

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKUT PARASETAMOL UYGULAMASININ TAVŞAN KARACİĞER**  
**DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Kevser ADIGÜZEL**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Yard. Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ**

**HAZİRAN-2008**

**KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Kevser ADIGÜZEL'in yüksek lisans tezi olarak hazırladığı **“Akut Parasetamol Uygulamasının Tavşan Karaciğer Dokusu Üzerine Etkileri”** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....ile kabul edilmiştir.

...../...../2008

**Adı Soyadı**

**İmza**

**Başkan** : .....

.....

**Üye** : .....

.....

**Üye** : .....

.....

**Üye** : .....

.....

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ...../...../2008 tarih ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Vahit ALIŞOĞLU

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada Akut Parasetamol toksitesinin tavşan karaciğer dokusu üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Tez çalışmam boyunca bana her türlü desteği sağlayan, çalışmamın her aşamasında yakın ilgisini esirgemeyen, bilgi ve önerileri ile beni her konuda yönlendiren danışman hocam, Sayın Yard. Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e, çalışmalarım esnasında ve tezin hazırlanması sürecinde yine katkılarını esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Müslüm AKGÖZ'e ve Sayın Yard. Doç. Dr. Asım KART'a ve Yard. Doç. Dr. Musa KARAMAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Kars-2008

Kevser ADIGÜZEL

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	1
<b>ÖZET</b> .....	3
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	5
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	6
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	7
<b>1. GİRİŞ</b> .....	8
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	11
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEMLER</b> .....	16
<b>3.1 Materyal</b> .....	19
<b>3.1.1 Kimyasal Malzemeler</b> .....	19
<b>3.1.2 Kullanılan Aletler</b> .....	19
<b>3.1.3 Tavşanların Temini ve Bakımı</b> .....	20
<b>3.1.4 Deney Grupları</b> .....	20
<b>3.1.5 Kullanılan Tampon Çözeltiler</b> .....	20
<b>3.1.5.1 Glisin-NaOH Tamponu (pH 9,7)</b> .....	20
<b>3.2 Yöntemler</b> .....	21
<b>3.2.1 Histopatolojik İncelemeler</b> .....	21
<b>3.2.2 Biyokimyasal Analizler</b> .....	21
<b>3.2.2.1 GSH analizi</b> .....	21

3.2.2.1.1 Kullanılan reaktifler .....	21
3.2.2.1.2 GSH seviyesinin tayini .....	22
3.2.2.2 MDA analizi .....	22
3.2.2.2.1 Kullanılan reaktifler .....	22
3.2.2.2.2 MDA düzeyinin tayini .....	23
3.2.2.3 Total nitrit analizi .....	23
3.2.2.3.1 Kullanılan reaktifler .....	24
3.2.2.3.2 Total nitrit konsantrasyonunun analizi .....	24
3.2.2.3.3 AST ve ALT analizleri .....	24
3.2.3 İstatistikî Analiz .....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	25
4.1 Histopatolojik Bulgular .....	25
4.2 Biyokimyasal Bulgular .....	26
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	28
6. KAYNAKLAR .....	34
7. ÖZGEÇMİŞ .....	42

## ÖZET

### AKUT PARASETAMOL UYGULAMASININ TAVŞAN KARACİĞER DOKUSUNA OLAN ETKİLERİ

Bu Yüksek Lisans Tezinin amacı, tavşan karaciğer dokusuna akut parasetamol uygulamasının etkilerini incelemektir. Bu amaçla hayvanlar iki deneysel gruba ayrıldılar: (1) Kontrol grubu (K), (2) akut parasetamol uygulama grubu (A). Birinci gruba intraperitoneal yolla serum fizyolojik enjekte edildi (n=6). İkinci gruba ise 200 mg/kg vücut ağırlığı olmak üzere parasetamol uygulandı (n=6). Uygulamayı takiben 4 saat sonra hayvanlardan kan ve karaciğer örnekleri alındı. Hepatosellüler hasar ve nekroz bulguları histopatolojik verilere ilaveten kan AST ve ALT seviyeleriyle değerlendirildi. Doku indirgenmiş glutatyon (GSH), nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçüldü. Parasetamol uygulanan gruplarda karaciğer GSH seviyesi anlamlı şekilde azalırken ( $P<0,05$ ) NO ve MDA kontrole göre anlamlı şekilde artmıştı ( $P<0,05$ ). Kan AST ve ALT seviyeleri parasetamol uygulamasını takiben yükselmişti ( $P<0,05$ ). Karaciğerin histopatolojik analizleri neticesinde grup A da dejenerasyon gözlemlendi. Biz akut parasetamol uygulamasının karaciğerde hasara yol açabilecek olan oksidatif ve nitrosatif strese neden olabileceği sonucuna vardık.

**Anahtar kelimeler :** *Parasetamol, GSH, MDA, NO, karaciğer*

## **ABSTRACT**

### **THE EFFECT OF ACUTE PARACETAMOL APPLICATION ON RABBIT LIVER**

The aim of this master thesis was investigate the effects of acute paracetamol application on rabbits liver. For this purpose, the animals were divided into two experimental groups: (1) Control group (C), (2) acute paracetamol application group (A). Group 1 was intraperitoneally injected with single saline (n=6). Group 2 was treated with intraperitoneal injection of paracetamol at 200 mg/kg body weight (n=6). Four hours following the treatments, blood samples were collected and the rabbits were killed to collect liver samples. Hepatocellular damage and necrosis were evaluated by AST and ALT as well as histopathology. Tissue reduced glutathione (GSH), nitric oxide (NO) and MDA levels were measured. Liver GSH was reduced significantly in paracetamol treated rabbits ( $P<0.05$ ), whilst MDA and NO levels were increased compared to control ( $P<0.05$ ). Blood AST and ALT levels were also increased following paracetamol treatment ( $P<0.05$ ). In the histopathological analysis of the liver slices, degenerations liver tissues of group A were observed. We concluded that acute paracetamol administration may cause oxidative and nitrosative stress which lead to rabbit liver damage.

**Keywords:** *paracetamol, GSH, MDA, NO, liver*

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ROT</b>	:	Reaktif Oksijen Türleri
<b>GSH</b>	:	İndirgenmiş Glutasyon
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	:	Süperoksit Anyonu
<b>OH<sup>·</sup></b>	:	Hidroksil Radikali
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	:	Singlet (Tekil) Oksijen
<b>NO<sup>·</sup></b>	:	Nitrik Oksit
<b>SOD</b>	:	Süperoksit Dismutaz
<b>CAT</b>	:	Katalaz
<b>GSH-Px</b>	:	Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	:	Glutasyon Redüktaz
<b>NO<sub>2</sub></b>	:	Nitrit
<b>NAPQI</b>	:	N-asetil-p-benzoquinon imin
<b>APAP</b>	:	N-asetil-p-aminofenol
<b>gyd</b>	:	gram yaş doku
<b>µmol</b>	:	mikromol
<b>nmol</b>	:	nanomol
<b>FKY</b>	:	Fulminan Karaciğer Yetmezliği
<b>NOS</b>	:	Nitrik Oksit Sentetaz
<b>iNOS</b>	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
<b>AST</b>	:	Aspartat Amino Transferaz
<b>ALT</b>	:	Alanin Amino Transferaz
<b>GSSG</b>	:	Okside glutasyon
<b>SPSS</b>	:	Statistical Package for the Social Science



## RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

**Resim1:** Kontrol grubu hayvanlarda karaciğer (H&E, x185).....24

**Resim 2:** Akut parasetamol uygulanan grupta merkezi lobda hidropik dejenerasyon ve nekroz gözlendi. Ayrıca kuppfer hücrelerinde artış ve çok az miktarda da kanama mevcutt(H&E, x185).....25

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

**Çizelge 1:** Akut Karaciğer Yetmezliğindeki Faktörler.....14

**Çizelge 2.** Parasetamol uygulamasının tavşan karaciğeri biyokimyasal parametrelerine etkisi. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi.....26

## 1. GİRİŞ

Organizma toksik, farmakolojik ve ksenebiyotikler gibi birçok kimyasal bileşiklere karşı kendini savunmaktadır. Karaciğer bu eliminasyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynarken bu bileşiklere karşı oldukça duyarlıdır. Parasetamol analjezik ve antipiretik etkilerinden dolayı dünyada en yaygın kullanılan ilaçlardan biridir. Hernekadar terapötik aralıklarda güvenli ve etkili olduğu düşünülse de aşırı dozda alımları karaciğerde nekroza neden olabilmektedir. Toksik etkiler sonucu aşırı hepatik nekroz ve karaciğer yetmezliğine neden olabilmektedir (1,2).

Serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri (ROT) birçok patolojik olayın gelişiminde temel rol oynamaktadır. ROT un güçlü zararlı etkileri enzim olmayan glutatyon (GSH), vitamin A ve urik asit gibi savunma sistemlerine ilaveten süperoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimatik savunma sistemlerini kapsayan hücrel antioksidan savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir. GSH savunma sisteminde ROT a karşı önemli bir savunma moleküldür. ROT a karşı detoksifikasyon yolu GSH in oksitlenerek okside glutatyona (GSSG) ye dönüşümünü kapsar. Hücrel nekroza neden olan parasetamol toksisitesi açıkça bilinmemektedir. Parasetamolün glukoronik asit ve sulfat konjugasyon reaksiyonlarıyla hepatik metabolizmalarla karaciğerde detoksifiye edildiği bilinmektedir. Bununla birlikte parasetamolün bazı kısımları sitokrom p450 sistemiyle N-asetil-p-benzoquinon imin (NAPQI) olarak bilinen toksik bir metabolite dönüştürülmektedir (3,4).

