik asit
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TOS	Total oksidatif stres

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Karaciğerin vücudumuzda depolama, salgılama ve toksik maddelerin zehirsizleştirilmesi, atılımı gibi pek çok işlevi vardır. Bu kadar önemli fonksiyonları yerine getirirken birtakım etkenlerden dolayı hasara uğramaktadır. Bu hasarlara karaciğer hasarı yani hepatotoksisite adı verilir. Çeşitli ilaçlar ve alkol hepatotoksisiteye neden olan sebeplerin başında gelmektedir.

Parasetamol kullanımı bakımından özellikle çocuk, yaşlı, hamile gibi özel gruplar başta olmak üzere herkes tarafından tercih edilen güvenilir, ağrı kesici ve ateş düşürücü ilaçlardan biri olarak kabul edilmektedir. Günümüzde ucuz olması, kolay bulunabilmesi bakımından tüm dünyada milyonlarca kişi tarafından tercih edilmektedir. Yüksek dozda parasetamol kullanımı hepatotoksisiteye neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda ortaya çıkan raporlarda ilaçlara bağlı olarak gözlenen yan etkilerin büyük çoğunluğunu parasetamol toksisitesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Ülkemizde acil servis müracaatlarının %59,6'sı ilaç zehirlenmeleri olurken %43'ü kullanılan ağrı kesici ilaçlardır [1]. Parasetamolün yüksek dozda kullanılmasına bağlı olarak gerçekleşen toksik olaylarda başlıca antidot olarak N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. Daha önceki yapılan çalışmalarda NAC'ın hepatotoksisiteyi önlediği ve koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır [2,3]. Fakat NAC'ın verilmesi halinde bile hepatotoksisite meydana gelebilmektedir [4].

Kafeik asit fenetil ester (CAPE) flavonoidler ile benzer yapıya özellik gösterirken, bal arılarının bitki ekstratlarından toplamış olduğu propolisinin aktif bileşen halidir. Propolis ise antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir Bal arılarının bitki özütlerinden toplamış olduğu propolisinin aktif bileşen halidir [5].

Sitokinler, immün cevabın başlangıcında görevli olan hücresel düzenleyici proteinlerdir. TNF- α ; enflamasyon oluşmasında görevli, IL-1 β enflamasyonda görevli olan genleri düzenleyen proenflamatuvar ve IL-18 ise proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 süperailisinin bir üyesidir.

Literatüre bakıldığında CAPE'nin ve NAC'ın koruyucu etkisinin olduğu çeşitli çalışmalar ile bildirilmiştir. Bu tez çalışması ile deneysel olarak hepatotoksisite oluşturulan ratlarda, AST, ALT, TAS, TOS, TNF- α , IL-18, IL1 β , CAT, GSH, SOD, MDA seviyelerine bakıldı.

Bu çalışmanın amacı, parasetamol toksikasyonu sonucunda gelişen hepatotoksisitenin nasıl oluşabildiği ve oluşan hasara karşı CAPE'nin koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesi ve yapılacak diğer çalışmalara kaynak oluşturacak bilgilerle literatüre katkı sağlamaktır.



2. GENEL BİLGİLER

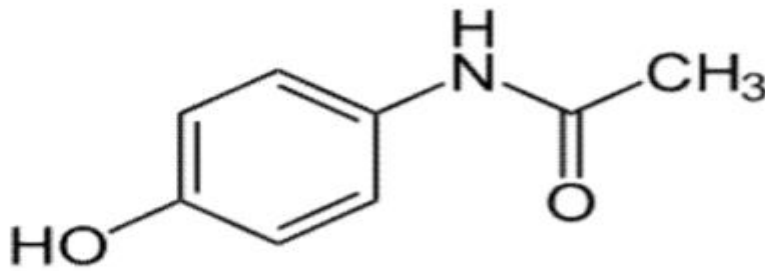
2.1. Parasetamol

2.1.1. Parasetamolün Tarihçesi

Parasetamol ilk defa 1877 yılında Harmol Northop Morse tarafından p-nitrofenolü asetik asit ile indirgemesinden dolayı ortaya çıkmıştır. İlk olarak klinikte kullanılmaya başlaması ise 1893 yılında olmuştur. Tylenol ismiyle Amerika'da 1955'te, Panadol ismiyle ise İngiltere'de 1956 yılında satışa sunulmuştur. Ağrı kesici ve ateş düşürücü etkisinden dolayı hızla yayılmıştır. Ucuz ve güvenilir yönüyle de sık sık tercih edilmiştir [6].

Uygun dozlarda alınmadığında Von Mering parasetamolün toksik etkisinden dolayı kullanılmasını bir süre sınırlandırmıştır. Daha sonra Brodie ve Axelrod 1948 yılında yaptıkları bir çalışmada parasetamolün toksit etki göstermediğini bildirdikten sonra parasetamol kullanılmaya tekrar başlanmıştır [6,7].

2.1.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri



Şekil 2.1. N-(4-hidroksifenetil) etanamid'in (parasetamol) kimyasal yapısı [8]

Kimyasal adı: N-(4-hidroksifenetilasetamid) asetaminofen adını kimyasal yapısından dolayı almıştır.

Molekül formülü: C₈H₉NO₂

Molekül ağırlığı: 151,17

Erime noktası: 169°C

Yoğunluğu: 1.263g/cm³

Sudaki çözünürlüğü: 1,4g/1000mL (20°C) [9]

Parasetamol uygun dozlarda kullanıldığı takdirde; migren, baş ağrısı, gribal enfeksiyonlara bağlı baş ağrısı, kas ve eklem ağrıları, cerrahi operasyonlarda uzun yıllar boyunca kullanılmıştır. Yapılan bir çalışmada İngiltere'deki 7000 anneden %84'ünün yeni doğanlarda ilk altı ayda parasetamol kullandığı tespit edilmiştir. Bunun en önemli nedenleri arasında ise terapötik dozlarda alınan parasetamolün güvenilir olmasından kaynaklanmaktadır.

Zehirlenmelerde en sık görülen ilaç zehirlenmesi; ilaç zehirlenmesinde de en sık rastlanılan parasetamoldür. Parasetamolün yaygın kullanımı, uygun dozlarda kullanılmaması ve hemen her yerde satışa sunulması gibi nedenlerden dolayı insanlar bu ilacı sıkça ve bilinçsizce kullanmakta ve bunların sonucu olarak zehirlenmelerde artmaktadır. Yüksek dozlarda alınmasında; alerjik etki, kızarıklık, ilaçtan kaynaklanan ateş durumları görülmektedir. Daha yüksek dozlarda ise ölüm ile sonuçlanabilmektedir [10].

Oral yoldan kullanımlarına bakıldığında; kedilerde>50mg/kg, köpeklerde 500mg/kg, farelerde 400-900mg/kg, tavşan ve sıçanlarda 2000mg/kg dozlarında ölüme sebep olmaktadır. Yetişkinlerde ise günlük 4g üzerinde alınımı karaciğer hasarına yol açmaktadır [11,12].

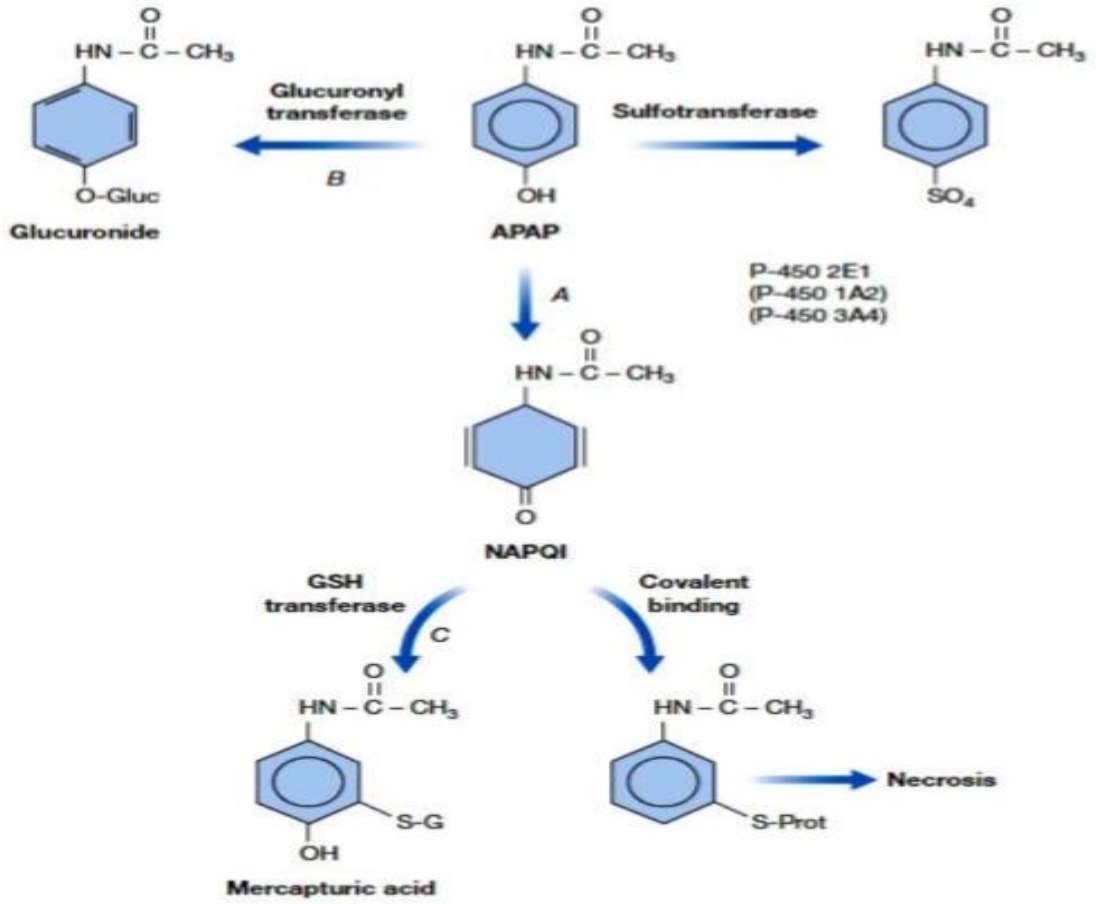
2.1.3. Parasetamolün Metabolizması

Parasetamol uygun dozlarda alındığında, mide bağırsak kanallarından hızla emilir ve en yüksek serum düzeyine genellikle de en hızlı olarak 30 dakikada en yavaş olarakta 2 saat içinde ulaşmaktadır. Benzer şekilde aşırı dozda kullanımlarda en yüksek serum düzeyine genellikle 2 saat içerisinde ulaşmaktadır [13].

Parasetamolün besinlerle birlikte alınması veya yemekten hemen sonra alınması durumunda emilimi azalır böylelikle de etki süreci gecikir, bu yüzden de parasetamolün aç karnına alınması tavsiye edilmektedir. Parasetamolün metabolizma edildiği ilk organ karaciğerdir. Uygun tedavi edici şekilde kullanıldığı zaman parasetamolün atılımı glukuronik asit-sülfat konjugatları şekline zehir etkisi olmaksızın idrar ile dışarı atılmaktadır. Fakat parasetamolün aşırı dozda kullanımında oksidatif stres teorisi ve kovalent bağlanma teorisi olarak karaciğerde iki farklı şekilde hasar oluşturmaktadır.

Oksidatif stres teorisinde parasetamolün yüksek dozda kullanımından sonra meydana gelen reaktif ara ürün olan NAPQI, hepatik hücrelerde reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise lipid peroksidasyon meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu glutatyon eksikliğine yol açıp hepatositlerde protein sentezi ve hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) dengesinin bozulmasına sebep olur [14, 15, 16].

Kovalent bağlanma teorisinde ise aşırı miktarda alınan parasetamol sonucunda ortaya çıkan reaktif ve kısa ömürlü olan NAPQI, GSH'ı tüketir. Karaciğer hücrelerinde oksidatif ve inflamatuvar hasarı oluşturur, sonuç olarak karaciğer nekrozunu meydana getirir [16].



Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması [17]

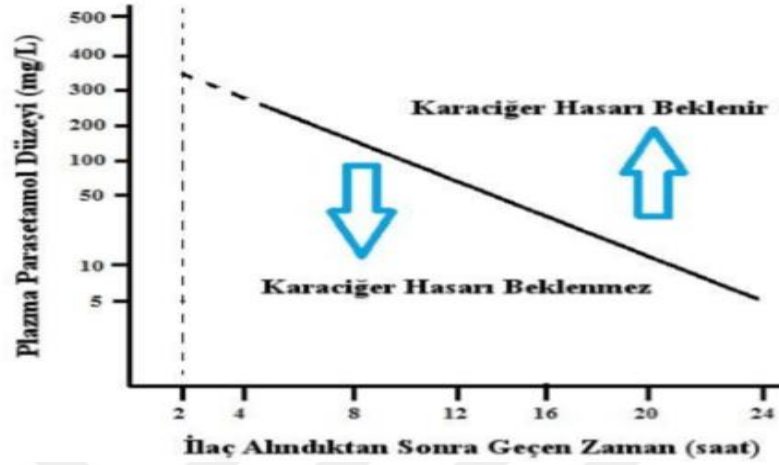
Bir miktar parasetamol hepatik CYP450 enzim sistemi yoluyla metabolize edilmektedir.

Fazla miktarda alınan parasetamol yüksek doza bağlı olarak N-asetil-p-benzokuinomin (NAPQI) açığa çıkartır, GSH'ı tüketir, böylelikle hepatotoksisite meydana gelir [18]. Hepatotoksisitenin parasetamol nedeniyle oluşması da bu yüzden [19]. Hepatotoksisite oluşturan bu zehirli madde GSH tarafından aktif olmayan metabolizma ürünlerine indirgenerek zehir etkisi göstermeden safra aracılığı ile atılır [19,20].

2.1.4. Parasetamolün Toksisitesi

Parasetamol reçeteli veya reçetesiz olarak satılan, kullanımı kolay, ucuz olması yönleriyle tercih edilen ve bunlardan dolayı yaygın kullanımı ile nezle, soğuk algınlığı gibi

durumlarda ilk olarak alınan, ateş düşürücü ve ağrı kesici bir ilaçtır. Fakat yüksek dozda kullanılan parasetamol karaciğerde hasara neden olmaktadır. Ancak hasarın parasetamole bağlı olarak geliştiğini anlamak için serum parasetamol düzeyine bakılmalıdır.



Şekil 2.3. Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi [21]

İlaça bağlı görülen zehirlenmelerde parasetamolün etkisi büyüktür. Amerika'da görülen ileri karaciğer yetmezliği olan hastalarda yaygın olarak parasetamol toksisitesi tespit edilmiştir [22]. Parasetamol aspirinden daha az zehirleyici etkiye sahiptir. Uygun dozda alındığı takdirde güvenilir bir ağrı kesicidir. Ancak son yıllarda akut karaciğer yetmezliği artmış ve en büyük sebebinin ise parasetamol olduğu raporlanmıştır [23]. Parasetamol önerilen dozun dışında, yüksek miktarda alındığında doza bağlı olarak zehirlenme etkisi göstereceğinden, zehrin etkisini ortadan kaldırmak için antidotu olan N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. Daha önceki çalışmalarda NAC'ın karaciğer hasarını önlediği tespit edilmiştir. Karaciğer hasarı yani hepatotoksisite N-asetilsistein verilmesine rağmen yine de ortaya çıkabilmektedir.

Parasetamol yetişkinlerde 500-1000mg arasında oral yoldan verilir ve tekrarlanma sıklığı olarakta 4-6 saat şeklinde belirlenmiştir. Günlük max. dozu yetişkinlerde 4 gr'dır. Çocuklarda ise her 4-6 saatte bir 10-15 mg/kg dozunda verilebilir. 150mg/kg ve üzeri tek dozda alınan parasetamol toksik yani zehir etkisi olarak kabul edilmektedir. Tek seferde 300mg/kg doz alımında ölümcül etkisini ortaya çıkarmaktadır. Parasetamolün yüksek dozda kullanımından sonra yapılacak işlemler; solunum yolunun kontrolü ve dolaşım fonksiyonlarına bakmaktır. Bunlardan sonra ise gerekli görülürse yaşam desteği ve ileri

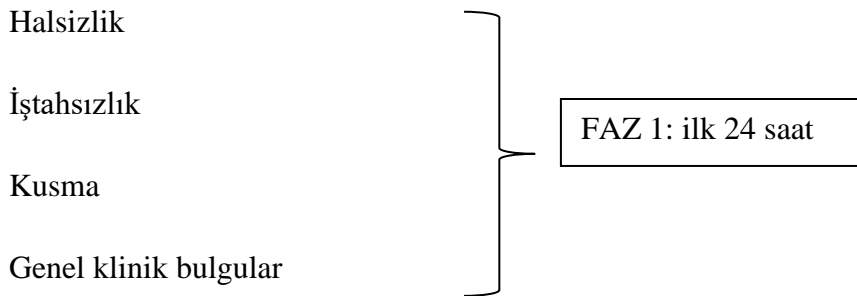
yaşam desteği uygulanır. Parasetamol toksisitesi oluştuktan sonra yapılabilecek uygulamalar normal zehirlenmelerde yapılan işlemlerle benzerlik gösterdiğinden yapılacak ilk işlemler, parasetamolün emiliminin en aza indirgenmesi, kanda parasetamol seviyesinin olabilecek olan en kısa süre içerisinde optimum düzeye gelmesi sağlanmalı ve toksik metabolitinin miktarını azaltmak ve/veya detoksifiye etmektir.

