

**RATLARDA ASETAMİNOFEN
TOKSİKASYONUNDA
SANGGENON C'NİN ANTIOKSİDAN VE
ANTIİNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI
DOKTORA TEZİ
Zeyneb KARAKUŞ
Danışman
Prof. Dr. Laçine AKSOY
KİMYA ANABİLİM DALI
Şubat 2021**

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**RATLARDA ASETAMİNOFEN TOKSİKASYONUNDA
SANGGENON C'NİN ANTIOKSİDAN VE ANTIİNFLAMATUVAR
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zeyneb KARAKUŞ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Laçine AKSOY

KİMYA ANABİLİM DALI

Şubat 2021

TEZ ONAY SAYFASI

Zeyneb KARAKUŞ tarafından hazırlanan “Ratlarda Asetaminofen Toksikasyonunda Sanggenon C’nin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 19/02/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Laçine AKSOY

Başkan : Doç. Dr. Ömer HAZMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi

Üye : Prof. Dr. Laçine AKSOY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Naci Ömer ALAYUNT

Siirt Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yasemin S. KARAFAKIOĞLU

Uşak Üniversitesi Eğitim Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet BÜYÜKBEN

Afyon Kocatepe Üniversitesi Çay MYO

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun

...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. İbrahim EROL

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

19/02/2021


Zeyneb KARAKUŞ

ÖZET

Doktora Tezi

RATLARDA ASETAMİNOFEN TOKSİKASYONUNDA SANGGENON C'NİN ANTIÖKSİDAN VE ANTIİNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Zeyneb KARAKUŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Laçine AKSOY

Bu çalışmada, ratlarda Asetaminofen'in oluşturduğu akut toksisiteye karşı Sanggenon C'nin antioksidan ve antiinflamatuvar kapasitesi ve dokulardaki etkileri incelendi. Sprague-Dawley erkek ratlardan 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubundaki (Grup 1) ratlara herhangi bir işlem yapılmadı. Asetaminofen grubundaki (Grup 2) ratlara 0,5 g/kg intraperitoneal asetaminofen uygulandı. Sanggenon C grubundaki (Grup 3) ratlara 0,1 mg/kg intravenöz Sanggenon C uygulaması yapıldı. Terapötik gruptaki (Grup 4) ratlara önce 0,5 g/kg asetaminofen, 4 saat sonra da 0,1 mg/kg Sanggenon C uygulaması yapıldı. Ratlardan alınan kan ve doku örneklerinde; AST, ALT, ALP, LDH, CK, MDA, GSH, NO, TAS, TOS, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B, PGE2, COX-2 ölçümleri ve doku histopatolojik analizleri yapıldı.

Elde edilen sonuçlar; asetaminofenin oksidatif stres ve inflamasyonu indüklediğini göstermiştir. Uygulanan Sanggenon C'nin, asetaminofen'e bağlı oluşan bu toksikasyonda antioksidan kapasiteyi artırdığı, inflamasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür. Sanggenon C grubu ve terapötik grup verileri bu flavonoidin etkileri ve literatürde edineceği yer açısından dikkate değer bulunmuştur.

2021, xi + 98 sayfa

Anahtar Kelimeler: Asetaminofen, Sanggenon C, Hepatotoksisite, Antioksidan, İnflamasyon

ABSTRACT

PhD Thesis

RESEARCH OF ANTIOXIDANT AND ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF SANGGENON C ON ACETAMINOPHEN INDUCED TOXICITY IN RATS

Zeyneb KARAKUŞ

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Laçine AKSOY

In this study, the antioxidant and anti-inflammatory capacity of Sanggenon C against acute toxicity caused by acetaminophen in rats and its effects on tissues were investigated. Four groups were formed from Sprague-Dawley male rats. No procedure was applied to the rats in the control group (Group 1). Acetaminophen 0,5 g / kg was administered intraperitoneally to rats in the acetaminophen group (Group 2). Sanggenon C was administered to rats in Sanggenon C group (Group 3) 0.1 mg / kg intravenously. The rats in the Therapeutic Group (Group 4) were administered 0,5 g / kg acetaminophen and then 0.1 mg / kg Sanggenon C 4 hours later. In blood and tissue samples taken from rats; AST, ALT, ALP, LDH, CK, MDA, GSH, NO, TAS, TOS, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B, PGE2, COX-2 measurements and tissue histopathological analyzes were performed.

Obtained results have been shown that acetaminophen induces oxidative stress and inflammation. It was observed that Sanggenon C administration increased the antioxidant capacity and had positive effects on inflammation in this toxication caused by acetaminophen. Sanggenon C Group and Therapeutic Group datas have been found remarkable in terms of the effects of this flavonoid and its place in the literature.

2021, xi+ 98 pages

Keywords: Acetaminophen, Sanggenon C, Hepatotoxicity, Antioxidant, Inflammation

TEŞEKKÜR

Doktora dnemim boyunca gerek teorik alıŐmalar gerekse tez protokolnde yer alan deneysel alıŐma, sonuların değerlendirilmesi ve yazım aŐamalarında yaptığı katkılarını yanısıra vermiŐ olduğu manevi destek için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Laçine AKSOY'a, Tez İzleme Komite'sinde yer alan ve yapıcı eleŐtiri ve önerilerini esirgemeyen hocalarım Sayın Doç. Dr. Ömer HAZMAN ve Sayın Dr. Yasemin KARAFAKIOğLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Sn. Hasan Hüseyin DEMİREL'e, Vet. Hekim. Sn. Engin GÖKSEL'e, Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi çalıŐanlarına, deneysel süreçte yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans ve doktora ğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Süreç boyunca her daim yanımda olan hocam Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR'a, aileme, eŐime ve kızıma maddi ve manevi desteklerinden dolayı Őükranlarımı sunarım.

Zeyneb KARAKUŞ
AFYONKARAHİSAR 2021

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Karaciğer	3
2.1.1 Karaciğer Histolojisi.....	3
2.1.2 Karaciğerin Biyokimyasal Fonksiyonları.....	5
2.1.3 Karaciğerde İlaç Biyotransformasyonu	7
2.1.3.1 Sitokrom P450 Monooksijenaz Sistemi	7
2.1.4 İlaçlara Bağlı Karaciğer Hasar ve Hastalıkları.....	10
2.1.5 Karaciğer Fonksiyon Testleri	10
2.1.5.1 Alanin Aminotransferaz (ALT).....	11
2.1.5.2 Aspartat amino transferaz (AST).....	11
2.1.5.3 Alkalen Fosfataz (ALP).....	12
2.1.5.4 Laktat Dehidrogenaz (LDH).....	12
2.2 Asetaminofen (N-asetil-p-aminofenol).....	12
2.2.1 Asetaminofenin Etki Mekanizması	13
2.2.2 Asetaminofenin Farmakokinetik ve Biyoyararlanımı	15
2.2.3 Asetaminofenin Tedavide Kullanımı ve Dozajlama	15
2.2.4 Asetaminofenin Yan Etkileri ve Toksisitesi.....	16
2.2.4.1 Asetaminofen ve Karaciğer	18

2.2.4.2 Asetaminofen ve Böbrek	18
2.2.5 Doz Aşımında Toksik Etkiye Karşı Kullanılan Yöntemler.....	19
2.3 İnflamasyon, Sitokinler ve Antiinflamatuvar Etkili Bileşikler.....	20
2.3.1 İnflamasyon	20
2.3.2 Sitokinler	21
2.3.2.1 Sitokinlerin İşlevleri ve Sınıflandırılması.....	21
2.3.3 Antiinflamatuvar Etkili Bileşikler	25
2.4 Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	26
2.4.1 Serbest Radikallerin Metabolik Etkileri	28
2.4.2 Antioksidanlar	31
2.5 Fitokimyasallar	34
2.5.1 Flavonoidler.....	34
2.5.1.1 Bir Flavonoid Kaynağı Olarak Morus Alba L. (Beyaz Dut).....	37
2.6 Sanggenon C.....	38
3. MATERYAL VE METOT.....	41
3.1 Materyal.....	41
3.1.1 Deney Hayvanı	41
3.1.2 Kimyasal Materyal	41
3.2 Metot.....	41
3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması	42
3.2.2 Doku Örneklerinin Alınması	43
3.2.3 Eritrosit Paketinin Hazırlanması.....	43
3.2.4 Doku Homojenizasyonu	43
3.2.5 Biyokimyasal Analizler	43
3.2.5.1 Karaciğer Fonksiyon Testleri	43
3.2.5.2 Total Protein Tayini.....	44
3.2.5.3 Hemoglobin Tayini.....	44
3.2.5.4 Malondialdehit (MDA) Tayini	44
3.2.5.5 Glutasyon (GSH) Tayini	44
3.2.5.6 Nitrik Oksit (NO) Tayini	45
3.2.5.7 Total Antioksidan ve Total Oksidan Statü Tayini.....	45
3.2.5.7.1 Total Antioksidan Statü (TAS) Tayini	45

3.2.5.7.2 Total Oksidan Statü (TOS) Tayini.....	45
3.2.5.8 Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Tayini.....	46
3.2.5.9 İnterlökin-1 Beta (IL-1 β) Tayini	46
3.2.5.10 İnterlökin-6 (IL-6) Tayini.....	46
3.2.5.11 İnterferon-Gama (IFN- γ) Tayini.....	46
3.2.5.12 Siklooksigenaz (COX-2) Tayini.....	47
3.2.5.13 Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) Tayini.....	47
3.2.5.14 Prostaglandin E2 (PGE2) Tayini	47
3.2.6 Histopatolojik Analiz.....	47
3.3 İstatistiki Analiz.....	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	75
6. KAYNAKLAR.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	96
EKLER	98

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

RO·	Alkoksil Radikali
Cu	Bakır
Br	Brom
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
Fe	Demir
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
-OH	Hidroksil Grubu
OH·	Hidroksil Radikali
CO ₂	Karbondioksit
kg	Kilogram
kDa	Kilo Dalton
Cl	Klor
LOOH	Lipid Hidroperoksit
LOO·	Lipid Peroksit Radikali
Mg	Magnezyum
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µmol	Mikromol
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mmol	Milimol
ng	Nanogram
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
O ₂	Oksijen Molekülü
pg	Pikogram
K	Potasyum
¹ O ₂	Singlet Oksijen
Na	Sodyum
U	Enzim Birimi
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
VCl ₃	Vanadyum Klorür
t _{1/2}	Yarılanma Süresi

Kısaltmalar

ALT	Alanin Aminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfataz
APAP	Asetaminofen
AST	Aspartat Aminotransferaz
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
DNA	Deoksiribonükleik Asit
NK	Doğal Öldürücü Bağışıklık Hücresi
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mononükleotid
PIP	Fosfatidil İnozitol
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
GSH	Glutasyon
IL-1 β	İnterlökin 1-Beta
IL-6	İnterlökin 6
IL-18	İnterlökin 18
IFN- γ	İnterferon gama
CK	Kreatin Kinaz
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LPO	Lipit Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
NAC	N-asetil Sistein
NAPQI	N-asetil-p-benzokinon imin
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NO	Nitrik Oksit
iNOS	Nitrik Oksit Sentaz
NSAİİ	Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaç
NF- κ B	Nükleer Faktör kappa B
PGE2	Prostaglandin E2
RES	Retiküloendotelyal Sistem
COX-1	Siklooksigenaz-1
COX-2	Siklooksigenaz-2
CYP	Sitokrom P450
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TAG	Triaçil Gliserol
TCA	Trikarboksilik Asit
TAS	Total Antioksidan Statü
TOS	Total Oksidan Statü
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör
UV	Ultraviyole
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2- nitrobenzoik asit)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Sağlıklı karaciğeri oluşturan hücre popülasyonlarının bileşimi.....	5
Şekil 2.2 İlaç oksidasyonlarında Sitokrom P450 döngüsü.....	9
Şekil 2.3 Asetaminofenin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.4 N-Asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) mekanizması.....	17
Şekil 2.5 Lipid peroksidasyon basamakları.....	30
Şekil 2.6 Flavonoid yapısı.....	35
Şekil 2.7 Flavonoidlerin antioksidan etki mekanizması.....	36
Şekil 2.8 Sanggenon C yapısı.....	39
Şekil 4.1 Aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi	50
Şekil 4.2 Alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi	51
Şekil 4.3 Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi	52
Şekil 4.4 Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi	53
Şekil 4.5 Kreatin kinaz (CK) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi.....	54
Şekil 4.6 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku MDA değerlerinin grafiksel gösterimi.....	56
Şekil 4.7 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku GSH değerlerinin grafiksel gösterimi.....	57
Şekil 4.8 Plazma, böbrek ve karaciğer doku NO değerlerinin grafiksel gösterimi.....	59
Şekil 4.9 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TAS değerlerinin grafiksel gösterimi.....	60
Şekil 4.10 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TOS değerlerinin grafiksel gösterimi.....	62
Şekil 4.11 Serum, böbrek ve karaciğer doku TNF- α değerlerinin grafiksel gösterimi....	64
Şekil 4.12 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-1 β değerlerinin grafiksel gösterimi.....	65
Şekil 4.13 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-6 değerlerinin grafiksel gösterimi.....	67
Şekil 4.14 Serum, böbrek ve karaciğer doku IFN- γ değerlerinin grafiksel gösterimi.....	69
Şekil 4.15 Karaciğer doku COX-2 değerlerinin grafiksel gösterimi.....	70
Şekil 4.16 Karaciğer doku PGE2 değerlerinin grafiksel gösterimi.....	71
Şekil 4.17 Karaciğer doku NF- κ B değerlerinin grafiksel gösterimi.....	72

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Doğal bağışıklığa aracılık eden sitokinler.....	22
Çizelge 2.2 T lenfositlerin özel antijenleri tanmasını sağlayan sitokinler.....	23
Çizelge 2.3 Bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler.....	24
Çizelge 2.4 Lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden sitokinler.....	25
Çizelge 2.5 Sık karşılaşılan serbest radikaller ve simgeleri.....	27
Çizelge 2.6 Başlıca endojen antioksidanlar ve metabolizmadaki görevleri.....	32
Çizelge 2.7 Başlıca ekzojen antioksidanlar ve metabolizmadaki görevleri.....	33
Çizelge 4.1 Aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri	49
Çizelge 4.2 Alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktiviteleri.....	50
Çizelge 4.3 Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktiviteleri.....	51
Çizelge 4.4 Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktiviteleri	52
Çizelge 4.5 Kreatin kinaz (CK) enzim aktiviteleri	53
Çizelge 4.6 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku MDA değerleri.....	55
Çizelge 4.7 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku GSH değerleri.....	56
Çizelge 4.8 Plazma, böbrek ve karaciğer doku NO değerleri.....	58
Çizelge 4.9 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TAS değerleri.....	60
Çizelge 4.10 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TOS değerleri.....	61
Çizelge 4.11 Serum, böbrek ve karaciğer doku TNF- α değerleri.....	63
Çizelge 4.12 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-1 β değerleri.....	64
Çizelge 4.13 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-6 değerleri	66
Çizelge 4.14 Serum, böbrek ve karaciğer doku IFN- γ değerleri.....	68
Çizelge 4.15 Karaciğer doku COX-2 değerleri	69
Çizelge 4.16 Karaciğer doku PGE2 değerleri.....	70
Çizelge 4.17 Karaciğer doku NF- κ B değerleri.....	71
Çizelge 4.18 Karaciğer ve böbrek doku histopatolojik bulguları.....	73

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 4.1 Rat karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik analiz görüntüleri.....72

1. GİRİŞ

İnsanlar, günlük yaşamda vücudunun herhangi bir bölgesinde hissettiği ağrı veya yangıyı bastırmak, yaşam kalitesi, motivasyon ve performans düşüklüğünü engellemek için ağrı kesici kullanımını çok yaygın ve yoğun olarak tercih etmektedir. İstenmeyen yan etkileri de bulunan ağrı kesici ilaçların kullanım sebebinin; ağrı kesici özellikleri yanında yüksek oranda alışkanlığa bağlı olduğu bildirilmektedir (Hedenrud ve Håkonsen 2017).

Doz aşımı olmadığı takdirde ağrı kesici kullanımının vücutta ağır hasarlar oluşturmadığı kabul edilmektedir. Ancak yaygın kullanımda, ilaç etkin maddelerinin bazı doku ve organlarda, özellikle ilaç eliminasyonunda etkinliği bilinen karaciğerde biriktiği, böbreklerde fonksiyon kaybına neden olduğu, bu etkilerin de akut ve kronik hasarlara yol açabileceği bildirilmektedir (Bartlett 2004).

Günümüzde sıklıkla kullanılan ağrı kesici etkin maddelerinden biri olan asetaminofen (parasetamol), non-steroidal antiinflamatuvar ilaç grubundan fenasetinin etkin metabolitlerinden para-aminofenol türevidir. Vücutta tek başına metabolize edilmesi ve diğer ilaçlarla birlikte kullanılan formlarının olması dolayısıyla birikimi ve toksisitesine de sık rastlanan bir ilaçtır. Bu birikim ve toksisitenin, vücuda maksimum yarar ve minimum zarar ilkesi kapsamında bertaraf edilmesi gerekmektedir. Akut asetaminofen toksisitesinde (8-10 saat içerisinde) N-Asetil Sistein tedavisinin etkinliği kabul edilmiş olsa da akut ve kronik toksikasyon veya gecikmiş müdahale durumlarında farklı yaklaşımların gerekliliği gündemdedir (Katzung 2012, Aktaş 2013, Eskiocak et al. 2013).

Son yıllarda, spesifik farmakolojik aktiviteleri ve düşük yan etkileri sebebiyle fitokimyasalların veya doğal ürünlerin kullanımı güçlü antioksidan özellikleri sebebiyle modern tıpta da oldukça ilgi görmektedir. Bu ürünlerdeki doğal bitki bileşenleri ilaç endüstrisinde kaynak sağlama bakımından da önemlidir (Pietta 2000).

Morus alba L.'nin kök kabuğu olan Cortex Mori (Sang Bai Pi) Çin Farmakopesi'nde belgelenen etkili geleneksel bir preparattır (Wu vd. 2020). Cortex Mori'den elde edilen bir flavonoid olan Sanggenon C'nin (C₄₀H₃₆O₁₂) antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör özelliklere sahip olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (Wang vd. 2018,

Zhao ve Xu 2020). Sanggenon C'nin inflamasyon ve oksidatif stresi inhibe ederek serebral iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde düzeltici etki gösterdiği, prednizonun indüklediği osteoporozda iyileştirici etkili olduğu, nitrik oksit (NO) üretimini ve reaktif oksijen türlerinin aktivasyonunu inhibe ettiği, bu inhibisyon ile kanser hücrelerinin apoptozunu indüklediği, kardiyomiyosit hipoksisine karşı koruma sağladığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Li vd. 2002, Huang vd. 2011, Dat vd. 2012, Chen vd. 2017, Gu vd. 2017, Wang vd. 2018, Zhao ve Xu 2020). Yaygın literatür verileri, Sanggenon C'nin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinin asetaminofen toksikasyonu üzerinde de ölçülebilir etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışması, doğal yapısı ve içerdiği flavanoidler sebebiyle asetaminofenin akut toksisitesi üzerine etkili olabileceği düşünülen Sanggenon C'nin antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin gösterilmesini amaçlamaktadır. Elde edilen verilerin Asetaminofen toksikasyonunu azaltma adına literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Karaciğer

2.1.1 Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, yetişkin bir insanda ortalama 1,5 kg ağırlıkta olup, organizmadaki en büyük organdır. Safra üretimi dolayısıyla ekzokrin, sentezlediği bazı maddeleri doğrudan kan dolaşımına vermesi nedeniyle endokrin bez özelliği taşımaktadır. Karaciğer; safra üretimi, glikojen depolanması, hormonların üretimi ve toksinlerin biyotransformasyonu dahil olmak üzere birçok temel işlevi yerine getirmektedir (Bogdanos vd. 2013, İnt. Kyn. 1).

Karaciğerin sistemik dolaşım ile ilişkisi hepatik arter ve vena porta adı verilen iki büyük damar tarafından sağlanmaktadır. Hepatik arter ve vena porta sırasıyla; karaciğerin yapısal elemanlarının kanlanması ve bağırsaktan gelen kanın drenajının sağlanmasında görev almaktadır. Gastrointestinal sistemi takiben bağırsaklardan emilen besinlerin metabolizasyonu karaciğer hücrelerinde gerçekleşmektedir. Bu süreçte retikuloendotelial sistem (RES), karaciğere ulaşan ve toksik etki oluşturabilecek materyallerin (bağırsak bakterileri gibi) portal akımdan sistemik dolaşıma geçişini engellemekte ve karaciğer ile birlikte tüm organizmada koruyucu etki oluşturmaktadır. Söz konusu sistemin işleyişinin aksamaması adına yüksek hızda bir kan akımı ve kan ile karaciğer hücreleri arasında sıkı bir fizyolojik bağ gereklidir.

Karaciğer lobülü, organın asıl fizyolojik birimi olup çapı 0,8-2 mm çapa ve birkaç mm uzunluğa sahip silindirik yapıdadır. Bu birim bir santral ven etrafında konumlanmaktadır. Sürecin devamında santral vene ulaşan kan sırasıyla hepatik ven ve inferior vena cavaya geçerek kalbe ulaşmaktadır (Dilek 2003, Racanelli ve Rehermann 2006).

Karaciğer de diğer birçok organ gibi parankima ve stroma bölümlerinden oluşur. Bir organın kendine özgü fonksiyonlarını yerine getiren hücre ve yapıların oluşturduğu organ içindeki küçük yapıların tümüne parankima adı verilir. Parankimayı oluşturan hücre ve diğer yapılara desteklik sağlayan ve çoğu kez organın çatı ve iskeletini oluşturan kapsül ve trabekül gibi bağ dokusundan oluşan yapılar ve bu yapılar içerisinde organın içerisine

girip dağılan damar ve sinirlerin oluşturduğu destek yapıların tümüne stroma adı verilir. Sağlıklı bir karaciğerdeki parankimal ve parankimal olmayan hücrelerin toplam sayısına göre her popülasyonun tahmini sıklığı Şekil 2.1’de şematize edilmiştir (Racanelli ve Rehmann 2006, İnt. Kyn. 2).

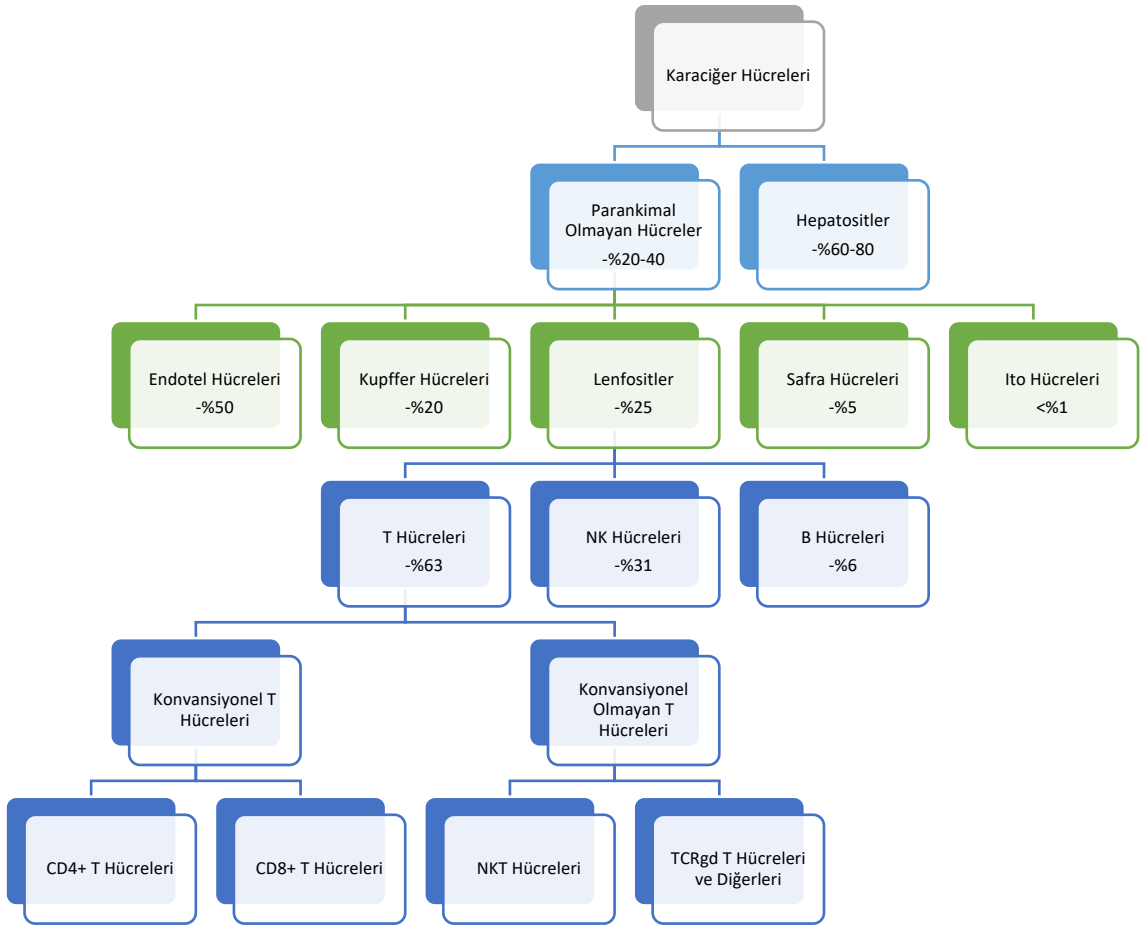
Hepatositler, karaciğerdeki toplam hücre popülasyonunun üçte ikisini oluşturmaktadır. Diğer (parankimal olmayan) hücre popülasyonları ve toplam hücre popülasyonundaki yaklaşık yüzdeleri de Şekil 2.1’de belirtilmiştir.

Parankimal olmayan hücreler temel olarak; endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, lenfositler, safra hücreleri ve Ito hücrelerinden oluşmaktadır.

Endotel hücreleri, karaciğerdeki parankimal olmayan hücrelerin yaklaşık %50’sini oluşturur. Bu hücreler mannoz reseptörü gibi antijen alımını destekleyen molekülleri, MHC sınıf I, MHC Sınıf II ve CD40, CD80 ve CD86 gibi antijen sunumunu destekleyen molekülleri ekspres eder.

Kupffer hücreleri, parankimal olmayan hücrelerin yaklaşık %20’sini oluşturur ve vücuttaki en büyük sabit makrofaj grubunu temsil eder. Kemik iliği öncüllerinden kaynaklanan dolaşımdaki monositlerden türetilirler. Bu hücreler karaciğere yerleştikten sonra sinüzoidal vasküler boşlukta, baskın olarak periportal bölgede bulunur ve buldukları bölgede kanı endotoksinlerden arındırıp fagositoz kalıntılarını temizleyebilirler.

Lenfositler, parankim boyunca ve ayrıca portal yollarda dağılmış olarak bulunmaktadır. Ortalama yetişkin insan karaciğeri, sırasıyla doğuştan gelen (NKT ve NK hücreleri) ve adaptif bağışıklık sistemlerinin (T ve B hücreleri) geleneksel ve geleneksel olmayan lenfosit alt popülasyonlarını içeren yaklaşık 10^{10} lenfosit popülasyonu içerir (Su 2002, Dilek 2003, Klover ve Mooney 2004, Racanelli ve Rehmann 2006, Bogdanos vd. 2013).