Parasetamol metabolizması boyunca üretilen NAPQI, NAPQI nin detoksifikasyonunda başlıca rol oynayan glutatyon (GSH) ile detoksifiye edilmektedir (5). Bununla birlikte parasetamolün yüksek dozlarıyla artan NAPQI toksik cevabı başlatarak GSH depolarında azalmaya neden olur (6). Parasetamol toksisitesinin nasıl olduğu konusunda yapılan araştırmalarda birçok araştırmacı, oluşan NAPQI tarafından mevcut GSH depoları kullanıldığında, geri kalan reaktif NAPQI nin hücrel hedef proteinlerin sülfhidril gruplarına bağlanarak toksik etki meydana getirdiği yönünde görüş bildirmişlerdir. (7,8).

Ayrıca hidroksil radikalleri ve tekil oksijen molekülleri çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve bunun sonucunda hücrel hasar meydana gelebilir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan Malondialdehitin (MDA) seviyesinde artma doku hasarının göstergelerinden biridir (9). Oksidatif hasar, hücrel düzeyde hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu ile sonuçlanır. Bu peroksidasyon sonucunda, hücre membran geçirgenliği, akışkanlığı, elastikiyeti ve yapısal özellikleri bozular. Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile L-arjininden üretilen serbest radikal gaz moleküldür (10). NO renksiz bir gazdır. Havadaki NO kısa sürede, oksijen ile oksitlenerek, NO<sub>2</sub>(nitrit) ve daha sonra NO<sub>3</sub>'e (nitrat) dönüşür. NO, çiftlenmemiş elektron bulundurması ve hücrelere kolayca girebilmesi nedeni ile ideal bir haberci molekülü ve serbest radikal özelliği taşır. NO nörotransmisyon ve kan damar duvarlarının regülasyonu gibi bir çok fizyolojik işlemde görev almaktadır. (11,12).

Aşırı ve kontrolsüz NO üretimi, hücreler için zararlı olmaktadır. Çünkü NO,  $O_2^-$  ile birleşerek peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) haline dönüşmektedir ve sonuçta  $ONOO^-$ 'lar patolojik tabloların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Dokudaki total nitrit düzeylerinin ölçülmesi, NO metabolizması ile ilgili çok önemli veriler sunabilmektedir. Süperoksit ve peroksinitrit oluşumuyla parasetamol metabolitlerinden kaynaklanan oksidatif stresin karaciğer hücre hasarının gelişiminde önemli faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir (13).

Bu araştırmada; deneysel olarak oluşturulan akut parasetamol toksisite modelinde karaciğer dokusu MDA, NO, GSH, düzeyleri analiz edilerek, parasetamolün karaciğer dokusunda meydana getireceği oksidatif hasarın biyokimyasal olarak ortaya konulması ve histopatolojik verilerle de desteklenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kimyasallardan gelen riskleri değerlendirebilmek için nasıl, ne zaman ve niçin toksik olduklarını anlamak gerekmektedir. Toksikoloji denilince akla ilk olarak Paracelsus gelir. 16. yüzyılda Paracelsus'un (1493-1541) zehiri tanımlarken kullandığı "*Her madde zehirdir. Zehir olmayan madde yoktur; zehir ile ilacı ayıran dozdur*" şeklindeki ifade, bugünkü modern toksikolojinin de çıkış noktası olmuştur. Kimyasallara maruz kalmak genelde üç yolla olmaktadır. Deri ile emilim, soluma veyahutta ağız, mide ve bağırsaklar yoluyla. Kimyasallara en çok maruz kalma içme, yeme veyahutta ilaç kullanma yoluyla olmaktadır.

Karaciğer birçok yabancı maddenin metabolizmasından sorumludur ve ilaç toksisitesi için hedef organdır. Dünyada bir ilacın marketten çekilmesinde en sık neden ilaca bağlı gelişen karaciğer zedelenmesi olarak tespit edilmiştir. Tedavi amaçlı kullanılan ilaçlar lipofilik bir yapıya sahip olup, hidrofilik özellik kazanabilmeleri için biyotransformasyona ihtiyaç duyarlar. Bu durumda idrar ya da safra ile atılabilir hale gelmektedirler. Biyotransformasyon sonucu meydana gelebilecek metabolitler ilaç toksisitesine neden olabilirler. İlaça karşı organizmalar reaksiyon göstermektedirler. Bu reaksiyonların çeşitlerini aşağıdakiler gibi sınıflandırılabilir:

(a) *Yan etki*: Doza bağlı olarak ortaya çıkan farmakolojik cevaptır.

(b) *İntolerans*: Normal doza karşı birayın göstermiş olduğu abartılmış reaksiyondur.

(c) *Allerjik reaksiyon*: İlaça karşı verilen immün cevaptır.

(d) *Doza bağlı reaksiyonlar*: İlaça karşı gösterilen reaksiyonda dozun derecesine göre gösterilen reaksiyondur.

Karaciğer zedelenmesinde ilaca bağlı olarak hasar meydana getiren mekanizmalara bakıldığında ilaçların hücre içi iyon dengesinde bozulmaya neden olmaları bunların başında gelmektedir. İlacın intrasellüler proteinlere kovalent bağlanması ile hücre içinde kalsiyum dengesinin bozulması hücre zarında parçalanmaya ve dolayısıyla hücrenin ölümüne neden olmaktadır (14).

İdrar veya safra ile kimyasalların vücuttan atılma işlemi zararlı maddelerin uzaklaştırılması amacıyla gelişmiştir ve vücudu korumayı amaçlar. Bir insan veya hayvanın vücuduna kimyasallar girdikten sonra detoksifikasyon adı verilen doğal yollarla değiştirilirler. Birçok kimyasal ve ilaç vücuttan böbrekler yoluyla süzme adı verilen işlemle uzaklaştırılırlar. Parasetamol bağırsaklardan kana emilen bir ilaçtır ve daha sonra doğrudan kan yoluyla karaciğere gider. Burada idrara kolayca geçebilmesi için zararsız ve suda çözülebilen ürünlere dönüştürülür. Aynı zamanda karaciğerde az miktarda diğer zararsız ürünlere normal olarak değiştirilebilen toksik bileşiklerde yapılmaktadır. Yalnızca yüksek doz alındığında sistem çökmekte ve karaciğerin kendisi tarafından parasetamolün zehirli ürünü karaciğerde hasarlanma meydana getirmektedir.

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol veya APAP), narkotik olmayan analjezik ve antipiretik ajan olup genelde ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. Parasetamol para-aminefol grubunda bulunmaktadır. Parasetamol'ün kimyasal formülü ( $C_8H_9NO_2$ ) moleküler ağırlığı 151,17 g/mol, yoğunluğu 1.263 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 169 °C dir. Parasetamol karaciğerde metabolize olur, yarılanma ömrü 4 saattir. Parasetamol ağızdan alındığında gastrointestinal sistemde hızla emilir. İlaç alındıktan 30-60 dakika sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Parasetamol bütün dokulara hızla dağılır. İdrarla parasetamolün % 1-3'ü değişmemiş olarak atılır ve % 80'i ise biyolojik olarak glukronid veya sülfat bileşikleri olarak atılır. APAP 1955 de ilk olarak reçete edilmiş ve 1960 yılında ise Yiyecek ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından 325 mg tabletler halinde serbest bırakılmıştır. 500 mg tablet ve kapsülleri de 1973-1975 arasında onaylanmıştır. FDA asetaminofeni genel olarak güvenli ve etkili bir ajan olarak kabul etmiş ve günlük maksimum kullanım dozunun 24 saatlik bir periyotta 4 gramdan daha fazla olmaması gerektiğini bildirmiştir ( günde 1 ile 4 gram arası önerilen doz). Tek bir dozda 10-15 gramdan daha fazla alınmasının ciddi veya öldürücü karaciğer nekrozuna neden olduğu bilinmektedir. APAP, terapötik dozlarda serum aminotransferazların geçici artışına neden olabilmektedir (15).

Fulminan Karaciğer Yetmezliği (FKY) önceden herhangi bir karaciğer hastalığı olmadan karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla ortaya çıkan ve potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendrom olarak karşımıza çıkan bu yetmezlik ilk kez 1970 yılında Trey ve Davidson (16) tarafından kullanılmış ve “*önceden herhangi bir karaciğer hastalığı olmaksızın, ağır karaciğer hasarı sonucu, semptomların başlamasından itibaren 8 hafta içinde hepatik ensefalopatinin gelişmesiyle karakterize, potansiyel olarak geri dönüşümlü olan bir klinik tablo*” şeklinde tarif edilmiştir.