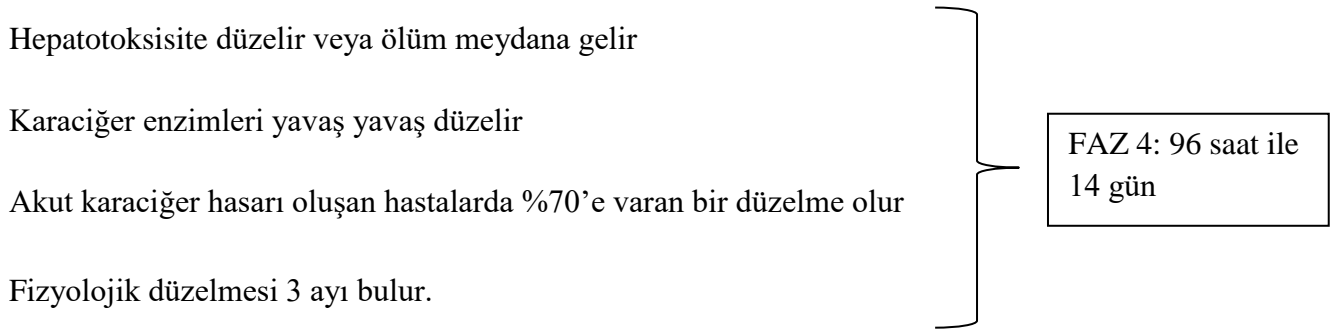
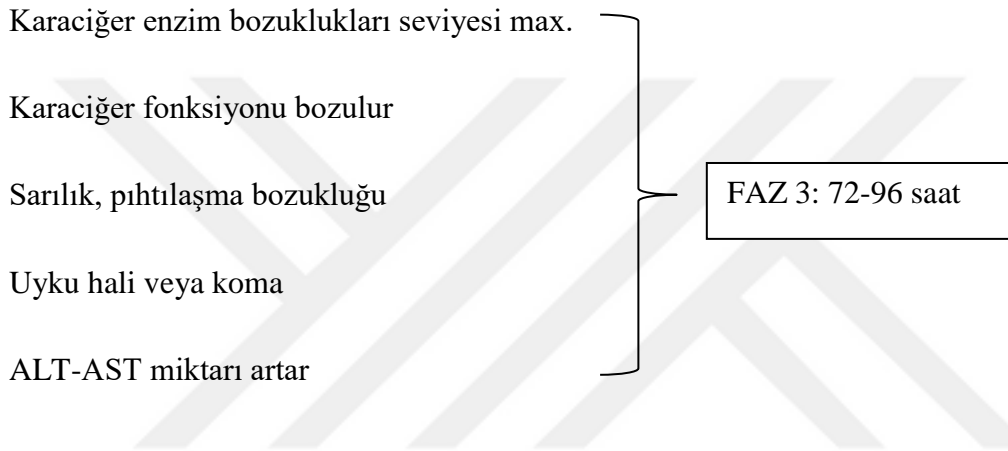
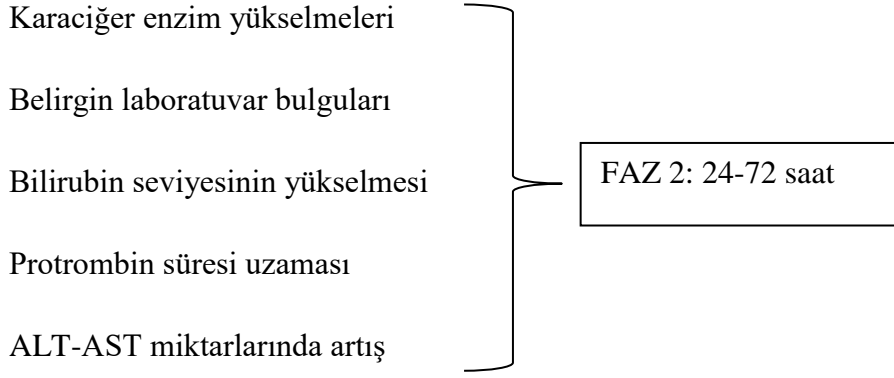
Karaciğer hasarında parasetamolün etkilerinden biri de oksitatif strestir. N-asetil-p-benzokuinomin (NAPQI) artmasıyla reaktif oksijen üretimi de artar, böylelikle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit oluşur. Antioksidan savunma sistemini etkileyen sebeplerden biri olarak gösterilen parasetamol, glutatyon peroksidaz ile katalaz enzim aktivitesini de düşürmektedir [24].

2.1.5. Klinik Bulgular ve Tedavisi

Parasetamol, ağrı kesici etkisinden dolayı soğuk algınlığı, gribal enfeksiyonlar, adet ağrıları, diş ağrısı, eklem ağrıları, ameliyat sonrasında cerrahi uygulamalardan sonraki ağrılarda tercih edilen ilaçtır. Antiinflamatuvar etkisi aspirinden daha azdır. Antiinflamatuvar etkiyi arttırmak için yanında takviye olarak örneğin romatoid artrit gibi eklem ağrılarında tedavi sürecinde antiinflamatuvar ajanların yanısıra ek tedavi olarak parasetamol de kullanılabilir.

Parasetamole bağlı olarak oluşan toksisite de klinik olarak incelemeler sonucunda ilaç kullanım süresine göre; ilk 24 saat faz 1, 24-72 saat arası faz 2, 72-96 saat arası faz 3 ve 14 güne kadar olan kısım faz 4 olarak sınıflandırılmıştır.





Normal dozda alındığında parasetamol glukronik asite bağlanıp toksisite meydana getirmeden safra aracılığı ile atılır. Fakat yüksek dozda alındığında parasetamol glukronik asitin detoksifikasyonu yetersiz kalmakta ve sonucunda sitokrom p450'nin devreye girmesi ile parasetamolün reaktif metaboliti olan NAPQI (N-acetyl-p-benzoquinoneimine) meydana gelmektedir. Tedavi yöntemi olarak; parasetamol toksisitesinde NAC (N-Asetil Sistein) uygulaması ve aktif kömür uygulaması yöntemleri uygulanır. Eğer NAC, karaciğer toksisitesinden kısa zaman sonra verilirse karaciğer hasarını büyük ölçüde engellemektedir [25].

NAC'ın verilme yolu, dozu ve zamanı etkisini göstermede büyük ölçüttür. Daha önceki yapılan çalışmalarda NAC'ın doz artmasına bağlı olarak etkinliği tespit edilmiştir. Yüksek dozda alınan parasetamol ve parasetamol ile aynı dozda alınan NAC karaciğer hasarını %100 önlediği bildirilmiştir [26].

Parasetamol toksisitesinde bir de vücudumuzun kendi üretmiş olduğu antioksidan olan glutatyonun tükenmesi durumu vardır. Toksikite halinde glutatyon hepatositlerden geçemez, glutatyonun normal seviyesine ulaşabilmesi için sentezinin artırılması gerekmektedir. Bunun için kullanılacak antidotlar ise simetidin, NAC ve methionindir. Yapılan klinik çalışmalar sonucunda NAC, simetidin ve methionin antidotlarının hepatotoksisiteyi önlemeye yardımcı olduğu yönündedir ancak merkezi sinir sisteminde methioninin ve simetidin istenmeyen farmakolojik etkiler göstermesinden dolayı, NAC karaciğer hasarında tercih edilmektedir.

NAC parasetamol toksisitesinde kullanıldığı gibi, solunum sistemi hastalıklarında meydana gelen inflamasyonda da tercih edilmektedir.

2.2. Karaciğer

Karaciğer; depolama, salgılama, toksinlerden arınma, fagosite etme gibi metabolik ve biyokimyasal fonksiyonlarda görevli olan, canlı yaşamının devamı için birtakım olayları düzenleyen önemli bir organımızdır. Yetişkinlerde ortalama ağırlığı 1150-1600 g olup, vücut ağırlığının da %2'sini karaciğer oluşturmaktadır.

2.2.1. Karaciğer Fonksiyonları

Karaciğerin en küçük hücrelerine hepatosit adı verilmektedir ve ömürleri yaklaşık olarak 150 gündür. Bu hücreler birçok metabolik olayları düzenleyip uyum halinde işlemesi için bir takım yaşamsal fonksiyonları dolaşım sistemi ile gerçekleştirir [27, 28].

- a) Karaciğerin depo fonksiyonu; bazı vitamin ve minerallerin depolanması,
- b) Protein sentezi ve üre sentezi,
- c) Safra salgılanması,
- d) Detoksifikasyon ve inaktivasyon,
- e) Kan pıhtılaşmasında rol alır,
- f) Karbonhidrat metabolizması,

- g) Protein metabolizması,
- h) Yağ metabolizması,
- i) Rejenerasyon yani tahrip olduğunda kendini yenileme özelliği,
- j) Karaciğerin makrofaj sistemi,
- k) Karaciğerdeki kupfer hücreleri sayesinde bağırsaklardan gelen bakterileri temizleme özelliği gibi birtakım fonksiyonları yerine getirmede görevlidir.

Karaciğer böyle önemli fonksiyonları yerine getirdiği için birtakım etkenler ile hasara uğramaktadır. Kısa süreli ya da uzun süreli enfeksiyonlara karşı hücrelerin karaciğerde hepatositlerde oluşturduğu hasarlara hepatit adı verilir.

2.2.2. Karaciğer Enzimleri

AST (SGOT), ALT (SGPT) ve ALP (alkalen fosfataz) olarak 3 tane karaciğer enzimi vardır. AST ve ALT'nin sentezlenme yeri hepatositlerken ALP'nin sentezlenme yeri safra kanalı epitel hücreleridir.

Uzun süreli ve kısa süreli hepatotoksisite durumlarında bu enzimlerin kandaki seviyeleri artmaktadır. Karaciğerlerde hızlı başlayan çeşitli enfeksiyon olaylarında belirgin olarak ALT seviyesinde gözlenen artış AST seviyesinden yüksektir. Ayrıca hücrede meydana gelen hasarda mitokondriyal olarak AST salımı da artacağından AST/ALT oranı da artmaktadır [34]. Yeterli seviyede hepatosit kalmadığında, hatta düşük seviyede olduğunda bu bir kötü prognoz belirtisidir. Çeşitli etkilerden dolayı hepatotoksisitenin tanısı ve kullanılan tedavi yanıtının tespit edilebilmesi için; AST ve ALT enzim aktivite ölçümleri yapılmaktadır, AST/ALT oranına bakılır. Alkol kullanmayanlarda oran azalırken alkol kullananlarda karaciğer hasarında AST/ALT oranı artmaktadır. AST'nin ALT'ye oranına "De Ritis" oranı denir. AST karaciğerde olduğu gibi; kalp, akciğer, böbrek, kas ve beyinde de bulunmaktadır. Fakat ALT'nin yoğunlukla bulunduğu yer karaciğerdir [29].

Ratlarda ALT enzim seviyeleri 1950'li yıllardan bu yana karaciğer hasarlarında belirteç olarak kullanılmaktadır [30].

Araştırmalar sonucunda, karaciğer hasarı, dengesiz beslenme, açlık, yüksek sıcaklık, belirli kimyasallara bağlı zehirlenmeler ratlarda serum ALT düzeyini değiştirdiği

tespit edilmiştir. Ratlarda AST ve ALP enzim seviyelerinin özellikle karaciğer ve böbrek hasarlarında kimyasal ajanlarla olan zehirlenmelerde, beslenme bozukluklarında, strese serum AST ve ALP düzeyinin değiştiğini ortaya koymaktadır [31,32].

2.2.3. Karaciğer Toksikasyonu

Bilinçsiz olarak ilaç kullanmak, alkol ve sigara tüketiminin fazlalığı, virüslerin neden olduğu hastalıklar ve çeşitli kimyasallara maruz kalmak karaciğer de meydana gelen hasar etkenlerinden bazılarıdır. Bu etkenlerle oluşan hasarlar başlangıç döneminde tedavi edilmezse hasar ileri boyutlara kadar ulaşır ve karaciğerin yapısını bozar, hatta siroz gibi birtakım hastalıkları ortaya çıkarır.

2.3. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

Kafeik asit fenetil ester; yapı olarak flavonoidlere benzer olup antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobik özelliklere sahip bir bal arısı ürünü olan Kafeik asit fenetil esteri ilk olarak Sud'ina ve ark. (1993) ile Orsolice ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda göstermişlerdir. İki halkasal yapıya sahip olup, bir tanesi hidroksil grubu taşıırken, aynı zamanda da indirgenme-yükseltgenme tepkimesinde etkin bir şekilde rol almaktadır. E vitaminine benzer olarak antioksidan özellik göstermektedir [33]. Yüksek miktarda kalsiyum ile uyarılan sitokrom C salımını CAPE önler. Böylelikle mitokondriyal koruyuculuk sağlayıp antioksidan etkinlik ve iltihaplanma olayları öncesinde sitokinlerin salınmasını önler ve antiinflamatuvar özellik gösterir.

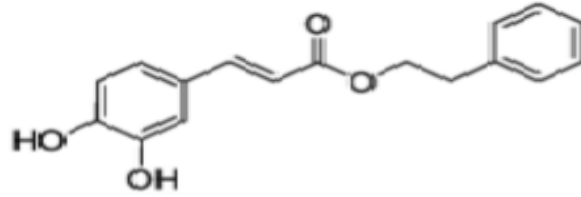
Uzunca aromatik ve alifatik yapıda karbonlarının olmasından dolayı lipofilik özelliği göstermektedir. Lipofilik özelliğinden dolayı molekül hücre duvarından kolayca geçer ve etki edebileceği bölgeye daha rahat ulaşır. Bu yüzden deney hayvanları araştırmalarında ve hücre kültürü çalışmalarında kafeik asit fenetil ester rahatlıkla kullanılabilen ve vücut bölgelerine de kolaylıkla ulaşmaktadır.

Bazı doğal maddeler ile tıpta tedavi yöntemlerinde, gıdada, immün sistemde, kozmetik ürünlerde kullanımı fikri son zamanlarda hızla yayılmıştır. Propoliste bunlardan birisidir. Bal arıları tarafından çeşitli bitkilerin tomurcuk, gövde ve yapraklarından elde edilmektedir. Propolis; doğal bir bal arısı ürünü olduğundan dolayı tercih edilmektedir.

Yaklaşık olarak 300 çeşitten fazla bileşen propolisi oluşturur [34]. Bu bileşenler arasında en bol ve en etkili olan CAPE' ([Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate]) dir.

CAPE; hasar önlemede, immün uyarda önemli rol oynamakta olup bilinen toksik etkisi de bulunmamaktadır. Propolis ilk olarak Yunanlılar tarafından keşfedilmiştir. Doğal antibiyotik ürünü olarak ise eski çağlardan itibaren inflamatuvar hastalıklarda kullanılmış ve kanser hücreleri üzerinde etkileri tespit edilmiştir. Farklı kanser dokularında farklı yanıtlar alınmış ve antitümör olabileceği düşüncesine varmışlardır. Bağırsak kanser oluşumunu baskılayan CAPE, potansiyel koruyucu özellikleri ile kemoterapik etki de gösterebilmektedir [35].

CAPE'nin molekül ağırlığı 284.31 g/mol olan, kimyasal formülü $C_{17}H_{16}O_4$ olan CAPE etanolde de tamamen çözünmektedir [36].



Şekil 2.4. CAPE'nin kimyasal yapısı [37]

Bal arıları CAPE'yi kovan içindeki delik veya çatlak olan kısımları onarmada, kovana girişi daraltmada ve kolonileri çeşitli hastalıklardan korumada kullanmaktadırlar. Polen yapısından dolayı bazı salgıların çiçek tozların karışımıdır. Bu özelliğinden dolayı iç tarafındaki larvaların beslenmesinin yanında insanlar içinde sağlık alanında kullanılan arı ürünü yani apiterapötik bir üründür. Yapısında mineral, protein, karbonhidrat, vitamin, yağ asitleri gibi birçok fenol bileşiklerini oluşturur. Fenol bileşiklerinin önemli özelliklerinden biri de ROS'u nötralleştirmektir [38].

CAPE ile birçok çalışmalar yapılmıştır. Örnek verilecek olursa; 2004 yılında Yılmaz ve ekibi streptozosin ile oluşturulan diyabet modelinde sıçan karaciğer dokusunda CAPE'nin serbest oksijen radikallerini süpürücü etkisini göstermişlerdir [39].

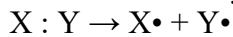
CAPE uyguladıktan sonra oksidatif hasarın düştüğü ispatlanmıştır. Ayrıca CAPE, ROS'un oluşumunu engelleyip tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi birçok inflamatuvar yolağın işleyişini de önlemektedir. Bununla birlikte CAPE'nin inflamatuvar hücrelerde apoptozisi engellediği de belirtilmiştir [40]. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar [41,42] CAPE uyguladıktan sonra mide ve karaciğer hücrelerinin MDA düzeylerini düşürüp, DNA hasarında da hücreleri koruduğunu belirtmişlerdir. Böylelikle hücredeki antioksidan enzim düzeyleri yüksek kalmıştır. Reaktif oksijen türevlerinin in vitro tarafından belirli konsantrasyonlarda (10 μ mol/kg) CAPE tarafından bloke edildiği bilinmektedir [43,44].

2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

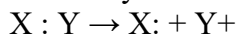
Vücudumuzdaki hücrelerin parçalandıktan sonra, hücrelerde oluşturduğu değişikliklere sebep olan moleküllere serbest radikal denilmektedir. Sigara kullanımı, radyasyonlar, belli başlı ilaçlar, UV ışınları serbest radikal kaynakları olabilir. Serbest radikaller kararsız durumda olduklarından, kararlı yapıya dönmeleri için başka elektronlarla eşleşme yapmak zorundadırlar. Bu yüzden serbest radikallerin kimyasal etkinlikleri gerçekleştirme güçleri yüksektir.