Şekil 2.1 Sağlıklı karaciğeri oluşturan hücre popülasyonları bileşimi

2.1.2 Karaciğerin Biyokimyasal Fonksiyonları

Karaciğer vücutta diğer sistemlere olan etkilerinin yanı sıra metabolizmada birçok fonksiyonun düzenlenmesinden sorumludur. Karaciğer başlıca; metabolik fonksiyonların düzenlenmesi, depolama, sentez ve atımdan sorumludur. Bu fonksiyonların yerine getirilmesinde hepatositler (temel biyokimyasal reaksiyonlar), safra yolu (bilirubin atılımı) ve retikuloendotelial sistem (hemoglobin, biliverdin, bilirubin metabolizması) görev almaktadır. Bilirubin sekresyonu karaciğer tarafından gerçekleştirilir. Karaciğerde üretilen bilirubin safra kesesinde depolanır. Gerekliğinde safra kanalı aracılığıyla duodenuma (Vater papillasına) ve bağırsaklara akıtılır. Safrada konjuge formdaki bilirubin intestinal ortamda bakterilerin etkisiyle “sterkobilinojen”e dönüştürülür. Sterkobilinojen büyük oranda dışkıyla atılır. Kalanı terminal ileum ve kolonda emilerek tekrar karaciğere gelir ve konjuge bilirubine dönüştürülür. Konjuge

bilirubin kana geçer, idrarla urobilinojen formunda atılır. Ksenobiyotikler de karaciğer tarafından metabolize edilir ve atılır. Karaciğer merkezli ksenobiyotik metabolizması, ilaçlar ve zehirler gibi organizmaların normal biyokimyası için yabancı olan bileşiklerin kullandığı metabolik yolları içerir ve hemen hemen tüm organizmalarda biyotransformasyonunun bir formudur. Bu kapsamdaki reaksiyonlar genellikle toksik kimyasalların zararlı etkisini ortadan kaldırma yönündedirler, bu sebeple bu işlevler detoksifikasyon, nötralizasyon veya toksinsizleştirme reaksiyonları olarak da bilinirler (Jakoby ve Ziegler 1990).

Karaciğer protein, lipid ve karbonhidrat metabolizmasında önemli görevler üstlenir. Venöz akımın bağırsak ve pankreasın genel dolaşımına girmeden hepatik portal vene doğru gerçekleşmesi sebebiyle diyetle alınan besinlerin metabolize edilmesi açısından eşsiz bir düzen göstermektedir. Emilim sürecinde karaciğer; karbonhidrat, lipid ve aminoasitlerin çoğunu alır. Besinler burada metabolize edilir ve depolanır veya ihtiyaç durumunda diğer dokulara ulaştırılır.

Karbonhidrat metabolizmasında; karaciğer glikozu kullanmaktan daha çok üretmektedir (Karbonhidrat ağırlıklı bir beslenme sonrası her 100 g glikozun 60 g'ı alacak şekilde). Glikoz metabolizmasına ait; fosforilasyonun artışı, glikojen sentezinin artışı, heksoz monofosfat yolağında aktivitenin artışı, glikolizin artışı, glukoneogenezin azalışı gibi tüm basamaklar karaciğerde metabolize edilir (Dilek 2003, Racanelli ve Rehmann 2006, Bogdanos vd. 2013).

Yağ asitlerinin de novo sentezi için öncelikli doku karaciğerdir. Yüksek kalorili diyet sonrası substrat varlığında veya asetil KoA karboksilazın defosforilasyonu ya da allosterik aktivatör olan sitratın aktive edilmesi sonucu yağ asidi sentezinde artış karaciğerde gerçekleşir. Karaciğer triaçil gliserolü (TAG) yağ ve kas dokusu gibi dokularda kullanılmak üzere, kana salınan çok düşük yoğunluklu protein (VLDL) yapısının içine paketler.

Karaciğer plazma proteinlerinin de en önemli üretim yeridir. Albumin, globülin, immünglobulinler, seruloplazmin, antitripsin, transferrin, fibronektin ve koagulasyon proteinleri karaciğerde sentezlenir.

Emilim sırasında, karaciğerin protein ve diğer azotlu bileşiklerin sentezinde kullanacağı miktardan daha çok aminoasit karaciğere ulaşır. Amino asitin fazlası depolanmaz, protein sentezinde kullanılmak üzere tüm dokulara dağıtılır ya da karbon ve azot iskeletlerinin ayrılacağı şekilde deamine edilip piruvat, asetil KoA veya TCA siklusu ara ürünlerine yıkılmaktadırlar. Bu ara ürünler enerji eldesi için okside edilebilir veya yağ asidi sentezinde kullanılırlar. CO₂ ve aminoasitlerin deaminasyonu ile oluşan amonyaktan üre sentezi karaciğerde gerçekleşir (Dilek 2003, Champe vd. 2005, Kalaycıoğlu vd. 2006).

2.1.3 Karaciğerde İlaç Biyotransformasyonu

İnsanlar hemen her gün ksenobiyotikler olarak isimlendirilen çok sayıda yabancı bileşiğe maruz kalırlar. Ksenobiyotikler sınıfına ilaçlar, petrol ürünleri, böcek ilaçları gibi normal vücut biyokimyasına yabancı bileşikler girmektedir. Bu ajanlar yiyecek ve içeceklerle, bazı tedavi metotlarıyla (ilaçlar) alınabilir. Çevresel ksenobiyotikleri yanlışlıkla veya hava, su ve yiyeceklere karışmış formlarıyla almak neredeyse kaçınılmazdır. Bazı ksenobiyotikler zararsız olsalar bile birçok metabolik yanıtı sebep olabilir ve zararlı aktif ara ürünler oluşumuna sebebiyet verebilirler; yani ksenobiyotik metabolizmasındaki kimyasal araçların kendileri de bazı durumlarda toksik etkilere neden olabilirler (Kayaalp 1996, Rang ve Dale 2007).

Her doku, alınan ilaçları bir miktar metabolize edebilse de ilaç metabolizmasının başlıca organı karaciğerdir. Birçoğu oral alımları sonrası değişime uğramadan ince bağırsaklardan emilir ve portal sistem ile asıl metabolize edileceği karaciğere taşınır.

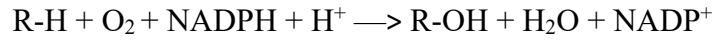
İlaç metabolizması in vivo ortamda da gerçekleşmektedir. İn vivo ksenobiyotik metabolizma, katalizörü olmayan kimyasal reaksiyonlarla kendiliğinden, çoğunluğu hücrel enzimler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu enzimler hücre içinde ER, mitokondri, sitoplazma, lizozomlar, çekirdek zarında bulunur (Katzung 2012).

2.1.3.1 Sitokrom P450 Monooksijenaz Sistemi

İlaç metabolizmasının gerçekleşmesinde öncül olan hücrel enzimler; karma fonksiyonlu oksidaz veya monooksijenazlar olarak bilinen önemli bir enzim sınıfını

içerirler. Sitokrom P450'ler (CYP) hem grubu içeren monooksijenazlardır. Bu gruptaki enzimler çok geniş amaçlı çeşitli reaksiyonlarda yer alırlar. P450 ismi bu proteinin 450 nm dalga boyunda verdiği absorbanstan kaynaklanmaktadır.

Monooksijenazlar moleküler oksijenden gelen bir oksijen atomunu hidroksil grubu oluşturarak bir substratın yapısına katarlar. Bu sırada diğer oksijen atomu yine monooksijenazlar ile H₂O'ya indirgenir. Bu oksidasyon redüksiyon sürecinde iki mikrozomal enzim önemli rol oynamaktadır. Bunlardan ilki flavoprotein NADPH sitokrom P450 redüktazdır. Bu enzimin 1 molü, her biri 1 mol olacak şekilde flavin mononükleotid (FMN) ve flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir. İkinci mikrozomal enzim terminal oksidaz olarak işlev gören ve sitokrom P450 olarak adlandırılan bir hemoproteindir (Katzung 2012). Sitokrom P450 monooksijenaz sisteminde reaksiyonlar için gereken indirgeyici güç NADPH'dan sağlanır. Sitokrom P450 enziminin katalizlediği bir reaksiyonun genel mekanizması şu şekildedir;

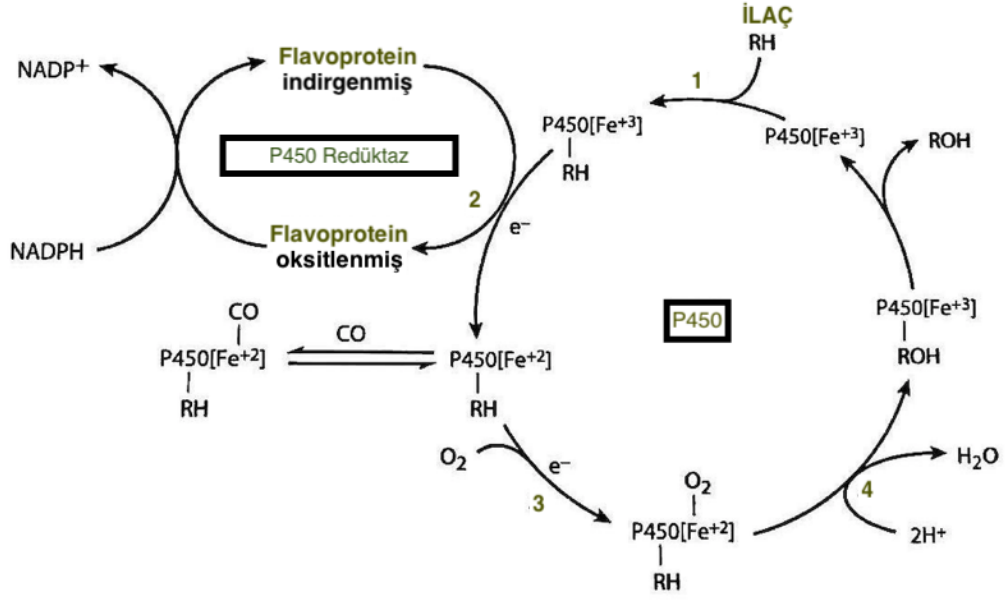


(R= steroid, ilaç veya başka bir ksenobiyotik)

Sitokrom P450 monooksijenaz sistemi mitokondrinin iç membranına bağlıdır ve steroid hormon biyosentezinde görev alır. Adrenal korteks, testisler, plasenta gibi dokularda kolesterolden steroid hormonlar sentezlenirken oluşan ara ürünlerin hidroksillenmesinden sorumludur. Böylelikle hidrofobik bileşikler suda daha kolay çözünür hale gelirler. Karaciğerde safra asidi sentezinde, böbreklerde D₃ vitamininin aktif 1,25-dihidroksile formuna hidroksillenmesi amacı ile kullanılır (Goodman 1996, Katzung 2012).

Kaba mikrozomlar protein sentezini gerçekleştirme eğilimindeyken, düz mikrozomlar oksidatif ilaç metabolizmalarından sorumlu daha fazla enzim içerirler. Mikromozomal CYP sistemi özellikle karaciğerde düz endoplazmik retikulum membranları ile ilişkilidir. Mikrozomal sistem sitokrom P450 monooksijenaz sisteminin en önemli fonksiyonu ksenobiyotiklerin detoksifikasyonudur. Mikrozomal ilaç oksidasyonları P450, P450 redüktaz, NADPH ve moleküler oksijene ihtiyaç duyar. Elektronlar NADPH'ten FAD'a, sonra FMN'ye, sonra hem demirine aktarılır. Bu sistem NADPH kullanarak toksinleri hidroksiller. Bu yolla metabolizmaya giren ilaç kendi başına aktif veya inaktif hale

getirilir. Ayrıca toksik bir madde daha çözümlü hale getirilerek idrar veya dışkı ile atılımı hızlandırılır. Sitokrom P450 monooksijenaz enzim sistemi ile ilaç oksidasyonu Şekil 2.2’de gösterilmiştir (Katzung 2012).



Şekil 2.2 İlaç oksidasyonlarında sitokrom P450 döngüsü

1. Basamakta; okside (Fe³⁺) P450 ilaç substratı ile birleşerek ikili form oluşturur.
2. Basamakta; NADPH flavoproteine elektron vererek P450 redüktaz aracılığıyla flavoproteini indirgenmiş forma dönüştürür. Bu form okside P450-ilaç kompleksini indirger.
3. Basamakta; P450 redüktaz eşliğinde NADPH’tan ikinci elektron sağlanır, bu elektron moleküler oksijeni indirger ve aktiflenmiş oksijen-P450-substrat kompleksini oluşturur.
4. Basamakta; aktif oksijen, ilaç substratı ve okside ürün oluşur.

Kuvvetli oksitleme özelliği olan bu aktiflenmiş oksijen çok sayıdaki substratın oksitlenmesine izin verir. Substrat özgünlüğü bu enzim kompleksi için çok düşüktür. Yüksek lipit çözümlülüğü olan ilaçlar ve kimyasallar bu sisteme substrat sunarlar (Katzung 2012).

2.1.4 İlaçlara Bağlı Karaciğer Hasar ve Hastalıkları

Farmakoekonomi günümüzde önemli bir disiplin haline gelmiştir. Bunun sebebi insan popülasyonlarının neredeyse tamamının yoğun bir ilaç müşterisi haline gelmiş olması ve sağlık sisteminin müstahzar ilaçlara dayalı olmasıdır. Bütün ilaçlar tüm faz denemeleri sonucunda ruhsat almış olsalar bile endikasyonları yanında kimi zaman endikasyonlarından kat kat fazla istenmeyen etkilere sahiptirler. Bu etkiler daha çok karaciğer, böbrekler, kardiyovasküler sistem ve sindirim sistemi hatta kimi zaman endokrin ve sinir sistemi gibi doku, organ ve sistemlerde hasarlar, kronik problemler ve geri dönüşsüz yıkımlara yol açabilmektedir. İlaçlara bağlı ölümler ve ilaçların piyasadan çekilmesinin en önemli sebebi ilaç kullanımına bağlı oluşan karaciğer hastalıklarıdır. İlaçların karaciğerde oluşturduğu hasar histolojide değişik şekillerde gözlemlenebilirken bu hasarların yaklaşık %90'ı akut hepatittir.

Akut hepatosellüler hasar, akut kolestaz, kronik hepatit (siroz), granülomatoz hepatit, steatozis (makrovakuolar, mikroveziküler), karaciğerde vasküler hasar, tümör oluşumu, primer biliyer siroz tipi lezyonlar, primer sklerozan kolanjit tipi lezyonlar gibi karaciğer hasarları oluşmaktadır. Dünya genelinde karaciğer transplantasyonlarının sebepleri sıralandığında, asetaminofen toksisitesi ikinci sırada yer almaktadır (Dilek 2003, Racanelli ve Rehermann 2006, Bogdanos vd. 2013).

2.1.5 Karaciğer Fonksiyon Testleri

Laboratuvar karaciğer testleri, genel olarak hepatik disfonksiyonu değerlendirilen hastaların teşhis ve tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Karaciğerin metabolizmadaki fonksiyonel önemi, metabolik anormalliklerin karaciğerden tespitini mümkün kılmaktadır. Oluşan anormalliklere çok duyarlı olan metabolik yolun bazı enzimleri ve son ürünleri, karaciğer disfonksiyonunun biyokimyasal belirteci olarak kabul edilebilir.

Serum bilirubin, alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), aminotransferaz oranı (ALT/AST), alkalın fosfataz, gama glutamil transferaz (GTT), 5' nükleotidaz, seruloplazmin ve α -fetoprotein söz konusu belirteçlere örnek olarak verilmektedir (Champe 2005).

2.1.5.1 Alanin Aminotransferaz (ALT)

Aminotransferazlar hücre içi enzimlerdir ve normal hücre yıkımı sırasında hücre içeriğinin kana geçmesi dolayısıyla plazmada düşük seviyede bulunurlar. Plazma aminotransferaz düzeyinin yükselmesi hücre yıkımının normalde olması gerekenden fazla olduğunu göstermektedir. Alanin aminotransferaz (ALT) sitoplazmik bir enzim olup vücudun diğer dokularına oranla böbrek, kalp, kas ve karaciğerde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Transaminasyon reaksiyonunu katalize eder.

Normal serum ALT düzeyi 7-56 U / L'dir. Herhangi bir karaciğer hücresi hasarı, ALT seviyelerini artırabilir. Viral hepatit, iskemik karaciğer hasarı ve toksin kaynaklı karaciğer hasarı gibi öncelikle hepatositleri etkileyen hastalıkları olan kişilerde ALT düzeylerinde belirgin yükselmeler görülmektedir. Çocukluk çağı obezitesi ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığında hepatik yağ birikiminin, serum ALT yükselmesine neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca artmış ALT seviyesi, azalmış insülin duyarlılığı, adiponektin ve glukoz toleransı, artmış serbest yağ asitleri ve trigliseridler ile ilişkilendirilmektedir (Champe vd. 2005).

2.1.5.2 Aspartat amino transferaz (AST)

Aspartat aminotransferaz da (AST), transaminasyon reaksiyonunu katalize eder. Genetik olarak farklı, mitokondriyal ve sitoplazmik form olmak üzere iki farklı izoenzim formu vardır. Karaciğer, iskelet kası ve böbrek gibi vücudun diğer dokularına kıyasla kalpte en yüksek konsantrasyonda bulunur ancak karaciğerde ALT'ye kıyasla daha fazla bulunduğundan daha duyarlıdır.

Normal serum AST 0-35 U/L'dir. Miyokard enfarktüsünde, yaygın doku nekrozunda ve ayrıca karaciğer dokusu dejenerasyonu ve kronik karaciğer hastalıklarında yükselmiş AST tablosu görülür. Karaciğerin AST aktivitesinin yaklaşık %80'i mitokondriyal izoenzimler tarafından sağlanırken, normal dolaşımdaki AST aktivitesinin çoğu sitozolik izoenzimlerden kaynaklanır. Mitokondriyal AST'nin toplam AST aktivitesine oranı, karaciğer hücresi nekrotik tip durumu ve alkolik hepatitin belirlenmesinde tanısal öneme sahiptir. AST yükselmeleri genellikle sirozlu hastalarda ve ALT'ı yükselten karaciğer hasar ve hastalıklarında görülmektedir (Champe vd. 2005).

2.1.5.3 Alkalen Fosfataz (ALP)

Alkalen fosfataz (ALP), ince bağırsağın mukozal epitelinde, proksimal kıvrımlı böbrek, kemik ve karaciğerde bulunur. Bağırsakta lipit taşınması ve kemik oluşumunda görev alır. Normal serum ALP'si 41-133 U/L'dir. Akut viral hepatitte ALP seviyeleri normal kalır veya orta derecede artar. ALP yükselmesine eşlik eden uzun süreli kaşıntı, kolestaz gösteren Hepatit A ile ilişkilidir. Karaciğer ve kemik metastazı da yüksek ALP seviyelerine neden olabilir. İnfiltratif karaciğer hastalıkları, apseler, granülomatöz karaciğer hastalığı ve amiloidoz gibi diğer hastalıklar ALP'de artışa neden olabilir. Siroz, hepatit ve konjestif kalp yetmezliğinde hafif yükselmiş ALP seviyeleri görülebilir (İnt. Kyn. 3).

2.1.5.4 Laktat Dehidrogenaz (LDH)

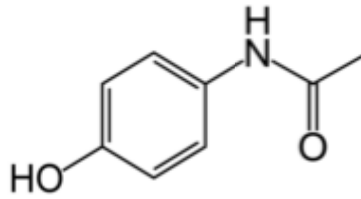
Laktat dehidrogenaz (LDH), dokuların çoğunda bulunan sitoplazmik bir enzim olup karaciğerin yanı sıra kalp kası, iskelet kası ve böbrekte de yoğun şekilde bulunmaktadır. Pek çok dokuda bulunması dolayısıyla karaciğer hastalıklarının değerlendirilmesinde tek başına yeterli değildir. LDH/AST'nin oranı hemoliz dolayısıyla ortaya çıkan sarılığın hepatik sarılıktan ayırt etmek için kullanılır. Yine infeksiyöz mononükleozisin neden olduğu hepatitte viral hepatitlerden farklı olarak transaminazlarla birlikte LDH yüksekliği de görülür (Dilek 2003).

2.2 Asetaminofen (N-asetil-p-aminofenol)

Asetaminofen (N-asetil-p-aminofenol; APAP, 4-hidroksiasetanilid, parasetamol) dünya genelinde analjezik ve antipiretik olarak yaygın kullanılan bir ilaçtır (Ilavenil, Al-Dhabi vd. 2016). 1955 yılında klinik kullanıma girmiştir (Mücahit 2016).

Bir hastalığa bağlı olup olmadığı çoğu zaman göz ardı edilerek hafif veya orta dereceli ağrı durumlarında, antiinflamatuvar etkiye ihtiyaç duyulmayan durumlarda, tıbbi teşhise dayalı tedavilerin yanısıra ampirik olarak da bireylerin doğrudan alımı şeklinde en sık kullanılan ilaçlardan birisi etkin madde olarak asetaminofen içeren preparatlardır (Meredith ve Goulding 1980, Katzung 2012).

Asetaminofen, non-steroidal antiinflamatuvar grubundaki ilaçlardan fenasetinin aktif metabolitlerinden para-aminofenol türevidir (Fedakar 2010). Fenasetin bir ön ilaçtır ve asetaminofene metabolize olur ancak kendisi aktif metabolitinden daha toksik olduğundan yan etkilerinin fazlalığı dolayısıyla kullanılmamaktadır (Katzung 2012). Yapısal olarak beyaz, kokusuz kristal toz şeklindedir. Doymuş çözeltilisinin pH derecesi 6 olup, oldukça kararludur. Fakat bu kararlılık, asit veya alkali ortamlarda azalmakta ve asetaminofen, bu tür ortamlarda yavaş bir şekilde asetik aside ve para aminofenole dönüşmektedir (Rang ve Dale 2007). Narkotik ve narkotik olmayan analjezikler (aspirin ve diğer salisilatlar da dahil olmak üzere), vasküler baş ağrısı ilaçları, uyku ilaçları, diş ağrısı ilaçları, antihistaminikler, dekonjestanlar, ekspektoranlar, soğuk algınlığı, grip preparatları ve boğaz ağrısı tedavilerini ihtiva eden sabit dozda kombinasyonları da bulunmaktadır. Şekil 2.3’de asetaminofenin kimyasal yapısı gösterilmiştir (Goodman 1996).



Şekil 2.3 Asetaminofenin (N-asetil-p-aminofenol) kimyasal yapısı

2.2.1 Asetaminofenin Etki Mekanizması

Asetaminofen, aspirine yakın derecede analjezik ve antipiretik etki yapar, ancak aspirinden farklı olarak antiinflamatuvar etkinliği çok düşüktür. Bu sebeple, asetaminofen inflamasyonu baskılama amaçlı bir kimyasal olarak görülmez, bu etkinliğe ihtiyaç duyulan endikasyonlarda kullanılmaz.

Non-steroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçlar son yüzyılda çok kullanılmalarına rağmen 1971 yılında siklooksijenaz enziminin yapısı teşhis edilene kadar etki mekanizmaları tam olarak açıklanamayan ilaçlar olmuşlardır. 1990’a kadar siklooksijenazın tek tip olduğu düşünülmüş, bilimsel çalışmalarla siklooksijenazın konstitütif ve indüklenebilir tip olmak üzere iki tipinin olduğu ortaya çıkmıştır. Konstitütif siklooksijenaza COX-1, indüklenebilir siklooksijenaza ise COX-2 adı verilmiştir. COX-1 ve COX-2 aynı reaksiyonları katalizlese de farklı yapı ve fonksiyonlara sahiptir.

COX-1 dokularda etki gösterir ve fizyolojik koruyucu fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır, COX-2 enzimi ise bunlara zıt bir etkiye sahiptir. COX-2 izoformu sağlıklı insanlarda neredeyse görülmez. Sitokinler ve tümör nekroz ajanlar hücrelerdeki yanıtlarıyla COX-2'nin hızlı şekilde ekspresyonuna neden olurlar. COX-2 ürünü prostaglandinler inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynar ve kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi karakteristik inflamatuvar semptomlardan sorumludurlar (Gökşen ve Kelekçi 2010).

Asetaminofenin ağrı kesici özelliği ile ilgili yapılan çalışmalar; endojen kannabinoid sistemini düzenleyerek bu özelliği gösterdiği şeklindedir. Asetaminofen; beyin ve spinal kordda deasetilasyonun ardından primer amin (p-aminofenol) ve yağ asid amid hidrolazın aktivasyonu ile araşidonik aside konjuge olur ve biyoaktif metaboliti olan N-araşidonoilaminofenol (AM404) çevrilir. Kimyasal olarak 4-aminofenol ve araşidonik asitten oluşmaktadır. Bu aktif metabolit asetaminofenin analjezik etkinliğinden sorumludur ve anandamidin nöronlar tarafından tutulumu, vücudun ana ağrı reseptörünün aktivasyonu sonucu oluşur. Bununla beraber N-araşidonoilaminofenol'ün anestezikler gibi (lidocaine, procaine v.b) sodyum kanallarını inhibe etmek suretiyle de ağrı kesici özellik gösterdiği belirtilmektedir. AM404; COX-1 ve COX-2'yi doza bağlı olarak inhibe eder. Bu durum; asetaminofenin beyinde prostaglandin üretimini inhibe etmesini açıklamaktadır. Kannabinoidler ayrıca CB1 reseptörlerini de düşük vücut sıcaklığında aktive etmektedir. Böylece kannabinoid sistem potansiyel olarak asetaminofenin antipiretik etkisine de ışık tutmaktadır.

Sanggenon C'nin metabolizmasını nasıl etkilediğini araştırdığımız asetaminofen, benzer diğer analjeziklerden farklı olarak, hipotalamus ve omurilik gibi peroksitlerin az olduğu ortamlarda, prostaglandin sentezini inhibe edebilir. COX inhibisyonu beyinde daha belirgin olabilir, bu da asetaminofenin antipiretik etkinliğini açıklamaktadır (Goodman 1996, Brandon 2012). Beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki diğer siklooksigenaz formlarını inhibe etmesi analjezik etkisinde önemli yere sahiptir (Kayaalp 1996). Perifer dokularda zayıf COX-1 ve COX-2 inhibisyonu vardır (Katzung 2012). Periferdeki peroksit yönünden zengin iltihabi dokularda siklooksigenazı inhibe edemiyor olması antiinflamatuvar etkisinin olmamasıyla ilişkilendirilmektedir (Kayaalp 1996).

Asetaminofen bazı antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini artırmak için birlikte kullanılabilir. Antitrombotik etkinliği zayıf bir ilaçtır, kanama süresine etkisi bulunmaz (Kayaalp 1996).

2.2.2 Asetaminofenin Farmakokinetik ve Biyoyararlanımı

Asetaminofen oral yolla kullanılır, bu yolla kullanımda biyoyararlanımı oldukça iyidir (Goodman 1996, Katzung 2012, Ghanem vd. 2016). Absorpsiyonu midenin boşalma hızıyla orantılıdır ve pik plazma konsantrasyonuna 30-60 dk'da ulaşılır ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) yaklaşık 2 saattir (Prescott 1980, Katzung 2012). Yarılanma süresi böbrek fonksiyon bozukluklarından fazla etkilenmez. Toksik doz alımı ve bazı karaciğer hastalıkları yarılanma süresini iki katına veya daha fazlasına çıkarabilir.

Asetaminofen plazma proteinlerine fazla bağlanmaz (diğer NSAİİ'lere göre daha azdır) ve bir kısmı karaciğer mikrozomal enzimleri ile metabolize edilir, farmakolojik olarak inaktif olan asetaminofen, glukronik asitle veya sülfatla konjuge edilir ve bu şekilde böbreklerden dışarı atılır (Goodman 1996, Katzung 2012, Rang ve Dale 2014) Yaklaşık %5'i değişikliğe uğramadan dışarı atılır.

Asetaminofenin solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde fazlaca tesiri yoktur. NSAİİ'lerde sık karşılaşılan yan etkilerden mide kanamasına ve iritasyona sebep olmaz. Oral antikoagülanlarla belirgin bir etkileşim göstermez. Aspirinden farklı olarak ürik asit atılımına etkisi yoktur, ürikozürik ilaçların tesirini değiştirmez, kanamalara yol açmaz.

Yüksek dozlarda alımında, miktar olarak çok az olmakla birlikte akut reaktif etkileri olan N-asetil-p-benzokinonimin metaboliti meydana gelir, bu ara ürün asetaminofenin Sitokrom P450 aracılı N-hidroksilasyonu ile oluşur ve karaciğer ve böbrekler açısından oldukça toksiktir (Katzung 2012, Rang ve Dale 2014).