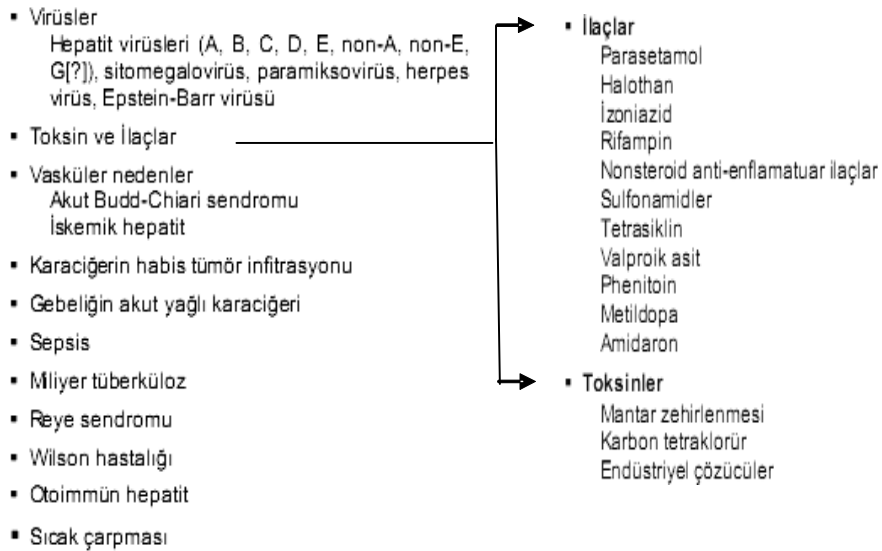
FKY olgularının % 60-80 ninde neden olarak ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise Dünyanın değişik bölgelerinde farklılıklar göstermekle birlikte ilaç kullanımı, iskemik olaylar ve toksinler almaktadır (Çizelge I). Paramixovirüs, sitomegalovirüs, herpes virüs ve Epstein-Barr virüs gibi virüslerde FKY ye yol açabilmektedir (17).

Akut Karaciğer Yetmezliğinde ikinci sırayı oluşturan toksin ve ilaçlar FKY olgularının %10-20 sinden sorumlu olup, en sık karşılaşılanlar arasında parasetamol, izoniazid, halothan, non-steroid antienflamatuar ilaçlar, sulfonamidler ve mantar zehirlenmesi yer almaktadır. Alkol ve parasetamol ya da izoniazid ve rifampisin birliktede kullanımı şeklinde ilaç etkileşimleri sonucu da FKY gelişebilmektedir (18). Alkolik hastalarda terapötik dozlarda dahi parasetamol toksisitesi sonucu FKY ortaya çıkabilmektedir (19). Parasetamol kullanımı en sık başvuru intihar girişimi yöntemlerinden biri olduğundan, sebep olduğu FKY olgularıyla sık karşılaşılmakta; Büyük Britanyada FKY olgularının önde gelen nedenini teşkil etmektedir (20,21).



İngiltere de yapılan bir araştırmada 16 yaşın altında ilaç toksisitesine bağlı ölümlerin en sık nedeni karaciğer yetmezliği olarak tespit edilmiştir (22). ABD de ise FKY olgularının %20 sinden parasetamol ve %12 sinden genetik yatkınlığa bağlı oluşan ilaç reaksiyonları sorumlu bulunmuştur (23). Türkiye’de parasetamol kullanımına bağlı gelişen toksik FKY vakalarına azımsanamayacak kadar rastlanmaktadır.

**Çizelge 1: Akut Karaciğer Yetmezliğindeki Faktörler (24)**



Akut Karaciğer Yetmezliğinin nedeninin bir an önce belirlenmesi bazı durumlarda yaşamsal öneme sahip olabilmektedir, nk böyle olgularda genel tedbirlerin yanı sıra spesifik tedavinin uygulanması oldukça yararlı olmaktadır. Örneğin parasetamol toksisitesine bağlı olgularda glutasyon depolarını düzeltmeye yönelik asetilsistein tedavisinin oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (25,26).

Metabolizma sabit ve değişmeyen ürünlerden ziyade kimyasal olarak oldukça reaktif olan bazı ürünleri meydana getirebilir. Bu ürünler hücrelerle reaksiyona girerek onlarda hasara neden olabilirler. Bu reaktif maddelerden bazıları serbest radikaller olarak bilinirler ve hücre ve dokuların yıkılmasına yol açabilen yağlarla zincirleme reaksiyonlara girebilirler ayrıca proteinler ve DNA ile etkileşebilirler. Bazı ilaçlar safra salınımına engel olabilmektedirler. Bu durumda safra asitleri karaciğerde birikerek karaciğere hasar verirler (27). Hücre zedelenmesi ile uyarılan immün sistem sitokinleri hücre içi kaspazlarını tetikleyip, hücre ölümüne neden olurlar (28).

İlaçların biyotransformasyonu neticesinde oluşan ara ürünler antikor oluşumuna neden olabilirler ve böylece humoral yanıt oluşturarak karaciğer hepatositlerinde sitolizise neden olurlar olmaktadır (29). İlaçların yağ asiti beta-oksidasyonunu veya solunum enzimlerini inhibe etmesi ya da mitokondriyal DNA ya etkileri ile mitokondride bozulmalar meydana gelebilir. Serbest yağ asitlerinin metabolize edilmemesi ile laktat ve reaktif oksijen türleri oluşur. Bu radikallerde mitokondriyal DNA da hasara neden olurlar (30).

Serbest radikaller; biyokimyasal redoks tepkimeleri ile ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çok az bir süre için bile olsa bir çiftlenmemiş elektron bulunduran atom ya da moleküllere denilmektedir. Serbest radikaller aşırı derecede reaktifirler ve bu nedenle diğer moleküller ile hızla reaksiyona girebilirler. Bu radikaller hücre içinde, aerobik metabolizma sırasında sürekli oluşmakta ve belli patolojik durumlarda üretimleri artmaktadır. Serbest oksijen radikalleri;  $O_2^-$ ,  $OH\cdot$ , singlet (tekil) oksijen ( $^1O_2$ ) ve  $NO\cdot$  gibi radikal türleridir. Serbest radikaller, nükleik asitler, lipidler, proteinler, serbest amino asitler, lipoproteinler, karbohidratlar gibi biyomoleküllere hasar verebilmektedirler. Normal fizyolojik şartlarda oksijenin %2-5'i  $RO_2\cdot$ 'ne dönüşmekte ve antioksidan sistem ile ortadan kaldırılmaktadır.  $RO_2\cdot$ , eğer antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmazsa, lipid peroksidasyonu ile hücre hasara neden olabilmektedir.  $NO$ , L-arjinin- $NO$  yolu olarak isimlendirilen bir mekanizmayla, üç farklı izoformu bulunan nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından, L-arjinin'den üretilir (31).

Endotel, vasküler düz kas, adrenal bezler, makrofajlar, nötrofiller ve beyin sitozelleri NO üretir. Endotel kaynaklı NO, damar düz kaslarının gevşemesini sağlayarak kan akımını ve kan basıncını düzenlemektedir. Bu etki sistemik dolaşımında meydana geldiği gibi lokal olarak kalp, beyin, karaciğer, gastrointestinal sistemlerde de gözlenmektedir. Sinirsel iletimde NO'nun bir nörotransmitter olduğu tam olarak ispat edilmiştir. İn vitro spesifik reseptör sitümülyasyonundan sonra NO, postsinaptik bir kaynaktan salınarak, presinaptik olarak bir veya daha fazla nörona etki yapar. Bu etki glutamat salınımını artırarak sinaptik geçişte artışa neden olmaktadır. L-arjinin-NO yolu, peniste korpus kavernosumun gevşemesinden sorumlu olan çok önemli bir mekanizmadır ve bu yolla insanda penis ereksiyonunu sağlar (32).

NO, stabil olmayan bir yapı özelliği gösterir ve biyolojik sistemlerde hemoglobin, oksijen, süperoksit ve transiyon metal iyonları ile reaksiyona girer. NO'nun hücreler üzerinde çok sayıda doğrudan ve dolaylı toksik etkileri bilinmektedir. NO, moleküler oksijenle reaksiyona girerek, DNA deaminasyonuna neden olan diazot trioksit ( $N_2O_3$ ) şekline dönüşür.  $O_2^-$  radikali ile reaksiyona girerek doku hasarına neden olan ONOO<sup>-</sup>'ya dönüşür. NO ve  $O_2^-$  radikali arasındaki etkileşim sonucunda oluşan ONOO<sup>-</sup>, NO'nun biyoaktivitesinin ortadan kaldırılmasında rol oynayan önemli mekanizmalardan birisidir (33). ONOO<sup>-</sup>'nin ileri katabolik reaksiyonları yoluyla, OH<sup>-</sup> ve NO<sub>2</sub> oluşabilir ve bu yapılar oldukça toksiktir ve kuvvetli birer oksidandır. NO fazlalığında, ONOO<sup>-</sup>'nin prooksidan etkisi, NO'nun antioksidan etkisi ile baskılanır.  $O_2^-$  fazlalığında ise ONOO<sup>-</sup>'ya bağlı olarak patojenik etki meydana gelir (34).