Serbest radikaller üç yolla meydana gelir. Bunlar;

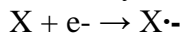
1- Bir molekülü oluşturan kovalent bağın kırılması sonucu yapısında bulunan iki elektrondan her birinin ayrı parçada kalmasıyla,



2- Radikal olmayan bir molekülden tek elektron kaybıyla,



3- Radikal olmayan bir moleküle tek elektronun ilavesiyle,



Serbest radikaller vücudumuzda; DNA hasarı, aşırı kalsiyum girişi, mitokondri hasarı, geçirgenlik arttırma, protein hasarı gibi birçok olaya sebep olmaktadır. DNA hasarında DNA'da çift ve tek dal kırıkları, şeker hasarı, baz modifikasyonları gibi olaylar meydana gelirse canlılık açısından büyük bir tehlike ortaya çıkmaktadır.

Serbest radikallerin oluşma hızı ile toksik maddelerden temizlenme hızı denge de olup bu dengeye "oksidatif denge" denilmektedir. Denge hali serbest radikallerin lehine

olursa hücrede serbest radikaller artar. Bu durumda hücre işlevleri üzerinde yaptıkları etkiye de “oksidatif stres” denir. Oksidatif denge, hücreyi serbest radikallerin oluşturmuş olduğu zararlı etkilerden korumaktadır. Ayrıca hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak ve serbest radikalleri etkisiz hale getirmek için antioksidanları üretir.

Oksidatif stres ve serbest radikallerin sebep olduğu zararlar çok geniş olduğundan bir takım hastalıklarda rolleri vardır. Kanser, böbrek yetmezliği, karaciğer hastalıkları, kas hastalıkları, Alzheimer, Parkinson gibi hastalıklar oksidatif stresin neden olduğu zararlara örnek verilebilir. Serbest oksijen radikalleri ile başlatılan çoklu doymamış yağ asidi içeren kimyasal zincir reaksiyonuna lipit peroksidasyonu (LPO) denir. LPO'nun en son basamağında meydana gelen en önemli ürün malondialdehittir (MDA). MDA oksidatif stres ölçümlerinde kullanılan bir moleküldür. Organizmada meydana gelen lipit peroksidaz (LPO) düzeyinin ölçülmesi için MDA seviyesinin ölçülmesi sık kullanılan bir yöntemdir. Bunun temelinde tiobarbitürik asitin (TBA) MDA ile tepkimesi vardır. Bu tepkime sonunda pembe renkli çözelti oluşur ve çözeltinin absorpsiyon değeriyle LPO derecesi belirlenir [45].

2.5. Antioksidanlar

Organizmada serbest radikallerin, yani metabolizma gibi kimyasal doğal olayların yan ürünlerinin sebep olduğu lipid, karbonhidrat ve protein gibi maddelerin oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddelere “antioksidan madde” denir. Antioksidan maddelerin miktarı ile dokuda oluşan serbest radikaller arasında denge vardır. Hastalık oluşması bu dengenin bozulması ile ilgilidir.

Antioksidanlar; hücrelere zarar vermekte olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek, biyokimyasal reaksiyonlardaki radikallerle beraber reaksiyona katılıp o reaksiyonların kırılmasını sağlar ve etkisini gösterir. Antioksidanlar serbest radikaller için kararlı yapıya sahip olduğundan oksijen molekülünü uzaklaştırıp, reaktif olan oksijen türlerini baskılar ve hedefteki molekülleri oluşan hasar sonrasında tamir eder.

Antioksidanlar, temizleme etkisi, baskılama etkisi, onarma etkisi ve zincir koparma etkisi olarak 4 farklı şekilde oksidantları etkisiz hale getirir. Bazı enzim sistemleri karaciğer

hücrelerindeki toksik etkilere karşı antioksidan özelliği gösterirler. Endojen ve ekzojen kaynaklı olarak antioksidanlar iki şekilde incelenir.

2.5.1. Endojen Antioksidanlar

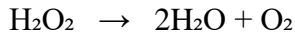
Endojenler yani hücre içi antioksidanlar da enzim olanlar ve enzim olmayanlar olarak iki şekilde incelenir.

2.5.1.1. Enzim Olan Endojenler

Organizmada serbest radikallerin hasar oluşturmaya neden olan ya da var olan patolojik durumları geri dönüşümü olmayan hale gelmesini engelleyen ve oluşan durumları tamir etme durumunda olan antioksidan moleküllerine enzim kaynaklı olan endojenlere örnek olarak katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksitdismutaz (SOD) ve hidroperoksidazlar verilebilir.

a) Katalaz (CAT):

Katalaz peroksizomlarda bitki ve hayvan hücrelerinde herhangi bir sebeple oluşan zehir etkisi olan maddeleri inaktive ile yok edip parçalayan enzimleri taşır. Birçok dokuda farklı görevleri vardır. En fazla karaciğer ve böbrekte fonksiyoneldir. Sitozol ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunur. Hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar ve böylelikle hidrojen peroksidin de ortadan kalkmasını sağlar.

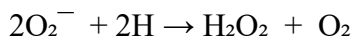


b) Glutatyon peroksidaz enzimi (GPx):

Yapısında selenyum atomu bulunan, oksidatif etkisi olan hidrojen peroksit ve oksijen peroksitlerin suya ve alkollere indirgenmesini sağlar.

c) Süperoksitdismutazı SOD:

Serbest radikallerden olan süperoksit dismutazı (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijen molekülüne (O_2) çevirip katalizlenmesini sağlayan bir antioksidan enzimdir. Oksidatif strese karşı savunmada önemlidir ve biriken ara ürünlerin temizlenmesini ise CAT enzimi ile olur.



2.5.1.2. Enzim Olmayan Endojenler

Enzim olmayan endojenler ise; hemoglobin, glutatyon, ürik asit, albümin olabilir.

a) GSH (Glutatyon):

En önemli antioksidan bileşiklerinden olan glutatyon hücreleri etanol ve diğer toksik maddelerden oksidatif hasara karşı korur. Glisin, sistein ve glutamattan sentezlenmektedir. Eritrosit ve löösitleri oksidatif hasara karşı korumaktadır.

Etanol kaynaklı oksidanların meydana gelmesi ve oksijenli solunum sonrasında oluşan yan ürünlerin çoğalmasıyla karaciğer hücrelerinde zehir etkisi oluşur. Bununla birlikte mitokondriyal glutatyon taşınmasına engel olup GSH oluşumunu baskılar. Bu da GSH'ın etanol üzerine savunma mekanizması olduğunu destekler niteliktedir [46].

b) Hemoglobin:

Hemoglobin parçalanmaya uğrayarak demir verebilir veya doğrudan peroksitlerle etkileşime girerek lipid peroksidasyonunu uyarır.

c) Ürik asit:

İnsanlarda urat oksidazı olmadığı için birikir. Hipokloroid asit, peroksit radikalleri bakımından kuvvetli bir antioksidandır.

d) Albümin:

Kanda bulunan bir protein ürünü olan albüminin vücutta birçok fonksiyonu vardır ve karaciğerde üretilmektedir.

e) Flavonoidler:

Flavonoidler, meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antioksidan ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir. 1930-1950'li yıllarda P vitamini olarak adlandırılmıştır. Vücudumuzdaki serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkiye sahiptir. Hücre onarımını sağlar.

2.5.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ekzojen antioksidanlara ise curcumin, melatonin ve flovonoid içerikli olan polen, CAPE, propolis örnek verilebilir. Eksojen; kanser tedavilerinde kemoterapi ve radyoterapiden sağlıklı hücreleri korumak için kullanılmaktadır. Dışarıdan alınan

antioksidanlar fizyolojik ve biyokimyasal olarak canlılarda olumlu etkiler yapar. Günümüzde terapötik maddelerden doğal arı ürünleri örneğin propolis, CAPE fazla dikkat çekmektedir. Ayrıca ekzojenleri de vitamin, gıda antioksidanları olarak sıralamak mümkündür. Vitaminlerdeki; vitamin E ve vitamin C sitokinler (TNF ve IL-1) sayılabilir. Gıdalardaki ekzojenler ise Fesüperoksit dismutaz örnek olabilir [47].

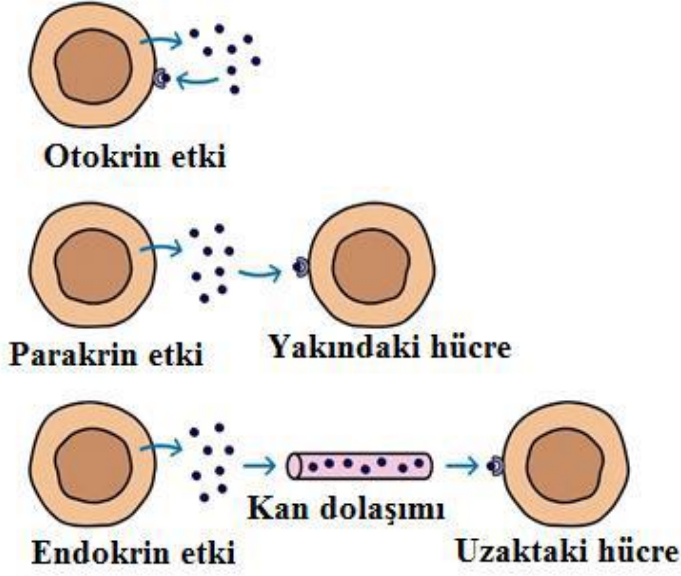
2.6. Sitokinler

Alexis Carrel tarafından 1920 yılında lökositlerin yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiş olup, ilk kez Zinsser ve Tamiya tarafından 1926 yılında tanımlanmış olan molekül ağırlığı da 8-110 kDa arasındadır. Sitokinler; hücre davranışının gelişip düzenlenmesinde rol alan, doğal ve sonradan elde edinilen bağışıklık sisteminde etkili olan, makrofajlar ve T hücreleri gibi özel hücreler tarafından salınıp hedefteki hücre davranışını etkileyen, hormonlara benzeyen glikoprotein veya peptid yapıdaki kimyasal moleküllerdir [48, 49].

1979 yılında, 2. Uluslararası çalışmada bir grubun raporunda, birçok sitokin tek bir hücreden olmadığını, birçok hücrelerden salgılanmakta olduğunu, ayrıca bağışıklık sisteminde görev aldığını belirtmişlerdir.

Sitokinler hedef hücrelerindeki kendilerine ait özel ligandlara bağlanarak etki gösterirler. Lökositlerden salgılanan birçok sitokine interlökin adı verilmektedir. Salgılandıklarında etkilerine göre otokrin, parakrin, endokrin özellikleri vardır [50].

Otokrin bir hücre tarafından salgılanıp aynı hücre üzerine etkisini gösterirken, parakrin ise belli bir hücre tarafından salgılanıp sitokinlerin yakınındaki komşu hücrelere etkisini göstermektedir. Monosit, lenfosit, tümoral hücre grupları tarafından sentezlenir, bağışıklık sistemindeki hücrelerin etkinliğini arttırlar.



Sitokin genel isimdir. Eğer;

hücre orjini lenfosit ise → lenfokin
 hücre orjini monosit ise → monokin
 olarak tanımlanır.

Şekil 2.5. Sitokinler otokrin, parakrin ve endokrin etkileri [51]

200'den fazla insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinler genel veya sistemsel olabilirler. Sitokinler bazen tek başlarına salınmaları ve bazen tek başlarına etki göstermeleri bakımından çalışılması zor oldukça zordur. Bir sitokinin bir başka sitokinin yapımında ve yanıtı üzerinde etkisi olabilmektedir [52].

Sitokinlerin, bağışıklık sistemi dışında düz kas, çizgili kas ve sinir hücreleri fonksiyonlarında, fibroblastlarda da düzenleyici olarak görev yaptığı son 15-20 yılda yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Sitokinlerin tanımlaması için fonksiyonel benzer özelliklerine göre birçok sınıflandırma yapılmıştır. Bunlar;

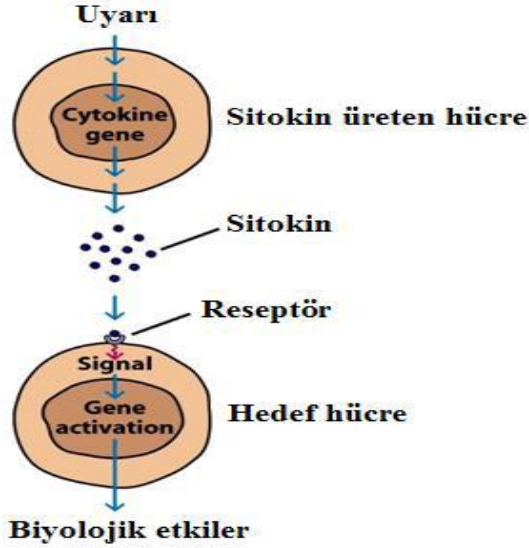
- 1- Doğal bağışıklık bakımından aracı olan moleküller;
 - a) 1. tip interferonlar
 - b) Tümör nekroz faktör (TNF)
 - c) İnterlöin-1 (IL-1)
 - d) İnterlökin-6 (IL-6)
 - e) Kemokinler
- 2- Lenfosit aktivasyonu, farklılaşma ve çoğalmasını düzenleyen sitokinler;
 - a) İnterlökin-2 (IL-2)
 - b) İnterlökin-4 (IL-4)

- c) Transforming Growth faktör (TGF)
- 3- İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler
- a) İnterferon-gama (IFN-g)
 - b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
 - c) İnterlökin-12 (IL-12)
 - d) İnterlökin-10 (IL-10)
- 4- Hematopoezi uyaran sitokinler;
- a) Stem cell faktör (SCF)
 - b) İnterlökin-3 (IL-3)
 - c) Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF)
 - d) Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF)
 - e) İnterlökin-7 (IL-7)
 - f) İnterlökin-9 (IL-9)
 - g) İnterlökin-11 (IL-11) (53)

Sitokinlerin kendine özgü belli başlı birtakım özellikleri vardır. Bunlar;

1. Sitokinler doğal yapılı ve özel immunité de efektör faz yapıdadırlar.
2. Bir sitokin farklı tiplerdeki hücreler tarafından meydana getirilebilmektedir.
3. Sitokinin farklı tiplerdeki hücreler üzerinde farklı etkileri vardır.
4. Molekül ağırlıkları düşüktür.
5. Bir sitokinin aynı hedefte farklı etki mekanizmaları olabilmektedir, bazıları ile aynı anda olabiliyorken bazıları ile dakikalar, saatler veya günler sonra bile oluşabilir.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi oluşturabilmektedir.
7. Sitokinlerde; iki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm) veya arttırabilir (sinerji) hatta değişik bir etkiye bile yol açabilir. Yani çevresel şartlara göre etkinlikleri değişebilmektedir. Romatoid artritte TNF- α ve IL-1 antagonistleri etkili iken IL-1 ve TNF- α da inhibitörlerinde etkileri vardır [48].
8. Sitokinlerin sentez ve salgılamaları kısa süreli olaylardır. Sitokinler yeni gen transkripsiyonu ile başlamaktadır yani hücrede önceden yapılmış hazır halde bekletilmezler.
9. Sitokinler; hedef hücre yüzeylerindeki kendilerine özgü reseptörlere bağlanıp etkilerini göstermektedirler.

10. Çok düşük miktardaki sitokinler belli biyolojik etkiyi sağlamaktadır.
11. İmmün sistem ve iltihap reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini regüle ederler.
12. Sitokinler geçici olarak sentezlenip, lokal olarak etkisini göstermektedirler.
13. Son derece kuvvetlidirler [53-54].



Şekil 2.6. Sitokinlerin biyolojik etkileri [51]

Sitokinlerin etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak mümkündür.

1. Reseptör antagonistler olarak: Bu moleküller reseptör moleküllerine bağlanıp sitokin etkisini engellerler.
2. Solubl sitokin reseptörler olarak: Solubl reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak hücreye olan etkisini ortadan kaldırır.
3. Sitokin otoantikorlar olarak: Sitokinleri özel olarak nötralize ederler.
4. İnhibitör sitokinler olarak: IL-10 ve IL-4'ün tip1 sitokinler için, IL-2 ve IFN- γ 'nın tip 2 sitokinler için baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir.
5. Sitokin reseptörünün yokluğu: Bunun en tipik örneği IFN- γ reseptörlerinin mutasyon gibi değişiklikler sonucu silinmesiyle IFN- γ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir.

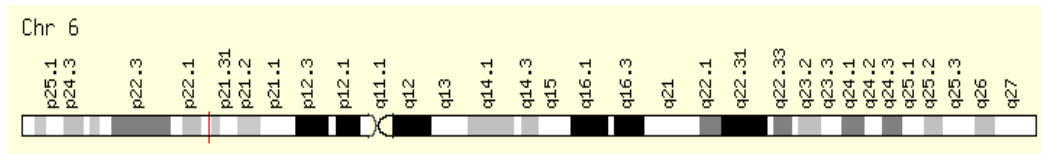
6. Inhibitor proteinler olarak: İnflamatuar olarak düzenli rolü bulunan sitokinler, hedef hücre etkilemede, inflamasyon yayılmasını ve istenmeyen etkileri önlemede doğal inhibisyon olayını başlatmaktadır. Kronik inflamatuvar hastalık olaylarında organ nakillerinde (transplantasyonunda) organ reddinde sitokin inhibitörleri sitokinlere bağlanarak biyolojik olarak etkiyi azaltmakta etkindir. Bağışıklık sistemini baskılamada etkindir [54].