2.2.3 Asetaminofenin Tedavide Kullanımı ve Dozajlama

Asetaminofen baş ağrısı, miyalji, doğum sonrası ağrılar gibi hafif ve orta şiddete ağrılarda ve aspirinin etkili olduğu diğer durumlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Romatoid

artrit gibi inflamasyon durumlarında tek başına yeterli olmadığı için bu gibi olgularda ise antiinflamatuvar tedaviyi destekleyici olarak kullanılabilir. Ayrıca, penisilin alerjisi olan veya aspirini iyi tolere edemeyen bireylerin orta şiddetteki ağrılarında önerilir. Aspirinin bronkospazm yapabileceği aspirin alerjili hastalar ile peptik ülser veya hemofilisi olan hastalarda da aspirin yerine tercih edilir (Margetts 1976, Meredith ve Goulding 1980).

Asetaminofen suda iyi çözünen ve stabil kalan bir bileşik olduğundan sıvı farmasötik şekillerle uygulamaları vardır. Özellikle bebek ve çocuklar için şurup ve süspansiyon formlarında sıvı analjezik şeklinde hazırlanarak kullanıma hazır hale getirilir.

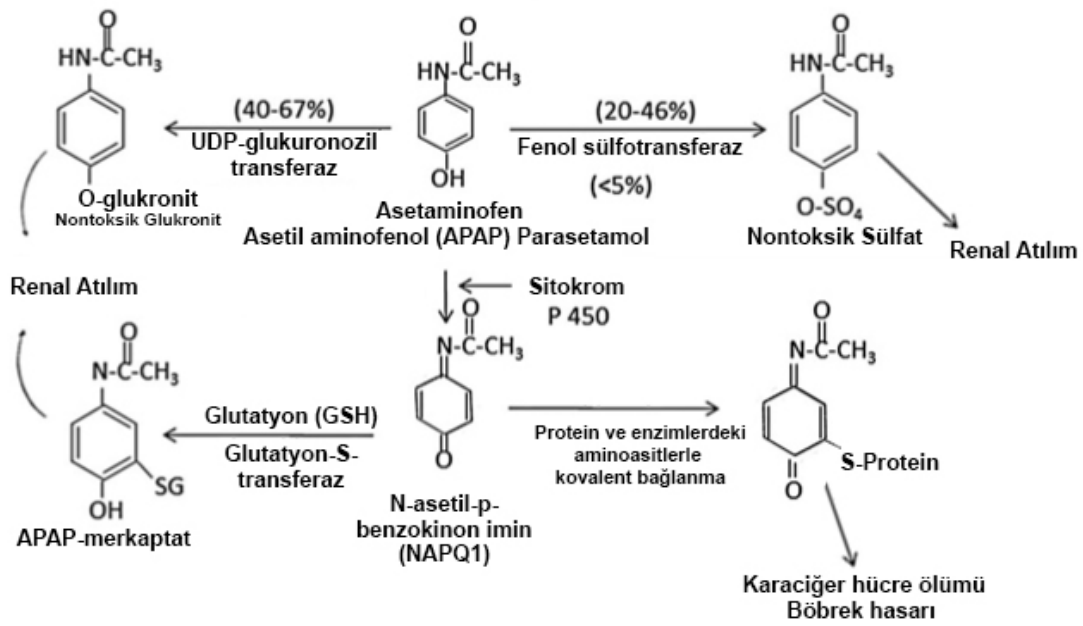
Asetaminofenin genel olarak kullanılan oral dozu 4-6 saat aralıklarla 500-1000 mg'dır, günlük maksimum alınabilecek doz 4 g olarak belirlenmiştir. Belirtilen dozlarda 5-10 günden fazla kullanılması önerilmez. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkolik bireylerde kullanıma dikkat edilmeli, doz azaltılmalıdır (Prescott 1980, Kayaalp 1996, Katzung 2012). Asetaminofen yemeklerle veya yemekten sonra alınırsa biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır, bu sebeple açken kullanılması önerilmektedir. 2-11 yaş aralığındaki çocuklarda tek doz yaş ve kilo ile orantılı olarak 160 ile 480 mg arasında değişir, 160-480 mg'lık dozları ile alımının günde en çok 5 defa ile sınırlandırılması önerilmektedir (Kayaalp 1996, Rang ve Dale 2014).

2.2.4 Asetaminofenin Yan Etkileri ve Toksikitesi

Asetaminofen genellikle metabolizmada iyi tolere edilen bir ilaçtır. Terapötik dozlarda kullanımında nadiren deri döküntüsü ve alerjik reaksiyonlar ortaya çıkabilmekte, mukozal lezyonlar ve ateş oluşabilmektedir. Mutad dozlarda kullanımda karaciğer hasarı oluşmasa bile böbrek hasarı meydana gelebileceğine ilişkin bildirimler bulunmaktadır. Yüksek ve aşırı dozlarda baş dönmesi, mide bulantısı, karın ağrısı ve disoryantasyon gibi belirtiler oluşabilmektedir. İstenmeyen etkiler olarak hemolitik anemi ve methemoglobineminin de çok nadir olarak görüldüğü bildirilmiştir. Yetişkin bir bireyin günlük toplam 4-6 g dozda asetaminofen alımında karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma meydana gelir. Günlük kullanım miktarı yetişkin bireylerde 4 g'dan fazla önerilmez. Alkoliklerde daha az miktarlar önerilmektedir (James vd. 2005, Goodman 1996, Katzung 2012).

Uzun süren kullanımlarda analjezik nefropati riskini artırdığı, her gün bir tablet (0,5 g) veya daha fazla kullananlarda riskin yaklaşık 2 kat arttığı ve böbrek hastalığı olgularının yaklaşık %10'unun kronik asetaminofen kullanımı ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Ronco ve Flahault 1994).

Asetaminofen aşırı dozda alındığında öldürücü akut karaciğer nekrozu yaptığı belirlenmiş az sayıda ilaçtan biridir. En ciddi yan etkisi de budur. Hepatotoksik etken, karaciğerde oluşan bir oksidasyon ürünü olan N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) adlı bileşiktir. NAPQI oluşum mekanizması Şekil 2.4'de verilmiştir (Brune vd. 2015).



Şekil 2.4 N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) mekanizması

Glukronit ve sülfat konjugasyon yolları doymun hale geldiğinde yükselen miktarlar CYP aracılı N-hidroksilasyonla NAPQI oluştururlar. Oluşan NAPQI ortamdaki GSH ile konjuge edilerek uzaklaştırılır ve merkaptopürük aside dönüştürülerek idrarla atılır. Doz aşımı durumunda ise GSH düzeyi hızla azalır ve NAPQI moleküllerinin tümü etkisiz hale getirilemez. Bu durumda yüksek derecede reaktif NAPQI molekülleri hücrelerin makro moleküllerine kovalent olarak hızla bağlanır ve bu durum enzimatik sistemlerin işlevlerinin bozulmasına, metabolik ve yapısal düzensizliklere neden olur. Hücre içi GSH stoğunun tükenmesi hepatositleri oksidatif stres ve apoptoza açık hale getirir. Renal

tübüler nekroz ve hipoglisemik koma görülebilir. Alkoliklerde hepatik sitokrom P450 enzim sistemi alkol dolayısıyla aktivitesi arttığından asetaminofenin toksik metabolitinin birikimini hızlandırarak daha çabuk toksisiteye sebep olmaktadır (Bartlett 2004, Brune 2015).

2.2.4.1 Asetaminofen ve Karaciğer

Karaciğer ilaç grubunda yer alan neredeyse tüm kimyasal bileşiklerin biyotransformasyonunun gerçekleştiği organdır. Doz aşımı, uzun süreli ve yanlış kullanım gibi sebeplerle en çok hasarı da yine karaciğer doku ve hücreleri görmektedir.

Asetaminofen sülfat ve glukronit konjugatı şeklinde metabolize edilerek atılır. Yüksek dozlarda glukronit konjugasyonu yüzde olarak daha fazladır. Ancak glukuronidasyon hızı da sınırlı olduğundan, sitokrom P450 (CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4) sisteminin rol oynadığı aktif kinonimin metabolitinin ara ürün olarak oluştuğu minör biyotransformasyon yolu ağırlık kazanır. Ortamda yeterli Glutasyon stoku bulunduğu sürece detoksifikasyon işlemi gerçekleşir. Ancak GSH stokları belli bir süre sonra erimeye başladığında aktif ara metabolitlerin oluşumu artar ve hücrenin nükleofilik makromolekülleri ile kovalent bağla bağlanmalar başlar.

Doz aşımından 4 saat sonra ölçülen 200 µg/mL ve üzerinde serum asetaminofen miktarı hepatotoksisitenin göstergesidir. Plazmadaki hepatik enzim düzeyleri ve bilirubin konsantrasyonu hepatotoksisiteye bağlı olarak artabilir. Bu değerlere bakılarak hepatotoksisitenin şiddeti belirlenebilir. Tedavi edilmeyen zehirlenmiş hastaların %10'unda geri dönüşsüz karaciğer hasarı meydana gelmektedir. Bunların %10-%20'si hepatik yetersizlikten ölümlerle sonuçlanmaktadır (Price vd. 1987).

2.2.4.2 Asetaminofen ve Böbrek

NSAİ ilaçlar inflamasyon sırasında sıklıkla kullanıldıklarından karaciğer üzerinde olduğu kadar böbrek üzerinde de akut veya kronik etkili hasarlar oluşturabilirler. Bu hasarlar genellikle prostaglandin sentezinin inhibisyonuyla ilişkilidir. Prostaglandinler glomerüler kapillerler, vaza rekta ve tübüler fonksiyonlar üzerinde etkilidir. NSAİ'ler prostaglandinlerin aktivitelerini inhibe ederek etki gösterirken serbest su atılımını azaltırlar. Prostaglandinlerin antidiüretik hormon üzerindeki baskılayıcı etkileri azalınca

su retansiyonu yükselerek hiponatremiyi tetikleyerek kötüleştirebilir. İdrarla potasyum atılımını azaltarak potasyum konsantrasyonunun artmasına ve hiperkalemi gelişimine neden olurlar. Yine prostaglandinlerin etkilerinin azaltmaları dolayısıyla Sodyum retansiyonunu (birikimini) tetiklerler ve bu durum ödem oluşumuna sebep olur. Bunun dışında dozlama, yaş, metabolizmada farklı risklerin varlığı vb. sebeplerle kombine şekilde akut böbrek hasarı, akut interstisyel nefrit, hipertansiyon, analjezik nefropatisi gibi komplikasyonlar oluşturabilirler (Yıldırım vd. 2016). Böbreklere ulaşan asetaminofen prostaglandin endoperoksit sentetaz enzimi (PGES) kullanılarak N-asetil-p-benzosemiquinone metabolitine dönüştürülür. Bu aktif metabolit böbreklerde NAPQI'ya dönüşerek karaciğerde minör yolağa katılır. Asetaminofenin idrarla atılan metaboliti 3-OH-APAP ve 3-OCH₃-APAP şeklindedir.

2.2.5 Doz Aşımında Toksik Etkiye Karşı Kullanılan Yöntemler

Asetaminofenin oral yolla alınmasından yaklaşık 4 saat sonra >300 µg/mL, yaklaşık 15 saat sonra >45 mikrogram/mL olan hastalarda %90 oranında şiddetli karaciğer zedelenmesi ortaya çıkar. Oral yolla alındıktan sonra dört saat içerisinde aktif kömür verildiğinde; aktif kömür bağırsak lümeninde asetaminofene bağlanarak emilimini %50-90 civarında azaltır bu da midenin yıkanmasına kıyasla tercih edilen bir yöntemdir.

Tedavide en sık kullanılan metod hepatik zedelenme riski olanlarda toksik metabolitleri nötralize etmek için sülfidril grubu sağlayıcı (GSH prokürsörü) ilaçlar (N-asetilsistein, L-metionin, sisteamin gibi) uygulanmasıdır. N-asetil sistein NAPQI'yı detoksifiye eder. GSH depolarını yeniden doldurur ve GSH yedeği gibi davranarak NAPQI'ye doğrudan bağlanabilir.

İlk 12 saat içerisinde intravenöz olarak uygulanırsa etkili olduğu kabul edilmektedir. 12 saat sonra yüksek dozlardaki antidot alımında mide bulantısı ve alerjik reaksiyonlar gelişebilir. Asetaminofen alımının üzerinden 16 saat geçmişse NAC alımının etkili olmadığı düşünülmektedir (Doyon ve Klein-Schwartz, 2009)

2.3 İnflamasyon, Sitokinler ve Antiinflatuvar Etkili Bileşikler

2.3.1 İnflamasyon

İmmünite, enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanır. Enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerden oluşan aktif, potansiyel yapılar toplamına immün sistem adı verilir.

Çok hücreli organizmalar, kendi hücrelerinin büyümesi ve doğru işleyişi için uygun ve istikrarlı bir iç "ortam" sürdürmek adına bazı stratejiler geliştirmişlerdir. Bu istikrarlı iç ortam bazen organizmayı istila eden yabancı hücreler, fonksiyonel homeostaziden kurtulan ve kontrolsüz çoğalan hücreler için de uygun bir ortam anlamına gelmektedir. Bu durumda vücudu koruyan fizikokimyasal bariyerlerden geçmeyi başaran bu toksik ajanları ortadan kaldıracak hayati öneme sahip mekanizmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu endojen ve ekzojen patojenlerin yok edilmesinde rol alan özel hücreler; T ve B lenfositler, mononükleer ve polimorfonükleer fagositler vücudun savunma sisteminin önemli elementlerini oluştururlar. B lenfositleri tarafından salgılanan antikorlar, patojenlere bağlanarak fagositoz süreçlerini hızlandırır. Ayrıca antikorlar, tamamlayıcı sistemin üyeleri olan, hücre zarlarında gözenekler oluşturarak hücre lizisine neden olan özel proteinleri aktive eder. Doğal öldürücü (NK) hücreler ve sitotoksik T-lenfositler tarafından da benzer bir ilke kullanılır, bunlar hedef hücrelerini zar gözeneklerine sokarak öldürür. Bu fizyolojik sürecin doğru ve metabolizmaya zarar vermeden ilerleyebilmesi için 2 önemli etken bulunmaktadır (Holtmann and Resch, 1995).

1-Bağışıklık sistemi, organizmanın yabancı yapıları (antijenler) ve bileşenleri arasında ayırım yapmalıdır. Bu durumu düzenleyen mekanizma; 10^8 'den fazla farklı antijenik yapının ayırt edilmesine olanak sağlayan B ve T lenfositlerinin antijen reseptörlerinin özgüllüğü ile sağlanır. Benzer şekilde, T hücresi reseptör moleküllerinin özgüllüğü, her bir T hücresinin, ilgili T hücresi reseptörü tarafından tanınan belirli yapıyı yüzeylerinde sergileyen hedef hücreler ile etkileşimini sınırlar.

2-Savunma mekanizmaları güncel ihtiyaçlara hızla adapte olabilmelidir. Organizmanın vücutta yeterli konsantrasyonlarda herhangi bir patojenin yok edilmesi için gerekli olan hücre ve molekülleri barındırması mümkün değildir. Bunun yerine, bir patojenle karşılaşıldığında, bağışıklık sistemi, o spesifik patojene karşı savunma için gerekli hücre

sayısını toplayarak, etkinleştirecek ve artırarak hızlı tepki vermelidir. Ayrıca, reaksiyonun yoğunluğu ve kalitesi, her patojenik soruna ayrı ayrı uyarlanmalıdır. (Holtman and Resch, 1995(Güner, Özmen et al. 1997, Opal and DePalo 2000)

2.3.2 Sitokinler

İmmün ve inflamatuvar reaksiyonlardaki düzenleyici süreçler, büyük ölçüde, sitokinlerin ana bileşenini oluşturduğu hücreler arası araçlara bağlıdır. İmmün/inflamatuvar reaksiyonların mediatörleri olarak etki gösteren, immün sistem hücreleri arasında iletişimi sağlayan; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen 20–30 kDa ağırlığına sahip peptid veya glikoprotein yapısındaki maddeler sitokinler olarak adlandırılırlar ve bağışıklık uyarısına tepki olarak de novo üretilirler.

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin bazı ortak özellikleri bulunmaktadır. Doğal bağışıklıkta lipopolisakkarit gibi bileşikler mononükleer fagositleri direkt olarak uyararak kendi sitokinlerini salgılatırlar. T hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasına yanıt sonucu meydana gelirler. Sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar, sentezleri gen transkripsiyonu ile başlatılır ve bu transkripsiyonel aktivasyon geçicidir. Sitokinleri kodlayan mRNA'lar sabit olmadığından sitokinlerin salınımı da geçicidir. Çeşitli hücreler tarafından üretilen sitokinler birçok farklı hücre tipi üzerinde de etki gösterirler. Sitokinler birbirlerinin fonksiyonlarını etkileyebilirler. Bu etkiler antagonize veya additif etki şeklinde görülebilir. Sitokinler, hormon benzeri özellik göstererek hedef hücre üzerindeki spesifik membran reseptörlerine (transmembran proteinleri) bağlanarak hücre içine giriş ve etki mekanizmasını başlatırlar. Yine hormon benzeri şekilde etkilerini otokrin, parakrin veya endokrin şekilde gösterebilirler. Sitokinlere karşı geliştirilen yanıtların çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir (Güner vd. 1997, Opal ve DePalo 2000, Dinarello 2010, Akdoğan ve Yöntem 2018).

2.3.2.1 Sitokinlerin İşlevleri ve Sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler 4 gruba ayrılırlar. Sitokinler; doğal bağışıklığa aracılık eden sitokinler, lenfosit aktivasyonu, büyüme, farklılaşma regülatörleri T lenfositlerinin

özel antijenleri tanımlarına imkan sağlayan sitokinler, bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler, lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden sitokinler olarak sınıflandırılabilirler. Çizelge 2.1, Çizelge 2.2, Çizelge 2.3 ve Çizelge 2.4’de bazı ana sitokinlere, metabolizmada üretildikleri başlıca hücrelere ve biyokimyasal etkilerine yer verilmiştir (Güner vd. 1997, Opal ve DePalo 2000, Dinarello 2010, Akdoğan ve Yöntem 2018).

Çizelge 2.1 Doğal bağışıklığa aracılık eden sitokinler

Sitokinler	Başlıca Hücre Kaynağı	Hücreyel Hedefler ve Biyolojik Etkiler
Tip 1 İnterferonlar IFN-α	Plazmasitoid dendritik hücreler, Makrofajlar	Tüm hücrelerde antiviral durum ve NK hücrelerinin aktivasyonu
Tip 1 İnterferonlar IFN-β	Plazmasitoid dendritik hücreler, Fibroblastlar	Tüm hücrelerde antiviral durum ve NK hücrelerinin aktivasyonu
Tümör Nekroz Faktör	Makrofajlar, NK hücreleri, T hücreleri	Endotelial hücrelerde etkinleşme (inflamasyon ve koagülasyonu destekler.) Nötrofillerin etkinleşmesi Hipotalamus; ateş Karaciğerde akut faz proteinlerinin yapımı Kas, yağ katabolizması (kaşeksi)
İnterlökin-α, İnterlökin-β	Makrofajlar, Dendritik hücreler, Fibroblastlar, Endotelial hücreler, Hepatositler	Endotelial hücrelerde etkinleşme (inflamasyon ve koagülasyonu destekler) Hipotalamus; ateş Karaciğerde akut faz proteinlerinin yapımı

Çizelge 2.2 Lenfosit aktivasyonu, büyüme, farklılaşma regülatörleri T lenfositlerinin özel antijenleri tanımalarına imkan sağlayan sitokinler

Sitokinler	Başlıca Hücre Kaynağı	Hücreyel Hedefler ve Biyolojik Etkiler
İnterlökin-2 (T hücresi büyüme faktörü)	T hücreleri	T hücrelerinin proliferasyonu, bellek hücrelere farklılaşmasını, düzenleyici T hücrelerinin gelişimini, işlevini destekler.
İnterlökin- 4	CD4 ⁺ T hücreleri, Mast hücreleri	B hücrelerinin IgE'ye izotip dönüşümünü, T hücrelerinin TH2 farklılaşmasını, Makrofajların alternatif etkinleşme ve IFN- γ aracılı klasik etkinleşmesinin baskılanmasını sağlar
Transforming Büyüme Faktörü TGF-β	T hücreleri, Makrofajlar, Diğer hücreler	T hücrelerinde çoğalma ve etkin işlevlerinin baskılanması, B hücrelerinde çoğalmanın baskılanması, Makrofajların etkinliğinin baskılanması, fibroblastlarda artmış kollajen üretimini sağlar

Çizelge 2.3 Bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler

Sitokinler	Başlıca Hücre Kaynağı	Hüresel Hedefler ve Biyolojik Etkiler
İnterferon-γ (IFN-γ) (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)	T hücreleri, NK hücreleri	Makrofajlarda klasik etkinleşimi, T hücrelerinde Th1 farklılaşmasını, farklı hücrelerde artmış antijen işlenmesi ve T hücrelerine artan antijen sunumunu sağlar
Lenfotoksin (LT)(Nötrofil aktivatörü)	T hücreleri, B hücreleri	Bkz: TNF
İnterlökin-10 (mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)	Makrofajlar, T hücreleri	Makrofajlar ve dendritik hücrelerde IL-12 ve eş uyaranların baskılanması
İnterlökin-5 (Eosinofil aktivatörü)	CD4 ⁺ T hücreleri	Eozinofillerin aktivasyonu ve oluşumunun artmasını sağlar
İnterlökin-12 (NK ve T hücresi stimülatörü)	Makrofajlar, Dendritik hücreler	NK ve CD8 ⁺ hücrelerinde IFN- γ üretimini uyarır, sitotoksik etkinliği artırır

Bu sitokinler antijenle uyarılmış CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerince uyarılırlar ve inflamatuvar lökositleri aktifleştirirler.

Çizelge 2.4 Lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden sitokinler

Sitokinler	Başlıca Hücre Kaynağı	Hüresel Hedefler ve Biyolojik Etkiler
İnterlökin-3	T hücreleri	Tüm hematopoetik dizinlerin olgunlaşmasını destekler
İnterlökin-7	Fibroblastlar, Kemik iliği stromal hücreleri	Erken T ve B hücre öncüllerinin çoğalmasını, naif ve bellek T hücrelerinin devamlılığını uyarır
İnterlökin-9	CD4 ⁺ T hücreleri	Mast hücreleri, B hücreleri, T hücreleri ve doku hücrelerinin devamlılığı ve etkileşimlerini uyarır

2.3.3 Antiinflamatuvar Etkili Bileşikler

Antiinflamatuvar etki gösteren bileşikler; çeşitli metabolik yollarla inflamasyon sürecindeki enzimlerin inaktivasyonu veya inflamatuvar mediatörlerin salınımının engellenmesi ile etkili olurlar.

Antiinflamatuvar etkili bileşikler genellikle; santral ağrı mekanizmasında analjezik etki göstererek, siklooksijenaz enzim yolağının inhibisyonuyla prostaglandin sentezini baskılayarak, sinyal transdüksiyonunda rol oynayan Fosfolipaz-c inhibisyonu ile, araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz enzim inhibisyonu yoluyla, lökotrien sentezinin inhibisyonu ile, süperoksit ve hidrojen peroksit radikalinin inhibisyonu ile, DNA replikasyonunun azaltılması ve lenfosit transformasyonu, plazma proteinlerinin aminoasitlerini kullanarak antiinflamatuvar sürece katkı sağlayacak peptidleri oluşturarak, granülosit-monosit migrasyonu için gerekli olan sinyallerin ve fagositozun inhibisyonu ile, homeostaz mekanizmasını düzenleyerek etki gösterirler (Kayaalp 1996).

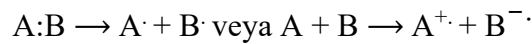
Yapılan çalışmalar antiinflamatuvar etki gösteren bileşiklerin ağrı gidermesinin yanında, hasarlı dokuya lökosit göçünü ve bu dokuda granülom oluşmasını engelledikleri için iyileşmeyi geciktirdiği ya da güçleştirdiği yönündedir. Zira bu ilaçların temel

mekanizması prostaglandin sentezinin inhibisyonudur. Bu inhibisyon temel olarak hem yangısal cevabı hafifletir hem de ağrı oluşumunu azaltır.

İnflamasyonun baskılanmasında genellikle NSAİİ grubundaki ilaçlar tercih edilmektedir ancak bu ilaçlar gastrointestinal sistem, böbrekler, hematolojik sistem, kardiyovasküler sistem üzerinde istenmeyen etkiler, alerjik veya dermatolojik yan etkiler oluşturabilmektedir. Diğer ilaçlarla etkileşimleri, uzun süreli kullanımlarda oluşan kronik hasarlar gibi sebeplerle doğal antiinflamatuvar etkili doğal bileşikler üzerinde sıkça durulmaktadır (Kayaalp 1996, Dinarello 2010).

2.4 Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller; üzerinde bir tane eşlenmemiş elektron bulunan, kovalent bağların homolitik yarılmasıyla ortaya çıkan, reaksiyona girme eğilimi çok yüksek, kararsız atom ve moleküllerdir. Genellikle hemen başka bir atom veya moleküle birleştiklerinden ara metabolit olarak isimlendirilirler (Solomons ve Fryhle 2002). Serbest radikaller; bir molekülden diğerine bir elektron transferi ile veya bağların homolitik olarak bölünmesi reaksiyonları ile oluşur (Thomas 1995).



Serbest radikallerin büyük bir bölümü oksijen metabolizması sonucunda ortaya çıkar, serbest radikaller bu sebeple “Reaktif Oksijen Türleri” olarak da isimlendirilebilmektedir. Süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^\cdot) gibi oksijen metabolizması ürünlerinin yanı sıra son yörüngesinde eşlenmemiş elektron bulunduran Cl, Br, Na, K atomları reaktif özellik gösterebilmektedir (Harris 1992).

Serbest radikaller; metabolik faaliyetlerin bir parçası olarak organizmada oluşan ürünlerdir. Hücrenin canlılığı, yaşlılığı ve zamanı geldiğinde apoptozunda rol alırlar. Yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesi için gerekli kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşurlar ve metabolizmadaki serbest radikal miktarı, antioksidan ajanlar tarafından dengede tutulmaktadır. Sık karşılaşılan serbest radikaller ve simgeleri Çizelge 2.5’de verilmiştir (Dündar ve Aslan 2002).

Çizelge 2.5 Sık Karşılaşılan Serbest Radikaller ve Simgeleri

Serbest Radikal	Simge	Serbest Radikal	Simge
Hidrojen	H [·]	Peroksil Radikali	ROO [·]
Süperoksit	O ₂ ^{-·}	Triklorometil	CCl ₃
Hidroksil	OH [·]	Tiyil Radikali	RS [·]
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	Alkoksil	RO [·]
Singlet Oksijen	¹ O ₂	Nitrik Oksit	NO
Perhidroksi Radikali	HO ₂ [·]		

Metabolizmadaki oksidan ve antioksidan dengenin serbest radikaller lehine bozulmasına sebep olan bazı etkiler; oksijenin organizmaya bir anda ve fazla miktarda girişi, dopamin, adrenalin gibi hormonların salınımının normalden fazla artması, diyabet hastalığında metabolizmada lipid peroksidasyonuna kolay uğrayabilen çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarının artması, elektromanyetik dalgalar ve direkt güneş ışığına uzun süre maruz kalma, aktive olmuş fagositler, yoğun egzersiz programı, stres, yaşlılık, alkol ve sigara kullanımı şeklinde sayılabilir (Gutteridge 1995, Repine vd. 1997, Dünder ve Aslan 2000, Young ve Woodside 2001).

Serbest radikal oluşumunu artıran endojen kaynaklar; mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntılar, oksijen, NO, aktif nötrofiller, endoplazmik retikulum, peroksizomlar, plazma membranı, enzim reaksiyonları, oto-oksidasyon reaksiyonlarıdır.

İlaç biyotransformasyonu ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan sitokrom P-450 sistemi, metabolik son ürün olarak H₂O₂ oluşturan peroksizomlardaki enzimleri kapsayan yolaklar tarafından moleküler oksijenin indirgenmesi ve inflamasyon oluşumu da serbest radikallerin oluşmasına katkıda bulunmaktadır.

Oksidatif stres; antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki metabolik dengenin serbest radikaller yönüne doğru bozulması ve serbest radikal seviyesinin toksik seviyelere ulaşmasıyla oluşur. Metabolizmada artmış oksidan seviyesi; proteinler, lipidler, karbonhidratlar, DNA üzerinde istenmeyen etkiler görülmesine sebep olur (Dünder ve Aslan 2000, Akkoç 2008).