Karaciğer ve diğer organlar reaktif ve potansiyel olarak tehlikeli olan kimyasallara karşı kendilerini koruma yöntemlerine sahiptirler. Antioksidan savunma sistemleri bu yöntemler arasındadır. Bu sistem; SOD, CAT, GSH-Px ve GR gibi antioksidan enzimleri ve GSH, vitamin A, C ve E gibi enzim olmayan antioksidanları içine almaktadır. Örneğin Vitamin C ve E gibi antioksidanlar reaktif oksijenin çeşitli türlerini ve diğer serbest radikal formlarını ortadan kaldırır.

Reaktif radikallerle reaksiyona giren ve sülfür içeren tiyol molekülleri arasında en önemlisi GSH tır. GSH, iç ve dış kaynaklı toksik kimyasallara karşı hücrel savunma sisteminde önemli bir rol oynar. Ksenobiyotiklerin ve ROT'un detoksifikasyonunda hücre içi GSH'ın rolü çok önemlidir. Ayrıca GSH, GSH-Px gibi çeşitli enzimler için bir koenzimdir. Bir hücrede, GSSG miktarının artmış olması, oksidasyonun muhtemel bir indeksi olarak kabul edilmektedir (35). GSH, özellikle dış toksinlere şiddetli şekilde maruz kalan karaciğer gibi organlarda önemlidir. Karaciğer, GSH sentezinin yapıldığı başlıca organdır (36,37). Hücre içi bir antioksidan olan GSH'ın azlığı, hücrel sistemlerin birçoğunun serbest radikal hasarına karşı hassasiyetini artırır (38).

GSH'ın hücre içi seviyesinin herhangi bir şekilde azalması, lipid peroksidasyonuna veya diğer hücrel hasarlara yol açabilmektedir. Endojen GSH, proteinlerdeki tiyol gruplarını oksidasyondan korur, ROT ile direkt reaksiyona girerek onları detoksifiye eder. GSH, DNA ve protein sentezi, enzim aktivitesinin düzenlenmesi gibi diğer hücrel işlevlerde de koruyucu rol alır. Böyle önemli role sahip olan bir maddenin organizmada yokluğu çeşitli patolojileri de beraberinde getirmektedir. Farelerle yapılan bir araştırmada 400 mg/kg vücut ağırlığında intraperitoneal yolla parasetamol uygulamasının karaciğer GSH'ını düşürürken MDA seviyesini artırdığı bildirilmiştir (39). Hastalıkların organ ve/veya dokuda oluşturduğu membran hasarı, lipid peroksidasyonunu uyarır. Membranların yapı ve fonksiyonları bozulur. Hasarlı dokularda lipid peroksidasyonu, sağlıklı dokulardan daha hızlı ilerler.  $^1O_2$  ve  $OH\cdot$  radikali, lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli radikallerdir. Lipid peroksidasyonu sonucunda, özellikle doymamış yağ asitlerinin çift bağlarının oksidasyonu, membran akışkanlığında azalma, membran salınım fonksiyonlarında düzensizliğe, membran geçirgenliğinde bozulmaya neden olur (40).

Aldehitler, lipid hidroperoksitlerinin yıkımı sırasında daima oluşurlar ve pek çoğu biyolojik olarak aktiftir. Bunlardan en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenal'dir. Bu maddeler oluşum yerlerinden kolayca difüze olur ve hücrenin diğer bölümlerinde hasara yol açarlar. Oluşan bu aldehidlerden MDA, membran doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun işareti olup, lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olarak kabul edilir (41).

MDA ve 4-hidroksinonenal gibi aldehitlerin biyolojik aktiviteleri, DNA ve proteinlere çapraz bağlanarak bu moleküllerin fonksiyon ve aktivitesini değiştirebilmeleridir. Sadavisan ve ark. (42) Wistar albino ratlara oral yolla 2,5 kg/vücut ağırlığı ölçüsünde parasetamol uygulamasının karaciğer MDA seviyesini kontrole göre anlamlı şekilde artırdığını tespit etmişlerdir.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEMLER**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Kimyasal Malzemeler**

Araştırmada, analitik saflıkta olan Sigma marka; glutatyon (GSH), 5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit (DTNB), 2-tiyobarbutirik asit (TBA), potasyum klorür (KCl), çinko sülfat, 1,1,3,3, tetramethoksiopropan, parasetamol, n-butanol, triklor asetik asit (TCA), disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), sodyum hidroksit (NaOH), tri sodyum sitrat, glisin, sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ), sülfürik asit ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), P-aminobenzen sülfamid, N-naftil etilen diamin, fosforik asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , %85'lik), potasyum nitrat ( $\text{KNO}_3$ ), bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ), sodyum tetraborat ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ) kimyasal maddeleri kullanıldı. Total nitrit analizinde kadmiyum granülleri kullanıldı.

##### **3.1.2 Kullanılan Aletler**

Araştırmada Distile su cihazı (GFL marka), mikrogram hassasiyetli Denver marka hassas terazi, karıştırıcı olarak Yellow Line marka vorteks kullanıldı. pH ölçümleri HANNA instruments marka pH metre ile yapıldı. Bazı kimyasal reaksiyonlar için Memmert marka su banyosu kullanıldı. Spektrofotometrik okumalar PG Instruments Ltd T60U Spectrometer marka spektrofotometre ile yapıldı. Karıştırma işlemlerinde M221 elektromag manyetik karıştırıcı, santrifüj işlemleri için; EBA 20 Hettich zentrifugen cihazı ile soğutmalı MİKRO 22R Hettich zentrifugen cihazları, numune hazırlanması ve enzim analizlerinde Hirschman marka ( 10  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 1000  $\mu\text{l}$ 'lik ) otomatik pipetler, Labortechnic marka homojenizatör, Leica RM2125 mikrotom, Olympus BX51 mikroskop kullanıldı.

### **3.1.3 Tavşanların Temini ve Bakımı**

Araştırmada kullanılan 12 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı (6 aylık ve ağırlıkları yaklaşık olarak 3500-4000 gr arasındaydı) Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Araştırma Laboratuvarından elde edildi. Deney süresince hayvanlar her grupta 6 tane olmak üzere 2 gruba ayrıldıktan sonra, paslanmaz çelik kafeslerde, sessiz, sıcaklığın  $17\pm 2$  °C ve nemin % 60-65 arasında kontrol altında tutulduğu, ayrıca 12 saat ışık, 12 saat karanlık ışık döngüsünün sağlandığı bir odada tutuldular, standart pellet yem ve içme suyu ile beslendiler.

### **3.1.4 Deney Grupları**

Hayvanlar her biri 6 tavşandan oluşan 2 gruba ayrıldılar. 1 nci gruba (Kontrol; K) intraperitoneal yolla serum fizyolojik uygulandı. 2 nci gruba (Akut parasetamol uygulama grubu; A) 200 mg/kg vücut ağırlığı oranında serum fizyolojikte çözülmüş parasetamol (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.) uygulandı. İlaç uygulamasından 4 saat sonra tavşanların kulak veninden kan örnekleri alındı ve hayvanlar anestezi altında dekapite edilerek karaciğer dokuları alındı. Alınan karaciğer dokuları iki eşit parçaya ayrılarak birisi histopatolojik diğeri biyokimyasal araştırmalar için ayrıldı. Histopatoloji için ayrılan doku parçaları %10'luk fosfat tamponlu formolin içinde saklanarak tespit edilirken biyokimyasal analizler için ayrılan parçalar analizler yapılmaya kadar  $-30^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **3.1.5 Kullanılan Tampon Çözeltiler**

#### **3.1.5.1 Glisin-NaOH Tamponu (pH 9,7)**

15 gr glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 M/L'lik NaOH çözeltisi ile pH: 9,7'ye ayarlanarak çözeltinin hacmi bir litreye tamamlandı

## **3.2 Yöntemler**

### **3.2.1 Histopatolojik İncelemeler**

Bu amaçla %10'luk fosfat tamponlu formolin içinde saklanarak tespit edilen dokulardan rutin yöntemlerle parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan mikrotom kullanılarak 4-5 µ kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler daha sonrasında rutin incelemeler amacıyla hematoksilin eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskobu altında incelenerek değerlendirildi.

### **3.2.2 Biyokimyasal Analizler**

#### **3.2.2.1 GSH analizi**

GSH, Ellman (43) metoduna göre tayin edildi. Metodun temel prensibi, ortamdaki glutatyonun, 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi şeklindedir. Oluşan bu rengin ışık şiddeti, 410 nm'de spektrofotometrede okunarak glutatyon miktarı tayin edilmektedir.

Tavşan karaciğer numunesi, 1-2 dakika 12000 devir/dakikada, %10'luk homojenat oluşturacak şekilde, distile su ilave edilerek buz üzerinde homojenize edildi. Daha sonra, homojenat 3000 devir/dakikada, +4 derecede, 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanta TCA çözeltisi ilave edildi, karıştırıldı ve tekrar santrifüj edilerek numune GSH analizine hazır hale getirildi.

#### **3.2.2.1.1 Kullanılan reaktifler**

GSH, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5,5'-Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi.