2.6.1. Tıpta Sitokinlerin Kullanımı

Sitokinler kimyasal iletilerde, birçok hastalığın fizyopatolojisinde, hastalıkların tanısında, tanıdıktan sonra hastalığın seyrinde, terapötik olarak karar verilmesinde ve ilaçların etkilerini değerlendirmeye kadar birçok işlemde yararlı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca doku zedelenmemelerinde, sistemik inflamatuvar yanıtta TNF- α , IL-1, IL-18 gibi sitonkinler görevlidir. Etkin oldukları hücrelerde, hücrelerin birbirleri ile olan etkileşimlerinde hücrelerin kontrolünü sağlayan sitokinler, yara iyileştirmelerinde, inflamasyonlara, bağışıklık sistemlerindeki yanıtta, inflamasyonlarda rol alan hücrelerden salınır sentezlenirler [48].

2.6.1.1 Tümör Nekroz Faktörü (TNF)

Molekül ağırlığı 17 kDa olan Kaşektin olarak bilinen tümör nekroz faktörlerine, tümörlerde hemorajik nekroz yaptığı için tümör nekroz faktör ismi verilmiştir. TNF-alfa ve TNF-beta olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Aralarında %30 civarında benzerlik oranları vardır. 2 ayrı gen tarafından üretilmekte olup 6. Kromozom üzerinde yer alırlar [49].



Şekil 2.7. TNF'nin kromozom üzerindeki yeri [59]

TNF- α makrofaj ve kupfer hücrelerinde sentezlenirken, TNF- β aktif T hücrelerinde sentezlenir. TNF- α inflamasyonda (iltihap) görevli temel sitokinlerden biridir. TNF- α 'nın

biyolojik etkileri derişimlerine bağlıdır. Etkinlik bakımından düşük konsantrasyonlarda bölgeseldir.

Otokrin ve parakrin etki yaptığı hücreler ise endotel ve lökositlerdir [49]. TNF- α mikroorganizmaların yok edilmesi için nötrofilleri aktif hale getirmektedir. TNF- α 'nın da virüsün neden olduğu enfeksiyonlarına karşı başlıca önemli rolleri vardır. IL-1, TNF- α ve kemokin gibi sitokinlerin üretiminde rol oynar. Nötrofil, eozinofil ve mononükleer fagositlerin mikroorganizmaları öldürmesini aktive etmektedir. Mononükleer fagositleri ve diğer bazı hücrelerin inflamatuvar yanıtta önemli rolleri olan IL-1, IL-6, TNF- α ve kemokin gibi sitokinlerin üretimini uyarmaktadır [49].

TNF- α 'nın etkileri (sistemik);

- 1) TNF içsel kaynaklı ateş yükseltici etkiye sahiptir, oluşan bu ateşin nedeni, hipotalamusa ait hücrelerin aşırı prostoglandin sentezlemesidir.
- 2) TNF- α karaciğer hücrelerinin ve proteinlerin sentezlemesini uyarır. Bu proteinler organizmadaki doku hasarı ve enflamasyonu olduğunda plazmada düzeyleri değişmektedir. Örnek verilecek olursa Fibrinojenlerin miktarı artarken, albüminin miktarı azalır.
- 3) Pıhtılaşma sisteminde ise antikogölan ve prokoagölanlarda değişiklik yapar ve sistemi aktive eder.
- 4) Kemik iliğinde kök hücre bölünmesini uzun süreli etkiliğinde baskılar ve immün yetmezliklerine neden olur [49].

Ağır ve ciddi enfeksiyonlarda TNF- α fazla miktarda yapılır ve patolojik olaylara sebep olur. Ayrıca TNF- α , IL-1 gibi sitokinler proinflamatuvar sitonkindir ve patojen elemesini sağlayıp hızlı bir şekilde yanıtta rol alır ve inflamatuvar değişiklik oluştururlar.

2.7. İnterlökin

İnterlökinler; interferön (ifn) ve Tümör nekroz faktör (TNF) içermektedir. Bağışıklık sistemini ve hücre fonksiyonunu düzenleyip çeşitli zararlılara karşı tepki verip, onların aktivitesini kontrol eder ve onları normal şartlarda tutmaya çalışmaktadırlar. T hücrelerinin aktivasyonu için IL-1 ve TNF ile birlikte antijen özellik göstermektedirler.

İnterlökinlerin ana kaynağı TNF- α gibi mononükleer fagositlerdir. İlk başlarda endojen bir pirojen ve lenfosit proliferasyon uyararı olarak interlökinler tanımlanmıştır [55].

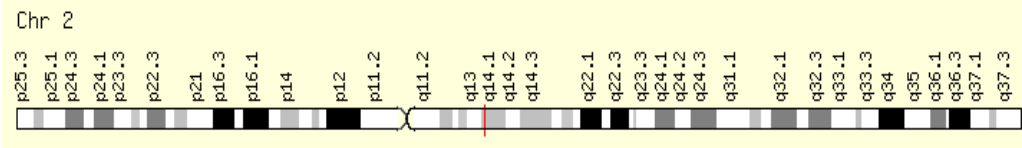
Diabet, inflamasyon, otoimmün hastalıklar ve osteoporoz oluşumunda interlökinlerin rol aldığı düşünülmektedir. IL-1'in endojen ve ekzojen etkilerine bakıldığında kilo kaybı, endokrin sistem, sinir sistemi fonksiyonları, uyku düzenlenmesi epilepsi gibi birçok etkileri gösterilmektedir. IL-1 birçok biyolojik faaliyetleri olan ve doğrudan enflamasyon sırasında ifade edilen bazı genleri düzenleyen bir pro-enflamatuar sitokindir. IL-1 β 159aa ve IL-1 α 153aa olmak üzere agonist etkiye sahip 2 tane çeşidi vardır. Bunlar %26 oranında birbirlerine benzerler. Dolaşımda en çok IL-1 β bulunmaktadır ve dolaşımda endokrin etki göstermektedirler, etkileri ise konsantrasyona bağlıdır. IL-1 vücudumuzdaki tüm çekirdekli hücreler tarafından endotel hücrelerden ve nötrofilardan de üretimi olmaktadır. Bir diğer 3. tanımlanan proteini ise IL-1ra (IL-1 reseptör antagonisti) dir. İnterlökinin etkilerinin zıttıdır ama tam olarak etkileri bilinmemektedir [56].

Enflamasyon yani yanıtın oluşması için bir takım görevli sitokinler vardır. Bunlar; IL-1, IL-8, TNF- α , TNF- β , IFN- γ gibi. Bunların fibroblastlar üzerine de genel etkileri vardır. IL karaciğer üzerinde; IL-1 normal karaciğer proteinlerini 2-3 kat arttırırken, patolojik proteinleri 100- 1000 kat arttır [57].

2.7.1. İnterlökin-1 β

Proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 β , IL-6 ve TNF-alfa inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında ve patojenlerin uzaklaştırılmasında görevlidirler. İnterlökin 1'in iki alt tipi vardır. Bunlar IL-1 α ve IL-1 β dir. Bağışıklık sistemi hücreleri olan endotel hücreler, monositler ve lenfositler tarafından salınırlar. Otoimmün, kemik erimesi ve infalamasyonun oluşmasında etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

İnterlökin 1'in üretimi vücudumuzdaki tüm çekirdekli hücreler tarafından olmaktadır. IL-1 α ve IL-1 β formları insanlarda bulunmaktadır. Tümör nekroz faktör ile beraber interlökin 1; hücrel immün cevabın oluşmasını sağlar. İnterlökin 1- β 2. Kromozomda yer almaktadır.

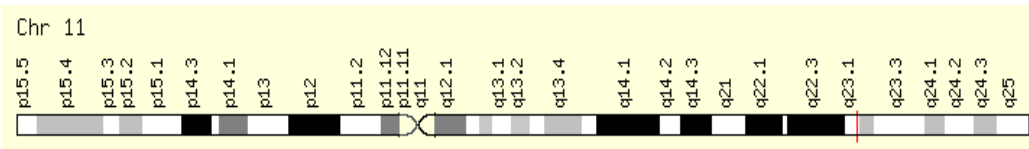


Şekil 2.8. IL-1beta'nın kromozom üzerindeki yeri [59]

2.7.2. İnterlökin-18

IL-18 sitokin ailesi üyelerinden makroraj ve monositlerden salgılanan ve aynı zamanda da kupfer hücreleri ve epital hücrelerin farklılaşmasında, büyümesinde de etkili bir interlökin üyesidir. İnflamatuvar hastalıklarda ve otomimmünde önemli olan bir sitokindir. Proinflamatuvar rolü vardır. IFN-y (gama) üretimini arttırma gibi rolü vardır. Makrofajlarından IL-1 ve TNF- α salımını çoğaltır.

Fonksiyonel olmasa da yapı olarak IL-1 benzerlik gösterir. IL-18 proinflamatuvar sitokinlerin salımını arttırır. İsimlendirilmesi ilk başlarda interferon gama indükleyici faktör olarak olmuştur. İlk olarak 24kDa'lık inaktif şekilde öncül bir protein olarak sentezlenir (pro-IL-18) daha sonra kaspaz 1 ve kaspaz 4 ile 18kDa olarak aktif biyolojik formuna kesilir [58]. 11.kromozomdadır ve birçok gen polimorfizmi vardır. (11q22.2-22.3)



Şekil 2.9. IL-18'in kromozom üzerindeki yeri [59]

TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinin salgısını potansiyelize ettiği özelliği vardır. Bu özelliğinden dolayı IL-18 inflamasyonda çok önemli bir sitokindir. Tip 1 diyabet, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarında ve astım, behçet hastalığı, gibi inflamasyon hastalıklarında etkilidir. Farelere yapılan incelemeler sonucunda IL-18 tümör anjiogenezini inhibe edip, tümörgenezisi zayıflatıp, antitümör etkiye sebep olmaktadır.

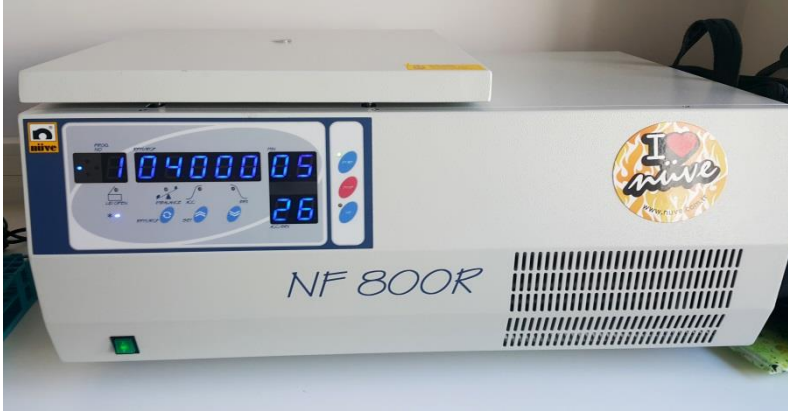
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Analizlerde Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Çalışmamızda Uşak Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan, cihaz ve malzemeler kullanılmıştır. Bunlar;

- Elisa Cihazı (Thermo Scientific Multiskan FC program adı: Skanit RE 4.1)
- Hassas Terazı (Ohaus Pioneer)
- Vorteks (WiseMix VM-10; Wisd. Laboratory Instruments)
- Wash (Diagnostic Automation, Inc)
- Homojenizatör (IKA T18 basic, Ultra Turrax)
- Etüv (Nüve ES 120)
- Spektrometre (UV-mini-1240, UV-Vıs Spectrophotometer, Shimod 24)
- pHmetre (Ohaus pH starter 3000, st310 pH)
- Santrifüj (Nüve NF 800R, Türkiye)
- Otomatik Multikanal Pipet (Eppendorf Research Plus)
- Distile Su Cihazı (Direct-Q® 3UV Ultrapure (Type 1)
- Cerrahi eldiven
- Ependorf tüp
- Balon joje
- Su Banyosu (Nüve NB 20)

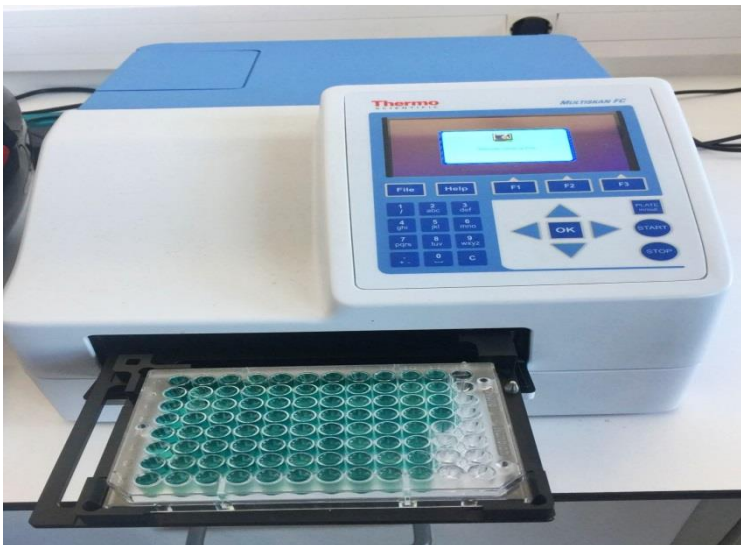
Çalışmamızda kullanmış olduğumuz bazı cihazların resimleri;



Resim 3.1. Santrifüj (Nüve NF 800R, Türkiye)



Resim 3.2. Spektrometre (UV-mini-1240, UV-Vis Spectrophotometer, Shimod 24)



Resim 3.3. Elisa Cihazı (Thermo Scientific Multiskan FC program adı: Skanit RE 4.1)



Resim 3.4. Otomatik Multikanal Pipet (Eppendorf Research Plus)

3.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Kafeik Asit Fenetil Ester (Sigma)
- Parasetamol (Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul)
- N-asetil Sistein (600 mg tek tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Müh-
Almanya)
- Rat TNF- α ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company lot no: 201709)
- Rat IL-1 β ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company lot no: 201709)
- Rat IL-18 ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company lot no: 201709)
- Rat 8-OHdG ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company: lot no: 201709)
- TAS (Rel Assay Diagnostics; lot no: DR16069A)
- TOS (Rel Assay Diagnostics; lot no: DR160800)
- SOD (SunRed Biotechnology Company lot no: lot no: 201802)
- GSH (SunRed Biotechnology Company lot no: lot no: 201802)
- CAT (SunRed Biotechnology Company lot no: lot no: 201802)

3.3. Deney Hayvanları

Araştırma Uşak Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı 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 Denev Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Çalışmada 2-3 aylık 180-200 gram ağırlığına sahip sağlıklı 36 adet 'Wistar-albino' erkek rat kullanıldı. Araştırmadan 1 hafta önce gözlem altına alınan denev hayvanlarının denev ortamına adaptasyonu sağlandı. Denekler 12 saat karanlık ortamda, 12 saat aydınlık ortamda kalacak şekilde ve her bir kafeste 6 rat olacak şekilde ayrıldı. Çalışma süresince tüm denekler eşit ortam koşullarında tutuldu.

Deneklere çalışma süreleri boyunca standart rat yemi ve su 'ad libitum' olarak verilmiştir. Saat 09.00 - 19.00'da olmak üzere günde iki defa yem verildi.

3.4. Denev Gruplarının ve Hepatotoksisitenin Oluşturulması

3.4.1. Denev Gruplarının Oluşturulması

Denevde hayvanlar rastgele olacak şekilde tablo 1'deki gibi 6 gruba ayrıldı. (n=6)

Çizelge 3.1. Denev hayvanlarının gruplara ayrılması

<u>Grup 1:</u>	Kontrol grubu (n=6): Çalışma süresince standart yemle beslenen ratlardan oluştu. Serum fizyolojik uygun hacimde verildi.
<u>Grup 2:</u>	Parasetamol grubu (n=6) distile suda çözünüp 2g/kg dozunda, 2 mL gavaj ile parasetamol uygulaması yapıldı.
<u>Grup 3:</u>	Parasetamol + CAPE (n=6): 2g/kg oral parasetamol uygulaması sonrasında, 10mikrogram/kg CAPE uygulaması yapıldı.
<u>Grup 4:</u>	Parasetamol + NAC (n=6): Parasetamol 2 g/kg + NAC (140 mg/kg) grubu. 140 mg/kg N-Asetil Sistein oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda, 2 mL parasetamol uygulaması yapıldı.
<u>Grup 5:</u>	CAPE (n=6) etanolle çözdürülüp tek başına 10 mikrogram/kg CAPE uygulaması yapıldı.
<u>Grup 6:</u>	Etanol grubu (n=6) CAPE'nin çözdürüldüğü oranda seyreltik etenol.

İlaçlar gavaj yoluyla ratlara ağızdan verildi. NAC parasetamol verildikten bir saat ve 12 saat sonra tekrarlandı. Parasetamol uygulamasını takiben 1 saat yeme içmesine izin

verilmiş ve 24 saat bekleddikten sonra hayvanlar sakrifiye edildi. (ketamin 65mg/kg, i.p)-ksilazin(7mg/kg, i.p) anestezi altında tüm deney gruplarından karaciğerleri hızla çıkarılarak biyokimyasal ve moleküler analizler için 80°C’de, histopatolojik analizler için %10’luk formalin içerisinde bekletildi.

3.4.2. Deneysel Hepatotoksisitenin Oluşturulması

Çalışmamızda deneysel hepatotoksisitenin oluşturulması için klinikte kullanılan N-asetil sistein (NAC), parasetamol toksisitesinde 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 süspansiyon edilerek hazırlandı. Hazırlanan süspansiyon gastrik sonda yardımıyla oral yoldan uygulandı. Çalışmada kullanılan parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlendi [60,61]. 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.