2.4.1 Serbest Radikallerin Metabolik Etkileri

Metabolizmada bozulmuş oksidan-antioksidan denge; sürekli olarak yeni radikal oluşum tepkimelerini katalizler ve bu oksidan döngü organizmanın temel yapıtaşları üzerinde yapısal ve işlevsel hasarlara sebep olur (Durmuş 2005).

Serbest radikaller, proteinlerin amino asit içeriğine bağlı olarak farklı hasarlar oluşturabilirler, aminoasitlerin yan zincirlerinde yapısal değişikliğe sebep olabilir, peptit bağlarını ayırabilir, proteinleri daha kolay parçalanabilir hale getirir (Repine vd. 1997). Yapılarında çift bağ bulunduran triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin ve kükürt bulunduran metiyonin ve sistein amino asitlerini içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenmektedir. Radikallerle reaksiyonu sonucunda kükürt merkezli radikaller oluşur ve bu radikaller disülfid bağları oluşturarak proteinlerin mevcut konfigürasyonunu bozar. İmmünoglobülin ve albümin, yapılarında fazla disülfid bağı bulunduğu için oksidasyona uğradıklarında tersiyer yapıları bozulan ve dolayısıyla işlev bozukluğu oluşan proteinlerdir. Tiyol grupları oksidasyona uğradığında da membrandan iyon geçişi ve metabolitlerin transportunda ve enzim fonksiyonlarında bozulmalar görülmektedir (Delibaş ve Özcankaya 1995, Bhagavan 2002). Serbest radikaller ayrıca; hemoglobin gibi hem proteinlerinde, kollajen yapısında, membran proteinlerinin yapısında değişimlere ve işlevsel bozukluklara sebep olurlar (Reznick vd. 1992, Durmuş 2005).

Oto-oksidasyon, oksijenin katalizlediği bir serbest radikal zincir tepkimesidir. Karbonhidratları oluşturan monosakkaritlerin otooksidasyon reaksiyonu sonucunda H_2O_2 , peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Oluşan bu radikaller diyabet ve sigaradan kaynaklı kronik hastalıklarda yüksek etkilidirler. Göz sıvısında da bol miktarda bulunan ve snoviyal sıvının dansitesini belirleyen glikozaminoglikan olan Hyalüronik asit oksidatif stres durumunda H_2O_2 ve O_2 tarafından depolimerize edilerek parçalanır. Snoviyal sıvının viskozitesinin azalmasına neden olan bu durum doku hasarına ve katarakt oluşumuna sebep olur (Mccord 1993).

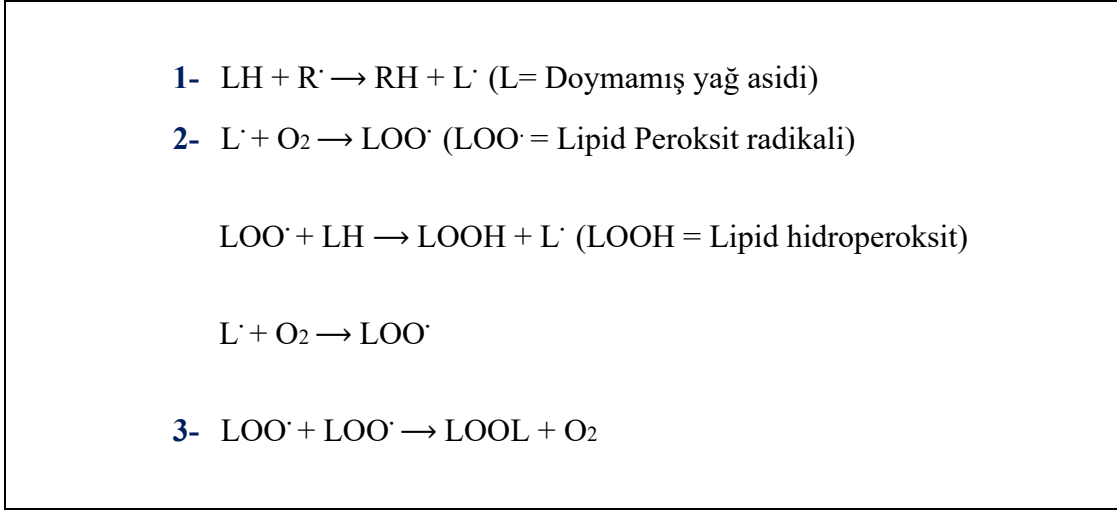
Nükleik asitler de serbest radikallerden oldukça etkilenen makromoleküllerdendir. H_2O_2 membranlardan kolay geçebildiğinden hücre DNA'sı ile reaksiyonu sonucunda genetik mutasyonlara ve hücrelerin apoptoz ve nekrozuna sebep olur. Hidroksil radikali

nükleotidlerin yapısında bulunan pirimidin ve pürin bazları ve deoksiribozlarla reaksiyon verir. Yine timin bazı ile etkileşimi sonucunda mitokondriyal DNA' da tek kromatin iplik kırılmaları oluşmaktadır. Serbest radikallerin guanin ile hidroksilasyonu sonucunda yapısal değişiklikler ve mutasyon meydana gelmektedir (Akkuş 1995, Akpoyraz ve Durak 1995, Akkoç 2008).

Serbest radikaller en yıkıcı, hızlı ve kolay etkilerini lipid makromolekülleri üzerinde lipid peroksidasyonu adı verilen zincir reaksiyonu başlatarak gösterirler. Lipid peroksidasyonu; çoklu doymamış bağ içeren yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından yıkımı şeklinde tanımlanmaktadır. Doymamış yağ asitleri çift bağları üzerinde bulunan metilen grubu dolayısıyla serbest radikallerin H atomu koparmasına açıktır. Bu durumu OH[•] radikalinin gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Metilen grubundaki bir H atomunun koparılmasıyla yağ asidi bir yağ asidi radikaline dönüşür ve moleküler oksijenle peroksit radikalini (LOO[•]) meydana getirir. Yüksek reaktiviteye sahip peroksit radikali ortamdaki başka bir yağ asidinden H atomu kopararak onu da reaktif yağ asidi radikali haline getirir. Oluşan yeni radikaller reaksiyonu katalizler ve bu döngü hızlanarak zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Lipid reaksiyonu başlangıç reaksiyonları, zincir reaksiyonları aşaması ve inaktif ürün oluşum aşaması şeklinde 3 basamakta incelenebilir. Şekil 2.5'de lipid peroksidasyon basamakları verilmiştir.

Serbest radikallerin yağ asitlerinden bir H atomu kopararak oluşturduğu lipid radikali peroksidasyonun başlangıç basamağını oluşturur. Lipid radikalinin zincir reaksiyonları şeklinde diğer yağ asitlerini radikale dönüştürmesi ve bu reaksiyonun sürekli bir döngü şeklinde tekrar etmesi zincir reaksiyonları basamağı olarak adlandırılır. Lipid hidroperoksitlerin (LOOH) parçalanmaya başlamasıyla yapısında yer aldığı hücre membranının akışkan ve zar bütünlüğü kaybolmaya başlar. Bu zincirleme tepkime antioksidan ajanlar vasıtasıyla engellenmezse lizozomal ve mitokondriyal zarlar hasar görür. Hücre membranlarında meydana gelen hasar organel içeriğinin hücre içine dağılmasına ve proteolizin hızlanmasına, K ve Mg iyonlarının hücre içi konsantrasyonlarının değişmesine neden olur. Yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi içeren dokulardan biri de beyindir. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan hasarların Alzheimer, Parkinson, beyin iskemisi gibi hastalıkların gelişiminde önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir. Hidroperoksitler ve lipid radikalleri inaktif ürünlerin oluşumu

sürecinde birbirleri ile reaksiyona girerek radikal olmayan bir kondenzasyon ürünü meydana getirirler.



Şekil 2.5 Lipid peroksidasyon basamakları

Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunu karakterize eden en önemli bileşiktir. Lipid hidroperoksitleri yıkılarak genelde metabolik olarak aktif aldehitler oluştururlar. İçeriğinde üç veya daha fazla çift bağ bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunda son ürün olarak MDA meydana gelmektedir. MDA etkinliğini özellikle eritrositlerde hücre membranında bulunan fosfolipid ve proteinler arasındaki çapraz bağlara bağlanarak gösterir ve bu bağlanma hemolize neden olur. Eritrosit hücrelerinin yaşlanmasına veya yaşam süresinin kısılmasına sebep olur. MDA bu sebeple; hücre zarının akışkanlığı ve geçirgenliğini, enzim aktivitesini, yüzey bileşenlerinin bütünlüğünü etkiler. MDA ayrıca makrofajların aktivitesini azalttığından kanserojenik etkiye sahiptir. Küçük bir molekül olup kolay difüzlenebildiğinden, DNA bazları ile reaksiyona girmeye eğilimi vardır ve DNA ile etkileşimi sonucu genotoksik ve mutajenik özelliklere sahiptir. Metabolizmada oksidatif stres değerlerinin belirlenmesi amacıyla ölçülen ilk parametrelerden biri MDA'dır (Akkuş 1995, Akpoyraz ve Durak 1995).

Lipid peroksidasyonunda metabolik olarak zararlı son ürünler oluşmadan bu zincir reaksiyonunun sonlanması en etkili ve metabolizmaya zarar vermeyen yolu radikal süpürücü olarak da tanımlanan değişik form ve yeteneklerdeki antioksidanlardır. Antioksidanlar radikallerin zincir reaksiyonunu durdurur ve yeni bir reaksiyon başlatmaz.

Ortamda var olan radikallerin etkisiz hale getirilmesinde görevlidir (Yu 1994, Dündar ve Aslan 2000, Rice-Evans 2001, Blokhina vd. 2003, Bartlett 2004, Mercan 2004, Agati vd. 2012)

2.4.2 Antioksidanlar

Antioksidan sistem ve temizleyici enzimler, yaşamsal metabolik reaksiyonların sonucu olarak üretilen serbest radikallerin makromoleküller üzerindeki etkilerini bertaraf etmekle görevlidir.

Antioksidan savunma sistemleri; reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu oluşumların metabolizmada meydana getirdiği hasarı önlemek, detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan sistemlerdir. Antioksidanlar da serbest radikal gibi özellik gösterirler, hızlı şekilde radikallerle reaksiyona girerek otooksidasyon ve peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini durdururlar (Dündar ve Aslan 2000, Yurttaş vd. 2000, Blokhina vd. 2003, Aslan 2018).

Antioksidan savunma sistemi 5 farklı mekanizma ile etkinlik gösterir. Bu mekanizmalar; serbest radikal oluşumunun önlenmesi, oluşan serbest radikallerin etkisizleştirilmesi, hücre hasarının onarılması, ikincil radikalik reaksiyonların durdurulması ve antioksidan kapasitenin güçlendirilmesi şeklinde özetlenebilir (Dündar ve Aslan 2000).

Antioksidanlar ekzojen ve endojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere 2'ye ayrılır. Endojen kaynaklı antioksidanlar da kendi içinde enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere 2 sınıfta incelenir (Oyman 2014). Çizelge 2.6'da başlıca endojen antioksidanlar ve metabolizmadaki görevleri, Çizelge 4.7'de ise başlıca ekzojen antioksidanlar ve metabolizmadaki işlevleri verilmiştir (Aslan 1999).

Çizelge 2.6 Başlıca Endojen Antioksidanlar ve Metabolizmadaki Görevleri

Antioksidanlar	Yerleşimi	Metabolizmadaki Görevi
Sitokrom oksidaz	Plazma	Süperoksit nötralizanı
Süperoksid dismutaz	Mitokondri, plazma, peroksizom	Süperoksidi hidrojen peroksite çevirir
Katalaz	Peroksizomlar	H ₂ O ₂ , metil ve etil hidroproksit nötralize eder
Glutasyon peroksidaz	Sitozol, mitokondri	Lipid peroksidasyonu ürünlerini indirger
Glutasyon redüktaz	Sitozol, mitokondri	Düşük mol. ağırlıklı disülfidleri indirger
α-tokoferol (vit E)	Membranlar, ekstraselüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
β-karoten (vit A prekürsörü)	Hücre ve doku membranları	Peroksil radikali temizleyicisidir
Glutasyon	İntraselüler ortam, alveoller .	GSH redoks substratı
Askorbik asit (vit C)	Hücre içi ve hücre dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder
Sistein	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir
Bilirubin	Kan, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Kan, dokular	Süperoksidi H ₂ O ₂ 'e çevirir
Transferrin	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Kan	Doku demir iyonu bağlayıcısı

Çizelge 2.7 Başlıca ekzojen antioksidanlar ve metabolizmadaki görevleri

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Allopurinol Oksipurinol Tungsten	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit radikali üretimini inhibe eder
Proteaz inhibitörleri	Soya tripsin inhibitörü Serin proteaz inhibitörleri Fenil metil sülfonil	Ksantin dehidrogenazdan ksantin oksidaz oluşumunu bloke eder.
NADPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin Lokal anestezipler Kalsiyum kanal blokerleri Nonsteroid antiinflamatuvarlar	Nötrofil, makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
Süperoksit dismutaz	Doğal SOD Polietilen glikol SOD	Süperoksitten H ₂ O ₂ dismutasyonunu katalizler
	Ginkgo Biloba	Fe-SOD içerir, SOD ile benzer fonksiyon ve nötralizasyon
Enzimatik olmayan radikal süpürücüler	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Dimetil sülfoksit	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	Spin tutucu tuzaklar	Tüm radikalleri toplayıcı nitelikte yapılar
Demir redoks zinciri inhibitörleri	Deferoksamin Apo-transferrin Seruloplazmin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
Endojen savunmayı artıran ajanlar	Antinötrofil serumu	Hücrel glutatyon peroksidan enzim aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodyler	Nötrofillerin endotele adezyonunu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	Nötrofillerin adezyonu difüzyonunu inhibe eder

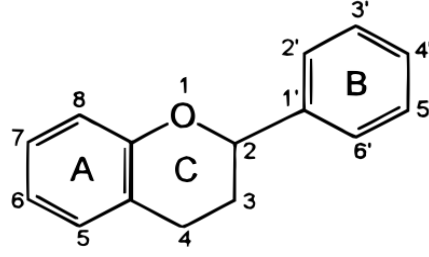
2.5 Fitokimyasallar

Sebze, meyve, tahıl, tane, baklagiller gibi maddelerin içerisinde yer alan, tek başlarına besleyici özellikleri olmayan ancak kimyasal madde olarak sağlığa yararlı birçok özellik barındıran maddelere fitokimyasallar adı verilmektedir. Hastalıklardan koruyucu etkilerinin yapılan sayısız çalışmayla kanıtlanmasıyla fitokimyasalların gündelik yaşamdaki paydası yükselmiştir. Besinlerde yapılan deneysel çalışmalarla flavonoidler, izoflavonlar, fitatlar, terpenler, polifenoller, likopenler, karotenoidler, izotiyosiyanatlar, sülfidler vb. izole edilmiş ve fitokimyasal maddeler olarak isimlendirilmişlerdir. İzole edilebilen bazı fitokimyasallar konsantre preparatlar şeklinde satışa sunulmaktadır. İçeriğinde fitokimyasalların bulunduğu belirlenen birçok besinin tüketimi; oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler problemler, hipertansiyon, diyabet vb sorunların çözümünde hekimler tarafından da önerilmekte ve özendirilmektedir (Dündar 2001).

Tez çalışmasında kullanılan Sanggenon C, *Morus Alba L.* kök kabuğundan izole edilen bir flavonoiddir. *Morus Alba L.*'nin de fitokimyasal içeriğinin çok zengin olduğu ve sağlığa faydalı çok sayıda etkisinin olduğu literatürde bildirilmiştir. Birçok çalışma, dut tüketiminin insan sağlığı üzerinde özellikle radikal süpürücü olarak olumlu etkileri olabileceğini ortaya koymuştur. *Morus Alba* içeriğinde yüksek miktarda biyoaktif fenolik bileşik bulunmaktadır (Sanchez-Salcedo vd. 2015).

2.5.1 Flavonoidler

Bitkiler, iyi bilinen antioksidan vitaminlerin yanında, onlar kadar yüksek antioksidan ve hipolipidemik aktivitelere sahip flavonoidler gibi çok çeşitli serbest radikal temizleyici moleküller içerir (Dündar 2001, Agati vd. 2012). Flavonoidler 15 C atomlu 2-fenil benzopiron (difenilpropan) yapısı gösterirler. Genel yapıları Şekil 2.6'da gösterilmiştir (Pietta 2000). Bitkilerde aromatik amino asitler fenilalanin ve tirozinden oluşur. Temel flavonoid yapı, üç halka halinde düzenlenmiş 15 C atomundan oluşan flavan çekirdeğidir (C6-C3-C6). İskelet yapılarının değişkenliğine göre flavon, flavonon, kalkon, biflavonoid gibi isimler alırlar. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşikler sınıfındadırlar. Bitkilerin ikincil metabolitlerindedir. Karbonhidrat ve aminoasitler gibi birincil metabolitlerden türetilirler.



Şekil 2.6 Flavonoid yapısı

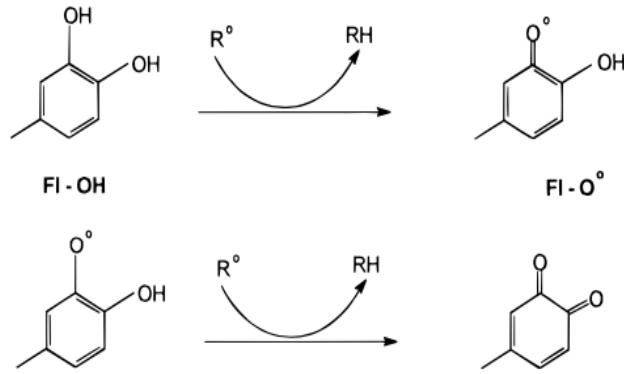
Fenil benzopiron yapısındaki karbon atomlarına hidroksil (-OH) gruplarının bağlanmasıyla çeşitli flavonoidler meydana gelir. Bazı -OH gruplarına şeker, metil, sülfat ve benzeri grupların bağlanmasıyla ise konjugasyon ürünleri meydana gelmektedir (Kahraman vd. 2002).

Flavonoidler genellikle bitkilerde glikozile edilmiş türevler olarak bulunur ve yapraklar, çiçeklerde ve meyvelerde mavi, kırmızı ve turuncunun parlak tonlarına katkıda bulunurlar. Flavonoidler çeşitli sebze ve meyvelerin yanı sıra tohumlarda, yemişlerde, tahıllarda, baharatlarda ve farklı içeceklerde bulunurlar (Pietta 2000). Antikanser, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve immün modülatör aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptirler (Chen vd. 2017).

İnflamasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzim aktivitelerini fosfaditil inozitol (PIP) aracılığıyla inhibe ettikleri, hücrelerde mikrozomal lipid peroksidasyonunu önledikleri saptanmıştır (Dündar 2001). Flavonoidlerin gerektiğinde fosfaditil inozitolü baskılayarak hücrel proliferasyonu kontrol altına alabildikleri ve kalpte uyarı iletim sistemi düzenlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Weber vd. 1997).

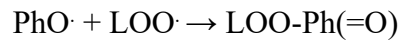
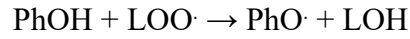
Flavonoidler antioksidan özelliklerini serbest radikallerle reaksiyona girerek gösterirler. Flavonoidler; siklooksigenaz ve lipooksigenaz enzimlerini inhibe eder, süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve singlet oksijeni (1O_2) temizler. Flavonoidlerin antioksidan etki mekanizması Şekil 2.7'de gösterilmiştir (Pietta 2000). Enzim fonksiyonlarına bağımlı kalsiyum modülasyonu hücrel düzenlemede önemli rol alan kalmodulini inhibe eder. Protein kinaz aktivasyonunu inhibe eder. Laktat transportunu engeller. Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunur ve antikanser, antiinflamatuvar,

antimikrobiyal, antiviral ve immün modölatör aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptirler. Flavonoidlerin antioksidan etkisi dışında farklı metabolik etkileri olduğu da klinik çalışmalarla belirlenmiştir. (Chen vd 2017).



Şekil 2.7 Flavonoidlerin antioksidan etki mekanizması

Peroksil radikalini (ROO·) ve alkoksil radikalini (RO·) yakalar ve lipid peroksil (LOO·) zincirini kırar. Bir flavonoidin lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu kırma mekanizması kuvvetle muhtemel şu şekildedir;



Flavonoidler antitümör etkiyi; hücreler arası sinyalizasyonu artırarak, laktat transportunu baskılayarak, kalmodulini inhibe ederek, NO sentezini regüle ederek ve hücre proliferasyonunu azaltarak gösterirler. Antiviral etkilerini; viral proteinlere bağlanıp virüsün replikasyonunu ve hücre protein sentezini bloke ederek gösterirler. Antiinflamatuvar etkilerini; mast hücre ve histamin salınımını inhibe ederek gösterirler (Dündar 2001, Rice-Evans 2001, Serafini vd. 2010, Agati vd. 2012).

Vazodilatör etkilerini NO sentezini düzenleyerek, antialerjik etkilerini ise histamin salınımını inhibe ederek ortaya koyarlar. Ayrıca serbest radikal süpürücü özellikleriyle siklooksigenaz ve lipooksigenaz enzimlerinin inhibisyonuyla lipid peroksidasyonunu

önler ve bu yolla ateroskleroz ve kroner kalp hastalıklarından korunma sağlarlar (Kahraman vd. 2002).

2.5.1.1 Bir Flavonoid Kaynağı Olarak *Morus Alba L.* (Beyaz Dut)

Morus cinsi (Dut) 150'den fazla türden oluşan zengin flavonoid kaynaklarından biridir, bunlardan *Morus alba L.* (beyaz dut) baskın türdür. Genellikle ipekböceklerini ve ruminantları beslemek için yaprak olarak kullanılır. Türkiye'nin de dahil olduğu ılıman iklimin yaşandığı bazı ülkelerde meyve olarak tüketimin yanı sıra geleneksel bazı ilaçların içerisinde kullanılmak üzere de yetiştirilmektedir. Türkiye'de yaygın olarak yetişen 3 türü bulunmaktadır. Bu türler yetiştirme sıklığı sırasıyla; Beyaz dut (*M. alba*), Kara dut (*M. nigra*) ve Mor dut (*M. rubra*) dır. Beyaz dutun doğal yayılışlı ve Türkiye'nin baştan başa her yerinde yaygın olarak etkili olduğu, bunu sırası ile kara dut ve mor dutun takip ettiği bildirilmiştir (Lale ve Özçağırın, 1996). Kök kabuğu Çin farmakopesinde belgeli ilaç sınıfındadır (Sang-Bai-Pi) ve içeriğinden izole edilen fenolik bileşiklerin etki mekanizmaları farklı pre-klinik araştırmalara geniş bir kaynak oluşturmaktadır (Nomura vd. 1983). *M. alba L.*, tıbbi değerini doğrulamak için içeriğini araştıran çeşitli bilimsel araştırmalarda vurgulanmaktadır. Fenolik bileşikler, özellikle flavonoidler ve antosiyaninler bakımından zengindir ve antimikrobiyal ve serbest radyal temizleme potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, hastalığı önleme ve iyileştirmedeki rolü çok etkilidir ve ateroskleroz, diabetes mellitus, kanser, immüno-beslenme ve nöroprotektif işlevleri birçok yayında vurgulanmıştır (Du vd. 2003, Butt vd. 2008, Venkatesh Kumar ve Chauhan 2008, Jung vd 2015, Wu vd. 2020).

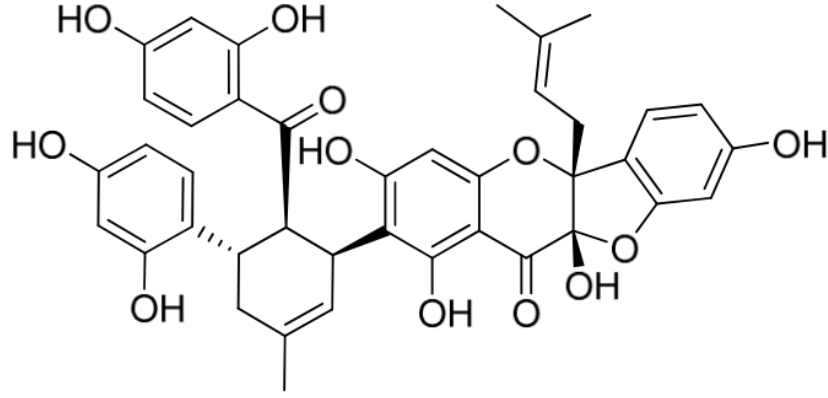
Morus Alba L.'nin kabuğundan izole edilen ve karakteristik flavonoidlerinden olan Sanggenon ailesi son yıllarda tamamlayıcı tıp ve ilaç araştırmalarında üzerinde yoğun çalışılma eğilimi olan bileşiklerdir. Şimdiye kadar, bitkilerden, özellikle *Morus* ailesinden yaklaşık 60 Diels-Alder tipi eklenti elde edilmiştir. En erken bulunan iki Diels-Alder tipi eklenti Sanggenon C ve D tipik örneklerdir (Li vd. 2018). Sanggenon C ve D dışında *Morus Alba*'nın kök kabuğundan diğer izole edilen bazı flavonoidler; sanggenol Q, sanggenol A, sanggenol L, kuwanonT, siklomorusin, sanggenon F, sanggenol O; Sanggenon N, bilinen üç Diels-Alder tipi eklenti, sanggenon G, mulberrofuran G ve mulberrofuran C ve bilinen bir benzofuran; morasin E şeklinde sayılabilir (Jung vd. 2015, Liv d. 2018).

Sanggenon yapısının iki stereoizomeri; sanggenon C ve D, mezenkimal kök hücrelerini oksidatif strese korumak için bir antioksidan olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, salt elektron transfer potansiyelinde sanggenon D' nin, sanggenon C'den daha etkili olduğu bildirilmiştir. Radikal süpürme, Fe²⁺ bağlama ve hücreyi koruma potansiyellerinde sanggenon C, sanggenon D'den daha etkilidir. Bu farklılıklar, kiral atomların (özellikle 3''-C) sterik konfigürasyonlarına atfedilebilir (Li vd. 2018).

2.6 Sanggenon C

Sanggenon C (C₄₀H₃₆O₁₂), flavonoidler sınıfına ait benzopiron türevinin doğal bir kimyasal üyesidir ve doğal bulunduğu ortam dut ağacının kabuğudur (Nomura vd. 1983, Venkatesh Kumar ve Chauhan 2008, Jung vd. 2015, Wei vd. 2016). IUPAC isimlendirmesi; 2 - [(1S, 5S, 6R) -6- (2,4-dihidroksibenzoil) -5- (2,4-dihidroksifenil) -3-metilsikloheks-2-en-1-il] -1,3,8, 10a-tetrahidroksi-5a- (3-metilbut-2-enil) - [1] benzofuro [3,2-b] kromen-11-on şeklindedir. Yapısı Şekil 2.8'de gösterilmiştir (Wei vd. 2018).

Dut ağacı (*Morus alba L.*) kök kabuğu (Cortex Mori), geleneksel Çin ve Uzakdoğu tıbbında antiinflamatuvar, karaciğer koruyucu, böbrek koruyucu, hipotansif, idrar söktürücü, öksürük önleyici ve analjezik ajan olarak kullanılmaktadır (Nomura vd. 1983). Ayrıca antiviral ve antimikrobiyal etki gösterir ve nöroprotektif bir role sahiptir. Doğal olarak oluşan flavonoidler, özellikle *Morus Alba L.* özütünün kök kabuğunkiler, farklı model sistemlerde antioksidan aktivite göstermiştir (El-Beshbishy vd. 2006). Çalışmalar, beyaz dut ağacı kabuğundan izole edilen flavonoidlerden biri olan Sanggenon C'nin kalp hücrelerinde hipoksi hasarına karşı anti-kanser, anti-inflamatuvar ve sitoprotektif etkiler gibi çeşitli biyoaktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Li vd. 2018)



Şekil 2.8 Sanggenon C Yapısı

Gu vd. (2017) yayınladıkları çalışmada Sanggenon C'nin kardiyomiyosit hipoksisine karşı otofajiyi yükselterek koruma gösterdiğini bildirmişlerdir (Gu vd. 2017).