### 3.2.2.1.2 GSH seviyesinin tayini

	Numune	Kör
%10'luk homojenat	500 µl	---
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0,3 M)	4 ml	4 ml
DTNB	500 µl	500 µl
Distile su	-----	500 µl

Hazırlanan çözeltiler deney tüplerine eklendi, vortekslendi ve 5 dakika sonra oluşan rengin şiddeti spektrofotometrede 410 nm'de okundu ve sonuçlar glutatyon standart grafiğinden değerlendirilerek µmol /gram yaş doku (gyd) olarak gösterildi.

### 3.2.2.2 MDA analizi

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA, Ohkawa ve *ark.*'nın (44) metoduna göre çalışıldı. Metodun prensibinde ortamda bulunan MDA'nın, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek renkli bir kromojen oluşturması yatmaktadır. Oluşan kromojenin 532 nm'de absorbansı okunarak MDA konsantrasyonu tespit edilmektedir.

Tavşan karaciğer numunesi, %1,15'lik KCl çözeltisi içinde, %10'luk homojenat oluşturacak şekilde, 15000 devir/dakikada, 1 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Bu homojenat direkt olarak MDA analizinde kullanıldı.

#### 3.2.2.2.1 Kullanılan reaktifler

SDS, asetik asit, 2-tiyobarbitürik asit (%0,8), 1,1',3,3' tetrametoksipropan çözeltisi.

### 3.2.2.2 MDA düzeyinin tayini

	Numune	Kör
Homojenat	100 µl	----
%8,1 SDS	200 µl	200 µl
%20'lik asetik asit	1500 µl	1500 µl
%0,8'lik TBA	1500 µl	1500 µl
Distile su	700 µl	800 µl

Hazırlanan çözeltiler deney tüplerine eklendi, vortekslendi ve tüpler kaynar suda (en az 95 derecede) 1 saat bekletildi. Çeşme suyunda soğutulan tüpler ve 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantın absorbansı 532 nm'de okunarak, numunelerin MDA konsantrasyonları 1,1',3,3' tetrametoksiopropan ile hazırlanan standart grafikten değerlendirildi ve nmol/gyd olarak gösterildi..

### 3.2.2.3 Total nitrit analizi

Total nitrit tayini Cortas ve *ark.* (45) ve Navarro *ark.*'nın (46) metoduna göre yapıldı. Metodun temel prensibi; aktive edilen kadmiyum granüllerinin ortamdaki nitratı, nitrite indirgemesi ve oluşan nitritin greiss reaktifi ile kırmızımsı bir renk oluşturması ve bu renginde 548 nm'de okunması esasına dayanmaktadır.

Tavşan böbrek numunesi, distile su içinde, %10'luk homojenat oluşturacak şekilde, 15000 devir/dakikada, 1 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Homojenat, sırasıyla 82 mmol/L'lik ZnSO<sub>4</sub> ve 55 mM/L'lik NaOH ilavesi ile deproteinize edildi ve elde edilen süpernatant total nitrit analizinde kullanıldı.

### **3.2.2.3.1 Kullanılan reaktifler**

Kadmiyum granülleri, Glisin-NaOH tamponu (0,25 M, pH:9,7) %1'lik Sulfanilamid, %1'lik N-naftiletilendiamin, 5 mmol/L bakır sülfat, sodyum nitrit, sülfürik asit (0,1 mol/L) çözeltileri.

### **3.2.2.3.2 Total nitrit konsantrasyonunun analizi**

Kadmiyum granüllerine 5 mmol/L'lik bakır sülfattan 1 ml eklendi, 2 dakika vortekslendi ve kadmiyumlar aktive edildi. Kadmiyumlar üzerine 0,5 ml süpernatant, 0,5 ml Glisin-NaOH tamponu eklendi ve 2 saat boyunca çalkalandı. Böylece dokudaki nitratın kadmiyumla nitrite indirgenmesi sağlandı. 2 saat sonra, 0,5 ml redüklenmiş sıvı alındı, üzerine 0,5 ml Greiss reaktifi eklendi (sulfanilamid+N-naftiletilendiamin) ve 30 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda spektrofotometre 548 nm'de distile su ile sıfırlandı ve numunelerin absorbanları okundu. Numunelerin nitrit konsantrasyonları, hazırlanan sodyum nitrit grafiğinden yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar nmol/gyd olarak gösterildi.

### **3.2.2.3.3 AST ve ALT analizleri**

AST ve ALT serum seviyeleri Olympus marka otoanalizatörde belirlendi (Olympus Instruments, Tokyo, Japan)

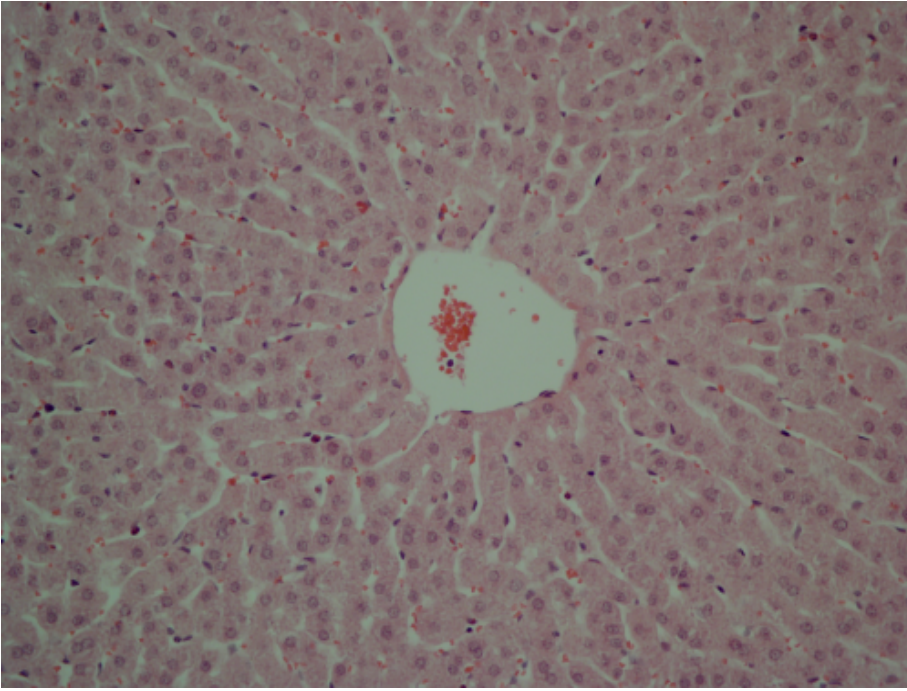
### **3.2.3 İstatistikî Analiz**

Veriler, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi. Verilerin öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadıkları test edildi. Bütün gruptaki verilere one-sample Kolmogrov-Smirnov testi uygulandı ve verilerin normal dağılıma sahip olduğu tespit edildi ( $P > 0,05$ ). Daha sonra verilere parametrik test olan paired-samples T- test uygulandı, P değeri 0,05 den küçük olan sonuçlar istatistikî olarak anlamlı kabul edildi. İstatistikî analizleri SPSS 9 programıyla yapıldı.

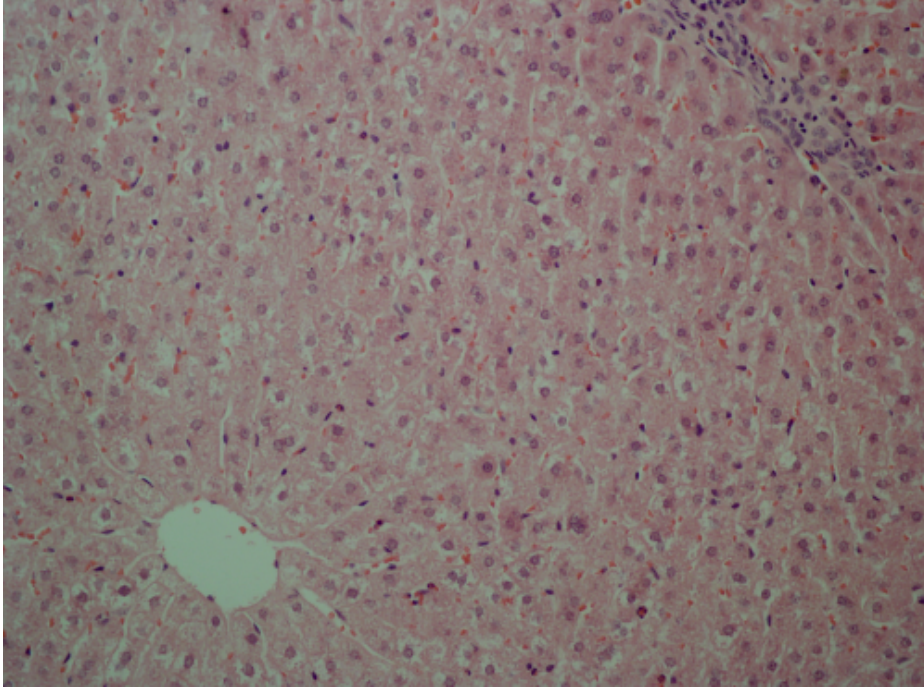
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik incelemelerde serum fizyolojik verilen kontrol grubundaki tavşanların karaciğerlerinde mikroskobik bir değişikliğe rastlanmadı (**Resim 1**). Uygulama grubunda rastlanan en önemli bulgu karaciğerde orta seviyede nekroz idi (**Resim 2**). Bu nekroz merkezi venin etrafından başlayıp midzonal bölgeye kadar uzanıyordu. Hepatositlerde şişme ile kendini gösteren hidropik dejenerasyonun yanı sıra vakuolasyonda gözlemlendi.