Kafeik Asit Fenetil Ester (Sigma); 2 g/kg dozunda, 2 mL gavaj ile parasetamol uygulaması olan grup, 2g/kg oral parasetamol uygulaması sonrasında, 10mikrogram/kg CAPE uygulaması yapılacak grup, Parasetamol 2 g/kg + NAC (140 mg/kg) grubu. 140 mg/kg N-AsetilSistein oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda, 2 mL parasetamol uygulaması yapılacak grup ve tek başına 10 mikrogram/kg CAPE uygulaması yapılacak grup şeklinde CAPE uygulaması gruplara göre yapıldı.

Çalışmanın Sonlandırılması:

Parasetamol uygulamasını takiben 1 saat yeme içmesine izin verilmiş ve 24 saat bekleddikten sonra hayvanlar sakrifiye edildi. (ketamin 65mg/kg, i.p)-ksilazin(7mg/kg, i.p) anestezi altında tüm deney gruplarından karaciğerleri hızla çıkarılarak biyokimyasal ve moleküler analizler için 80°C’de, %10’luk formalin içerisinde bekletildi.

3.5. Karaciğer Dokusu Homojenizasyonu

Karaciğer doku örnekleri, deneyden 1 saat öncesinde- 80 °C'den çıkartılıp oda sıcaklığında çözündürüldü. Çözünmesi gerçekleşen örnekler öncelikle hassas terazi ile tartıldı. Tartma işlemi bittikten sonra her bir karaciğer örneklerine 5 mL pH 7,4 olan fosfat tamponu eklenerek ultra turrax doku homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi bittikten sonra deney tüplerine alındı. 4000rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatandan biyokimyasal çalışmalar gerçekleştirildi.

3.6. Sitokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi

3.6.1. TNF-alfa'nın Belirlenmesi

Karaciğer doku örnekleri, Rat TNF- α Elisa Kiti (SunRed Biotechnology Company, Lot numarası 201709) kullanılarak seviye ölçüldü. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlara ve ölçülecek olan numuneler 450 nm absorbandsda okutulup, sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

Standartların Hazırlanması

Standartlar 640ng'den başlayıp sırasıyla 320ng, 160ng, 80ng, 40ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

320ng için 120 μ l orijinal standart+ 120 μ l standart diluent,

160ng için 120 μ l 320'lik standart+ 120 μ l standart diluent,

80ng için 120 μ l 160'lik standart+ 120 μ l standart diluent,

40ng için 120 μ l 80'lik standart+ 120 μ l standart diluent,

20ng için 120 μ l 40'lik standart+ 120 μ l standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50 μ l standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40 μ l numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10 μ l antibody (Ab) eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50 μ l HRP kuyucuklara konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600ml) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50ml ve kromojen B solüsyonundan

50mL eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C de 10dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50mL eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapıp, sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

3.6.2. İnterlökin-1 β 'nin Belirlenmesi

Karaciğer doku örnekleri Rat IL-1 β Elisa Kiti (SunRed Biotechnology Company, Lot numarası: 201709) kullanılarak seviyeleri ölçüldü. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar ve ölçülecek olan numuneler 450 nm absorbandsa okutulup, sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

Standartların Hazırlanması

Standartlar 4800ng'den başlayıp sırasıyla 2400ng, 1200ng, 600ng, 300ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

Deneyin Yapılışı

300ng için 120 μ l orijinal standart+ 120 μ l standart diluent,
600ng için 120 μ l 300'lık standart+ 120 μ l standart diluent,
1200ng için 120 μ l 600'lik standart+ 120 μ l standart diluent,
2400ng için 120 μ l 1200'lik standart+ 120 μ l standart diluent,
4800ng için 120 μ l 2400'lik standart+ 120 μ l standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50 μ l standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40 μ l numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10 μ l antibody (Ab) eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50 μ l Streptavidin HRP konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1 saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (Yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600mL) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50 μ l ve kromojen B solüsyonundan 50 μ l eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C de 10dakika inkübe edildi (renk değişimi gözlemlendi). Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50 μ l eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapıp, sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

3.6.3. İnterlökin-18'in Belirlenmesi

Karaciğer doku örnekleri Rat IL-18 Elisa Kiti (SunRed Biotechnology Company, Lot numarası 201709) kullanılarak seviyeleri ölçüldü. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar ve ölçülecek olan numuneler 450 nm absorbandsa okutulup sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

Standartların Hazırlanışı

Standartlar 80ng'den başlayıp sırasıyla 40ng, 20ng, 10ng, 5ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

Deneyin Yapılışı

80ng için 120µl orijinal standart+ 120µl standart diluent,
40ng için 120µl 80'lik standart+ 120µl standart diluent,
20ng için 120µl 40'lik standart+ 120µl standart diluent,
10ng için 120µl 20'lik standart+ 120µl standart diluent,
5ng için 12µl 10'lik standart+ 120µl standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50µl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl antibody (Ab) eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin HRP konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1 saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (Yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600mL) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50µl ve kromojen B solüsyonundan 50µl eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C de 10dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50µl eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapılp, sonuçlar konsantrasyon olarak hesaplandı.

3.7. Total Antioksidan Seviyesi-Total Oksidan Seviyesi Ölçümleri

3.7.1. Total Antioksidan Seviyesi Belirlenmesi

Doku örneklerinde bakılan total antioksidan seviye (TAS) düzeyi (Total Antioxidant Status -Total Antioksidan Seviyesi) Rel Assay Diagnostic, DR16069A Lot numaralı kit ile

ölçüldü. Yöntemin özelliği örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır.

Deneyin Yapılışı

100mikrolitre standart+100µl distile su ile vortekslendi. 0,5'ten başlayarak dilue edildi.

G kuyucuğundan 15'er µl örneklerden başlandı.

A kuyucuğuna 0,125

B kuyucuğuna 0,25

C kuyucuğuna 0,125

D kuyucuğuna Standart 1

E kuyucuğuna R1 (level 1)

F kuyucuğuna R2 (level 2) 15'şer µl'lik numuneler eklendi.

A, B, C, D, E, F, G,... kuyucukları dahil olmak üzere dispensir yardımıyla 250 µl R1 eklendi. 660nm'de Elisa cihazında okuma işlemi yapıldı ve 1.absorbans değeri ölçüldü. Daha sonra A,B, C, D, E, F, G,... dahil olmak üzere tamamına dispensir yardımıyla 38 µl R2 eklendi. 5 dakika 37°C'de etüvde inkübe edildi. Son olarak 660nm'de Elisa cihazında okuma işlemi yapıldı ve 2. absorbans değeri ölçüldü.

3.7.2. Total Oksidan Seviyesi Belirlenmesi

Örneklerin toplam oksidan seviyesi Tos (Total Oxidant Status) Rel Assay Diagnostic, DR160800 Lot numaralı kit kullanıldı. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanır.

Deneyin Yapılışı

Kalibrasyon eğrisi için standartlar hazırlandı. 100mikrolitre standart+100mikrolitre distile su ile vortekslendi. 10ng'den başlayarak dilue edildi. H kuyucuğundan 37,5 µl örneklerden başlandı.

A kuyucuğuna 0,625

B kuyucuğuna 1,25

C kuyucuğuna 2,50

D kuyucuğuna 5,00

E kuyucuğuna 10,00

F kuyucuğuna R1 (kontrol 1)

G kuyucuğuna R2 (kontrol 2)'den 37.5 µl'lik numuneler eklendi.

A, B, C, D, E, F, G,... kuyucukları dahil olmak üzere dispensır yardımıyla 250 µl R1 eklendi. 530nm'de Elisa cihazında okuma işlemleri yapıldı ve 1. absorbans değeri ölçüldü. Daha sonra A, B, C, D, E, F, G,... kuyucukları dahil olmak üzere dispensır yardımıyla 12,5 µl R2 eklendi. 5 dakika 37°C'de etüvde inkübe edildi. 530nm'de Elisa cihazında okuma işlemleri yapıldı ve 2. absorbans değeri ölçüldü.

3.8. Katalaz Seviyesi Belirlenmesi

Cat (katalaz) SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanıldı.

Standartların Hazırlanması

Standartlar 160ng'den başlayıp sırasıyla 80ng, 40ng, 20ng, 10ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

Deneyin Yapılışı

160ng için 120µl orijinal standart+ 120µl standart diluent,

80ng için 120µl 160'lık standart+ 120µl standart diluent,

40ng için 120µl 80'lik standart+ 120µl standart diluent,

20ng için 120µl 40'lık standart+ 120µl standart diluent,

10ng için 120µl 20'lik standart+ 120µl standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl antibody (Ab) eklendi. Sırasıyla B, C, D, E, F kuyucuklarına 10, 20, 40, 80, 160ng hazırlamış olduğumuz standartlardan 50µl konuldu. 50µl HRP A kuyucuğu (blank) dahil olmak üzere tüm kuyucuklara konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (Yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600mL) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50µl ve

kromojen B solüsyonundan 50µl eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50µl eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapıldı.

3.9. Süperoksit dismutaz Seviyesinin Belirlenmesi

SOD (Süperoksit dismutaz) SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanıldı.

Standartların Hazırlanması

Standartlar 64ng'den başlayıp sırasıyla 32ng, 16ng, 8ng, 4ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

Deneyin Yapılışı

64ng için 120µl orijinal standart+120µl standart diluent,
32ng için 120µl 64'lık standart+120µl standart diluent,
16ng için 120µl 32'lik standart+120µl standart diluent,
8ng için 120µl 16'lık standart+120µl standart diluent,
4ng için 120µl 8'lik standart+120µl standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl SOD antibody (Ab) eklendi. Sırasıyla B, C, D, E, F kuyucuklarına 64,32,16,8,4ng hazırlamış olduğumuz standartlardan 50µl konuldu. 50µl HRP A kuyucuğu (blank) dahil olmak üzere tüm kuyucuklara konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (Yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600mL) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50µl ve kromojen B solüsyonundan 50µl eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50µl eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapıldı.

3.10. Glutasyon Seviyesinin Belirlenmesi

GSH (Glutasyon) SunRed Biotechnology Company lot no: 201802 kit kullanıldı.

Standartların Hazırlanması

Standartlar 120ng'den başlayıp sırasıyla 60ng, 30ng, 15ng, 7,5ng şeklinde dilue (seyreltme) edilerek küçük kapaklı deney tüplerine konulup vortekslendi.

120ng için 120µl orijinal standart+120µl standart diluent,

60ng için 120µl 120'lık standart+120µl standart diluent,

30ng için 120µl 60'lik standart+120µl standart diluent,

15ng için 120µl 30'lik standart+120µl standart diluent,

7,5ng için 120µl 15'lik standart+120µl standart diluent, şeklinde standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl antibody (Ab) eklendi. Sırasıyla B, C, D, E, F kuyucuklarına 7,5,15,30,60,120ng hazırlamış olduğumuz standartlardan 50µl konuldu. 50µl HRP A kuyucuğu (blank) dahil olmak üzere tüm kuyucuklara konuldu. Kuyucukların üstü saydam bir plastik ile kapatılıp 1 saat inkübe edildi. 1saatlik arada yıkama solüsyonu hazırlandı. (Yıkama solüsyonu: 20mL'ye 30 kat distile su =600mL) 1 saatlik bekleme süresinin ardından yıkama makinesinde 5 defa yıkandı. Her kuyucuğa kromojen A solüsyonundan 50µl ve kromojen B solüsyonundan 50µl eklendi. Hafifçe çalkalandı. 37°C de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50µl eklendi. 450nm'de Elisa cihazı ile okuma işlemi yapıldı.

3.11. Malondialdehid Seviyesinin Belirlenmesi

Karaciğer MDA ölçümünde Sushil, K. J. (1986) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. MDA lipid peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. MDA aerobik şartlarda pH:3,4 de tiyobarbitürik asit ile 95°C de inkübasyonu sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur.

Çalışma karaciğer dokusunda (200mL) yapılmıştır.

Kullanılan kimyasallar;

Potasyum fosfat tamponu 0,1m ph: 7,4

Sodyum dodesilsülfat %8.1

Asetik asit %20'lik, doymuş NaOH ile pH: 3,5'a ayarlanır

Tiyoborbütirik asit (TBA) %0,8

N-Bütanol/pridin çözeltisi (15/1) (günlük hazırlanır)

Prosedür:

Stok standart:1,1,3,3tetraetoksiopropan (d:0,92g/mL) stoktan 6,6mL alınarak 100mL'ye saf su ile tamamlandı. 10, 20,40, 60, 80, 100nmol/mL konsantrasyonlarında çalışma standartları hazırlandı. 95°C de 30dakika inkübe edilip soğutulduktan sonra üzerine n-Bütanol/Pridin ilave edilip karıştırıldı. 4000rpm de 10dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra spektrofotometre ile ölçüm 523nm'de yapıldı. (İlk olarak distile su ile kör okuma yapıp, daha sonra 1mL üst süpernatant kısımdan alınarak okuma işlemi yapıldı.)

Hesaplama:

CN: Numunenin konsantrasyonu

AN: Numunenin absorbansı

AS: Standardın absorbansı

CS: Standardın konsantrasyonu

$$CN = \frac{AN}{AS} \times CS$$

3.12. Aspartat Amino Transferaz ve Alanin Amino Transferaz Ölçümlerinin Yapılması

Biyokimya tüpüne (jelli antikuaglanşız tüpler) alınan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj (Nüve NF 800R, Türkiye) edildi ve elde edilen serum örneği analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Analiz saatinde çözdürülen numunelerden, Uşak Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında Abbott C4100 markalı entegre otoanalizör biyokimya cihazında AST ve ALT seviyeleri ölçüldü.

4. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences ver. 18.0, SPSS Inc, Chicago Illinois, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. Grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada ANOVA ve Duncan testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.



5. BULGULAR

24 saatlik çalışma sonunda toplamda 36 rattan elde edilen karaciğer doku örneklerinden TNF- α , IL-1 β , IL-18 düzeyleri, MDA, TAS, TOS, SOD, GSH, CAT seviyeleri ve serumda AST, ALT düzeyleri incelendi. Gruplar kendi aralarında aynı zamanda kontrol grubuyla karşılaştırmada ANOVA ve Duncan testi kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar sırasıyla çizelge 5.1, çizelge 5.2, çizelge 5.3, çizelge 5.4, çizelge 5.5, çizelge 5.6, çizelge 5.7, çizelge 5.8, çizelge 5.9, çizelge 5.10 ve çizelge 5.11'de verilmiştir.

5.1. TNF- α Sonuçları

Çizelge 5.1. Karaciğer dokusu TNF-alfa seviyeleri

Grup	TNF- α (ng/L)
Kontrol	328,95 \pm 31,16 ^{a,e}
Parasetamol	430,63 \pm 16,17 ^b
Parasetamol+CAPE	313,47 \pm 64,27 ^c
Parasetamol+NAC	369,08 \pm 45,70 ^d
CAPE	335,88 \pm 33,22 ^e
Etanol	329,78 \pm 35,64 ^e

Bulgularımıza göre, TNF- α seviyeleri parasetamol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek, parasetamol+CAPE verilen grupta ise anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek olduğu çizelge 5.1'deki gibidir. Parasetamol+CAPE ve parasetamol+NAC verilen grupla parasetamol grubu karşılaştırıldığında, TNF- α seviyelerinin anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü görüldü. CAPE ve etanol grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farka rastlanmadı.

5.2. Interlökin-1B Sonuçları

Çizelge 5.2. Karaciğer dokusu interlökin-1B seviyeleri

Grup	IL-1B (ng/L)
Kontrol	2,51±0,39 ^a
Parasetamol	2,39±0,34 ^a
Parasetamol+CAPE	2,02±0,24 ^b
Parasetamol+NAC	2,03±0,24 ^b
CAPE	2,13±0,14, ^c
Etanol	2,19±0,31 ^c

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Bulgularımıza göre, IL-1B seviyeleri parasetamol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek, parasetamol+CAPE verilen grupta ise anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek olduğu çizelge 5.2'deki gibidir. Parasetamol+CAPE ve parasetamol+NAC verilen grupla parasetamol grubu karşılaştırıldığında, IL-1B seviyelerinin anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü görüldü. CAPE ve etanol grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farka rastlanmadı.

5.3. Interlökin-18 Sonuçları

Çizelge 5.3. Karaciğer dokusu interlökin-18 seviyeleri

Grup	IL-18 (pg/L)
Kontrol	43,99±1,80 ^{a,e}
Parasetamol	71,78± 3,55 ^b
Parasetamol+CAPE	33,80±3,481 ^c
Parasetamol+NAC	40,78± 2,93 ^d
CAPE	44,63±1,82 ^e
Etanol	37,21±2,30 ^f

a,b,c,d,e,f: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Bulgularımıza göre, IL-18 seviyeleri parasetamol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek, parasetamol+CAPE verilen grupta ise anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek olduğu çizelge 5.3'deki gibidir. Parasetamol+CAPE ve parasetamol+NAC verilen grupla parasetamol grubu karşılaştırıldığında, IL-18 seviyelerinin anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü görüldü. CAPE ve etanol grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farka rastlanmadı.

5.4. Total Antioksidan Seviyesi Sonuçları

Çizelge 5.4. Karaciğer dokusu TAS seviyeleri

Grup	TAS (mmol Trolox Ekivalent/L)
Kontrol	6,19±0,39 ^a
Parasetamol	1,35±0,07 ^b
Parasetamol+CAPE	4,52±0,4 ^c
Parasetamol+NAC	4,38±0,02 ^c
CAPE	6,17±0,05 ^a
Etanol	6,18±0,09 ^a

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Çalışmamızda karaciğer TAS seviyeleri çizelge 5.4'te görüldüğü gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TAS seviyeleri anlamlı olarak ($p<0.05$) düşük bulundu. Parasetamol+CAPE verilen grup parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında, TAS seviyesinin ise yükseldiği görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup, parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında ise parasetamol+CAPE grubuna benzer sonuçlar alındı. CAPE ve Etanol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmedi.