Huang vd. (2011) yayınladıkları makalede; Sanggenon C'nin proteazom fonksiyonunu inhibe ederek, hücre döngüsünün yavaşlatılması ve hücre ölümünün induksiyonu yoluyla tümör hücresi canlılığını inhibe ettiğini bildirmiştir (Huang vd. 2011).

Dat vd. (2012) yaptıkları araştırmada; Sanggenon C'nin, nükleer faktör- κ B (NF- κ B) aktivitesini ve NF- κ B inhibitörü α aktivasyonunu baskılayarak nitrik oksit (NO) üretimini ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (NOS) ekspresyonunu inhibe ettiğini ve bu yolla lipopolisakkarit (LPS) ile RAW264.7 hücrelerinde uyarılan inflamasyona karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir (Dat vd. 2012).

Li vd. (2002) yaptıkları araştırmada; Sanggenon C'nin, NF- κ B'nin aktivasyonunu baskılayarak, polimorfonükleer lökositlerin insan sinoviyal hücrelere adezyonu ve vasküler hücre adezyon molekülünün ekspresyonunu uyaran TNF- α 'yı inhibe ettiğini belirtmişlerdir (Li vd. 2002).

Chen vd. (2017) yaptıkları çalışmada; Sanggenon C'nin, nitrik oksit üretimini, nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu ve mitokondriyal yolaktaki ROS aktivasyonunu inhibe ederek kolon kanseri hücrelerinin apoptozunu indüklediğini belirtmişlerdir (Chen vd. 2017).

Wang vd. (2018) yaptıkları çalışmanın sonucunda; Sanggenon C'nin zebra balığı modelinde osteoblastik çoğalmayı ve farklılaşmayı uyardığını, osteoklastik rezorpsiyonu engellediğini ve prednizona bağlı osteoporozu iyileştirdiğini belirtmişlerdir (Wang vd. 2018).

Zhou vd. (2017) yaptıkları hücre kültürü çalışmasında; Sanggenon C'nin kaspaz 3 ve kaspaz 9 yolaklarını aktive ederek PC3 prostat kanseri hücrelerinin apoptozunu indüklediğini bildirmişlerdir (Zhou vd. 2017).

Xiao vd. (2017) fare modelinde yaptıkları çalışmada; kalp hipertrofisi oluşturulan farelere 3 hafta Sanggenon C uygulaması yapıldığında; Sanggenon C'nin kalsinörin/NFAT2 metabolik yolları vasıtasıyla hipertrofiye karşı koruma sağladığını belirtmişlerdir (Xiao vd. 2017).

Bahsi geçen bilimsel çalışmaların Sanggenon C'nin antioksidan, antitümöral, antiviral, antiinflamatuvar kapasitesi hakkında sağladığı veriler doğrultusunda, farklı bir toksikasyon modelinde Sanggenon C'nin antioksidan ve antiinflamatuvar kapasitesinin değerlendirilmesi amacıyla bu araştırma planlanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Deney Hayvanı

Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'na başvurularak 19/02/2019 tarih ve AKÜHADYEK-35-19 sayılı etik kurul onayı alındı. Etik kurul onayının ardından çalışmada kullanılacak 180-220 g aralığındaki 28 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat, uyum ve deneysel çalışma süresince Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde rat bakımı için tasarlanan 17x30x42 cm boyutlarındaki polipropilen kafeslerde muhafaza edildi. 12 saatlik ideal aydınlık ortamı ve ideal sıcaklık değerleri sürekli kontrol edildi. Ratlar standart rat yemi ve musluk suyu ile beslendi. Uyum sürecinin tamamlanmasının ardından deneysel aşamaya geçildi.

3.1.2 Kimyasal Materyal

Akut toksisite oluşturmak için ratlara uygulanan asetaminofen, Atabay Kimya San. ve Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edildi. Antioksidan ve antiinflamatuvar kapasitesi araştırılacak olan Sanggenon C, Adooq Bioscience (CA, Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edildi. ELISA cihazında yapılan ölçümlerde kullanılan kitler; marka ve lot numaraları ile ilgili başlıklar altında verilmiştir. Manuel ölçümlerde hazırlanıp kullanılması gereken çözeltiler için gerekli tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

3.2 Metot

Deneysel çalışma için kullanılacak ratlar çalışma öncesi ve çalışma boyunca Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gözlem altında tutuldu. Rastgele örneklem metodu ile her biri 7 rattan oluşmak üzere dört grup oluşturuldu.

1. Grup

Kontrol grubu olarak planlandı. Çalışma süresince standart yemle beslenen sağlıklı ratlardan oluşturuldu.

2. Grup

Asetaminofen grubu olarak planlandı. Gruptaki ratlara akut toksikasyon oluşturmak amacıyla 0,5 g/kg oranında asetaminofen intraperitoneal olarak uygulandı (Chen vd. 2009). Uygulamadan 4 saat sonra ratlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

3. Grup

Sanggenon C grubu olarak planlandı. Çalışmanın yapıldığı gün ratlara 0,1 mg/kg oranında Sanggenon C intravenöz olarak uygulandı. Uygulamadan 24 saat sonra ratlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

4. Grup

Terapötik grup olarak planlandı. Çalışmanın ilk günü gruptaki ratlara 0,5 g/kg asetaminofen intraperitoneal uygulandı. Uygulamadan 4 saat sonra tüm ratlara 0,1 mg/kg Sanggenon C intravenöz uygulandı. Uygulamadan 24 saat sonra ratlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması

Ratların anestezisi Ketamin ve Ksilazin ile gerçekleştirildi. 0,7 mL Ketamin HCl (Alfamin, Egevet, İstanbul/Türkiye) ve 0,3 mL Ksilazin HCl (Rampun, Bayer AG/Almanya) karıştırıldı. Ratların ağırlığı göz önünde bulundurularak 0,4 mL-0,6 mL aralığında enjeksiyon yapıldı. Anestezi ihtiyacı olan ratlara ek doz uygulandı. Anestezi işlemi veteriner hekim refakatinde gerçekleştirildi. Batın ve toraks orta hattan açılarak kalpten enjektör ile kan örnekleri alındı. Heparinli tüplere alınan kandan elde edilen serum, plazma, eritrosit numuneleri kullanılarak, AST, ALT, ALP, CK, LDH, TAS, TOS, Total Protein, Hemoglobin, MDA, GSH, NO, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , COX-2, NF- κ B, PGE2 ölçümleri yapıldı.

3.2.2 Doku Örneklerinin Alınması

Ratlardan elde edilen karaciğer ve böbrek numunelerinin bir kısmı testlerde kullanılırken bir kısmı %10'luk Formaldehit çözeltisinin içerisinde muhafaza edilerek histopatolojik muayenede kullanıldı.

3.2.3 Eritrosit Paketinin Hazırlanması

Heparinli cam tüplere alınan kanlar bir saat +4°C'de bekletilip, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenip oluşan plazma ortamdandan uzaklaştırıldı. Kalan kısma fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkama işlemi yapıldı. PBS eklenen tüpler tekrar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra yıkama suyu pipetajla atılıp altta kalan kısma eşit hacimli PBS eklenerek ependorflara alındı ve eritrosit örnekleri soğuk zincirde muhafaza edildi.

3.2.4 Doku Homojenizasyonu

Karaciğer ve böbrek dokularının ağırlıkları yaş olarak 0,5 g tartıldı. Tartılan dokular deney tüplerine alındı. Üzerlerine 5 mL proteaz inhibitör kokteyl (Roche) içeren lizis tamponu (600 mL saf su + 3 adet PBS tablet + 1 adet proteaz inhibitör tablet) eklendi. Homojenizatörde parçalandıktan sonra sonikatörde de 10 defa parçalama işlemi yapıldı. Numuneler 12000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant ependorflara alındı. Doku homojenizasyonunda tüm işlem basamaklarında soğuk zincir protokolü uygulandı. Bu şekilde elde edilen numuneler analiz süresine kadar uygun şartlarda saklandı.

3.2.5 Biyokimyasal Analizler

3.2.5.1 Karaciğer Fonksiyon Testleri

Karaciğer fonksiyon testleri olan AST, ALT, ALP, CK ve LDH ölçümleri AFSÜ Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda otoanalizör (Roche Cobes C501) ile ölçüldü. Enzim aktiviteleri U/L şeklinde gösterildi.

3.2.5.2 Total Protein Tayini

Total protein tayininde böbrek ve karaciğer numunelerinde Bradford (1976) yöntemi kullanıldı. Ölçümler ticari kit kullanılarak ELISA cihazında gerçekleştirildi. Bildirilen yöntemin prensibi; boyar madde olarak kullanılan negatif yüklü Coomassie Brilliant Blue'nun ortamda bulunan proteindeki pozitif yüke bağlanması ve kırmızı renkteki maddenin proteinle birleşince oluşturduğu mavi renkli kompleksin 630 nm'deki absorbansının ölçümüne dayanmaktadır. Total protein tayininde elde edilen sonuçlar dokularda analiz edilen parametrelerin seviyelerinin hesaplanmasında kullanılmaktadır (Bradford 1976).

3.2.5.3 Hemogloblin Tayini

Hemogloblin seviyesinin ölçümü eritrosit numunelerinde yapıldı ve ölçüm için kullanılan yöntem Fairbanks ve Klee metodudur (Fairbanks and Klee 1987). Bu ölçümde deney tüpüne 5 mL Drabkin çözeltisi ve bu çözeltinin üzerine 20 µL eritrosit numunesi eklenip karıştırıldı. 10 dakika bekletilen bu karışımın absorbansı Drabkin kör çözeltisine karşı 540 nm'de okundu. Eritrosit numunelerinde ölçümü yapılan MDA, GSH parametreleri hemogloblin miktarına oranlanarak (nmol/gHb) şeklinde ifade edildi.

3.2.5.4 Malondialdehit (MDA) Tayini

Eritrosit, böbrek ve karaciğer numunelerindeki MDA düzeyleri Ohkawa vd. (1979) yöntemi ile belirlendi. Bildirilen yöntemde; MDA ile TBA'nın oluşturduğu bileşiğin 540 nm' deki absorbansı ölçüldü. Eritrosit MDA seviyeleri nmol/gHb şeklinde ifade edilirken, böbrek ve karaciğer MDA seviyeleri nmol/g protein birimiyle ifade edildi (Ohkawa vd. 1979).

3.2.5.5 Glutasyon (GSH) Tayini

Eritrosit, böbrek ve karaciğer numuneleri GSH seviyeleri; Beutler (1963) bildirdiği yöntemle ELISA cihazında ölçüldü. DTNB'nin (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit) glutasyon tarafından redüksiyonu prensibine dayanan bu yöntemde; 200 µL numune ile 1,8 mL saf su ile karıştırılır ve hazırlanan hemolizatlara çöktürücü eklenir. Eklenen çöktürücü sülfidril taşıyan proteinlerin çökmesini sağlar. DTNB ve fosfat solüsyonu

eklenen filtre edilmiş berrak kısmın 405 nm'deki absorbanı ölçülür. Eritrosit GSH değerleri nmol/gHb birimiyle ifade edilirken, böbrek ve karaciğer GSH değerleri µmol/g-protein cinsinden ifade edildi (Beutler 1963).

3.2.5.6 Nitrik Oksit (NO) Tayini

NO tayini Miranda vd. (2001) bildirdikleri yöntemle plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde ELISA cihazı (BIOTEK ELx800) ile yapıldı. Nitrik oksit tayininde belirtilen yöntemle göre; ölçüm için VCl₃ ve Griess reaktifleri kullanılır. Ortamdaki Nitrat öncelikle nitrite dönüştürülür. Oluşan nitrit; sülfanilamidin ve N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür ile kompleks diazonyum bileşiğine dönüşür. Bu kompleks bileşik renklidir ve 540 nm'deki absorbanı ölçülerek NO seviyeleri elde edilir. Plazma NO seviyeleri µmol/L NOx cinsinden ifade edilirken, böbrek ve karaciğer NO seviyesi [µmol (NO)x/mg protein] cinsinden ifade edildi (Miranda vd. 2001).

3.2.5.7 Total Antioksidan ve Total Oksidan Statü Tayini

3.2.5.7.1 Total Antioksidan Statü (TAS) Tayini

Total Antioksidan Statü (TAS); plazma numunelerinde, böbrek ve karaciğer homojenatlarında Erel'in (2004) bildirdiği yöntemle, ELISA cihazında ticari kit (Rel Assay) kullanılarak 630 nm' de ölçüldü. Bildirilen prensibe göre; numunede bulunan antioksidan ajanlar renkli ABTS (2,2'-Azino-bis (3- ethylbenzothiazolin-6-sulfonik asit)) radikalini redüklemesi sonucu kendi konsantrasyonlarıyla doğru orantılı şekilde dekolorizasyona uğrarlar. Elde edilen sonuçlar böbrek ve karaciğer örneklerinde mmolTrolox Equiv./mg-protein birimiyle ifade edilirken, plazma örneklerinde µmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (Erel 2004).

3.2.5.7.2 Total Oksidan Statü (TOS) Tayini

Total Oksidan Statü (TOS); plazma numunelerinde, böbrek ve karaciğer homojenatlarında Erel (2005) tarafından bildirilen yöntemle, ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 540 nm. de ticari kit kullanılarak (Rel Assay) ölçüldü.

Ölçümü yapılan numunelerde bulunan oksidan ajanlar Fe^{2+} yi Fe^{3+} ye yükseltger. Yükseltgenen Fe^{3+} iyonları asidik ortamda xylenol orange adlı boyar madde ile renkli bir bileşik oluştururlar. Numunedeki oksidan madde miktarı ile rengin şiddeti arasında doğru orantı bulunmaktadır. Sonuçlar doku örneklerinde mmolTrolox Equiv./mg-protein cinsinden ifade edilirken, plazma numunelerinde μ mol H_2O_2 Equivalent/ L cinsinden ifade edildi (Erel 2005).

3.2.5.8 Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Tayini

TNF- α tayini; karaciğer, böbrek homojenatları ve serum örneklerinde ticari kitle (eBioscience, LOT:118130042, Ref: BMS622) ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri serumda; pg/mL dokuda, pg/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.9 İnterlökin-1 Beta (IL-1 β) Tayini

IL-1 β tayini; karaciğer, böbrek homojenatları ve serum örneklerinde ticari kitle (Bioassay Technology Laboratory, LOT:202001001, Exp:20210101, Cat. No: E0119Ra) ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri serumda; pg/mL dokuda, pg/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.10 İnterlökin-6 (IL-6) Tayini

IL-6 tayini; karaciğer, böbrek homojenatları ve serum örneklerinde ticari kitle (Bioassay Technology Laboratory, LOT:202001001, Exp:20210101, Cat. No. E0135Ra) ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri serumda; pg/mL dokuda, pg/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.11 İnterferon-Gama (IFN- γ) Tayini

IFN- γ tayini; karaciğer, böbrek homojenatları ve serum örneklerinde ticari kitle (ebioscience, LOT:88722021), ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri serumda; pg/mL dokuda, pg/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.12 Siklooksijenaz (COX-2) Tayini

Siklooksijenaz-2 tayini; karaciğer homojenatlarında ticari kitle (SunRed, LOT:201510), ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri ng/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.13 Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Tayini

NF-κB tayini; karaciğer homojenatlarında ticari kitle (SunRed, LOT:201510), ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri ng/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.5.14 Prostaglandin E2 (PGE2) Tayini

PGE2 tayini; karaciğer homojenatlarında ticari kitle (SunRed, LOT:201604), ELISA cihazında (BIOTEK ELx800) 450 nm'de ölçüldü. Sitokin değeri ng/mg-protein cinsinden ifade edildi.

3.2.6 Histopatolojik Analiz

Histopatolojik incelemeler için karaciğer ve böbrekten alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Formalin tespitindeki doku örnekleri 2-3 mm kalınlıkta ve uygun büyüklüklerde küçültülerek doku takip kasetlerine alındı. Çeşme suyunda bir gece yıkandıktan sonra 50, 70, 80, 96'lık ve absöüt alkol ile ksilol, ksilollü parafin ve 56-58 °C'de erimiş parafinde 2'şer saat tutuldu ve sonra da parafinde bloklandı. Her parafin bloktan mikrotom (Leica, RM 2245) ile 5 mikron kalınlığında kesilen örnekler su banyosu (Leica, HI 1210) aracılığıyla lamlara alındı. On dakika etüvde kurutulularak (Thermo, Heratorm) histopatolojik yöntemlerde kullanılmak üzere hazır hale getirildi. Tüm kesitler absöüt, 96, 80, 70 ve 50'lik alkol serileri ile ksilol serilerinden geçirilerek hematoksilin-eosin (HE) ile metoduna göre boyandı. (Luna, 1968). Boyamaları yapılan preparatlar, 1000 okuler başlıklı ışık mikroskopunda (Nikon, Eclipse Ci, Tokyo, Japan) incelendi. Gerekli görülen preparatlardan mikroskopik resimler çekildi (Nikon DS Fİ3, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

3.3 İstatistiki Analiz

Çalışma gruplarından elde edilen verilerin yorumlanması, istatistiki olarak anlamlı farklılıkların bulunup bulunmadığının belirlenmesi amacıyla; SPSS istatistik programı (IBM SPSS, Chicago, Illinois) içerisindeki tek yönlü varyans analizi (One way-ANOVA) kullanıldı. Gruplardan hangileri arasında farklılıklar bulunduğunun belirlenmesi için de varyans analizinden sonra post-test olarak Duncan testi yapıldı. İstatistiki anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Sunulan çalışmada; asetaminofen toksikasyonu oluşturulan ratlarda Sanggenon C'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri araştırıldı. Çalışma bitiminde uygulama yapılan ratlardan alınan kan, doku örnekleriyle AST, ALT, ALP, LDH, CK, MDA, GSH, NO, TAS, TOS, hemoglobin, total protein, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B, PGE2, COX-2 parametreleri ölçüldü, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik analizleri yapıldı.

Aspartat Aminotransferaz (AST) Enzim Aktivitesi

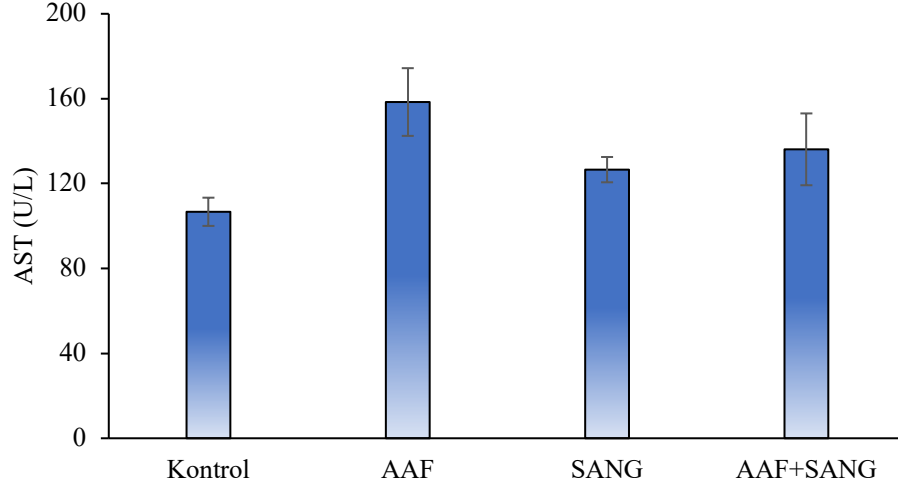
Serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT) olarak da bilinen Aspartat Aminotransferaz ölçümü (AST), karaciğer hasarının saptanması ve pek çok karaciğer hastalığının tanısı için kullanılan bir yöntemdir. Çalışma sonunda alınan serum numunelerinde ölçülen AST değerleri Çizelge 4.1'de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 106,71 \pm 6,65, 158,43 \pm 15,95, 126,57 \pm 5,96, 136,14 \pm 16,92 şeklindedir.

Çizelge 4.1 Aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri

Gruplar	AST Değerleri (U/L)
Kontrol	106,71 \pm 6,65 ^a
AAF	158,43 \pm 15,95 ^c
SANG	126,57 \pm 5,96 ^b
AAF+SANG	136,14 \pm 16,92 ^b

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır (p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.1'e göre; uygulama grupları ile kontrol grubu AST değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık (p<0,05) bulunmaktadır. AAF grubunun AST değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. 3. ve 4. grubun AST değerleri de kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. AAF grubunun AST değerleri, SANG ve AAF+SANG gruplarının AST değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek (p<0,05) bulunmuştur. Şekil 4.1 de AST enzim aktiviteleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi

Alanin Aminotransferaz (ALT) Enzim Aktivitesi

Alanin Aminotransferaz ölçümü (ALT), karaciğer hasarının belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biridir. Çalışma sonunda alınan serum numunelerinde ölçülen ALT değerleri Çizelge 4.2’de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 84,57±6,45, 98,71±5,49, 73,14±3,97, 69,57±5,88 şeklindedir.

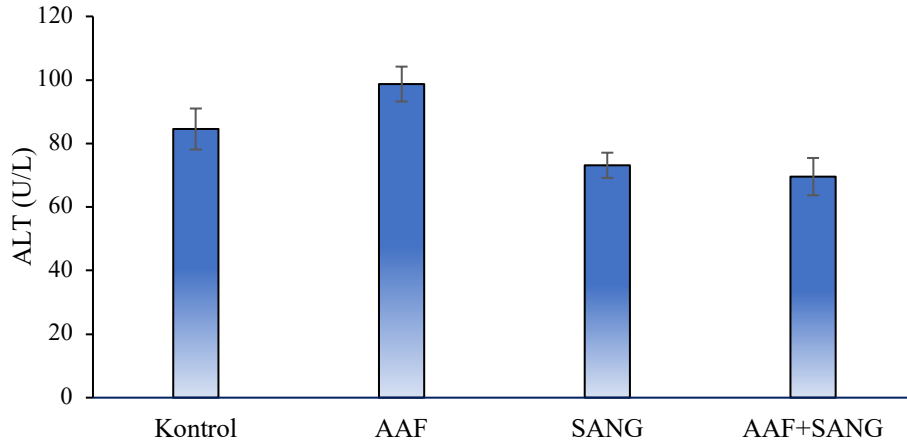
Çizelge 4.2 Alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktiviteleri

Gruplar	ALT Değerleri (U/L)
Kontrol	84,57±6,45 ^b
AAF	98,71±5,49 ^c
SANG	73,14±3,97 ^a
AAF+SANG	69,57±5,88 ^a

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır(p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.2’ye göre; Kontrol grubu ALT değerleri istatistiki olarak anlamlı şekilde diğer uygulama gruplarından farklıdır. AAF grubunun ALT değerleri, Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükselmiştir (p<0,05). SANG ve AAF+SANG gruplarının değerleri kendi

aralarında anlamlı farklılık göstermezken, kontrol grubu ve AAF grubu ALT değerlerine göre anlamlı düşüş göstermiştir. Şekil 4.2’de ALT enzim aktiviteleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi

Alkale Fosfat (ALP) Enzim Aktivitesi

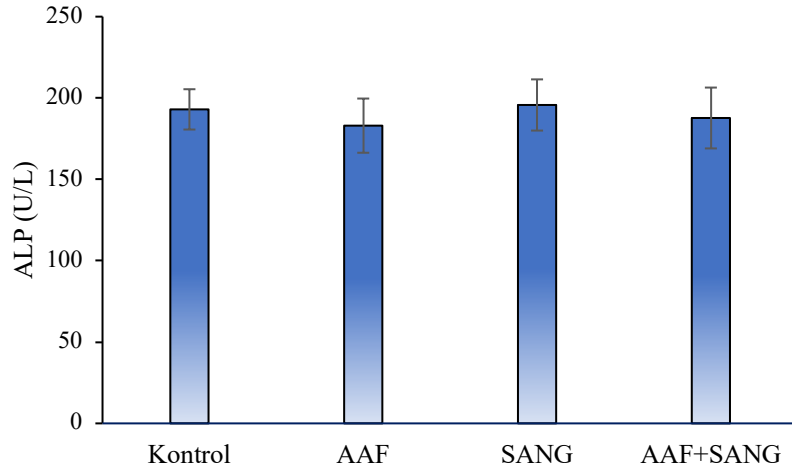
Alkale fosfat ölçümü (ALP), diğer enzim aktivitelerinin sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde karaciğer hasarı ve bazı spesifik hastalıkların belirlenmesinde etkili bir yöntemdir. Çalışma sonunda alınan serum numunelerinde ölçülen ALP değerleri Çizelge 4.3’de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $193,00 \pm 12,39$, $183,00 \pm 16,66$, $195,71 \pm 15,73$, $187,71 \pm 18,70$ şeklindedir.

Çizelge 4.3 Alkale fosfat (ALP) enzim aktiviteleri

Gruplar	ALP Değerleri (U/L)
Kontrol	$193,00 \pm 12,39^a$
AAF	$183,00 \pm 16,66^a$
SANG	$195,71 \pm 15,73^a$
AAF+SANG	$187,71 \pm 18,70^a$

a,b,c,d: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.3'e göre çalışma gruplarının serum ALP değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Şekil 4.3'de ALP enzim aktiviteleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi

Laktat Dehidrogenaz (LDH) Enzim Aktivitesi

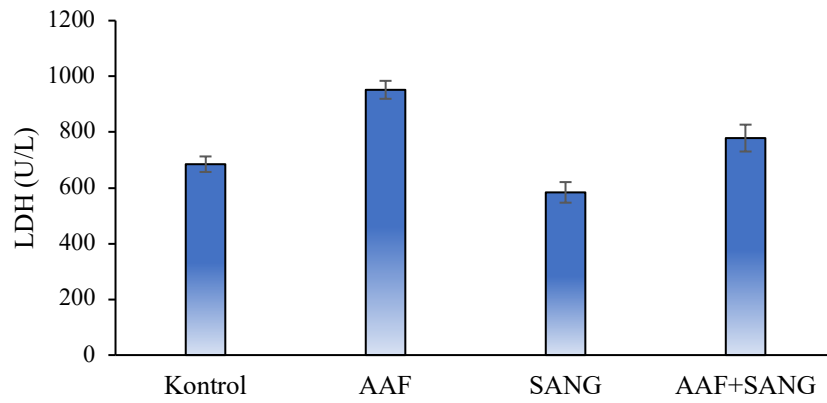
Çalışma sonunda alınan serum numunelerinde ölçülen LDH değerleri Çizelge 4.4'de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $684,85\pm 27,85$, $951,71\pm 32,23$, $583,71\pm 36,95$, $778,57\pm 48,20$ şeklindedir.

Çizelge 4.4 Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktiviteleri

Gruplar	LDH Değerleri (U/L)
Kontrol	$684,85\pm 27,85^b$
AAF	$951,71\pm 32,23^d$
SANG	$583,71\pm 36,95^a$
AAF+SANG	$778,57\pm 48,20^c$

a,b,c,d: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p<0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.4'e göre; tüm çalışma grupları arasında istatistiki olarak anlamlı farklılıklar bulunmaktadır ($p<0,05$). AAF grubu LDH değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir artış göstermiştir. SANG grubu değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir düşüş göstermektedir. Terapötik grubun (AAF+SANG) LDH değerleri istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde; Kontrol grubu ve SANG grubu değerlerine göre yüksek, AAF grubu değerlerine göre ise düşüktür. Şekil 4.4'de LDH enzim aktiviteleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi

Kreatin Kinaz (CK) Enzim Aktivitesi

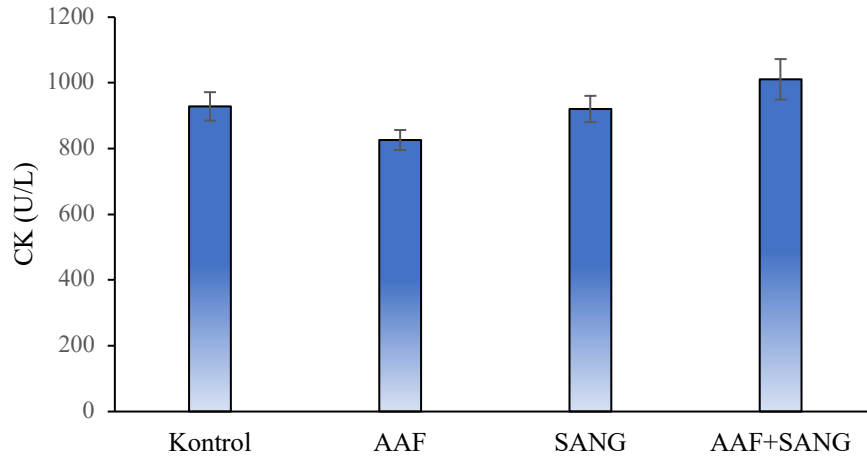
Çalışma sonunda alınan serum numunelerinde ölçülen CK değerleri Çizelge 4.5'de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $928,57\pm 43,31$, $826,28\pm 30,41$, $920,71\pm 39,98$, $1011,00\pm 61,54$ şeklindedir.