**Resim 1:** Kontrol grubu hayvanlarda karaciğer normal görünümdeydi (H&E, x185).



**Resim 2:** Akut parasetamol uygulanan grupta merkezi lobda hidropik dejenerasyon ve nekroz gözlemlendi. Ayrıca kuppfer hücrelerinde artış ve çok az miktarda da kanama mevcuttu (H&E, x185).

#### **4.2 Biyokimyasal Bulgular**

200 mg/kg vücut ağırlığında akut parasetamol uygulamasının karaciğer GSH değerlerini kontrol grubuna göre istatistikî anlamda önemli ölçüde azalttığı ( $P < 0,05$ ), buna karşın lipid peroksidasyonunun ve dolayısı ile hücre hasarının bir göstergesi olan karaciğer MDA değerlerini ve ayrıca NO seviyesini ise istatistikî anlamda önemli oranda arttırdığı görüldü ( $P < 0,05$ ). Akut parasetamol uygulaması serum AST ve ALT değerlerini kontrole göre anlamlı şekilde artırmıştı ( $P < 0,05$ ) (**Çizelge 2**).

**Çizelge 2.** Parasetomal uygulamasının tavşan karaciğeri biyokimyasal parametrelerine etkisi. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi.

Parametreler <sup>a</sup>	K (n=6)	A (n=6)
GSH (µmol/gyd)	7,2±0,5	4,5± 1,0*
MDA (nmol/gyd)	21,5±3,2	35,6± 9,9*
NO (nmol/gyd)	141,7±20,4	258,3±56,3*
AST (U/L)	22,8±2,2	49,8±10,1*
ALT (U/L)	29,4± 5,9	58±5*

Aynı satırda {\*} işareti kontrolle karşılaştırıldığında parasetamolün anlamlı etkisini ifade eder (p<0,05).<sup>a</sup>

Kontrol grubu (K), Akut parasetamol uygulama grubu (A), Glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), Aspartat amino transferaz (AST), Alanin amino transferaz (ALT), gyd (gram yaş doku).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Birçok hastalığın oluşmasında serbest radikallerin rolü oldukça iyi bilinmektedir. Vücüdümüzde meydana gelen birçok kimyasal reaksiyon reaktif oksijen türlerini oluşturur ve bunlar da önemli biyolojik moleküllere zarar verebilmektedirler. Eğer bu radikaller ortamdan kaldırılmazlarsa hastalıkların gelişimine yol açabilirler (47). Bununla birlikte serbest radikallerin zararlı etkileri, serbest radikalleri süpürme yeteneğinde olan ve organizmadan onları detoksifiye edebilen antioksidan maddeler ile bloklanabilmektedir.

Karaciğer birçok ilacın elimine ve metabolize edilmesinde temel organdır. Karaciğerde ilaç metabolizmasında 3 faz olduğu bilinmektedir. 1 nci fazda ilaçlar sitokrom p 450 sistemi ile metabolize edilmektedirler. Bu işlem serbest radikalleri ve toksik elektrofilik kimyasalları oluşturabilir. 2 nci fazda ilaçlar veya onların metabolitleri GSH, sülfat veya glukuronoidlerle birleşerek suda çözülen bileşikleri meydana getirirler. Daha sonra bu bileşikler safra veya idrarla organizmadan atılırlar. 3 ncü fazda eliminasyon yönü hepatositlerdeki taşıyıcılar tarafından belirlenmektedir (48).

İlaç metabolizmasından kaynaklanan toksik metabolitler karaciğer hücrelerinin biyokimyasını etkileyebilir. İlaç metabolitleri proteinlere, lipidlere ve DNA ya kovalent bağlanarak oksidatif stres, GSH azalması, redoks değişimleri ve lipid peroksidasyonu gibi biyokimyasal olayları tetikleyerek hücre ölümüne aracılık edebilirler. Bu nedenle bu olaylar mitokondri, endoplazmik retikulum, sitoskeleton fonksiyonlarını da etkileyebilir.

Bu araştırmada, hafif toksik doz akut parasetamol uygulamasının tavşan karaciğer GSH ında anlamlı bir şekilde azalmaya neden olurken, MDA ve NO seviyelerinde ve serum AST, ALT aktivitelerinde artışa neden olduğu tespit edildi.

Artan AST ve ALT enzim seviyeleri parasetamolün toksik etkilerinden dolayı hepatik fonksiyonları kötüye gittiğini göstermektedir. Bu enzimler hücrenin sitozolünde yerleştiğinden ve karaciğer hasarı olduğu durumlarda kan dolaşımına bırakıldıklarından dolayı karaciğer hücrelerindeki hasarın göstergesi olarak kullanılmaktadırlar (49).

Asetaminofen terapötik dozlarda kullanıldığında güvenli bir antipiretik ve analjezik ilaçtır. Aşırı dozlar deney hayvanlarında ve insanlarda ciddi hepatoksisiteyi indükleyebilmektedir (50).

900 mg/kg vücut ağırlığı dozunda parasetamol verilen farelerde kontrole göre serum AST, ALT aktivitelerinin ve MDA seviyesinin arttığı, GSH düzeyinin ise azaldığı bildirilmiştir. Bu dozun karaciğerde hasara neden olduğuda rapor edilmiştir (51).

Abdel zaher ve ark. (52) erkek ratlara iki farklı dozda parasetamol uygulayarak parasetamolün akut toksik etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar hayvanlara ağız yoluyla 2500 mg/kg parasetamol uygulamasını takiben 48 saat sonra 750 mg / kg vücut ağırlığında parasetamol uygulamışlar ve 24 saat sonra hayvanları dekapite ederek hayvanların kan, karaciğer ve böbreklerini alarak biyokimyasal ve histopatolojik analizler yapmışlardır. Araştırmacılar parasetamol uygulanan hayvanların kontrol grubuna göre serum AST ve ALT aktivitelerinin ve total nitrit seviyesinin artarken karaciğer GSH seviyesinin ise azaldığını, parasetamol uygulanan hayvanların karaciğerlerinin histopatolojik incelemelerinde ciddi merkezi lobular nekroz ve orta seviyede vakuolar dejenerasyon görüldüğünü rapor etmişlerdir.

NO içeren maddeler ile parasetamol toksisitesinin daha az görüldüğünü gösteren yayınlar varsa da asetaminofene bağlı karaciğer zedelenmesinin NO üzerinden gerçekleştiğini gösteren yayınlar da mevcuttur (53,54).



Nitrik oksit oksidatif stresi azaltırken artırabilmektedir. Süperoksit anyonu ile NO reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturabilmektedir. Böylelikle NO süperoksit radikalının zararlı etkilerini önleyerek antioksidan etki gösterebilmektedir. NO ve süperoksit radikallerinin üretimi patolojik şartlar altında oluşmaktadır. Ne süperoksit ne de NO güçlü radikaller değilken peroksinitrit oldukça güçlü bir oksidan olarak karşımıza çıkar.

Bizim araştırmamızda parasetamol uygulaması tavşan karaciğerinde NO üretimini artırmıştı. Gardner ve arkadaşları da benzer sonuçları elde etmişlerdir (55). Artan NO seviyesi artan iNOS aktivitesiyle olmuş olabilir ve böylece artan NO üretimiyle birlikte parasetamolün toksik etkisiyle meydana gelen süperoksit radikalleri birleşerek peroksinitrite dönüşmüş ve karaciğere toksik etki yapmış olabilir.

İntrasellüler GSH asetaminofen toksisitesinde önemli bir rol oynar ve karaciğer ve böbrekte asetaminofen indüklü toksisiteyi önler (56-58). APAP'ın farelerde mikrozomal süperoksit ve hidrojen peroksiti artırdığı bulunmuştur. APAP hepatoksitesinde intrasellüler GSH azalması ve hücre hasarında başlangıç basamağı olarak ROT oluşumu görülür (59). Bundan dolayı oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu APAP'ın hepatik metabolizması boyunca radikal üretimiyle ilişkili ilk olaylardır.

Parasetamol en çok çalışılmış bir hepatoksin olup ilaç toksisitesindeki bilgilerimizin artmasına neden olmuştur. Parasetamol ilk önce glukorinidasyon ve sulfasyon yollarıyla toksik olmayan metabolitlerine karaciğerde ayrılmakta ve daha sonra idrarla atılmaktadır. Asetaminofenin çok küçük bir miktarı oksitlenmeyle metabolize olurken geri kalan kısmı sitokrom p 450 sistemi ile çok elektrofilik bir molekül olan NAPQI ye dönüştürülmektedir. Aşırı miktarda üretilen NAPQI nin hepatositlerin sitozol ve mitokondrisinde ciddi GSH azalmalarına yol açtığı ve bunun sonucunda da hücre ölümü meydana getirebileceği bildirilmiştir (60,61).