5.5. Total Oksidan Seviye Sonuçları

Çizelge 5.5. Karaciğer dokusu TOS seviyeleri

Grup	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Ekivalent/L)
Kontrol	3,66 \pm 0,47 ^a
Parasetamol	10,67 \pm 0,17 ^c
Parasetamol+CAPE	5,73 \pm 0,16 ^d
Parasetamol+NAC	5,51 \pm 0,03 ^d
CAPE	4,84 \pm 0,08 ^b
Etanol	4,41 \pm 0,28 ^c

a,b,c,d,e: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Çalışmamızda karaciğer TOS seviyeleri çizelge 5.5’de görüldüğü gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığı, TOS seviyeleri anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksek bulundu. Parasetamol+CAPE verilen yükseldiği grup parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında TOS seviyelerinin düştüğü, görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup, parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında ise parasetamol+ CAPE grubuna benzer sonuçlar alındı. CAPE ve Etanol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmedi.

5.6. Malondialdehid Sonuçları

Çizelge 5.6. Karaciğer dokusu MDA seviyeleri

Grup	MDA (nmol/mg protein)
Kontrol	0,15 \pm ,034 ^a
Parasetamol	0,74 \pm ,020 ^b
Parasetamol+CAPE	0,22 \pm ,020 ^c
Parasetamol+NAC	0,21 \pm ,011 ^c
CAPE	0,23 \pm ,033 ^c
Etanol	0,22 \pm ,036 ^c

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Çalışmamızda MDA seviyeleri çizelge 5.6'da görüldüğü gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığı MDA seviyeleri anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksek bulundu. Parasetamol+CAPE verilen grup parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA seviyelerinin düştüğü görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup, parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında ise CAPE+parasetamol grubuna benzer sonuçlar alındı. CAPE ve Etanol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmedi.

5.7. Süperoksitdismutaz Sonuçları

Çizelge 5.7. Karaciğer dokusu SOD seviyeleri

Grup	SOD (ng/mL)
Kontrol	4,01±0,014 ^a
Parasetamol	2,01±0,007 ^b
Parasetamol+CAPE	4,02±0,016 ^a
Parasetamol+NAC	3,04±0,016 ^c
CAPE	4,05±0,011 ^d
Etanol	4,05±0,027 ^d

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Karaciğer dokusundan elde edilen seviyeler çizelge 5.7'de verildiği gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD seviyeleri anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü, parasetamol+CAPE uygulamasının parasetamol grubuna göre ise anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığını görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında, SOD seviyeleri parasetamol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAPE, etanol grupları kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediler.

5.8. Katalaz Sonuçları

Çizelge 5.8. Karaciğer dokusu CAT seviyeleri

Grup	CAT (ng/mL)
Kontrol	79,21±0,62 ^a
Parasetamol	58,44±0,54 ^b
Parasetamol+CAPE	78,26± 0,52 ^a
Parasetamol+NAC	67,66±2,46 ^c
CAPE	79,09± 0,77 ^a
Etanol	78,62±1,05 ^a

a,b,c: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Karaciğer dokusundan elde edilen seviyeler çizelge 5.8’de verildiği gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT seviyeleri anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü, parasetamol+CAPE uygulamasının parasetamol grubuna göre ise anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığını görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında, CAT seviyeleri parasetamol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAPE, etanol grupları kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediler.

5.9. Glutasyon Sonuçları

Çizelge 5.9. Karaciğer dokusu GSH seviyeleri

Grup	GSH (nmol/ml)
Kontrol	41,19±3,60 ^a
Parasetamol	1,427±1,42 ^e
Parasetamol+CAPE	40,69±2,56 ^d
Parasetamol+NAC	27,96±5,44 ^c
CAPE	36,37±4,43 ^{a,b}
Etanol	33,90±4,71 ^b

a,b,c,d,e: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Karaciğer dokusundan elde edilen seviyeler çizelge 5.9’da verildiği gibidir. Bulgularımıza göre, parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH seviyeleri anlamlı olarak ($p<0.05$) düştüğü, parasetamol+CAPE uygulamasının parasetamol grubuna göre ise anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığını görüldü. Parasetamol+NAC verilen grup parasetamol verilen grupla karşılaştırıldığında, GSH seviyeleri parasetamol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAPE, etanol grupları kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediler.

5.10. Aspartat Amino Transferaz Sonuçları

Çizelge 5. 10. Serum AST düzeyleri

Grup	AST (U/L)
Kontrol	88.42±6.07 ^a
Parasetamol	400.28±5.87 ^d
Parasetamol+CAPE	224.42±14.10 ^c
Parasetamol+NAC	144.42±14.17 ^b
CAPE	86.28±2.92 ^a
Etanol	93.01±11.47 ^a

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Çalışmamızda serum AST seviyeleri çizelge 5.10’da görüldüğü gibidir. Parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p<0.05$) olarak AST seviyeleri yüksek bulundu. Parasetamol+CAPE verilen gruplar, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak ($p<0.05$) bu seviyelerin düştüğü gözlemlendi. Parasetamol +NAC verilen grup, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında da bu grupta parasetamol grubuna göre ALT seviyelerinde anlamlı ($p<0.05$) bir düşüş gözlemlendi. Gözlenen düşüşün Parasetamol+CAPE grubundan daha fazla olduğu dikkat çekmiştir. CAPE ve etanol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediler.

5.11. Alanin Amino Transferaz Sonuçları

Çizelge 5.11. Serum ALT düzeyleri

Grup	ALT (U/L)
Kontrol	26.32±7.02 ^{a,b}
Parasetamol	170.61±21.64 ^d
Parasetamol+CAPE	59.85±5.11 ^c
Parasetamol+NAC	35.58±4.59 ^{a,b}
CAPE	22.01±4.92 ^a
Etanol	27.17±8.89 ^a

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Çalışmamızda serum ALT seviyeleri çizelge 5.11’de görüldüğü gibidir. Parasetamol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p<0.05$) olarak ALT seviyeleri yüksek bulundu. Parasetamol+CAPE verilen gruplar, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak ($p<0,05$) bu seviyelerin düştüğü gözlemlendi. Parasetamol +NAC verilen grup, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında da bu grupta parasetamol grubuna göre ALT seviyelerinde anlamlı ($p<0,05$) bir düşüş gözlemlendi. Gözlenen düşüşün Parasetamol+CAPE grubundan daha fazla olduğu dikkat çekmiştir. CAPE ve etanol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediler.

6. TARTIŞMA

Karaciğer, metabolik olayların düzenlenmesi, biyokimyasal ve immünolojik olaylarda görevli organımızdır. Anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeniyle toksik madde ve ilaçlara sıkça maruz kalan ve tüm zehirsizleştirme mekanizmaları yer alır.

İlaçlar, toksik etki ve kullanım kolaylığından dolayı zehirlenmeler arasında ilk sıralardadır. Birçok ilaçların ve kimyasal maddelerin metabolizmasının karaciğerde olması nedeniyle, karaciğerde bir takım hasar meydana getirmektedir.

Parasetamolün neden olduğu karaciğer hasar gelişiminde reaktif oksijen türleri önemli rol oynar. Parasetamol zehirlenmelerinde hastaların tedavisinde parasetamole özel panzehir olarak NAC (N-asetilsistein) verilmekte olup, yıllardır parasetamol kullanımlarına bağlı olarak oluşan hepatotoksisitenin önlenmesi için antidot olarak NAC kullanılmaktadır. Bununla birlikte GSH biyosentezini arttırmak için ve mevcut parasetamol yüksek doz tedavilerinde de N-asetilsistein kullanılır. NAC haricinde doğal antioksidanlar da biyolojik olarak dokuların normal yapılarından kaynaklanan hasarları önler ve olumlu yönde işlev gösterirler [62].

Literatürdeki veriler göz önüne alındığında modern tıpta, karaciğer hasarına uğramış hücrelerin kendini yenilemesine yardımcı olması bakımından karaciğeri koruyan ilaçların yanısıra, karaciğer hastalıklarını engellemek amacıyla da birçok bitki özütleri de günümüzde sıkça tercih edilmektedir [63]. Bu bitkilerin ortak özellikleri ksantin, fenol ve flavonoid yapıda olmalarıdır. Parasetamol ile oluşturulan deneysel hepatotoksisite modelinde NAC dışında zerdeçal, silimarin, CAPE ve vitamin E de günümüzde yaygın olarak tercih edilmektedir. Örneklere bakıldığında yapılan bir çalışmada Dandelion kökleri karaciğerin işlevini desteklemekte, çeşitli sistemsel bozukluğa uğradığında karaciğer işlevinin arttırmada ve karaciğer detoksifikasyonunda kullanılan bir bitki türü olduğu belirtilmiştir [64].

Başka bir çalışma ile günümüzde en çok kullanılan bitkisel doğal ekstratlardan enginar ve deve diken (Silybum marianum) özütleri ve o bitkilerden elde edilen haplardır

[65]. Deve dikenindeki silimarin isimli ekstratın karaciğer hasarını önlemede etkili olduğu raporlanmıştır [66].

Son yıllarda yüksek antioksidan kapasitelerinden dolayı arı ürünleri ile ilgili olarak literatürde pek çok çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Basim ve ark., (2006) yapmış oldukları çalışmalarda polen ve propolis ekstraktlarının antibakteriyal aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir [67].

Bizim çalışmamızda kullanmış olduğumuz antioksidan madde olan CAPE; antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan ve bağışıklığı uyarıcı özellikleri olan propolis maddesinin biyolojik etkili aktif bileşeni olup bilinen hiçbir yan etkisi de bulunmamaktadır. Farklı çalışmalar incelendiğinde antioksidan özelliğe sahip zerdeçal, enginar, biberiye, silimarin ve polen gibi çeşitli bitkilerin karaciğeri koruyucu özelliklerinden faydalanılmıştır [68].

Yapılan bu çalışmada, parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulan ratlarda, koruyucu bileşen olarak CAPE verilip ve karaciğer dokusunda TNF- α , IL-1 β , IL-18 düzeyleri, MDA, TAS, TOS, SOD, GSH, CAT seviyeleri ve serumda AST, ALT düzeyleri incelendi.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz parasetamolün karaciğer ve böbrek dokularında yapmış olduğu değişikliklere ilişkin literatür taramalarında, Mason ve arkadaşları 300 mg/kg, Sabina ve arkadaşları 900 mg/kg, Abraham 1 g/kg APAP'ı periton içine (i.p.); Yue-Ying ve arkadaşları ise farelere tek doz 350 mg/kg APAP'ı subkutan yolla, Rajkapoor ve arkadaşları sıçanlara 3 günde bir 10 gün boyunca 750 mg/kg APAP'ı gastrik sonda yoluyla; farklı yollardan farklı dozlarda verilmiştir [69-73].

Parasetamol uyguladığımız ratların karaciğerlerinde nasıl bir hasar oluştuğunu ve bir diğer grupların parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE ve etanol gruplarının kontrol grubuna göre nasıl bir etki oluşturduğunu incelediğimiz çalışmada parasetamolün rat başına 2g/kg dozu 2mL'ye denk gelecek şekilde phosphate buffer saline'nin (pbs) %1'lik karboksi metil selüloz(cm) çözeltisinde süspanse edip hazırlandı. Hazırlanmış olan süspanse çözelti gastrik sonda yardımı ile oral olarak uygulandı. Çalışmada uygulanan parasetamol dozları ise ilgili literatüre göre belirlendi [60,61].

Kaynaklardaki veriler göz önüne alındığında parasetamolün 750 mg/kg, 1, 2 ve 3 g/kg dozlarının uygulamasında benzer hasarların meydana geldiği fakat şiddetlerinin farklı ölçülerde olduğu tespit edilmiştir. Önceki yapılan çalışmalarda fareler üzerinde yapılan birçok deneysel işlemlerde, parasetamolün 300 mg/kg ve bunun üzerindeki dozlarda kullanılmasıyla birlikte akut karaciğer nekrozuna şiddetli olarak etkisini gösterdiği tespit edilmiştir [74,75].

Parasetamol ya da başka toksik madde ile oluşturulan karaciğer hasarı, karaciğer fonksiyonunu ölçmek için biyokimyasal (ALT) ve (AST) enzimlerinin oluşturduğu seviyeler, karaciğer dokusundaki en önemli belirteçlerdendir. ALT ve AST hepatosellüler hasar ya da nekroza bağlı olarak artmaktadır. Parasetamol veya diğer toksik etkisi olan maddeler vücut içerisine alındığında AST, ALT de oluşan değişiklikler hepatosellüler hasar oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca oksidatif stres ve bunlarla beraber SOD, GSH, CAT seviyelerine de bakılmaktadır [76].

Karakuş ve arkadaşları ratlarda parasetamol ile toksisite oluşturarak yapmış oldukları çalışmada, toksisite oluşturdukları grupta serum AST ve ALT düzeylerinin anlamlı olarak arttığı, tedavi gruplarında ise bu etkinliğin azaldığını belirtmişlerdir [77].

Yapılan çalışmalarda ortaya çıkan durum toksik dozlarda parasetamol alımı oksidatif yolla karaciğer hasarına yol açmakta, inflamatuvar reaksiyonları ve serum AST-ALT değerlerini yükseltmektedir [78]. Kuvandik ve arkadaşları ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturarak, toksisite oluşturulan gruplarda serum AST ve ALT seviyesinin anlamlı olarak arttığı göstermişlerdir [79].

Parasetamol toksisitesi oluşturulan bir başka çalışmada Manda ve arkadaşları β -Karotenin tedavi edici etkisini araştırıp bu çalışma ile toksisite oluşturulan grupta ölçülen AST ve ALT değerlerinin, kontrol grubuna göre arttığı gözlemlenmiştir [80].

Yapılan bu çalışmalar elde edilen verileri desteklemektedir. Bu çalışmalarda gözlenen, parasetamol toksisitesi oluşturulan gruplarda AST ve ALT enzim düzeylerinin artmış olmasıdır. Bizim çalışmamızda da parasetamol toksikasyonu oluşturulduktan sonra alınan örneklerden yapılan ölçümlerde, toksisite oluşturulan grupta AST ve ALT değerlerinde artışlar saptanmış olması ve önceki elde veriler ile uyumludur. CAPE uygulamasında, karaciğer hasarı nedeniyle salınan AST ve ALT değerlerinde, toksisite

oluşturulan gruba göre belirgin şekilde normale yaklaştığı tespit edildi. Bu sonuçlar CAPE ile yapılan koruyucu etkinin, istatistiksel olarak anlamlı şekilde parasetamolle bağlı hepatik hasarı enzimatik olarak düzelttiğini gösterdi.

Yapılan başka bir parasetamol toksisite çalışmasında Colle ve arkadaşları [81] parasetamolü ratlara oral yolla uygulayarak karaciğer toksisitesi oluşturmuş ve *Taraxacum officinale* isimli maddenin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Yapılan ölçümlerde AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı gözlenmiştir. *Taraxacum officinale* ile etki edilen gruplarda AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna yakın olarak tespit edilmesi, kullanılan bu maddenin parasetamol toksisitesine karşı koruyucu olabileceğini açıklar niteliktedir. Yapılan çalışmalara bakıldığında parasetamol ile toksik etki oluşturup çeşitli antioksidan maddeler ile koruyucu özellikler gösterilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda parasetamol toksisitesine bağlı olarak karaciğer hasarının diğer belirleyicileri; antioksidan enzim aktiviteleri, enflamatuar sitokinler, histopatolojik inceleme ve lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan malondialdehit gibi enzimatik olmayan oksidanların seviyeleri olduğu da görülmektedir [82-84].

Süperoksit dismutaz (SOD) memelilerde mitokondri ve sitoplazma yer alan süperoksit anyonlarını temizlemektedir. Ayrıca radikaller tarafından oluşturulan toksik etkiyi de azaltıp enzimatik bir antioksidan özelliği gösterir [85,86].

Literatürdeki yapılan çalışmalarda parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarında SOD seviyesinin azaldığı, uygulanan tedavi ile artış gösterdiği gözlenmiştir [87-88].

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada SOD aktivitesinde kontrol, parasetamol+CAPE, CAPE gruplarına bakıldığında enzim seviyesinde azalma, parasetamol grubunda en düşük seviyede olması ve NAC verilmesine rağmen parasetamolün olduğu bir diğer grupta azalış görüldü. Bu sonuçlar CAPE'nin çalışmamızda antioksidan etkisini gösterdiğini doğrular nitelikteydi.

Glutasyon (GSH) karaciğerde en fazla bulunan enzimatik olmayan oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli antioksidan moleküllerden biridir.

Hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri ortadan kaldırmaktadır. Gpx'in substratı rolündedir. Ratlara uygulanan parasetamol, artan lipit peroksidaz ile azalan GSH seviyesine bağlıdır. Propolis de sıçanlarda, parasetamolün indüklediği GSH tüketimini geri çevirme özelliğinde olup, böylelikle de hücre ölümünü önlemektedir. Propolis ayrıca oksijen radikallerini temizlemektedir [89-91,80]. Parasetamolün toksik dozlarında oksidatif stresin aracı maddesi olarak NAPQI'nın, GSH düzeylerinde azalmaya ve bu azalmaya bağlı lipit peroksidasyonunda artmaya yol açtığı bilinmektedir. Bu toksik etki metabolit kritik hücrel proteinlere bağlanarak hepatik nekroza yol açmaktadır.