Çizelge 4.5 Kreatin Kinaz (CK) enzim aktiviteleri

Gruplar	CK Değerleri (U/L)
Kontrol	$928,57\pm 43,31^b$
AAF	$826,28\pm 30,41^a$
SANG	$920,71\pm 39,98^b$
AAF+SANG	$1011,00\pm 61,54^c$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p<0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.5'e göre; Kontrol grubu serum CK değerleri ve SANG grubu değerleri arasında anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. AAF grubu CK değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Terapötik AAF+SANG grubunun CK değerleri diğer tüm gruplardan istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde yüksektir ($p<0,05$). Şekil 4.5'de CK enzim aktiviteleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.5 Kreatin Kinaz (CK) enzim aktivitelerinin grafiksel gösterimi

Malondialdehit (MDA) Değerleri

Malondialdehit (MDA) değerleri, eritrosit, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçülmüştür. Eritrosit numunelerinde ölçülen MDA değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $2,23\pm0,16$, $8,84\pm0,51$, $2,76\pm0,41$, $2,53\pm0,50$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen MDA değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $26,95\pm2,22$, $57,26\pm3,03$, $19,82\pm0,18$, $20,06\pm0,19$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen MDA değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $20,03\pm0,14$, $43,71\pm3,78$, $30,08\pm1,31$, $27,60\pm2,01$ şeklindedir.

Çizelge 4.6 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku MDA değerleri

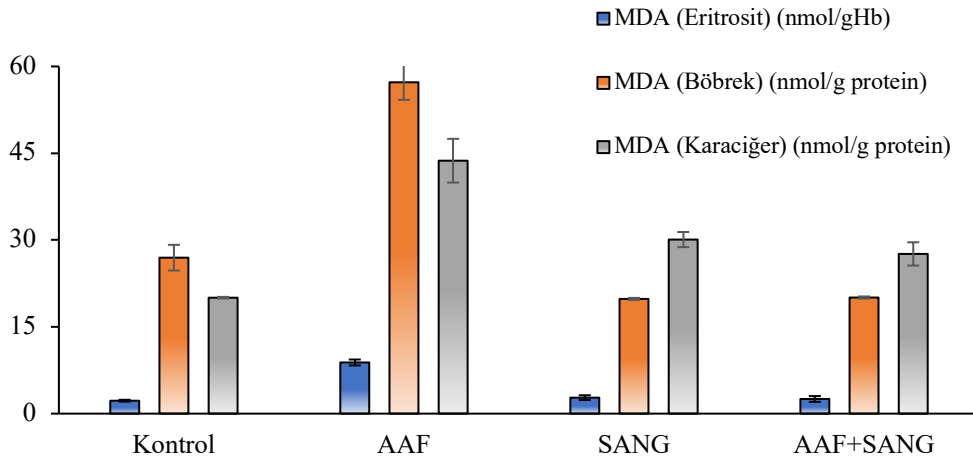
Grup	MDA(Eritrosit) (nmol/gHb)	MDA(Böbrek) (nmol/g protein)	MDA(Karaciğer) (nmol/g protein)
Kontrol	2,23±0,16 ^a	26,95±2,22 ^b	20,03±0,14 ^a
AAF	8,84±0,51 ^c	57,26±3,03 ^c	43,71±3,78 ^d
SANG	2,76±0,41 ^b	19,82±0,18 ^a	30,08±1,31 ^c
AAF+SANG	2,53±0,50 ^{ab}	20,06±0,19 ^a	27,60±2,01 ^b

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır(p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.6'ya göre eritrosit MDA değerlerinde; Kontrol grubu ile AAF ve SANG grupları arasında istatistiki olarak anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. AAF uygulanan 2. grup eritrosit MDA değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Sadece Sanggenon C uygulanan 3. grubun MDA değerleri de Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı yükselmiştir. Asetaminofen uygulamasından 4 saat sonra Sanggenon C uygulanan 4. grubun MDA değerleri Kontrol grubu değerlerine yakındır, istatistiki olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Terapötik 4. grubun MDA değerleri toksisite oluşturulan AAF grubunun eritrosit MDA değerlerine göre anlamlı bir düşüş göstermiştir.

Çizelge 4.6'ya göre böbrek MDA değerlerinde Kontrol grubunun MDA değerleri diğer grupların tamamından istatistiki olarak ayrılmaktadır. AAF grubunda böbrek MDA düzeyi Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Sadece Sanggenon C uygulanan 3. grup ve terapötik 4. grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. 3. ve 4. grubun böbrek MDA değerleri AAF grubu böbrek MDA değerlerine göre istatistiki olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir.

Çizelge 4.6'ya göre; karaciğer MDA değerlerinde tüm gruplar birbirinden istatistiki olarak anlamlı (p<0,05) farklılık göstermektedir. AAF grubunun karaciğer MDA değeri Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. 3. ve 4. grupların karaciğer MDA değerleri AAF grubunun karaciğer MDA değerlerine göre anlamlı şekilde düşüktür. Şekil 4.6'da MDA değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.6 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku MDA değerlerinin grafik gösterimi

Glutasyon (GSH) Değerleri

GSH değerleri eritrosit, böbrek ve karaciğer doku numunelerinde ölçüldü. Eritrosit numunelerinde ölçülen GSH değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $188,50 \pm 5,98$, $199,14 \pm 3,64$, $195,78 \pm 6,06$, $189,07 \pm 7,39$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen GSH değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $149,64 \pm 1,65$, $126,50 \pm 20,04$, $155,64 \pm 4,45$, $135,14 \pm 2,88$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen GSH değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $139,50 \pm 3,59$, $109,35 \pm 3,57$, $134,28 \pm 3,46$, $131,07 \pm 5,44$ şeklindedir.

Çizelge 4.7 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku GSH değerleri

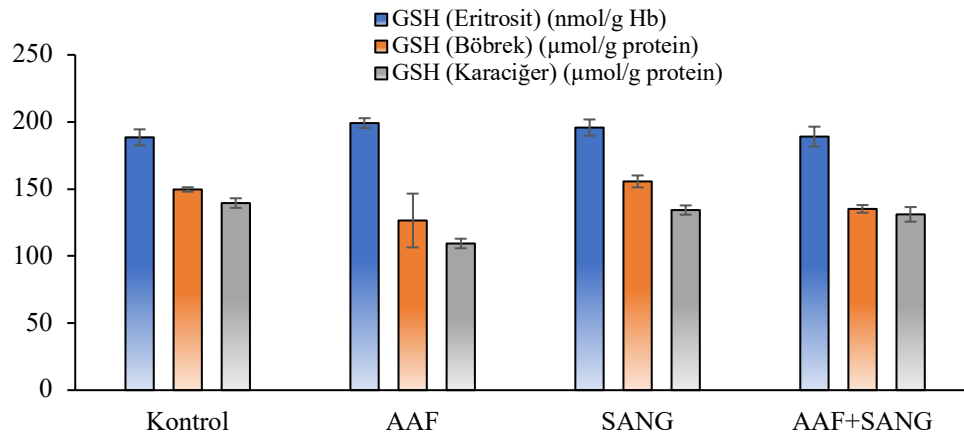
Grup	GSH (Eritrosit) (nmol/g Hb)	GSH (Böbrek) (μ mol/g protein)	GSH (Karaciğer) (μ mol/g protein)
Kontrol	$188,50 \pm 5,98^a$	$149,64 \pm 1,65^b$	$139,50 \pm 3,59^c$
AAF	$199,14 \pm 3,64^b$	$126,50 \pm 20,04^a$	$109,35 \pm 3,57^a$
SANG	$195,78 \pm 6,06^b$	$155,64 \pm 4,45^b$	$134,28 \pm 3,46^b$
AAF+SANG	$189,07 \pm 7,39^a$	$135,14 \pm 2,88^a$	$131,07 \pm 5,44^b$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.7'ye göre 2. ve 3. grubun eritrosit GSH değerleri 1. ve 4. grubun GSH değerlerinden istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde farklıdır. Kontrol grubu eritrosit GSH değerleri ile 4. grubun GSH değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. 2. ve 3. grubun eritrosit GSH değerleri arasında da anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. AAF ve SANG grubunun GSH değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. ($p<0,05$).

Çizelge 4.7'ye göre 1. Ve 3. grubun böbrek GSH değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. 2. Ve 4. grubun böbrek GSH değerleri de anlamlı bir farklılık göstermemektedir. AAF grubunun ve AAF+SANG grubunun böbrek GSH değerlerinde Kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş söz konusudur.

Çizelge 4.7'ye göre uygulama grupları Kontrol grubu değerlerinden istatistiki olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. SANG ve AAF+SANG grubu karaciğer GSH değerleri birbirlerine yakındır. AAF grubu karaciğer GSH değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. 3. Ve 4. gruplardaki karaciğer GSH değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı olarak düşük, 2. grubun değerlerine göre anlamlı olarak yüksektir ($p<0,05$). Şekil 4.7'de GSH değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Eritrosit, böbrek ve karaciğer doku GSH değerlerinin grafiksel gösterimi

Nitrik Oksit (NO) Değerleri

NO değerleri plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Plazma numunelerinde ölçülen NO değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 46,24±2,10, 58,93±2,31, 46,39±3,36, 38,45±4,69 şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen NO değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 13,09±2,54, 27,03±3,52, 15,19±1,32, 18,46±1,63 şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen NO değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 27,11±1,65, 46,15±4,72, 33,84±2,32, 27,61±1,21 şeklindedir.

Çizelge 4.8 Plazma, böbrek ve karaciğer doku NO değerleri

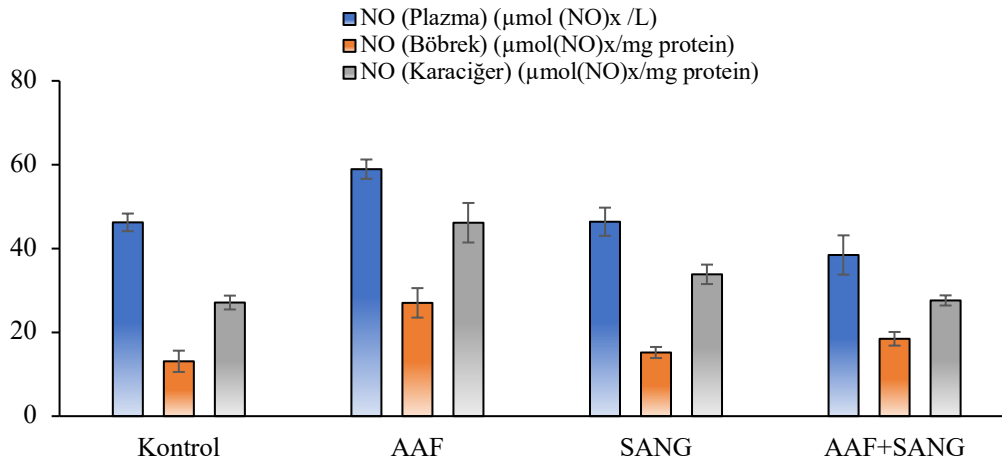
Grup	NO (Plazma) ($\mu\text{mol (NO)x /L}$)	NO (Böbrek) ($\mu\text{mol(NO)x/mg protein}$)	NO (Karaciğer) ($\mu\text{mol(NO)x/mg protein}$)
Kontrol	46,24±2,10 ^b	13,09±2,54 ^a	27,11±1,65 ^a
AAF	58,93±2,31 ^c	27,03±3,52 ^c	46,15±4,72 ^c
SANG	46,39±3,36 ^b	15,19±1,32 ^a	33,84±2,32 ^b
AAF+SANG	38,45±4,69 ^a	18,46±1,63 ^b	27,61±1,21 ^a

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır(p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.8'e göre; Kontrol grubu ve SANG grubu plazma NO değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. AAF grubu plazma NO değerleri, diğer gruplara göre anlamlı bir artış göstermiştir. AAF+SANG grubu plazma NO değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,05).

Çizelge 4.8'e göre; SANG ve Kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Terapötik grubun böbrek NO değerleri; Kontrol ve SANG grubuna göre anlamlı yüksek, AAF grubu böbrek NO değerleri ile kıyaslandığında anlamlı şekilde düşüktür. AAF grubu böbrek NO değerleri, Kontrol grubu değerlerine göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükselme göstermiştir.

Çizelge 4.8'e göre; Kontrol grubu ve terapötik grup karaciğer NO değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. AAF grubu karaciğer NO değerleri Kontrol grubu karaciğer NO değerlerine göre anlamlı bir artış göstermiştir. SANG grubunun değerleri Kontrol ve terapötik grubun değerlerine göre yüksek, AAF grubuna göre düşüktür. Şekil 4.8'da NO değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.8 Plazma, böbrek ve karaciğer doku NO değerlerinin grafik gösterimi

Total Antioksidan Statü (TAS) Değerleri

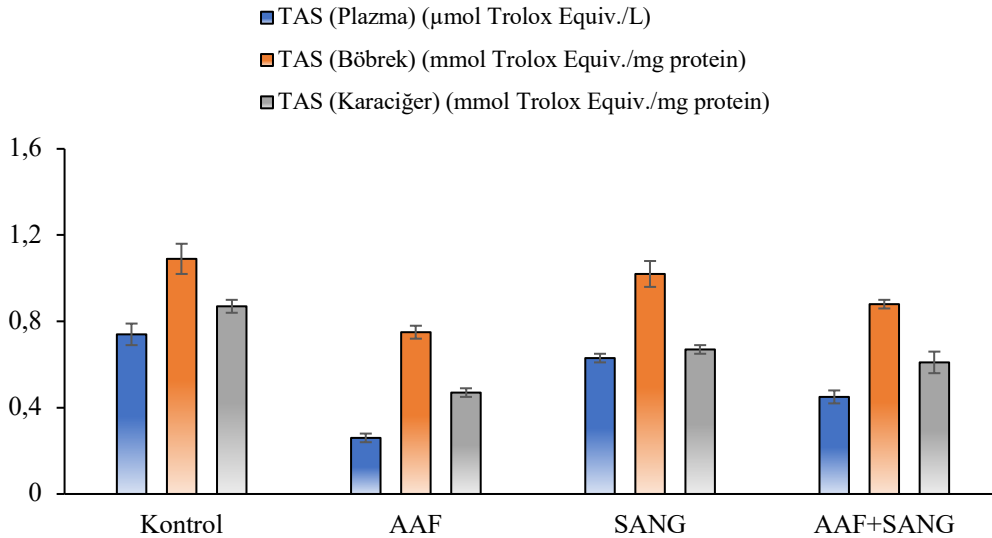
TAS değerleri plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Plazma numunelerinde ölçülen TAS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $0,74 \pm 0,05$, $0,26 \pm 0,02$, $0,63 \pm 0,02$, $0,45 \pm 0,03$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen TAS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $1,09 \pm 0,07$, $0,75 \pm 0,03$, $1,02 \pm 0,06$, $0,88 \pm 0,02$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen TAS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $0,87 \pm 0,03$, $0,47 \pm 0,02$, $0,67 \pm 0,02$, $0,61 \pm 0,05$ şeklindedir.

Çizelge 4.9 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TAS değerleri

Grup	TAS (Plazma) ($\mu\text{mol Trolox Equiv./L}$)	TAS (Böbrek) ($\text{mmol Trolox Equiv./mg protein}$)	TAS (Karaciğer) ($\text{mmol Trolox Equiv./mg protein}$)
Kontrol	$0,74 \pm 0,05^d$	$1,09 \pm 0,07^d$	$0,87 \pm 0,03^d$
AAF	$0,26 \pm 0,02^a$	$0,75 \pm 0,03^a$	$0,47 \pm 0,02^a$
SANG	$0,63 \pm 0,02^c$	$1,02 \pm 0,06^c$	$0,67 \pm 0,02^c$
AAF+SANG	$0,45 \pm 0,03^b$	$0,88 \pm 0,02^b$	$0,61 \pm 0,05^b$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.9'a göre; plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde gruplar arasındaki istatistiki farklılıklar aynıdır. Tüm numunelerde AAF grubunun TAS değerleri diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşüktür. SANG grubu TAS değerleri tüm numunelerde Kontrol grubunun değerlerinden düşük, AAF grubu ve terapötik grubun değerlerinden yüksektir. Terapötik grubun TAS değerleri SANG grubuna göre düşük, AAF grubuna göre yüksektir ($p < 0,05$). Şekil 4.9'da TAS değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.9 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TAS değerlerinin grafiksel gösterimi

Total Oksidan Statü (TOS) Değerleri

TOS değerleri plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Plazma numunelerinde ölçülen TOS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $1,55\pm 0,17$, $3,81\pm 0,28$, $2,37\pm 0,29$, $2,84\pm 0,30$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen TOS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $5,14\pm 0,50$, $9,90\pm 0,82$, $6,91\pm 0,80$, $6,46\pm 0,35$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen TOS değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $5,10\pm 0,22$, $6,48\pm 0,20$, $5,60\pm 0,27$, $5,50\pm 0,26$ şeklindedir.

Çizelge 4.10 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TOS değerleri

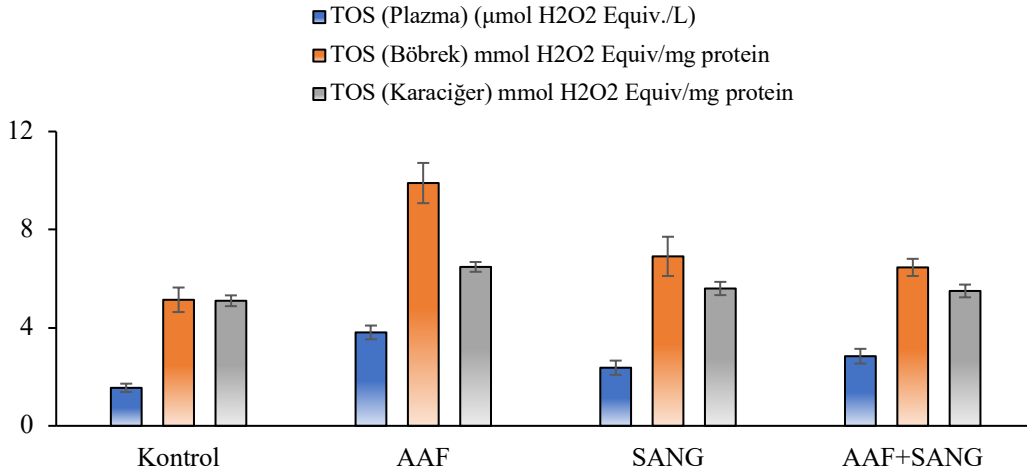
Grup	TOS (Plazma) ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOS (Böbrek) mmol H_2O_2 Equiv/mg protein	TOS (Karaciğer) mmol H_2O_2 Equiv/mg protein
Kontrol	$1,55\pm 0,17^a$	$5,14\pm 0,50^a$	$5,10\pm 0,22^a$
AAF	$3,81\pm 0,28^d$	$9,90\pm 0,82^c$	$6,48\pm 0,20^c$
SANG	$2,37\pm 0,29^b$	$6,91\pm 0,80^b$	$5,60\pm 0,27^b$
AAF+SANG	$2,84\pm 0,30^c$	$6,46\pm 0,35^b$	$5,50\pm 0,26^b$

a,b,c,d: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p<0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.10'a göre; plazma TOS değerleri tüm gruplarda istatistiki olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. AAF plazma TOS değeri tüm gruplara oranla anlamlı şekilde yükselmiştir. Terapötik grubun TOS değeri AAF grubuna göre düşük, SANG ve Kontrol grubuna göre yüksektir. SANG grubunun plazma TOS değeri de Kontrol grubuna göre yüksek, diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşüktür.

Çizelge 4.10'a göre böbrek ve karaciğer örneklerinde gruplar arasındaki istatistiki farklılıklar aynıdır. Doku numunelerinde en yüksek TOS değeri AAF grubuna aittir. SANG ve Terapötik grup (AAF+SANG) doku TOS değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. 3. Ve 4. grubun doku TOS değerleri Kontrol grubu doku TOS

değerlerinden yüksek, AAF grubu TOS değerlerinden düşüktür ($p<0,05$). Şekil 4.10'da TOS değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.10 Plazma, böbrek ve karaciğer doku TOS değerlerinin grafik gösterimi

Tümör Nekroz Faktör (TNF- α) Değerleri

TNF- α değerleri serum, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Serum numunelerinde ölçülen TNF- α değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $62,82\pm 3,09$, $66,31\pm 2,51$, $58,88\pm 2,18$, $61,11\pm 1,84$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen TNF- α değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $21,42\pm 1,58$, $52,02\pm 2,09$, $48,05\pm 1,55$, $51,41\pm 2,20$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen TNF- α değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $25,35\pm 2,23$, $45,48\pm 2,51$, $33,45\pm 1,70$, $33,04\pm 2,17$ şeklindedir.

Çizelge 4.11 Serum, böbrek ve karaciğer doku TNF- α değerleri

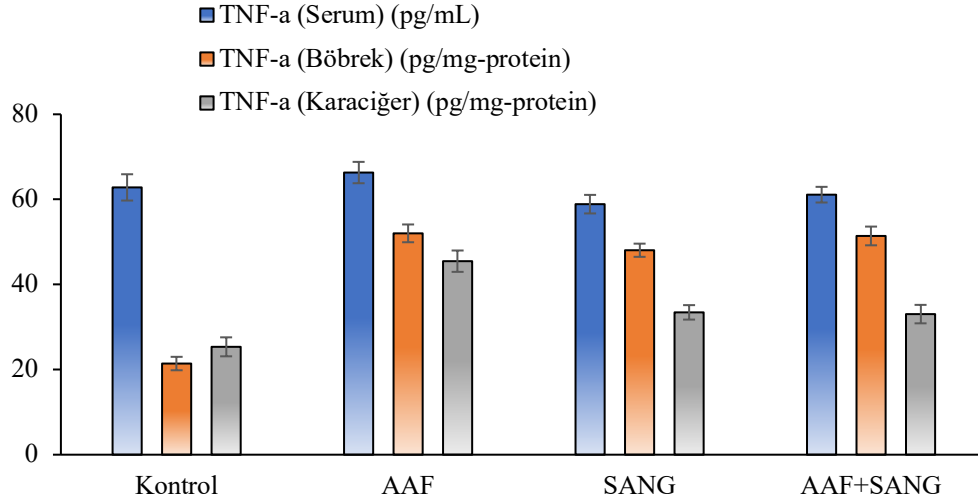
Grup	TNF- α (Serum) (pg/mL)	TNF- α (Böbrek) (pg/mg-protein)	TNF- α (Karaciğer) (pg/mg-protein)
Kontrol	62,82 \pm 3,09 ^b	21,42 \pm 1,58 ^a	25,35 \pm 2,23 ^a
AAF	66,31 \pm 2,51 ^c	52,02 \pm 2,09 ^c	45,48 \pm 2,51 ^c
SANG	58,88 \pm 2,18 ^a	48,05 \pm 1,55 ^b	33,45 \pm 1,70 ^b
AAF+SANG	61,11 \pm 1,84 ^{ab}	51,41 \pm 2,20 ^c	33,04 \pm 2,17 ^b

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır (p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.11'e göre; serum TNF- α değerleri AAF grubunda Kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı şekilde yükselmiştir. SANG grubunun serum TNF- α değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı şekilde düşüş göstermiştir. Terapötik gruptaki serum TNF- α değerleri hem kontrol grubu hem SANG grubu değerleri ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.11'e göre; böbrek TNF- α değerleri AAF, SANG ve AAF+SANG gruplarında Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükselme göstermiştir. Sanggenon C uygulanan grubun değerleri AAF ve AAF+SANG gruplarına göre daha düşüktür. Asetaminofen uygulanan gruplardaki değerler istatistiki olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Çizelge 4.11'e göre; karaciğer TNF- α değerleri AAF grubunda istatistiki olarak anlamlı şekilde yükselmiştir. SANG ve AAF+SANG gruplarının değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı bir yükseliş göstermiştir. Bu 2 grubun karaciğer TNF- α değerleri birbirlerine göre farklılık göstermezken AAF grubunun değerlerinden anlamlı şekilde düşüktür (p<0,05). Şekil 4.11'de TNF- α değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.11 Serum, böbrek ve karaciğer doku TNF- α değerlerinin grafik gösterimi

İnterlökin-1 Beta (IL-1β) Değerleri

IL-1β değerleri serum, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Serum numunelerinde ölçülen IL-1β değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $90,08 \pm 2,88$, $147,88 \pm 2,84$, $92,75 \pm 2,67$, $129,00 \pm 3,10$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen IL-1β değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $20,54 \pm 1,55$, $36,47 \pm 1,16$, $17,41 \pm 0,82$, $36,57 \pm 1,48$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen IL-1β değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $27,21 \pm 1,30$, $40,22 \pm 1,84$, $37,91 \pm 1,32$, $38,12 \pm 1,57$ şeklindedir.

Çizelge 4.12 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-1β değerleri

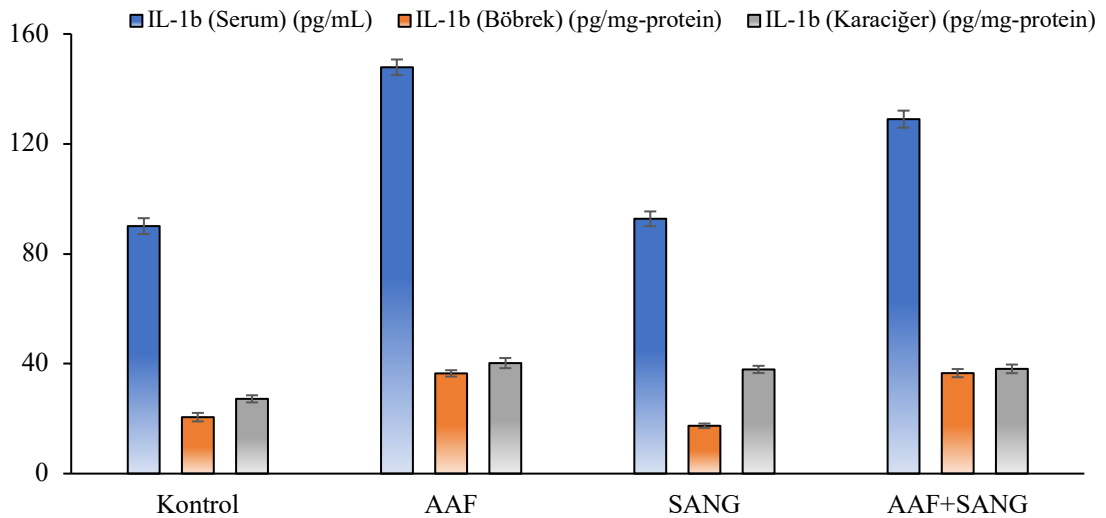
Grup	IL-1β (Serum) (pg/mL)	IL-1β (Böbrek) (pg/mg-protein)	IL-1β (Karaciğer) (pg/mg-protein)
Kontrol	$90,08 \pm 2,88^a$	$20,54 \pm 1,55^b$	$27,21 \pm 1,30^a$
AAF	$147,88 \pm 2,84^c$	$36,47 \pm 1,16^c$	$40,22 \pm 1,84^c$
SANG	$92,75 \pm 2,67^a$	$17,41 \pm 0,82^a$	$37,91 \pm 1,32^b$
AAF+SANG	$129,00 \pm 3,10^b$	$36,57 \pm 1,48^c$	$38,12 \pm 1,57^b$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.12'ye göre; serum IL-1 β değerleri Kontrol grubu ve SANG grubunda anlamlı farklılık göstermemiştir. AAF grubunun IL-1 β değerleri Kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yükselme göstermiştir. Terapötik AAF+SANG grubunun IL-1 β değerleri Kontrol ve SANG grubu değerlerinden anlamlı şekilde yüksek, AAF grubu değerlerinden anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0,05$).