Parasetamol toksisitesinin başlangıcı parasetamol metabolizmasının bir ürünü olan aşırı miktarda NAPQI oluşumu ile olmaktadır. Parasetamolün normal dozlarda alınması ile meydana gelen NAPQI, GSH tarafından detoksifiye edilebilmektedir. Bununla birlikte aşırı miktarda parasetamol alımı beraberinde oluşan NAPQI' yı detoksifiye edebilmek için mevcut GSH depolarının kullanılmasına ve GSH miktarında düşmeye neden olabilmektedir ve metabolitin detoksifiye edilemeyen kısmı da birçok hasara neden olabilmektedir (62). Oksidatif stres parasetamol toksisitesinde öne sürülen bir mekanizmadır (63).

GSH, ROT a karşı ilk savunma mekanizmasıdır ve detoksifikasyon mekanizmasında önemli rolleri vardır. Oksidatif stres altında GSH seviyesi azalmaktadır. Bu durumda lipidlerin, proteinlerin, DNA nın serbest radikaller tarafından oksitlenmesine neden olmaktadır. Artan NO seviyesi, oksidatif strese neden olarak böylece GSH seviyesinde de düşüş yapmış olabilir.

Mandal ve ark. (64) Moraceae familyasına ait *Ficus hispida* Linn. yapraklarının ratlarda parasetamol indüklü hepatoksisiteye karşı koruyucu rolünü araştırdıkları bir çalışmada, ratlara oral yolla 750 mg/kg vücut ağırlığı dozunda parasetamol yüklemişler hayvanları 36 saat sonra dekapite ederek serum AST, ALT, alkalın fosfataz, bilirubin düzeylerini ve karaciğer histopatolojilerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar kontrol grubuna göre parasetamol uygulanan grubun serum AST, ALT, alkalın fosfataz, bilirubin düzeylerinin parasetamol uygulanmayan gruba göre anlamlı şekilde yükseldiğini, parasetamol uygulamasının rat karaciğerinde merkezi lobular alanda nekroza ve dejenerasyona neden olduğunu rapor etmişler, akut parasetamol uygulamasının rat karaciğerinde hepatosellüler hasara neden olduğu sonucuna varmışlardır. İn vivo olarak ROT'un aşırı üretimi, lipid peroksidasyonuna neden olur. Ortadan kaldırılmayan ROT'un etkisi, lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanır.

Ratlara 2 gram/ kg vücut ağırlığı tek bir doz parasetamol uygulanmış ve ratlar uygulamanın 10 ncü saatinde dekapite edilerek kanları alınmış, serumlarından MDA seviyelerine bakıldığında kontrole göre parasetamol uygulanan grubun serum MDA seviyelerinin anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir (65).

Bizim sonuçlarımız aynı konuda yapılmış araştırma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu verilerin ışığında şu bilimsel yorumlar getirilebilir;

1-Akut parasetamol toksisitesiyle azalan karaciğer GSH'ı;

Parasetamol kaynaklı oluşan reaktif oksijen türleri GSH ın azalmasına neden olmuş olabilirki bu yukarıda detayları ile tartışılmıştır.

2- Akut parasetamol toksisitesiyle artan karaciğer lipit peroksidasyonu;

Özellikle hücre içi enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarından olan GSH'nin önemli derecede azalmış olması, reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunu da azaltır. Bunun sonucunda lipitlerin peroksidasyonu hızlanmış olabilir. Yine parasetamol toksisitesiyle birlikte artan serbest radikal oluşumu direkt oksidatif etkiyle hücrenin membran ve diğer lipitlerinin peroksidasyonu artmış olabilir.

Parasetamol toksisitesi GSH düşüşündeki azalmayla kendini göstermiştir. GSH'deki azalma membran bütünlüğünde bir değişimle sonuçlanabilir. Azalan GSH dokunun membran lipitlerinin oksitlenmesine yol açacağından dokuda görülen histopatolojik değişimler meydana gelmiş olabilir.

Araştırmamızda Parasetamol uygulamasını takiben NO seviyesindeki artış, özellikle iNOS aktivitesindeki artıştan kaynaklanmış olabilir ki artan NO da dokuda hasar meydana getirebilir.

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre akut Parasetamol uygulamasına bağlı olarak GSH miktarının azalması, NO seviyesinin artması, sitokrom P450 sisteminin indüklenmesi tam anlamıyla bir oksidatif strese, yani oksidan/antioksidan dengenin bozulmasına yol açabilir. Bunun sonucunda detoksifiye edilemeyen radikaller ( $\text{OH}^\cdot$  ve  $^1\text{O}_2$ ) hücrenin membran lipidleri ve diğer komponentlerinin oksitleyebilir. Bu olayların akabinde dokuda önemli histopatolojik değişiklikler gözlenebilir.

#### 4. KAYNAKLAR

- 1 – Sheen, C. L., Dillon, J. F., Bateman, D. N., Simpson, K. J., and Macdonald, T. M., ‘Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to the health-care system’, *Qjm-an Int. J. M.*, 95: 609-619, (2002).
- 2 - James, L. P., Mayeux, P. R., and Hinson, J. A., ‘Acetaminophen-induced hepatotoxicity’, *Drug Metab Dispos*, 31: 1499-1506, (2003).
- 3 - Dahlin, D. C., Miwa, G. T., Lu, A. Y. H., and Nelson, S. D., ‘N-Acetyl-Para-Benzoquinone Imine – a Cytochrome-P-450-Mediated Oxidation-Product of Acetaminophen’, *Proc. Natl. Acad Sci.*, 81: 1327-1331, (1984).
- 4 - Nelson, S. D., ‘Molecular Mechanisms of the Hepatotoxicity Caused by Acetaminophen’, *Semin Liver Dis.*, 10: 267-278, (1990).
- 5 - Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Potter, W. Z., Gillette, J. R., and Brodie, B. B., ‘Acetaminophen-Induced Hepatic Necrosis. 4. Protective Role of Glutathione’ *J Pharmacol Exp Ther*, 187: 211-217, (1973).
- 6 - Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Potter, W. Z., Davis, D. C., Gillette, J. R., and Brodie, B. B., ‘Acetaminophen-Induced Hepatic Necrosis .2. Role of Covalent Binding in-Vivo’, *J Pharmacol Exp Ther*, 187: 195-202, (1973).
- 7 - James, L. P., Mayeux, P. R., and Hinson, J. A., ‘Acetaminophen-induced hepatotoxicity’ *Drug Metab Dispos*, 31: 1499-1506, (2003).

- 8 - Pumford, N. R., Roberts, D. W., Benson, R. W., and Hinson, J. A., 'Immunochemical Quantitation of 3-(Cystein-S-Yl)Acetaminophen Protein Adducts in Subcellular Liver Fractions Following a Hepatotoxic Dose of Acetaminophen', *Biochem Pharmacol*, 40: 573-579, (1990).
- 9 - Draper, H. H., Hadley, M., 'Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation', *Methods Enzymol*, 186: 421, (1990).
- 10 - Moncada S., Higgs A., 'The L-arginine-nitric oxide pathway', *N Engl J Med.*, 329: 2002–2012, (1993).
- 11 - Peunova, N., Enikolopov, G., 'Amplification of calcium-induced gene transcription by nitric oxide in neuronal cells', *Nature*, 364: 450–453, (1993).
- 12 - Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S., Byrns, R.E., Chaudhuri, G., 'Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide', *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9265–9269, (1987).
- 13 - Knight, T. R., Kurtz, A., Bajt, M. L., Hinson, J. A., and Jaeschke, H. 'Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen toxicity: Role of mitochondrial oxidant stress', *Toxicol Sci* 62, 212-220, (2001).
- 14 - Lee, W.M., 'Drug-induced hepatotoxicity', *N Engl J Med.*, 349: 474-485, (2003).
- 15 - Larson, A.M., 'Acetaminophen hepatotoxicity', *Clin Liver Dis.*, Aug 11 (3):525-48, vi. Review, (2007).

- 16 - Trey, C., Davidson, L.S., 'The management of fulminant hepatic failure', In: Popper, H., Schaffner, F., eds: 'Progress in Liver Disease' New York, **Grime and Stratton** ,282-298, (1970).
- 17 - Riordan, S.M., Williams, R., 'Cause and prognosis in acute liver failure', **Liver Transpl Surg.**, 5: 86-89, (1999).
- 18 - Lee, W.M., 'Acute liver failure', **New Engl J Med.**, 329: 1862-1872, (1993).
- 19 - Zimmerman, H.T., Maddrey, W.C., 'Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: Analysis of instances of therapeutic misadventure', **Hepatology**, 22: 767-773.
- 20 - Mutimer, D.J., Ayres, R.C., Neuberger, J.M., Davies, M.M., Holguin, J., Buckels, J.A., Mayer, A.D., et al., 'Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation', **Gut**, 35: 809-814, (1994).
- 21 - Williams, R., 'New directions in acute liver failure' , **J R Coll Physicians Lond.**, 28: 552-559, (1994).
- 22 - Novak, D., Lewis, J.H., 'Drug induced liver disease', **Curr Opin Gastroenterol**, 19: 203-215, (2003).
- 23 - Schiodl, F.V., Atillasoy, E., Shakil, A.O., Schiff, E.R., Caldwell, C., Kowdley, K.V., Stribling, R., et al. 'Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States', **Liver Transpl Surg.**, 5: 29-34, (1999).
- 24 – Ostapowicz G, Lee WM, 'Acute hepatic failure: a Western perspective' **J Gastroenterol Hepatol.** 15(5):480-8 (2000).