Manda ve arkadaşlarının [80] yapmış olduğu çalışmada kandaki GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak gözlenmiş ve verilen β -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış saptanmıştır. Bizim CAPE ile yapmış olduğumuz çalışmamızda GSH değerinin parasetamolle indüklenen hepatotoksistide azaldığı tespit edildi. Bu da bize gerek β -Karoten gerekse CAPE'nin parasetamol ile oluşan toksistide literatür ile uyumlu olarak oksidatif streste etkili olduğunu düşündürdü. Çalışmamızda ratların karaciğerinde GSH değerlerindeki azalmanın CAPE ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde engellendiğini tespit ettik ($p<0.05$). Bu sonuç, CAPE'nin parasetamol zehirlenmesinde hepatositlerde gerçekleşen oksidatif strese karşı koruma sağladığını, antioksidan özelliğinin bulunduğunu ve hücre hasarını azalttığını desteklemektedir.

Parmar ve arkadaşları da yapmış oldukları çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında toksisite grubunda GSH düzeyinin azaldığını gözlemlemişlerdir [92].

Başka antioksidan madde ile yapılan çalışmada; Yapar ve arkadaşlarının parasetamolle indükledikleri karaciğer toksisitesinde GSH değerlerinin azaldığı belirtilmiş ve verilen L-Karnitin uygulaması ile bu azalmış GSH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir [93].

Yapılan çalışmalar incelendiğinde GSH düzeylerinin toksikasyon grubunda azalması bizim yapmış olduğumu çalışma ile uyumluluk göstermekteydi.

N-Asetil Sistein (NAC) hücrelere kolayca girebilmesi özelliğinden dolayı antioksidan olarak in vivo ve in vitro çalışmalarda tercih edilmiştir. NAC, GSH düzeylerini artırıp karaciğer hücrelerini korumaktadır. Önceki yapılan çalışmalarda CCl₄'ün verdiği zararlara karşı, NAC'ın karaciğer hücrelerini koruduğu belirtilmiştir [94].

Bilinen NAC'ın koruyucu etkisinin yanında başka antidotların bulunması ve bunların NAC ile kıyaslanıp, NAC yanında alternatif olup olmaması araştırılmaktadır. Metiyonin, taurin alternatif antidotlara örnektir. Yapılan incelemelerde NAC ve taurin eşit miktarda uygulandığında parasetamol toksisitesi nedeniyle ortaya çıkan oksidatif stres karaciğer hücresinde meydana gelen hasarı aynı oranda azalttığı tespit edilmiştir. GSH biyosentezinde görevli olmamasına rağmen taurin, NAC gibi GSH deposunu koruyarak GSH/GSSG dengesini korumada görevlidir [95].

MDA, serbest radikallerin oluşturduğu etkiler ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucu ortaya çıkmaktadır. Lipid peroksidasyon ürünüdür. MDA daha sıklıkla spektrofotometrik olarak belirlendiğinden tiyobarbitirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyon vererek 532 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi esasına dayanır.

Literatür verilerini incelediğimizde yapılan benzer deneysel çalışmalarda, parasetamol veya farklı toksik ajanlarla oluşturulan oksidatif streste MDA değerlerinin arttığı, uygulanan koruyucu yöntemlerle de MDA değerlerini azaltarak parasetamol toksisitesini engellediği gözlenmiştir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmamızda, karaciğer dokusundaki oksidatif stres artışının CAPE ile engellenebileceğini tespit ettik. Karaciğer dokusundaki MDA değerinin, parasetamol verilerek toksisite oluşturulan grupta artmış olduğunu gözlemledik. Çalışmamızda CAPE'nin koruyucu etkisini inceleyip, gruplarda ratların MDA düzeylerinin anlamlı olarak artmadığını gözlemledik(p<0.05).

Oksidatif strese uğrayan dokularda, MDA düzeylerinde artış görülmektedir. Bu yüzden plazma MDA düzeyinin oksidatif stres için ayırt edebilmesi için kullanılabileceğini göstermektedir [96].

Çalışmamızda ratlarda parasetamol ile hepatotoksisite oluşturmuş olduğumuz toksikasyon grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında MDA düzeyinde artış söz

konusudur. Yapılan farklı çalışmalarda antioksidan özelliğe sahip çeşitli bitkilerin, hepatoprotektif özelliklerinden yararlanılarak karaciğer hasarını tedavi edip lipid peroksidasyonunu azalttığı görülmüştür [92,64].

Galal ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tek doz (2g/kg) uyguladıkları parasetamol grubunu kontrol grubu ile kıyaslama yaptıklarında; parasetamol grubu karaciğer MDA seviyesinde artışın, GSH seviyesinde ise belli oranda azalmanın olduğunu göstermişlerdir [97]. Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmada parasetamol uygulaması ile kontrol grubuna göre bakıldığında karaciğer malondialdehit (MDA) derişimini anlamlı olarak arttırırken, redükte glutatyon (GSH) derişimini anlamlı olarak azalttı.

Yapılan bir diğer çalışma, Naguib ve arkadaşlarının ratlarda parasetamol ile karaciğerde hasar oluşturmak için kullandıkları tek doz 500mg/kg parasetamol olarak uygulana çalışmada hepatotoksisiteyi incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre parasetamol grubu karaciğer MDA seviyesinde artışı, GSH seviyelerinde ise azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. GSH seviyesindeki azalmanın; parasetamolun sitokrom p450 sistemiyle NAPQI'a dönüşmesinden hemen sonra GSH'ın sülfidril grubuna bağlanmasıyla gerçekleştiğini raporlamışlardır. Bununla birlikte GSH düzeylerinin; GPx, SOD gibi antioksidan enzim seviyelerinin düşmesine neden olup ROT'un antioksidan kapasiteyi aşarak artan ROT'un lipid peroksidasyonuna yol açtığı ifade edilmiştir [98].

Katalaz (CAT) zararlı hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürerek yüksek oranda reaktif hidroksil radikalından dokuları korumaktadır [99].

Parasetamol uygulanarak yapılan önceki çalışmalar incelendiğinde hepatotoksisite oluşturulan gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin düştüğü tespit edilmiştir [92]. Bizim yapmış olduğumuz bu çalışma da karaciğer CAT düzeyinde kontrol grubuna göre azalma tespit edildi.

Oksidatif stres parametrelerinden olan total oksidan seviyesinin (TOS) tüm gruplarda kontrol grubuna oranla bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu görüldü. Böylece dokuların beslenmesi ve oksijenizasyonu bozulduktan sonra oksidatif stresin ortaya çıktığını ve buna bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin erken dönemde bile oluştuğunu göstermektedir. Antioksidan etki göstermesi beklenen

CAPE [44] de yapılan çalışmalarda beklenen etkiyi oluşturmuş ve literatür ile uyumlu bulundu.

Antioksidan kapasiteyi belirleyen Total antioksidan seviye (TAS) ölçüm sonuçları gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuçların anlamlı olduğu görülmüştür. CAPE'nin uygulandığı gruplar kontrol grubu ile kıyaslandığında TAS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş gözlenirken, CAPE'nin de antioksidan etkisini ortaya koymuştur. Böylece CAPE'nin antioksidan etkisinin literatür ile uyumlu olduğu gözlendi [44].

Parasetamol ile yapılan toksikolojik çalışmalarda kabul edilen genel düşünce, doğal antioksidan özellikte olan ve hücrede bulunan glutatyonun toksik maddenin yaptığı etkiden dolayı aşırı derece azalmasına bağlı olarak, hücrenin savunmasız kalması ve bunun sonucunda da hasar oluşumunun tetiklendiği kabul edilmektedir [86].

Enzimatik antioksidanlardan katalazın en iyi aktivite gösterdiği organımız karaciğerdir. Görevi ise hidrojen peroksidi parçalayıp hücreyi yüksek reaktif hidroksil radikallerden korumaktadır [100, 101]. Çalışmamızda CAPE koruyuculuk özelliği gösterirken parasetamol ile birlikte verildiğinde parasetamolün toksik etkisi azalmaktadır. Parasetamol+CAPE ile parasetamol+NAC grupları kıyaslanacak olduğunda CAPE'nin NAC antidotuna göre daha etkin bir şekilde koruyuculuk özelliğine sahip olduğu gözlenmektedir.

Doğal antioksidanlar biyolojik olarak dokuların normal yapılarından kaynaklanan hasarları önlemekte ve olumlu sonuçlar göstermektedir.

Doğal antioksidanlardan sık kullanılan olarak arı sütü, polen, CAPE örnek verilebilmektedir. Bhadauria ve Nirala (2009), yaptıkları çalışmada etanolik propolis özütlerinin sıçanlarda yüksek dozda verilen asetaminofen ile oluşan karaciğer hasarını önlediğini bildirmişlerdir [102].

Bir başka koruyucu etkisi olduğu bilinen polen ile çalışma yapan Eraslan ve ark., (2009) pestisit ile sıçanlarda oluşturduğu oksidatif stres parametrelerinden SOD, MDA, CAT, GSH-Px incelemişler ve polen ekstraktları ile beslenmenin iyileştirici etkisini raporlamışlardır [103].

Yapılan bir başka çalışma da Kanbur ve ark., (2009) parasetamol ile oluşturulan hepatotoksisiteyi önlemede arı sütünün etkili olduğunu raporlamışlardır. Bu çalışmalarla terapötik olarak hepatotoksisite önlenebileceği düşüncesi ortaya çıkmaktadır [104].

İnflamatuar bir sitokin olan TNF-alfa; toksik etkinin hızlanmasında ve sistemik enflamasyon oluşturmada en önemli aracı moleküllerden biridir. Parasetamol toksisitesine bağlı olarak meydana gelen karaciğer hasarında oksidatif stres değerleri bakılırken serum sitokinlerinin ve özellikle TNF- α 'nın da önemli olduğu yapılan son çalışmalarda tespit edilmiştir. Sistemik toksisitenin ve karaciğer hasarının primer aracı molekülüdür ve karaciğer hasarının birçok tipinde TNF- α 'nın önemi bilinmektedir [105].

Parasetamol indüklü hepatotoksisite modelinde kontrol grubunda oksidatif stres parametrelerinin ve sitokin seviyelerinin istatistiksel olarak arttığı ($p>0.05$), CAPE verilen gruplar ile parasetamol grubu karşılaştırıldığında CAPE'nin meydana gelen inflamasyon ve oksidatif strese karşı koruyucu bir etki gösterdiği gözlenmiştir. Karaciğer hasarında erken ortaya çıkan TNF-alfa diğer inflamatuvar sitokinlerin yapımını da tetiklemektedir.

İlaç ile oluşturulan karaciğer hasarında, üretilen TNF- α , IL- β gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin doku hasarının hızlanmasında etkili oldukları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur [85].

TNF- α hem hepatositler için karaciğer hasarındaki mitojen görevindedir, hemde karaciğer hasarındaki onarımda ve kısmi hepatektomiye takiben karaciğerin kendini yenilemesinde görev alır. Bunların yanısıra aşırı inflamatuvar cevabı baskılayarak hücre hasarına neden olmaktadır [106].

Teng ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, Tournefortia sarmentosa adlı maddenin parasetamol toksisitesine bağlı olarak ortaya çıkan hepatotoksisite üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir [107]. Bu çalışma ile parasetamol toksisitesi oluşturulan gruptaki TNF- α düzeyleri, sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Tournefortia sarmentosa ile tedavi edilen gruplarda ölçülen TNF- α düzeyleri toksisite grubuna kıyasla anlamlı düşük bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada Yan-Ling Wu ve arkadaşları [108] farelerde parasetamol ile toksisite oluşturmuş ve parasetamol verilen gruplarda TNF- α seviyesinin yükseldiği tespit edilmiş, akantik asit verilen grupta ise belirgin düşüş olduğu görülmüştür.

Sheng-Lei Yan ve arkadaşlarının [109] yapmış olduğu çalışma da bütün diğer çalışmaları destekler nitelikte olup karaciğer toksisitesi oluşturulduğunda TNF- α seviyesinin yükseldiği ve uygulanan tedavinin başarısına göre toksisite azaldıkça TNF- α seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda parasetamol verilen grupta TNF- α seviyesi diğer gruplara göre arttı. Bu da bize diğer çalışmalarda da olduğu gibi parasetamol toksisitesi sonucu TNF- α 'nın önemli derecede arttığını gösterdi. CAPE ile koruyucu etki yapmış olduğumuz gruplarda TNF- α seviyesinde anlamlı düzelme gözlemlendi ($p < 0.05$). Bu da bize karaciğer hasarında önemli rol oynayan TNF- α 'nın proinflamatuvar etkilerini CAPE'nin etkinliğinin olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde yapmış olduğumuz çalışmamızda interlökin-1beta ve interlökin-18 seviyeleri incelediğinde, parasetamol ile parasetamol+CAPE, parasetamol+NAC, CAPE, etanol gruplarını kıyasladığımızda anlamlı olarak yüksek ($p < 0.05$) olduğu gözlemlendi. Parasetamol+CAPE ve parasetamol+NAC verilen gruplar ile parasetamol grubu karşılaştırıldığında ise interlökin 1beta ve interlökin-18 seviyelerinin anlamlı olarak ($p < 0.05$) düştüğü gözlemlendi.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kimyasal adı N-(4-hidroksifenetilasetamid) ve moleküler formülü $C_8H_9NO_2$ olan parasetamol dünyada en çok tüketilen analjezik-antipiretik ajanlardan biri olup, terapötik dozlarda kullanıldığında güvenli, yüksek dozda kullanıldığında ise karaciğer hasarı, böbrek toksisitesi ve hatta ölüme neden olduğu deney hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmalarda görülmüştür.

Parasetamol toksisitesinde gerçek bir tedavi bulunmamaktadır. Bu yüzden literatüre baktığımız zaman yapılan deneysel veya klinik alternatif tedavi yöntemlerinin denendiği görülmektedir. Parasetamol zehirlenmesinin standart tedavisi NAC'dır. NAC parasetamol aşırı alımlarına bağlı toksisitenin önlenmesi için bir antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarıyla NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiş ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmıştır.

Günümüzde tercih edilen yöntemlerden birisi de apiterapötik etkiye sahip arı ürünlerinin bal, polen, propolis, arı sütü ve CAPE gibi ürünlerin karaciğeri koruyucu etkisinin üzerine yapılan çalışmalardır. Propolisin önce uygulanması, olacak muhtemel hasara karşı karaciğeri korumaktadır. Bu etkinin propolisin ve etken maddelerin antioksidan özelliğinden kaynaklandığı düşünülür fakat etki mekanizması hala daha anlaşılmamıştır. Bu yüzden sağlıklı kişilerin veya hepatit hastalarının günlük diyetlerinde arı ürünlerinin kullanımının artırılması durumunda daha sağlıklı olacakları kanısına varılmaktadır. Bu amaç ile dünyanın pek çok ülkesinde karaciğeri oksidatif hasardan korumada ve bağışıklık sistemlerinin güçlendirilmesi yönünden polen, propolis ve arı sütünden yapılmış ilaçların takviye edici olarak tedavide kullanılabilecek bir alternatif olabileceğini akla getirmektedir. Elde edilen veriler ışığında, CAPE'nin karaciğer hasarına neden olan durumlarda hepatositlerdeki hasarın önlenmesi veya azaltılması açısından tedavide kullanılabilecek bir alternatif olabileceğini akla getirmektedir

Bu çalışma ile CAPE'nin hem yetişkin hem de çocukluk döneminde sık rastlanılan ve toplum sağlığını tehdit eden ilaç veya kimyasal madde zehirlenmesi sonucu oluşan karaciğer toksisitesini ayrıca buna bağlı olarak gelişen komplikasyonları önlediği ve hatta karaciğer toksisitesi sebebiyle gerçekleşen ölümlerin önlenmesinde yeni bir terapötik ajan olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarı sonrasında serbest radikallerin seviyelerinin arttığı antioksidanların ve antioksidan kapasitenin azaldığı görülmüştür, buna bağlı olarak oluşan oksidatif stres aracılığı ile bir hasar meydana geldiği düşünülebilir, bununla birlikte inflamatuvar belirteçlerin düzeyindeki yükselmeler parasetamolün oluşturduğu inflamasyonu ortaya koymuştur. Oluşan hasara karşı ise CAPE'nin koruyucu bir rol oynayabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

8. KAYNAKÇA

- [1] Akkose, S., Bulut, M., Armağan, E., Cebicci, H., Fedakar, R., 2005, “Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the uludağ universty hospital”, *Marmara region, Turkey. Clin Toxicol (Phila)*, 43:105-9.
- [2] Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Potter, W.Z., Gillette, J.R., Brodie, B.B., 1973, “Acetaminophen-induced hepatic necrosis, IV. Protective role of glutathione”, *J Pharmacol Exp Ther*, 187:211-217.
- [3] Rumack, B.H., Peterson, R.C., Koch, G.G., Amara, I.A., 1981, “Acetaminophen overdose 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment”, *Arch Intern Med*, 141:380-85.
- [4] Doyon, S., Schwartz, W.K., 2009, “Hepatotoxicity despite early administration of intravenous N-acetylcysteine for acute acetaminophen overdose”, *Acad Emerg Med*, 16:34-39
- [5] Hepşen F., Tdlgen F., Er H., 1996, “Propolis: Tıbbi Özellikleri ve Oftalmolojik Kullanımı”, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 3(4).
- [6] Brodie ve Axelrod J., 1948, “The fate of acetanolidide in man”, *J. Pharmacol Exp. Ther*, 94: 24-38
- [7] 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.
- [8] İnternet: Vikipedi Özgür Ansiklopedi. Parasetamol, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Parasetamol>. 16 Aralık 2013
- [9] Graham G. G, Scott K. F., 2005, “Mechanism of action of paracetamol”, *American Journal Therapeutic*, 12: 46-55

- [10] İnsel, P. A., 1990, “Analgesic- Antipyretics and Antiinflammatory Aganist : Drugs Employed in the treatment of rheumataid arthritis and Gout (8th ed)” In: Goodman-Gilman A. Roll T.W.Nies, A.S., Taylor, P.Eds. Goodman and Gillman’s the pharmacological basis of theropetucis. 26:656-659
- [11] Kaya, S., Pirinçci, İ, Bilgili, A., 2002 “Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji 2. Baskı”, *Medison Yayınevi*, Ankara
- [12] Alfio, B.,Anna, F. Alessandra, O., 2006 “Parasetamol: New vistas of and old drug” *Reviews*, 12:250-275.
- [13] Oliver L. H, Lewis S. N. “Acetaminophen. In Judith E.Tintinalli, MD, MS, Editor. *Emergency Medicine*. 7th ed”: McGraw-Hill; New York 2010.p.1246-52.
- [14] Ferah, I., 2012, “İnflksimabın parasetamolle indüklenen akut karaciğer toksisitesi üzerine etkilerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 7-72.
- [15] Egemen, K., 2009, “Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda Caffeic Acid Phenethyl Ester’in tedavi edici etkisi”, Tıpta Uzmanlık Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Afyonkarahisar, 1-6.
- [16] 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.
- [17] Bonkovsky H. L, Shedlofsky S. I, Jones D. P., 2011 “Drug-induced liver injury”, In: Boyer T. D, Manns M. P, Sanyal A (eds). *Zakim and Boyer's Hepatology – A Textbook of Liver Disease*, 6th ed. Saunders-Elsevier,; Philadelphia: p. 417-462.
- [18] Hinson, J.A., Reid, A.B., McCULLOUGH, S.S., James, L.P. (2004). Acetaminopheninduced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metabolism Reviews*, 36:805-822.