Çizelge 4.12'ye göre; böbrek IL-1 β değerleri Asetaminofenin uygulandığı gruplarda Kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir yükselme oluşmuştur. Terapötik grubun değerleri ile AAF grubunun değerleri anlamlı bir farklılık göstermemektedir. SANG grubu böbrek IL-1 β değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir düşüş göstermiştir.

Çizelge 4.12'ye göre; karaciğer IL-1 β değerleri AAF grubunda Kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir yükseliş göstermiştir. Sanggenon C uygulanan SANG ve AAF+SANG gruplarının karaciğer IL-1 β değerleri birbirlerinden anlamlı bir farklılık göstermezken, Kontrol grubu değerlerine göre yüksek AAF grubu değerlerine göre anlamlı düşük bulunmuştur. Şekil 4.12'de IL-1 β değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.12 IL-1 β değerlerinin grafiksel gösterimi

İnterlökin-6 (IL-6) Değerleri

IL-6 değerleri serum, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Serum numunelerinde ölçülen IL-6 değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $21,21 \pm 1,08$, $31,84 \pm 1,62$, $22,05 \pm 1,36$, $30,74 \pm 1,27$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen IL-6 değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $30,88 \pm 1,88$, $60,64 \pm 1,91$, $30,35 \pm 1,74$, $49,87 \pm 1,65$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen IL-6 değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $29,22 \pm 1,52$, $52,25 \pm 1,69$, $30,35 \pm 1,74$, $52,52 \pm 1,26$ şeklindedir.

Çizelge 4.13 Serum, böbrek ve karaciğer doku IL-6 değerleri

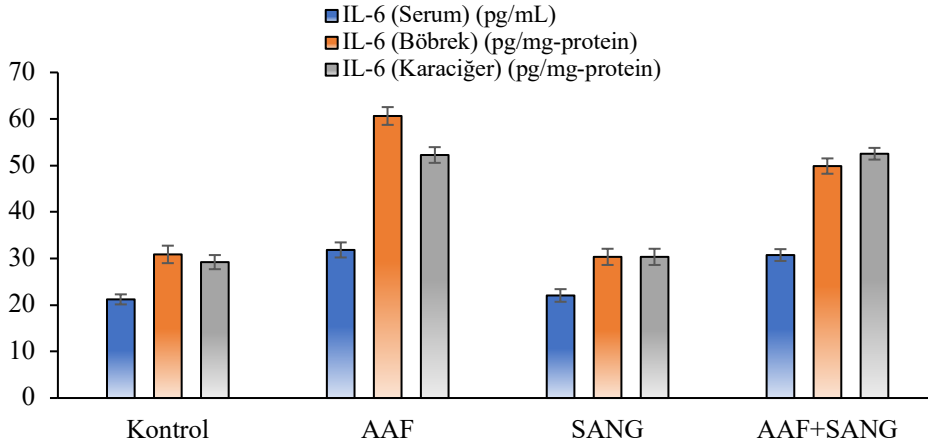
Grup	IL-6 (Serum) (pg/mL)	IL-6 (Böbrek) (pg/mg-protein)	IL-6 (Karaciğer) (pg/mg-protein)
Kontrol	$21,21 \pm 1,08^a$	$30,88 \pm 1,88^a$	$29,22 \pm 1,52^a$
AAF	$31,84 \pm 1,62^b$	$60,64 \pm 1,91^c$	$52,25 \pm 1,69^b$
SANG	$22,05 \pm 1,36^a$	$30,35 \pm 1,74^a$	$30,35 \pm 1,74^a$
AAF+SANG	$30,74 \pm 1,27^b$	$49,87 \pm 1,65^b$	$52,52 \pm 1,26^b$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.13'e göre; serum IL-6 değerleri; SANG grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Asetaminofen uygulanan gruplarda Kontrol grubuna göre anlamlı bir yükselme olmuştur. AAF ve AAF+SANG grubu serum IL-6 değerleri arasında kayda değer bir farklılık oluşmamıştır.

Çizelge 4.13'e göre; böbrek IL-6 değerleri Kontrol grubu ve SANG grubu arasında anlamlı farklılık göstermemektedir. AAF grubu böbrek IL-6 değerleri Kontrol grubu ve terapötik gruba kıyasla anlamlı bir yükselme göstermiştir. Terapötik grubun böbrek IL-6 değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir yükseliş gösterirken, AAF grubu değerlerine göre ise anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.13'e göre; karaciğer IL-6 değerleri Kontrol ve SANG grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Asetaminofen uygulanan 2 ve 4. gruplarda Kontrol ve SANG grubuna göre anlamlı bir yükseliş vardır ancak AAF ve AAF+SANG grupları arasında belirgin bir farklılık oluşmamıştır. Şekil 4.13'de IL-6 değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.13 IL-6 değerlerinin grafik gösterimi

İnterferon-gama (IFN- γ) Değerleri

IFN- γ değerleri serum, böbrek ve karaciğer numunelerinde ölçüldü. Serum numunelerinde ölçülen IFN- γ değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $131,85 \pm 3,41$, $163,02 \pm 3,15$, $132,21 \pm 2,74$, $136,60 \pm 2,69$ şeklindedir. Böbrek numunelerinde ölçülen IFN- γ değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $43,85 \pm 1,65$, $75,48 \pm 2,51$, $41,88 \pm 1,82$, $58,00 \pm 2,06$ şeklindedir. Karaciğer numunelerinde ölçülen IFN- γ değerleri Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $41,54 \pm 2,19$, $65,74 \pm 1,34$, $52,05 \pm 1,87$, $52,21 \pm 1,85$ şeklindedir.

Çizelge 4.14 Serum, böbrek ve karaciğer doku IFN- γ değerleri

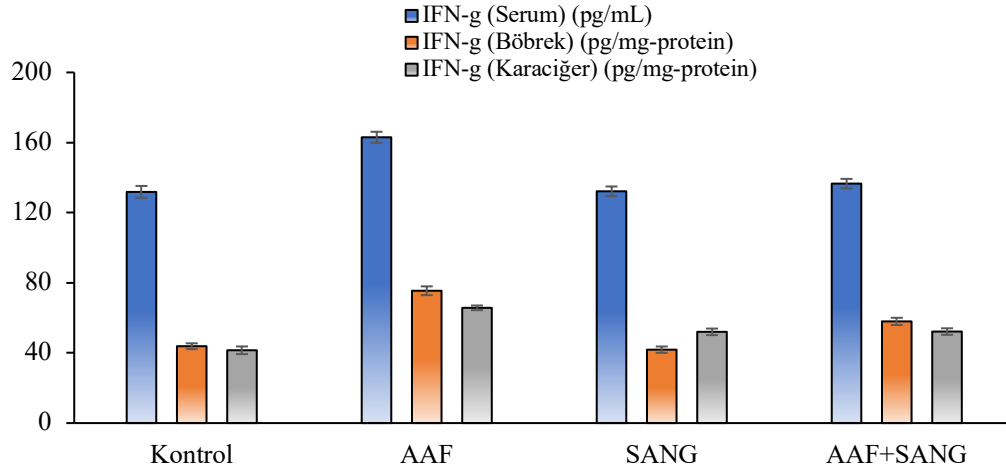
Grup	IFN- γ (Serum) (pg/mL)	IFN- γ (Böbrek) (pg/mg-protein)	IFN- γ (Karaciğer) (pg/mg-protein)
Kontrol	131,85 \pm 3,41 ^a	43,85 \pm 1,65 ^a	41,54 \pm 2,19 ^a
AAF	163,02 \pm 3,15 ^c	75,48 \pm 2,51 ^c	65,74 \pm 1,34 ^c
SANG	132,21 \pm 2,74 ^a	41,88 \pm 1,82 ^a	52,05 \pm 1,87 ^b
AAF+SANG	136,60 \pm 2,69 ^b	58,00 \pm 2,06 ^b	52,21 \pm 1,85 ^b

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır(p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.14'e göre; Kontrol ve SANG grubu serum IFN- γ değerleri arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. AAF grubu serum IFN- γ değerleri Kontrol ve SANG grubu değerlerine göre anlamlı bir artış göstermiştir. Terapötik grubun serum IFN- γ değerleri Kontrol grubuna göre yüksekken AAF grubu değerlerine göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (p<0,05).

Çizelge 4.14'e göre; böbrek IFN- γ değerleri Kontrol ve SANG grupları arasında farklılık göstermemektedir. AAF grubu değerleri diğer gruplara kıyasla anlamlı bir yükseliş göstermiştir. Terapötik grubun böbrek IFN- γ değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek, AAF grubu değerlerine göre ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.14'e göre; karaciğer IFN- γ değerleri incelendiğinde tüm grupların değerlerinin Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükseliş gösterdiği, en yüksek karaciğer IFN- γ değerlerinin AAF grubuna ait değerler olduğu, Sanggenon C uygulanan 3 ve 4. grupların değerlerinin AAF grubu değerlerine göre anlamlı şekilde düşük olduğu ancak kendi aralarında anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Şekil 4.14'de IFN- γ değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.14 IFN- γ değerlerinin grafiksel gösterimi

Siklooksigenaz-2 (COX-2) Değerleri

Siklooksigenaz-2 (COX-2) etkinliği ilaç hasarının önemli göstergelerinden olup karaciğer doku örneklerinde ölçülmüştür. Karaciğer dokuda ölçülen COX-2 değerleri Çizelge 4.15’de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $40,57 \pm 1,80$, $20,50 \pm 1,19$, $41,35 \pm 1,21$, $34,93 \pm 1,41$ şeklindedir.

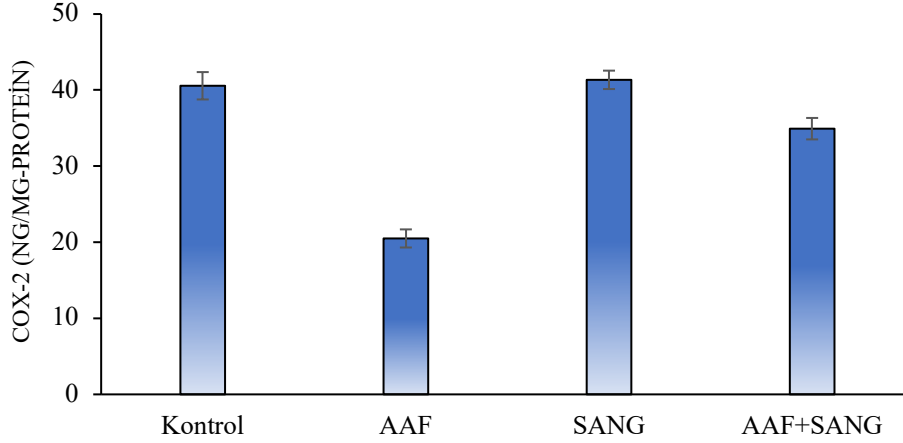
Çizelge 4.15 Karaciğer doku COX-2 değerleri

Grup	COX-2 (ng/mg protein)
Kontrol	$40,57 \pm 1,80^c$
AAF	$20,50 \pm 1,19^a$
SANG	$41,35 \pm 1,21^c$
AAF+SANG	$34,93 \pm 1,41^b$

a,b,c,d.: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p < 0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.15’e göre AAF grubunda Kontrol grubu COX-2 değerlerine kıyasla anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. SANG grubu COX-2 değerleri Kontrol grubu değerleri ile istatistik olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Terapötik grubun COX-2 değerleri ise Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşmüş ancak AAF grubu değerlerine göre anlamlı bir

yükseliş göstermiştir ($p<0,05$). Şekil 4.15’de COX-2 değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.15 COX-2 değerlerinin grafiksel gösterimi

Prostaglandin E2 (PGE2) Değerleri

Prostaglandin E2 (PGE2) karaciğer doku örneklerinde ölçülmüştür. Karaciğer dokuda ölçülen PGE2 değerleri Çizelge 4.16’da verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; $13,98\pm0,69$, $6,15\pm0,72$, $16,63\pm0,74$, $16,13\pm0,37$ şeklindedir.

Çizelge 4.16 Karaciğer doku PGE2 değerleri

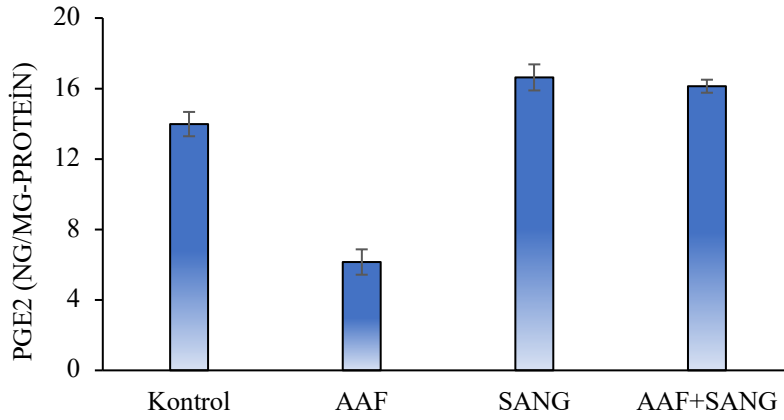
Grup	PGE2 (ng/mg protein)
Kontrol	$13,98\pm0,69^b$
AAF	$6,15\pm0,72^a$
SANG	$16,63\pm0,74^c$
AAF+SANG	$16,13\pm0,37^c$

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır ($p<0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.16’ya bakıldığında; PGE2 değerlerinin AAF grubunda Kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı bir düşüş gösterdiği, SANG ve AAF+SANG gruplarının PGE2 değerlerinin kendi aralarında anlamlı farklılık göstermediği ancak Kontrol grubuna göre

anlamli yükseldiği, AAF grubuna göre ise anlamli düşük olduğu görölmektedir ($p<0,05$).

Şekil 4.16'da PGE2 değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.16 PGE2 değerlerinin grafiksel gösterimi

Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Değerleri

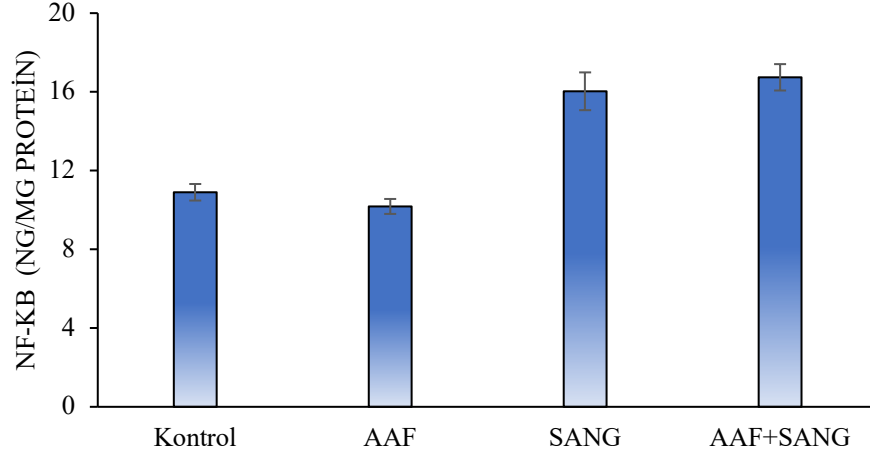
NF-κB tüm hücre tiplerinde bulunan DNA' yı okuyan ve kopyalayan bir transkripsiyon faktörüdür. Dinlenme halindeki T hücrelerinin stoplazmasında inaktif halde bulunan bir protein kompleksi olup doğal ve edinsel immün yanıtların her ikisinde de önem taşıyan pek çok genin transkripsiyonunda rol alır. Diğer sitokinlerin üretimini büyük ölçüde kontrol eder. Oksidatif stres, kanser ve otoimmün hastalıklar bu kompleks proteini aktive eder. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) karaciğer doku örneklerinde ölçölmüştür. Karaciğer dokuda ölçölen NF-κB değerleri Çizelge 4.17'de verilmiş olup, Kontrol, Asetaminofen, Sanggenon C, Asetaminofen+Sanggenon C gruplarında sırasıyla; 10,90±0,42, 10,18±0,38, 16,03±0,96, 16,74±0,67 şeklindedir.

Çizelge 4.17 Karaciğer doku NF-κB değerleri

Grup	NF-κB (ng/mg protein)
Kontrol	10,90±0,42 ^a
AAF	10,18±0,38 ^a
SANG	16,03±0,96 ^b
AAF+SANG	16,74±0,67 ^b

a,b,c,d: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlidir ($p<0,05$). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

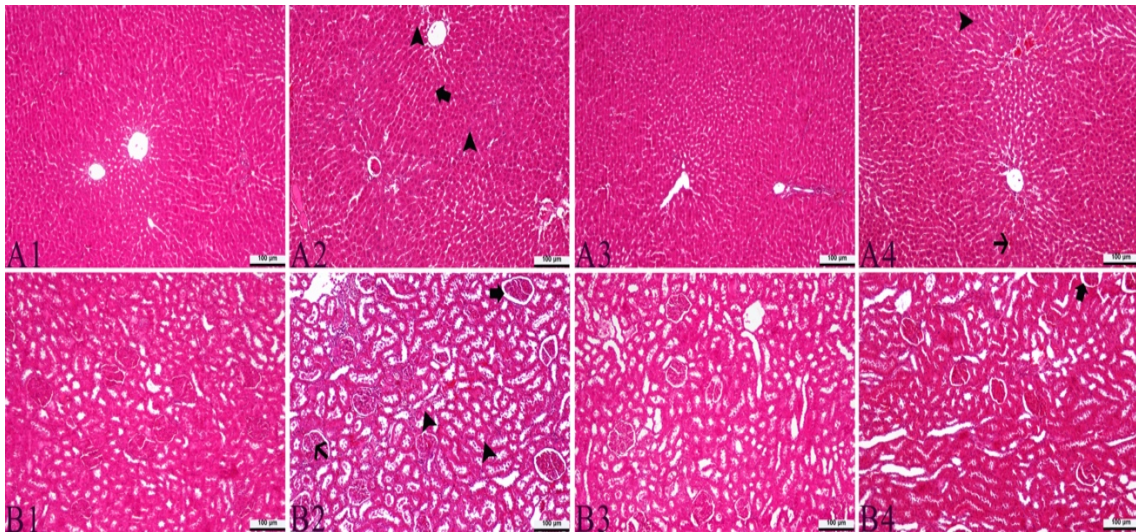
Çizelge 4.17'ye bakıldığında; NF-κB değerlerinin AAF grubunda Kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($p>0,05$), SANG ve AAF+SANG gruplarının NF-κB değerlerinin kendi aralarında anlamlı farklılık göstermediği ancak Kontrol grubu ve AAF grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Şekil 4.17'de NF-κB değerleri grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 4.17 NF-κB değerlerinin grafiksel gösterimi

Histopatolojik Analiz

Histopatolojik muayene görüntüleri Resim 4.1.'de verilmiştir. Tüm şekiller H&E ile boyanmıştır. Orijinal büyütme oranı olarak 10x ve 100 µm kullanılmıştır. A'lar karaciğer, B'ler böbrek dokularını göstermektedir.



Resim 4.1 Rat karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik analiz görüntüleri

Kalın ok, ok başları, ince ok, sırasıyla; hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz alanlarını, çift çekirdekli hepatositleri, sinüzoidal dilatasyon ve hiperemiyi (Şekil4.1: A2, A4); bowman boşluğunda genişlemeyi, tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ile nekrozu, glomerulus kapillar yumağındaki vakuolizasyonları (Şekil 4.1: B2, B4), (1) G1 grubu Kontrol grubu, (2) G2 Asetaminofen uygulanan ratları, (3) G3 Sanggenon C uygulanan ratları, (4) G4 Asetaminofen ve Sanggenon C uygulanan ratlara ait histopatolojik görünümleri göstermektedir.

Çizelge 4.18: Karaciğer ve böbrek doku histopatolojik bulguları

Organ	Histopatolojik Bulgu	Kontrol	AAF	SANG	AAF+SANG (Terapötik)
Karaciğer	Hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz alanları	0,00±0,00 ^c	1,61±0,55 ^a	0,00±0,00 ^c	0,88±1,03 ^b
	Çift çekirdekli hepatositler	0,00±0,00 ^b	2,11±1,09 ^a	0,00±0,00 ^b	1,22±0,1,38 ^a
	Sinüzoidal dilatasyon ve hiperemi	0,00±0,00 ^b	1,27±0,41 ^a	0,00±0,00 ^b	0,53±0,88 ^b
Böbrek	Bowman boşluğunda genişleme	0,00±0,00 ^b	1,43±0,52 ^a	0,00±0,00 ^b	0,71±1,08 ^b
	Tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ile nekroz	0,00±0,00 ^c	2,10±0,89 ^a	0,00±0,00 ^c	1,60±0,0,55 ^b
	Glomerulus kapillar yumağındaki vakuolizasyonlar	0,00±0,00 ^c	2,27±0,41 ^a	0,00±0,00 ^c	1,60±0,55 ^b

a,b,c,d,: Aynı sütunda bulunan ve değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır(p<0,05). AAF; asetaminofen uygulanan grubu, SANG; Sanggenon C uygulanan grubu, AAF+SANG; asetaminofenle toksikasyon oluşturulduktan sonra Sanggenon C verilen terapötik grubu ifade etmektedir.

Çizelge 4.18’de karaciğer ve böbrek dokusunda oluşan defektler gruplara göre sınıflandırılmış ve istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Karaciğer dokusunda Asetaminofen uygulanan grupta hepatositlerdeki yaygın dejenerasyon ve nekroz alanları Kontrol ve Sanggenon C grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Terapötik grup hepatositlerindeki defekt Asetaminofen grubundaki oluşumlara göre anlamlı şekilde düşük, Kontrol ve Sanggenon C grubuna göre anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu

ve Sanggenon C grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Çift çekirdekli hepatositlerin oluşumu açısından; Kontrol grubu ve Sanggenon C grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Asetaminofen uygulanan grup ve terapötik grup arasında da anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Ancak bu iki grubun değerleri Kontrol ve Sanggenon C uygulanan grubun değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Sinüzoidal dilatasyon ve hiperemi; Asetaminofen grubunda diğer grupların tamamına göre anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol, Sanggenon C ve Asetaminofen+Sanggenon C gruplarının değerleri anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Böbrek dokusunda Bowman boşluğundaki genişleme; Asetaminofen grubunda diğer grupların tamamına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ile nekroz ve glomerulus kapillar yumağındaki vakuolizasyonlar incelendiğinde; Asetaminofen uygulanan grupta bu oluşumların diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu, Sanggenon C grubu ve Kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı, teraptik grupta bu oluşumların Kontrol ve Sanggenon C grubuna göre anlamlı şekilde yüksek ancak Asetaminofen grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Geniş bir farmakolojik grubu temsil eden ve günlük yaşantıda sıklıkla kullanılan ağrı kesiciler ve bu kapsamdaki ilaçlardan biri olan asetaminofen, doz aşımı ile terapötik indeksin dışına çıkılmadıkça ve uzun süreli kullanılmadıkça güvenli kabul edilmekte ve risklere yol açmamaktadır.

Ağrı kesici ilaç etkin maddelerinin kendilerine özgü kimyasal yapıları ve farmakokinetik özellikleri, bazı doku ve organlarda ilaç birikimine yol açmaktadır. Klinik kullanımı yaygın olan non-steroidal antiinflamatuvar ilaç grubundan asetaminofen, yüksek dozlarda kullanıldığında metabolizma ve eliminasyonunda rol oynayan organlardan özellikle karaciğer ve böbrekte akut/sistemik toksisiteye sebep olabilmektedir (Bartlett 2004). Bu sebeple akut asetaminofen toksisitesinde hastalarda sıklıkla şiddetli karaciğer hasarı tablosu olduğu raporlanmıştır. Akut toksisite durumlarında hastalara; aktif kömür, mide yıkanması, N-asetilsistein, L-metionin, sisteamin gibi GSH prokürsörü ilaçlar uygulanarak nötralizasyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Akut asetaminofen toksisitesinde N-Asetil Sistein gibi etkinliği kanıtlanmış ajanlar bulunmasına rağmen özellikle de fitokimyasal antioksidanların sürece etkisi maksimum yarar ve minimum zarar ilkesi çerçevesinde yoğun olarak araştırılmaktadır.

Spesifik bir ikincil metabolit grubu olan fenolik antioksidanlar, organizmaları oksijen radikallerinin ve diğer yüksek derecede reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı korumada çok önemli bir rol oynarlar. İnsan organizmasında reaktif maddelerin saldırılarına karşı bazı önleyici ve savunma sistemleri mevcuttur; bununla birlikte, özellikle bazı metabolik, fizyolojik, patolojik ve diğer durumlarda üretimleri arttığında, bu tür maddelerin zararlı faaliyetlerini tamamen ortadan kaldıramazlar. Bu nedenle, gıdalarda yeterli miktarda doğal antioksidan alımı, makromoleküllerin (esas olarak lipidlerdeki doymamış yağ asitleri, kolesterol, farklı fonksiyonel polipeptidler ve proteinler ve nükleik asitler) hücrelerdeki oksidatif hasara karşı korunması için büyük önem taşır. Bitkiler, farklı köken ve işlevlere sahip fenolik bileşikler bakımından zengindir. Bunların çoğu, bitki kökenli gıda maddelerinin temel, biyolojik olarak oldukça aktif bileşenlerine (antiviral, antikanserojenik, vb.) sahiptir. Antioksidan aktivite birçok durumda farmakolojik etkilerinde temel bir rol oynar; bu nedenle oldukça önemlidir. Bununla birlikte, bitki kaynaklı yaygın gıda maddelerindeki fenolik bileşiklerin içeriği ve

bunların antioksidan aktiviteleri hakkında sınırlı miktarda bilgi vardır (Halliwell ve Gutteridge 1992; Middleton ve Kandaswami 1992; Andlauer ve ark. 1998).

Spesifik farmakolojik aktiviteleri, düşük yan etki potansiyelleri ile ilaç endüstrisinde önemli yer teşkil eden bitkisel kimyasallar, tamamlayıcı tıp yanı sıra konvansiyonel tıpta da kabul görmeye başlamış, öncelik kazanmıştır. Bunlardan birisi de, *Morus alba L.*'nin kök kabuğu olan Cortex Mori'den elde edilen Sanggenon C'dir. Sanggenon C farklı biyolojik aktivite potansiyelleri bilimsel araştırmalarla gösterilmiş yeni bir flavanoiddir. Mevcut çalışmalar, Sanggenon C'nin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinin asetaminofen toksikasyonu üzerine ölçülebilir etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Hornig vd. (2016) yayınladıkları çalışmada; asetaminofenin indüklediği hepatik inflamasyonun plazma AST, ALT, ALP düzeylerini yükselttiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ratlara i.p 900mg/kg asetaminofen ile birlikte *Morus Australis* yaprak ekstraktının 0,5% ve 1% dozlarda bir hafta boyunca günde bir defa oral uygulanmasının plazma AST, ALT, ALP düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğünü ve kontrol grubu seviyelerine yaklaştırdığını bildirmişlerdir.

Gu vd.; nekroz yoluyla hücre ölümü ve hücre zarı yırtılması sonucu hücrel kreatin kinaz gibi göstergelerin plazma seviyeleri arasında doğrudan ilişki olduğunu bildirmiştir (Gu vd. 2017). LDH çoğu dokuda bulunması dolayısıyla karaciğer hasar ve hastalıklarının değerlendirilmesinde tek başına yeterli değildir. İnfeksiyöz mononükleozisin neden olduğu hepatitte viral hepatitlerden farklı olarak transaminazlarla birlikte LDH yüksekliği de görülür (Dilek 2003).