- 25 - Smilkstein, M.J., Knapp, G.L., Kulig, K.W., Rumack, B.I.I., ‘Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985)’, *New Engl J Med.*, 319: 1557-1562, (1988).
- 26 - Harrison, P.M., Keays, R., Bray, G.P., Alexander, G.J., Williams, R., ‘Improved outcome of paracetamol-induced fulminant hepatic failure by late administration of acetylcysteine’, *Lancet*, 335: 1572-1573, (1990).
- 27 - Trauner, M., Meier, P.J., Boyer, J.L., ‘Molecular pathogenesis of cholestasis’, *N Engl J Med.*, 339: 1217-1227, (1998).
- 28 - Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A.I., Hinson, J.A., Pessayre, D., Lemasters, J.J., ‘Mechanisms of hepatotoxicity’, *Toxicol Sci.*, 65: 166-176, (2002).
- 29 - Lee, W.M., ‘Drug-induced hepatotoxicity’, *N Engl J Med.*, 349: 474-485, (2003).
- 30 - Pessayre, D., Berson, A., Fromenty, B., Mansouri, A., ‘Mitochondria in steatohepatitis’, *Semin Liver Dis* ., 21: 57-69, (2001).
- 31 - Palmer, R.M.J., Aston, D.S. and Moncada, S., ‘Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine’, *Nature*, 333 :664-666, (1988).
- 32 - Türköz, Y. ve Özerol, E., ‘Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri’, *J Turgut Özal Med. Cen.*, 4 :453-461, (1997).
- 33 - O’donnell V.B. and Freeman, B.A., ‘Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways’, *Circ. Res.*, 88 :12-21, (2001).



- 34 - Grisham, M.B., Jour'heuil, D. and Wink, D.A., 'Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation', *Am. J. Phys.*, 276: 315-321, (1999).
- 35 - Therond, P., Rousselot, D.B., Spraul, A.D., Conti, M. and Legrand, A., 'Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach', *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 3: 373-384, (2000).
- 36 - Vina, J., Estrela, J.M., Guerri, C., Romero, F.J., 'Effect of ethanol On glutathione concentration in isolated hepatocytes' , *Hepatology* , 7: 496- 501, (2001))
- 37 - Callans, C., Wacker, L.S. and Mitchell, M.C., 'Effect of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rat' , *Hepatology*, 7: 496- 501, (1987)).
- 38 - Nordberg, J. and Arner, E.S.J., 'Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system', *Free Radical Bio. Med.*, 31: 1287-1312, (2001).
- 39 - Lee, K.J., You, H.J., Park, S.J., Kim, Y.S., Chung, Y.C., Jeong, T.C., Jeong, H.G., 'Hepatoprotective effects of Platycodon grandiflorum on acetaminophen-induced liver damage in mice', *Cancer Lett.*, 10;174(1):73-81 (2001).
- 40 - Southorn, A.P. and Powis, G., 'Free radicals in medicine. I. chemical nature and biologic reactions', *Mayo Clin. Proc.*, 63: 381-389, (1988).
- 41 - Slater, F.T., 'Free radical mechanisms in tissue injury', *Biochem. J.*, 222 :1-15, (1984).

- 42 - Sadasivan. S., Latha, P.G., Sasikumar, J.M., Rajashekar, S., Shyamal, S., Shine, V.J., 'Hepatoprotective studies on Hedyotis corymbosa (L.)', *Lam.J Ethnopharmacol.*, Jun 30;106(2):245-9, (2006).
- 43 - Ellman, G.L., 'Tissue sulphhydryl groups', *Arch. Biochem. Biophys.*, 82: 70-77, (1959).
- 44 - Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., 'Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction', *Anal. Biochem.*, 95: 351-358, (1979).
- 45 - Cortas, N.K. and Wakid, N.W., 'Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method', *Clin. Chem.*, 36: 1440-1443, (1990).
- 46 - Navarro-Gonzalves, J.A., Garcia-Benayas C. and Arenas, J., 'Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids', *Clin. Chem.*, 44: 679-681, (1998).
- 47 - Halliwell, B. and Gutteridge, J. M., "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview.", *Methods Enzymol.*, 186: 1-85 (1990).
- 48 - Novak, D., Lewis, JH., 'Drug induced liver disease' , *Curr Opin Gastroenterol* 19:203-215 (2003).
- 49 - Bedirli A, Sözüer E.M, Muhtaroglu S, Alper M., 'The role of oxygen free radicals and nitric oxide in organ injury following hemorrhagic shock and reinfusion', *Int J Surg Investig.*, 2(4):275-84 (2000).
- 50- Thomas, S.H., 'Paracetamol (acetaminophen) poisoning', *Pharmacol Ther.*, 60, 91–120, (1993).

- 51 - Toklu, H.Z., Sehirli, A.O., Velioglu-Ogünç, A., Cetinel, S., Sener, G. 'Acetaminophen-induced toxicity is prevented by beta-D-glucan treatment in mice', *Eur J Pharmacol*, Aug 14;543(1-3):133-40, (2006).
- 52 - Abdel-Zaher, A.O., Abdel-Rahman, M.M., Hafez, M.M., Orman, F.M., 'Role of nitric oxide and reduced glutathione in the protective effects of aminoguanidine, gadolinium chloride and oleanolic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage', *Toxicology*, May 5;234(1-2):124-34, (2007).
- 53 - Fiorucci, S., Antonelli, E., Mencarelli, A., et al. 'A NO- releasing derivative of acetaminophen spares the liver by acting at several checkpoints in the Fas pathway', *Br J Pharmacol*, 135: 589-599, (2002).
- 54 - Gardner, C.R, Laskin, J.D, Dambach, D.M., et al. 'Reduced hepatotoxicity of acetaminophen in mice lacking inducible nitric oxide synthase: potential role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10', *Toxicol Appl. Pharmacol.*,184: 27-36, (2002).
- 55 - Gardner, M.P., Houghton, D.C., Andoh, T.F., Lindsley, J., Bennett, W.M., 'Clinically relevant doses and blood levels produce experimental cyclosporine nephrotoxicity when combined with nitric oxide inhibition' *Transplantation*, 61: 1506–1512, (1996).
- 56 - Richie, Jr., J.P., Long, C.A., Chen, T.S., 'Acetaminophen-induced depletion of glutathione and cysteine in aging mouse kidney' *Biochem. Pharmacol.*, 44, 129–135, (1992).
- 57 - Nelson, S.D., 'Molecular mechanisms of hepatotoxicity caused by acetaminophen', *Semin. Liver Dis.*, 10, 267–278, (1990).

- 58 - Newton, J.F., Yoshimoto, M., Bernstein, J., Rush, G.F., Hook, J.B., 'Acetaminophen nephrotoxicity in the rat. 1. Strain differences in nephrotoxicity and metabolism', *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 69: 291–306, (1983).
- 59 - Manov, I., Hirsh, M., Ianccu, T.C., 'Acetaminophen hepatotoxicity and mechanisms of its protection by N-acetylcysteine: a study of Hep3B cells', *Exp. Toxicol. Pathol.* 53: 489–500, (2002).
- 60 - Nelson, S.D., Bruschi, S.A., 'Mechanism of acetaminophen-induced liver disease. In: Kaplowitz N, DeLeve L, editors. Drug-induced liver disease' *New York: Marcel-Decker, Inc.*, 287–325, (2003).
- 61 - Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Potter, W.Z., et al. 'Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione', *J Pharmacol Exp Ther* ., 187:211–7, (1973).
- 62 - James, L. P., Mayeux, P. R., and Hinson, J. A., 'Acetaminophen-induced hepatotoxicity', *Drug Metab Dispos* 31, 1499-1506, (2003).
- 63 - Jaeschke, H., and Bajt, M. L., 'Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death', *Toxicol Sci* 89, 31-41, (2006).
- 64 - Mandal, S.C., Saraswathi, B., Kumar, C.K., Mohana, Lakshmi, S., Maiti, B.C., 'Protective effect of leaf extract of *Ficus hispida* Linn. against paracetamol-induced hepatotoxicity in rat', *Phytother Res.*, Sep;14(6):457-9, (2000).
- 65 - Ojo, O. O., Kabutu, F.R, Bello, M, Babayo, U., 'Inhibition of paracetamol-induced oxidative stress in rats by extracts of lemongrass (*Cymbropogon citratus*) and green tea (*Camellia sinensis*) in rats', *African Journal of Biotechnology Vol.* 5 (12), 1227-1232, (2006).

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Kevser ADIGÜZEL

Doğum Yeri: Erzurum

Doğum Tarihi: 24.03.1980

Medeni Hali: Bekâr

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu ( Kurum ve Yıl)

Lise : Atatürk Lisesi Süper Bölümü - 2001

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü - 2006