[19] Bessems, J.G., Vermeulen, N.P., 2001, “Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches”, *Critical Reviews in Toxicology*, 31:55-138

[20] Corcoran, G.B., Mitchell, J.R., Vaishnav, Y.N., Horning, E.C., 1980, “Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine” *Molecular Pharmacology*, 18:536-542.

[21] Brunton, L.L., 2009, “Goodman ve Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli”, *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul. Sy. 693-5.

[22] Bernal, W., Juha, W., Mohamed, R., 1998, “Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure”, *Hepatology*, 27:1050-1055.

[23] Mazer, M., Perrone, J., 2008, “Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management”, *Journal of Medical Toxicology*, 4:2-5.

[24] James, L.P., Mayeux, P.R., Hinson, J.A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos*, 31:1499-1506.

[25] Kozer, E., Koren, G., 2001, “Management of paracetamol overdose: current controversies”, *Drug Saf*, 24:503-12.

[26] Hung, O., Nelson, L.S. (2000). Acetaminophen. Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski. 4 th ed. *Emergency Medicine a Comprehensive Study Guide*. McGraw Hill; pp.1125-1136

[27] Karagül H., Altıntaş A., Fidancı UR., Sel T., 2000, “Klinik Biyokimya”, *Medisan Yayınları*, Ankara, 45

[28] Solomon EP., 1997, “İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş”, *Biol Kitabevi*, İstanbul.

- [29] Wallach J (2000). Interpretation of Diagnostic Tests, Lippincott Williams Wilkins, 7th edition, 8, 199-235
- [30] Chimsky, M., Shmagranoff, GL., Sherry, S., 1956, "Serum transaminase activity", *J Lab Clin Med*, 47, 108
- [31] Hayashi H, Yamamoto K, Yoshimura M (1993). Effects of fasting on distribution and excretion of lead following long-term lead exposure in rats, *Arch Environ Contam Toxicol*, 24, 201-205.
- [32] Lecavalier, PR., Chu, I., Villeneuve, D, Valli, VE., 1994, "Combined effects of mercury and hexachlorobenzene in the rat", *J Environ Sci Health B*, 29, 5, 951-961.
- [33] Koltuksuz, U, Irmak, MK, Karaman, A., 2000, "Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester", *Urol Res*;28:360-3.
- [34] Gülçin, Ğ., Bursal, E., Şehitoğlu, MH., Bilsel, M., Goren, AC., 2010, "Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey", *Food and Chemical Toxicology*, 48, 227-238.
- [35] Biray, Ç., Gündüz, C., Yılmaz, B., Sahin, F., Topçuoğlu, N., 2006, "Propolis ve etken maddeler olan Kafeik Asit Fenetyl Ester (CAPE) ve Sinamik asitin, insan T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (CCRF-CEM)'de sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin değerlendirilmesi", *Ege Tıp Dergisi*, 45, 2, 83-92.
- [36] Akyol, S., Armutçu, F., Yiğitoğlu, MR., 2011, "The Medical Usage of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape), an Active Compound of Propolis, in Neurological Disorders and Emergencies", *Spatula DD*, 1, 1, 37-42
- [37] Lin, H.P., Lin, C.Y., Liu, C.C., Su, L.C., Huo, C., Kuo, Y.Y., Tseng, J.C., Hsu, J.M., Chen, C.K., Chuu, C.P., 2013, "Caffeic Acid Phenethyl Ester as a Potential Treatment for Advanced Prostate Cancer Targeting Akt Signaling", *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 5264-5283.

- [38] Paramas, A. M. G., Barez, JAG., Marcos, CC., Garcia Villanova, R., Sanchez, JS., 2006, “HPLC fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and beepollen)”, *Food Chemistry*, 95, 148-156.
- [39] Yılmaz, H.R., Uz, E., Yucel, N., Altuntas, I., Ozcelik, N., 2004, “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver”, *J Biochem Mol Toxicol*, 18, 234-238.
- [40] Albukhari, A. A., Gashlan, H. M., El Beshbishy H. A., Nagy, A. A. and Abdel Naim A. B., 2009, “Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen-induced hepatotoxicity in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1689-1695.
- [41] Abdel-Latif, M. M. M., Windle, H.J., El Homasany, B.S., Sabra, K., Kelleher, D., 2005, “Caffeic Acid Phenethyl Ester modulates Helicobacter pylori-induced nuclear factor-kappa B and activator protein-1 expression in gastric epithelial cells” *British Journal of Pharmacology*, 146, 1139-1147
- [42] Beltrán-Ramírez, O., Alemán-Lazarini, L., Salcido-Neyoy, M., HernándezGarcía, S., Fattel-Fazenda, S., Arce-Popoca, E., Arellanes-Robledo, J., GarcíaRomán, R., Vázquez-Vázquez, P., Sierra-Santoyo, A., Villa-Treviño, S., 2008, “Evidence that the anticarcinogenic effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester in the resistant hepatocyte model involves modifications of cytochrome P450”, *Toxicological Sciences*, 104 (1): 100-106,
- [43] Özyurt, H., Irmak, M. K., Akyol, O., and Söğüt, S., 2001, “Caffeic acid phenethyl ester changes the incidences of oxidative stress in serum of rats with renal ischemia–reperfusion injury”, *Cell Biochemistry and Function*, 19, 259-263.
- [44] Atik, E., Görür, S., and Kiper, AN., 2006, “The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on histopathological changes in testicular ischemia-reperfusion injury”, *Pharmacological Research*, 54, 293-297.
- [45] Yılmaz, S., Bahçecioğlu, H.I., 2000, “Karbontetraklorür ile Siroz Olusturulmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzim ve Pirüvat Kinaz Aktiviteleri”, *Türk J. Vet. Anim. Sci* 24, 25–28.

- [46] Das, SK., Vasudevan, DM., 2007, 'Alcohol-induced oxidative stress', *Life Sciences*, 81 :177–187
- [47] Busch, DB., 1993, 'Radiation and chemotherapy injury: pathophysiology, diagnosis, and treatment', *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 15: 49-89.
- [48] Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E., 2002, 'İnsan Biyokimyası', 12:557-569.
- [49] Tokgöz G. Sitokinler. Klinik immünoloji. 1997:11;85-100.
- [50] Asadullah, K., Sterry, W., Trefzer, U., 2002, 'Cytokines: interleukin and interferon therapy in dermatology' *Clinical and Experimental Dermatology*, 27: 578-584.
- [51] Judith A. Owen, Jenni Punt, Sharon A. Stranford. Kuby Immunology, 7th Edition. Macmillan, USA, 2007.
- [52] Kuby, J. Immunology, 1992 W.H. Freeman and Company, 245.
- [53] Abraham, RT., 1992, 'Lymphokines and cytokines', Mayo medical school. Immunology course notes.
- [54] Balkwill, FR., Burke, F., 1989, 'The cytokines network', *Immunology Today*, vol 10, no 9, 299-304).
- [55] Lawrence, WT., Diegelmann, RF., 1994, 'Growth factors in wound healing', *Clinics in Dermatology*. 12: 157-69.
- [56] Guillion, D., Robertson, C., 1990, 'Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord', *Ann Neurol* 27: 33-42.
- [57] Dinarello, CA., 1991, 'Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism', *Blood*, 77: 1627-165.
- [58] Dehaghani Alamtaj, S., Shahriary, K., Kashef Mohammad, A., Naeimi, S., Fattahi, M J., Mojtahedi, Z., Ghaderi, A., 2009, 'Interleukin-18 gene promoter and serum level in women with ovarian cancer', *Mol Biol Rep.*, 36(8): 2393-7.
- [59] Foto: [http://: www.genecards.org](http://www.genecards.org). Erişim Tarihi: 29.03.2013

- [60] Karcioglu, 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.
- [61] 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
- [62] Davies KJA. Oxidative Stress: The Paradox of Aerobic Life. In: Rice-Evans C, Halliwell B, Lunt GG. (Eds.), *Free Radical and Oxidative Stress: Environments, Drugs and Food Additives*. Portland Press, 1995: 1–31.)
- [63] Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of Azadirachta indica leaf extract: part II. *Journal of Ethnopharmacol.* 2003, 89: 217-219.
- [64] You Y, Yoo S, Yoon HG, Park J, Lee YH, Kim S, Oh KT, Lee J, Cho H Y, Jun W , 2010: In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from Taraxacum officinale (dandelion) root against alcohol induced oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1632-1637
- [65] D'Andrea, V., Perez, L.M., ve Sanchez Pozzi, E.J. 2005. Inhibition of Rat Liver UDP Glucuronosyltransferase by Silymarin and The Metabolite Silibinin-Glucuronide, *Life Sciences*, 77, 683–692.
- [66] Yıldız, O., 2011. Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Poleninin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri Ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rolü, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [67] Basim, E., Basim, H., ve Özcan, M., 2006, "Antibacterial Activities of Turkish Pollen and Propolis Extracts Against Plant Bacterial Pathogens", *J. Food Eng*, 77, 992–996.
- [68] Güney, M., Oral, B., Karahan, N., and Mungan, T., 2007, "Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on fluoride-induced oxidative stress and apoptosis in rat endometrium", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 86-91.

- [69] Abraham, P., 2004, "Increased plasma biotinidase activity in rats with paracetamol induced acute liver injury", *Clinica Chimica Acta*, 349, 61-65 p.
- [70] Anbarasu, C., Raj Kapoor, B. and Kalpana, J., 2011, Protective effect of *Pisonia aculeata* on paracetamol induced hepatotoxicity in rats, *Test Journal*, 1, 3, 167–172 p.
- [71] El-Ridi M.R., Rahmy, T.R., 2000, "Action of vitamin C against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity in rats", *J Toxicol-Toxin Reviews*, 19, 3&4, 275-304 p.
- [72] He., Y., Zhang, B., Jia, F., 2011, "Protective effects of 2,4-dihydroxybenzophenone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice", 17, 21, 2663-2666 p.
- [73] Sabina, E.P., Pragasam, S.J., Kumar, S., Rasool, M., 2011, "6- Gingerol, an active ingredient of ginger, protects acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice", *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 9, 11, 1264-1269 p.
- [74] Doudar, S.M., Boor, P.J., Ahmed, A.E. (1985). "Potentiation of the hepatotoxic effect of acetaminophen by prior administration of salicylate". *J Pharmacol Exp Ther*, 233:242-8.
- [75] Corcoran, G.B., Racz, W.J., Smith, C.V., Michell, J.R. (1985). "Effects of N-acetylcysteine on acetaminophen covalent binding and hepatic necrosis in mice". *J Pharmacol Exp Ther*, 232:864-72
- [76] Akarca, U.S. (2007). "Karaciğer Fonksiyon Testi Yüksekliğine Tanısal Yaklaşım". 9. İç Hastalıkları Kongresi
- [77] Karakus E, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Bayir Y, Kiki I, Cadirci E, Topcu A, Aksak S. Agomelatine: an antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Hum Exp Toxicol*, 2013, 32: 846-57.
- [78] Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*, 2005, 71: 1105-10.
- [79] Kuvandik G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvaci R, Koc A, Kozlu T, Kaya H, Sogut S. Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats. *Toxicol Pathol*, 2008, 36: 714-719

- [80] Manda KB. Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*, 2003, 23: 1097-1103
- [81] Colle D, Arantes LP, Gubert P, da Luz SC, Athayde ML, Teixeira Rocha JB, et al. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *Journal of medicinal food*. 2012;15(6):549-56
- [82] Yayla M, Halici Z, Unal B, Bayir Y, Akpınar E, Gocer F. Protective effect of Et-1 receptor antagonist bosentan on paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol*, 2014, 726: 87-95.
- [83] Karakus E, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Bayir Y, Kiki I, Cadirci E, Topcu A, Aksak S. Agomelatine: an antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Hum Exp Toxicol*, 2013, 32: 846-57.
- [84] Ferah I, Halici Z, Bayir Y, Demirci E, Unal B, Cadirci E. The role of infliximab on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013, 35: 373-81.
- [85] Chularojmontri, L., Wattanapitayakul, S., Herunsalee, K., 2005, Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus Urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Biol. Pharm. Bull*, 28, 1165-1171 p.
- [86] Küçük, E., 2009, Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda Caffeic Acid Phenethyl Ester'in Tedavi Edici Etkisi, *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Afyon
- [87] Igweh, J.C., Ucheya, R.H., 2006, Histological changes in kidney structure following a long – term administration of paracetamol (acetaminophen) in pregnant sprague dawley rats, *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 2, 1-2, 77-81 p.
- [88] Kondala, R.A., John, J.M., Leonard, A.H., 2007, N-Acetylcysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency, *Current Opinion in Pharmacology*, 7, 355–359 p.
- [89] Konukoğlu, D., Akçay, T., 1995, “Glutasyon metabolizması ve klinik önemi”, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 15, 214-218 p.

- [90] Lima, E.S, Roland, I.A., Maroja, M.F., 2007, ‘‘Vitamin A and lipid peroxidation in patients with different forms of leprosy’’, *Rev Inst. Med.*, 49, 211-214 p.
- [91] Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current opinion in pharmacology.* 2007;7(4):3559.
- [92] 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.
- [93] 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. *Exp Toxicol Pathol*, 2007, 59: 121-8.
- [94] Kelly GS. Clinical applications of N-Acetylcysteine. *Altern Med Rev*, 1998, 3:114-127.
- [95] Acharya M, Lau-Cam CA. Comparison of the protective actions of Nacetylcysteine, hypotaurine and taurine against acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat *Journal of Biomedical Science* 2010;17(Suppl 1):35
- [96] Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical chemistry.* 1997;43(7):1209-14.
- [97] 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.
- [98] 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.
- [99] Chance B, Greenstein DS, 1992: The mechanism of catalase actions-steady state analysis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 37, 301-339.

- [100] Payasi, A., Chaudhary, M., Singh, B.M., Gupta, A., Sehgal, R., 2010, Sub-Acute Toxicity Studies of Paracetamol Infusion in Albino Wistar Rats, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2, 2, 142-145 p.
- [101] Davies K. J. A. "Oxidative Stress: The Paradox of Aerobic Life. In: Rice-Evans C, Halliwell B, Lunt G. G. (Eds.), *Free Radical and Oxidative Stress: Environments, Drugs and Food Additives*. Portland Press, 1995: 1–31.)
- [102] Bhadaurai, M., ve Nirala, S.K. (2009). "Reversal of acetaminophen induced subchronic hepatorenal injury by propolis extract in rats". *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 17–25.
- [103] Eraslan, G., Kanbur, M. ve Silici, S. (2009). "Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen", *Food Chem Toxicol.*, 47, 8691
- [104] Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B.C., Altınordulu, Ş, Atasever, A., (2009). "The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice, *Original Research Experimental and Toxicologic Pathology*", Volume 61, 2, 123-13
- [105] Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):31-44
- [106] Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Bruccoleri A, Blazka ME, Yucesoy B, et al. The role of tumor necrosis factor alpha in chemical-induced hepatotoxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;919:214-20.
- [107] Teng C-Y, Lai Y-L, Huang H-I, Hsu W-H, Yang C-C, Kuo W-H. *Tournefortia sarmentosa* extract attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Pharmaceutical Biology*. 2012;50(3):291-396.
- [108] Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, et al. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2010;17(6):475-9.

[109] Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of food science*. 2009;74(8):259-65.



9. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, adı : KAMIŞ, Nuket
Uyruğu : T.C
Doğum tarihi ve yeri : 09.11.1993 Kuşadası
Medeni hali : Bekar
E-mail : nuket.nk@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet
Yüksek Lisans	Uşak Üniversitesi / Moleküler Biyoloji ve Genetik	devam ediyor
Lisans	Uşak Üniversitesi / Moleküler Biyoloji ve Genetik	2016
Lise	Şehit Kaya Aldoğan Lisesi	2011

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Kamiş,N., Çoban, K.F., 2018, 'Investigation of caffeic acid phenethyl ester effect on inflammation and oxidative stress in paracetamol induced hepatotoxicity', International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018), Poster Presentation

HOBİLER

Yüzmek, yürüyüş yapmak.