Tez çalışmasında ölçülen karaciğer fonksiyon testlerinden AST, ALT, ALP, LDH, CK, asetaminofenin karaciğerde hasara yol açtığını, bu hasarı Sanggenon C'nin bu göstergeler üzerinden izlenebilir şekilde düzelttiğini göstermiştir. Hücre membranına zarar veren etkiler hücreyi yıkıma uğrattıklarında sitoplazmik elementler hücre dışına çıkar. Karaciğerde hepatosit nekrozuna sebebiyet veren bir etki olduğunda, bir hasar olduğunda özellikle AST ve ALT'nin serumdaki miktarı artmaktadır. Elde edilen serum AST değerleri; literatüre paralel olarak asetaminofen uygulanan grupta Kontrol grubuna göre oldukça yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur. Sanggenon C uygulaması da AST seviyelerini asetaminofen grubu kadar olmasa da kontrol grubu değerlerinin üzerine çıkarmıştır. Terapötik grupta AST değerlerinin asetaminofen grubuna göre oldukça

düştüğü, ancak kontrol grubu değerlerinden hala yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuca göre uygulanan Sanggenon C nin, AAF'ın toksik etkilerini anlamlı düzeyde ($p<0,05$) azalttığı düşünülmektedir.

Serum ALT düzeyi asetaminofen uygulanan grupta istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) artış görülmüştür. Bu yükseliş; karaciğer hasarına spesifik olup beklenen bir durumdur (Çizelge 4.2). Hem Sanggenon C uygulanan hem de terapötik grupta ALT değerlerinin kontrol grubu ALT seviyelerinin anlamlı şekilde düşük olması, Sanggenon C'nin akut karaciğer hasarı ve hepatosit nekrozuna karşı güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Karaciğer hasarında artan alkalen fosfatazın (ALP) temel kaynağı biliyer epiteldir. Biliyer epitel hasarına neden olan intra-ekstrahepatik kolestaz yapan nedenler serum ALP seviyesinde artışa neden olur. Serum ALP seviyesinde artış olduğunda kaynağın karaciğer olduğu ya ALP izoenzimleri ölçülerek ya da diğer kolestaz enzimlerinin (GGT gibi) eş zamanlı olarak yükselmesiyle doğrulanması gerekir. Alkol, ilaç ve toksikasyon durumlarında GGT düzeyi artarken, ALP konsantrasyonları değişmemektedir. Yapılan çalışmada ALP değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.3).

LDH, karaciğer patolojileri için aminotransferazlar kadar hassas değildir, tanısal özgüllüğü düşüktür. Hemoliz belirteci olarak daha faydalıdır. Özellikle iskemik hepatiti viral hepatitten ayırt etmek için kullanılır. İskemik ve toksik hepatitlerde LDH düzeylerinde genellikle belirgin artış gözlenir (Marshall ve ark. 1991). Serum LDH düzeyi asetaminofen uygulamasıyla oldukça yükselmiş, terapötik grupta ise anlamlı düzeyde ($p<0,05$) düşüş gözlenmiştir. Bu tablo asetaminofenin karaciğer üzerine indüklediği toksisitenin oluştuğunu, Sanggenon C'nin de terapötik pozitif etkilerinin olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.4).

Kreatin tüm memelilerin vücudunda glisin, arginin ve metiyonin amino asitlerinden karaciğer, böbrekler ve pankreasta sentezlenen bir amino asit türevidir. Biyosentezden sonra iskelet kaslarına, kalbe, beyne ve diğer dokulara taşınır. Bu dokularda ani enerji ihtiyaçlarını karşılamak için ATP'nin yıkılmasına yardımcı olarak enerji depolayıcı form olan 'kreatin fosfat (fosfokreatin)'a dönüşür. Kreatin fosfat kasta ve diğer dokularda ADP'den ATP dönüşümünü sağlayan yüksek enerjili bir fosfat bileşiğidir. Kreatin kinaz

hücrelerde enerji akışı sırasında görev alan Mg^{2+} ile aktive olan transferaz sınıfından bir enzimdir. ATP tarafından kreatin fosfat oluşturmak üzere kreatinin fosforilasyonu katalizler. Aminotransferazlarla karşılaştırıldığında, kreatin kinaz (CK) daha spesifik bir kas hasarı indeksidir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, CK ile ayarlanmış aminotransferaz düzeylerinin, karaciğer hasarının daha da doğru bir biyobelirteçini sunabileceği göstermektedir. Akut karaciğer hasarı CK/AST ve CK/ALT şeklinde de değerlendirilmektedir (Wang ve ark. 2008). Yapılan çalışmada Asetaminofen uygulanan gruptaki CK enzim aktivitesinin kontrole göre istatistiksel anlamlılıkta düşük ($p<0,05$) olduğu görülmektedir. Terapötik grupta ise CK enzim aktivitesi kontrole göre oldukça yüksektir (Çizelge 4.5). Tek başına spesifik bir bilgi vermeyen CK enzim aktiviteleri aminotransferazlara oran olarak karaciğer hasarı belirteci olmaktadır.

Önemli bir oksidatif stres göstergesi olan MDA çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyona uğraması ile oluşmaktadır. MDA, yağ asitlerinin oksidasyonunun spesifik ve kantitatif bir göstergesi olmamakla birlikte membran lipitlerinin peroksidasyonunun dolaylı olarak gösterilmesinde bilimsel çalışmalarda kullanılmakta ve yaygın olarak kabul görmektedir (Eraslan vd. 2007).

Asetaminofenin oluşturduğu hepatik hasar sonucu metabolizmada MDA seviyeleri yükselmektedir. Bu durum birçok yayında bildirilmiştir (Ahmed ve Khater 2001, Li vd. 2013, Yan vd. 2009, Subramanya vd. 2018). Subramanya vd. (2018) yaptıkları çalışmada; AAF'a karşı sitoprotektif etkinin, sıçan hepatositlerinde lipid peroksidasyonunu azaltarak gösterdiğini bildirmişlerdir. Ahmed ve Khater (2000), yaptıkları çalışmada asetaminofenle indüklenmiş karaciğer hasarında asetaminofenin MDA seviyelerini yükselttiğini, kullandıkları *Ambrosia maritima* ekstraktının MDA seviyelerini normal düzeyine çektiğini belirtmişlerdir. Li vd. (2013) yaptıkları çalışmada; asetaminofen ile oluşturdukları karaciğer hasarı sonucu MDA seviyelerinin yükseldiğini, Curcumin uygulamasının ise MDA seviyelerini oldukça iyi seviyelere düşürdüğünü belirtmişlerdir. Yapılan tez çalışmasında MDA düzeyleri bu verilerle paralellik göstermektedir. Asetaminofen uygulamasın karaciğer, böbrek ve eritrosit MDA seviyelerini artırmıştır (Çizelge 4.6). Buna mukabil hem Sanggenon C'nin uygulandığı hem de asetaminofen sonrası uygulandığı grupta; eritrosit, karaciğer ve böbrek dokusu MDA değerleri istatistiksel anlamlılıkta düşük ($p<0,05$) göstermiştir. Hatta böbrek dokusunda Sanggenon C grubu MDA değerleri, kontrol grubu MDA değerlerinden de düşüktür. Karaciğer MDA

değerleri terapötik grupta en düşük seviyesine ulaşmıştır. Bu durumda; deney protokolü kapsamındaki asetaminofen uygulamasının karaciğerde oksidatif hasar oluşturduğu görülmektedir. Sanggenon C uygulamasının lipit peroksidasyonu sonucu oluşan hasara karşı etkili olduğunu göstermektedir.

Reaktif azot türleri (RNT), septik şok, astım, ateroskleroz gibi pek çok hastalık ile ilişkili serbest radikal türlerdir. Nitrik oksit ve nitrojen dioksit, reaktif nitrojen türlerinin iki örneğidir. Nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) tarafından üretilen nitrik oksit, oldukça reaktif bir serbest radikaldir ve karbonhidratlara, lipitlere, proteinlere ve nükleotitlere zarar vererek inflamasyon, adezyon ve doku hasarına neden olur. Aynı zamanda trombosit agregasyonunu inhibe eder. Arterlerin ve damarların kaslarını gevşetirler. Nitrik oksit donörleri, damar genişletici ajanlar olarak da terapötiklerde önemli bir rol oynayabilmektedir (Agarwal ve ark. 2005). Nitrik oksit (NO), lokal bir biyomolekül olması nedeniyle tüm doku ve hücrelerde sentezlenmekte, damar düz kaslarında vazodilatasyona yol açmaktadır. NO, yağda yüksek miktarda çözünmekte, biyolojik membranlardan iyi bir geçiş sağlamaktadır. Bir serbest radikal olarak kabul edilmekle birlikte, reaktivitesi yüksek değildir. Ancak süperoksit ile girdiği tepkime sonucu oluşan peroksinitrit, hidroksil radikaline benzer güçlü bir oksidatif aktiviteye sahip olup radikal reaksiyonları başlatabilmektedir. ROS; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyonu substrat olarak kullanan GSH-Px, GSH-RD, GST gibi endojen antioksidan enzimler tarafından toplanmakta ve nötralize edilmekte ancak reaktif nitrojen türleri (RNS), dolayısıyla NO için böyle bir endojen antioksidan enzim mekanizması bulunmamaktadır. Bu da NO'ü reaktivitesi düşük olsa da bazı durumlarda önemli bir serbest radikal haline getirmektedir (Akkoç 2008). Bu sebeple, kimyasal yapısı ve özellikleri dolayısıyla nitrik oksit, bir oksidatif stres göstergesi olarak kabul edilmekte ve sıklıkla ölçülmektedir.

Dat vd. (2012)'de hücre kültüründe yaptığı çalışmada Sanggenon C'nin, LPS ile indüklenen RAW264.7 hücrelerinde NO üretimini, iNOS ekspresyonunu inhibe ederek azalttığını bildirmişlerdir. *Morus Alba*'nın ekstraksiyonu ve antiinflamatuvar kapasitesinin belirlenmesi için yapılan bir araştırmada; yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde hücre kültüründe LPS ile uyarılmış RAW264.7 hücrelerinde *Morus Alba* içeriğinin NO seviyelerini düşürdüğü görülmüştür (Wu vd. 2018). Benzer şekilde *Morus Alba* dışında bir flavonoid kaynağı olan *Ziziphus jujuba*'nın asetaminofen toksikasyonuna etkilerinin çalışıldığı Huang vd. (2017) çalışması farelerde yapılmış in vitro bir çalışma

olarak benzer sonuçlara ulaşmış, asetaminofenin NO seviyelerini yükselttiği, *Ziziphus jujubanın* ise bu değerleri düşürdüğü rapor edilmiştir.

Bu araştırmada, NO düzeylerinin plazma ve doku örneklerinde asetaminofen gruplarında istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) yüksek, Sanggenon C gruplarında hem plazma hem doku NO değerleri kontrol grubu seviyelerinde bulunmuştur. Terapötik grup olarak tanımladığımız AAF+SANG grubunda plazma ve böbrek dokuda NO düzeyleri kontrol grubundan farklı, karaciğerde kontrol grubu ile aynı bulunmuştur (Çizelge 4.8). Bu veriler asetaminofen toksikasyonu sonucunda reaktif azot türü olan NO düzeyini artırdığını göstermektedir. Oluşan oksidatif stresin NO ile süperoksit gibi serbest radikallerle reaksiyon sonucu olması muhtemeldir. Sanggenon C'nin serbest radikallerle girdiği tepkime sonucu oluşan peroksinitrit dolayısıyla oksidatif aktiviteye sahip olan NO'ü tüm dokularda önemli düzeyde düşürdüğünü ve Sanggenon C'nin serbest radikal giderici etkilerinin sadece karaciğer dokuda hem de böbrek dokuda olduğu görülmektedir.

Antioksidan statü ve aktivite açısından önemli bir substrat olan redükte glutatyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan (γ -glutamil-sisteil-glisin) bir tripeptittir. Antioksidan statü çalışmalarında sıklıkla ölçülmekte özellikle endojen antioksidan etkinliğe yönelik değerli veriler sunmaktadır. GSH, direkt antioksidan olarak etki göstererek okside (GSSG) ve redükte (GSH) formları arasındaki döngüsüyle bu etkinliğini sürdürür. Bu süreçte Glutatyon peroksidaz, Glutatyon Redüktaz gibi Glutatyonun bu döngüsünü destekleyen antioksidan nitelikli enzimlerin rolü önemlidir. Bu enzimler hem hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizleyerek hem de glutatyonu yeniden antioksidan etkinlik gösterecek forma dönüştürerek görev yaparlar (Akkuş 1995, Young ve Woodside 2001).

Bu çalışmada toksik düzeyde uyguladığımız asetaminofen aslında güvenli kullanım sınırları çok sayıda çalışma ile belirlenmiş bir ağrı kesici etkin maddesidir. Asetaminofenin çalışma prensibi, metabolizmasındaki yollar, etki süreci ve hangi yollarla detoksifiye edildiği detaylarıyla önemli ölçüde bilinmektedir. Asetaminofen metabolizmasında oluşan ara metabolit NAPQI, GSH aracılığıyla ortamdaki uzaklaştırılmaktadır (James vd. 2005). Asetaminofen organizmaya özellikle toksik dozda alındığında NAPQI ile bağlanması nedeniyle GSH stoklarında azalma meydana

gelmektedir (Chen vd. 1990). Bununla birlikte asetaminofen indüklü toksisitede flavonoidlerin azalan bu GSH kapasitesini artırıcı etki gösterdikleri ileri sürülmüştür (Huang vd. 2017).

Çalışma bu verileri doku düzeyinde doğrulamış yani araştırmamızda karaciğer ve böbrek dokusu GSH düzeyleri asetaminofen uygulamasına bağlı olarak düşmüş, kan GSH düzeyi ise yükselmiştir. Bu tablo GSH'nın ve GSH'ı antioksidan aktivitede destekleyen enzimlerin daha çok intrasellüler koşullarda etkili olduğunu düşündürmektedir. Sanggenon C hem yalnız başına kullanıldığında hem de terapötik grupta asetaminofen maruziyetinde kullanıldığında GSH seviyelerini değişik aralıklarda yükselterek anlamlı biçimde desteklemiştir (Çizelge 4.7).

Total antioksidan aktivitesinin/kapasitesinin belirlenmesi için, elektron veren veya hidrojen radikalleri (H·) üreten bileşikler/antioksidanlar ile reaksiyona dayanan yöntemler kullanılmaktadır. Elektron transferi ve hidrojen atomu transfer reaksiyonlarını ayırt etmek zor olabilir. Hidrojen atom transfer reaksiyonları, protonla eşleşmiş elektron transferinin bir sonucu olabilir. Yöntemlerin benzer redoks mekanizmalarına rağmen reaktifler ve ürünler farklıdır. Referans olarak Trolox kullanılan TAS ölçümünün yapıldığı çalışmada, asetaminofen toksikasyonunda antioksidan statü ve aktivitenin azaldığını ortaya konmuştur. Bununla birlikte, Sanggenon C hem yalnız başına uygulandığında hem de akut asetaminofen toksikasyonu ile birlikte uygulandığında total antioksidan seviyeyi artırdığı görülmektedir (Çizelge 4.9, Çizelge 4.10, Resim 4.1).

Plazma, böbrek ve karaciğer numunelerinde asetaminofenin oluşturduğu oksidatif stres, anlamlı olarak artan ($p < 0,05$) TOS değerleri sebebiyle net olarak tespit edilmiştir. Asetaminofen grubuna ait TOS değerleri oksidatif stres yükünün arttığına işaret etmektedir.

TAS ve TOS verileri genel itibariyle incelendiğinde; Sanggenon C'nin oksidatif stresi modüle ettiği ve asetaminofenin oluşturduğu oksidatif strese karşı antioksidan kapasiteyi güçlendirdiği söylenebilir. Sonuç olarak hem oksidatif stres göstergesi MDA'yı düşürmedeki etkisi hem NO sentezini ve TOS seviyesini azaltması hem de GSH ve TAS düzeyini artırması Sanggenon C'nin güçlü bir antioksidan olarak önemsenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

İmmün ve inflamatuvar reaksiyonlardaki düzenleyici süreçler, büyük ölçüde, sitokinlerin ana bileşenini oluşturduğu hücreler arası araçlara bağlıdır. İmmün/inflamatuvar reaksiyonların mediatörleri olarak etki gösteren, immün sistem hücreleri arasında iletişimi sağlayan; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen peptid veya glikoprotein yapısında maddeler sitokinler olarak adlandırılırlar ve bağışıklık uyarısına tepki olarak üretilirler. Ancak fazla makrofaj aktivasyonu, anormal serbest radikal üretimi, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar (inflamasyona sebep olabilecek) sitokinlerin fazla üretimi, hücrelerde hasara ve farklı rahatsızlıklara sebep olabilir.

Blazka vd. (1995) asetaminofen intoksikasyonunda tümör nekroz faktörü TNF- α ve interlökin 1 α (IL-1 α) 'nin salındığını ve asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarının patolojik belirtilerinden sorumlu olduğunu ileri sürmüştür. Ayrıca asetaminofenin indüklediği hepatotoksisitenin erken dönem NF- κ B bağlanma aktivitesindeki değişikliklerle ilişkili olduğunu bildirmiştir. James vd. (2005) asetaminofenin indüklediği hepatotoksisitede yükselen TNF- α ve IFN- γ değerlerinin karakteristik olduğunu bildirmişlerdir. Asetaminofenin aşırı dozlarında toksisite oluşumunda; mevcut verilerin, proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ) yukarı regülasyonunun önemli rol oynayabileceğini bildirmiştir.

Ishida vd. (2016); asetaminofen toksikasyonunda TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ seviyelerinin yükseldiğini, IFN- γ 'nın sitokin ve kemokin üretiminin yanı sıra lökosit infiltrasyonu, hepatosit apoptozu ve NO üretimine aracılık ederek asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarından sorumlu olduğunu, IFN- γ 'nin immüno nötralizasyonu, asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarının gelişmesinde terapötik olarak etkili olabileceğini bildirmiştir.

Posadas vd. (2012) asetaminofenin NF- κ B aktivasyonunu artırmak suretiyle insan nöroblastoma hücrelerinin ölümüne sebep olduğunu bildirmişlerdir. Horng vd. (2016) *Morus Australis* (bir dut çeşidi) yapraklarını kullanarak yaptıkları araştırmada; asetaminofenin indüklediği hepatik inflamasyon sonucu artan COX-2 ve NF- κ B aktivitelerinin *Morus Australis* uygulaması sonucu kontrol grubuna yakın seviyelere düştüğünü bildirmişlerdir. Gökşen ve Keleşçi (2010)' da yayınladıkları makalede; NSAİ ilaçların COX-2 ve bağlı prostaglandinlerin üretimini artırdığını, bu durumun metabolik

hasarlar oluşturabildiğini, bu sebeple antiinflamatuvar tedavide COX-2 dual inhibitörlerinin kullanışlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Gu vd. (2017) Sanggenon C'nin kardiyomiyosit hipoksisine karşı etkilerini araştırdıkları makalede Sanggenon C'nin kardiyomiyositlerdeki TNF- α , IL-6 seviyelerini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Sanggenon C'nin kardiyomiyosit hipoksisine karşı koruyuculuk sağladığını belirttikleri çalışmada; NF- κ B aktivitesini baskılayarak kardiyomiyositlerde TNF- α üretimini engellediğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada Sanggenon C'nin IL-1 β ve IL-6 seviyelerini de düşürdüğü bildirilmiştir. Zhao ve Xu (2020), Sanggenon C'nin inflamasyon ve oksidatif stresi inhibe ederek serebral iskemi reperfüzyon hasarını iyileştirdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada yüksek doz Sanggenon C'nin TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyelerini dramatik şekilde düşürdüğü bildirilmiştir.

Yapılan çalışmadaki serum ve doku değerleri; asetaminofenin tüm dokularda TNF- α seviyelerini yükselttiğini göstermiştir (Çizelge 4.11). Serum örneklerinde, Sanggenon C ve terapötik uygulama yapılan gruplarda TNF- α değerleri Kontrol grubu değerlerine benzer düzeydedir. Böbrek dokusunda her iki grubun TNF- α düzeyi toksikasyon grubuna yakın bulunmuştur. Karaciğer; TNF- α seviyesi açısından Sanggenon C'nin terapötik etkisinin en güçlü görüldüğü dokudur. Sanggenon C karaciğer TNF- α seviyesini akut toksikasyon grubuna göre anlamlı düzeyde düşürmüştür (Çizelge 4.11). Bu tablo, uygulanan düzeyde Sanggenon C'nin karaciğerdeki akut toksisiteyi gidermekle birlikte, karaciğerde inflamasyon süreci başlamasına engel olamamış bu da doku harabiyetinin tamamen önüne geçemediğini düşündürmektedir. Sonuç olarak kontrol grubu değerlerine göre yüksek bulursa da Sanggenon C'nin asetaminofenin toksik etkilerini inhibe ettiği görülmektedir.

Çalışmada IL-1 β değerleri literatüre uygun olarak asetaminofen gruplarında ciddi bir artış göstermiştir (Çizelge 4.12). Sadece Sanggenon C uygulaması IL-1 β seviyesini böbreklerde düşürmüştür. Serum ve karaciğerde Sanggenon C, antiinflamatuvar etkisini bariz olarak göstermiş, asetaminofen grubu değerlerine göre anlamlı bir düşüş sağlamıştır. IL-6 bulgularına göre Sanggenon C'nin yangısal sürece etkisi IL-1 β ile TNF- α 'ya etkilerinden farklı bulunmuştur. Sanggenon C böbreklerde AAF toksikasyonuna bağlı IL-6 seviyelerini düşürmüştür (Çizelge 4.13). IFN- γ seviyeleri de Sanggenon C'nin

bütün dokularda antiinflamatuvar etkisinin güçlü olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.14).

Siklooksigenaz (COX-2) enzim aktiviteleri incelendiğinde; asetaminofenin COX-2 seviyelerini karaciğerde düşürdüğü görülürken, Sanggenon C uygulanan grupta COX-2 seviyelerinin kontrol grubu COX-2 seviyelerinden farklı olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.15). Bu grubun gösterdiği veriler; belirgin akut veya kronik hasarı bulunmayan organizmada Sanggenon C uygulamasının toksik herhangi bir etkiye sebep olmadığını, terapötik grupta elde edilen verilerse akut toksikasyona karşı Sanggenon C'nin oluşabilecek metabolik hasarlara karşı terapötik etkinliğinin bulunduğunu göstermektedir.

PGE2 seviyelerinin asetaminofen uygulanan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük ve terapötik gruptaki ise anlamlı ($p<0,05$) yüksek olması, Sanggenon C uygulamasının toksikasyon üzerinde etkili olduğu sonucunu verebilmektedir. NF- κ B seviyeleri asetaminofen uygulaması ile kontrol grubuna kıyasla değişim göstermemiştir (Çizelge 4.16, Çizelge 4.17).

Bu bulgular, asetaminofenin ölçülen dokular ve kanda antiinflamatuvar etkinliğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte farklı toksikasyonlar, viral veya mikrobiyal böbrek ve karaciğer hasarlarında Sanggenon C'nin immün spesifik etkilerine yönelik çalışmaların yapılmasının gerektiğini göstermektedir.

Histopatolojik muayene ve sonrasında yapılan istatistiki hesaplama ile elde edilen sonuçlara göre; hepatositlerde en çok asetaminofen grubunda görülen hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz alanlarının oksidatif stres ve plazmadaki enzimlerin artışından kaynaklandığı söylenebilir. Bu durumun terapötik grupta asetaminofen grubuna göre anlamlı şekilde ($p<0,05$) daha az görülmesi ise Sanggenon C'nin oksidatif stres ve hücre hasarı üzerindeki olumlu etkisi ile açıklanabilir. Diğer gruplara kıyasla asetaminofen grubunda anlamlı şekilde daha yüksek görülen sinüzoidal dilatasyon ve hiperemi hepatosit nekrozu kaynaklı olabilir. Böbrek dokusunda yine en yüksek toksikasyon grubunda görülen bowman boşluğundaki genişleme, glomerulustan bowman boşluğuna doğru sıvı/ödem birikiminin olabileceğine işaret ediyor olabilir. Tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler ile nekroz toksikasyon dolayısıyla

hücre membran komponentlerinin yapısının bozulmasıyla ilintili olabilir (Demirel 2012). Histopatolojik muayenede; Sanggenon C uygulanan grup Kontrol grubu değerleriyle ayrışan hiçbir sonuç vermemiş olup, terapötik grubun değerlerinin Sanggenon C'nin onarıcı etkisini istatistiki olarak da gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Histopatolojik bulgular, doku ve kan biyokimyasal göstergeleriyle uyumluluk içerisinde, AAF uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda toksik etkileri hepatosit ve böbrek hücrelerinde yapısal olarak gösterilmiş, Sanggenon C'nin koruyucu etkisi aynı şekilde fotoğraflanmıştır (Resim 4.1).

Sonuç olarak, akut asetaminofen maruziyeti (0,5 g/kg) dokularda inflamasyon ve oksidatif stres oluşturmuştur. Asetaminofenin akut toksikasyonunda Sanggenon C'nin karaciğer, böbrek ve kanda antiinflamatuvar ve antioksidatif etkili olduğu görülmüştür. Sanggenon C antioksidan etkisini; radikal süpürücü ve detoksifiye edici mekanizmalarla göstermektedir. Histopatolojik bulgular, AAF uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda toksik etkili olduğunu göstermiştir. Sanggenon C'nin dokudaki bu toksikasyona karşı da koruyucu etkili olduğu fotoğraflanmıştır. Bu koruyuculuğun, kan parametreleri ve doku gösterimlerinin birbirleriyle uyumlu olması sebebiyle oldukça güçlü olduğu düşünülmüştür. Sanggenon C, hakkında yeterli çalışmanın yapılmadığı bir polifenolik bir fitokimyasaldır. Özellikle toksisite çalışmalarında terapötik bir ajan olarak kullanıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Bu tez çalışması ile Sanggenon C nin asetaminofen akut etkileşimi ve toksikasyonu hakkında literatüre önemli katkılar sağlanmıştır. Sanggenon C'nin antiinflamatuvar etkili olduğu ve kan, karaciğer ve böbrekte güçlü bir antioksidan etki gösterdiği, doku toksisitesine karşı bir detoksifikasyon kimyasalı olabileceği görülmüştür. Bunun yanında Sanggenon C'nin, hangi toksikasyonlarda ne düzeyde etkili olduğunun, antioksidan etkisinin spesifikliğinin ve hangi dozlarda güçlü antioksidan etki gösterdiğinin; antiinflamatuvar etkinin spesifik mi yoksa diğer inflamasyonlarda da etkili mi olduğunun araştırılacağı yeni çalışmalar da yapılarak bu konuda daha kapsamlı veriler elde edinilebileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbas A K, Lichtman A H, Pillai S, 2014, Basic immunology: functions and disorders of the immune system, Elsevier Health Sciences, ISBN: 1455707074
- Agarwal A, Gupta S, Sharma R K, 2005, Role of oxidative stress in female reproduction, *Reprod Biol Endocrinol*, 14, 3-28
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M, 2012, Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance, *Plant science*, 196, 67-76.
- Ahmed M B, Khater M R, 2001, Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage, *Journal of ethnopharmacology*, 75,169-174
- Akdoğan M, Yöntem M, 2018, Sitokinler, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3, 36-45
- Akkoç H, 2008, Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı, *Dicle Tıp Dergisi*, 35, 211-215
- Akkuş İ, 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya
- Akpoyraz M, Durak İ, 1995, Serbest radikallerin biyolojik etkileri, *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of the Faculty of Medicine)*, 48, 253-262
- Aktaş Ö, Eskiocak S, Özgün G, Yalçın Ö, Süt N, 2013, Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi, *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 38, 475-482
- Andlauer W, Stehle P, Furst P, 1998, Chemopreventions, A novel approach in dietetics, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 1, 539-547.
- Aslan R, 1999, Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımda antioksidanlar, *İlaç ve Tedavi Dergisi*, 12, 475-480
- Aslan R, 2018, Antioxidant Safety and Antioxidant-induced Stress, *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11, 491-496
- Bartlett D, 2004, Acetaminophen toxicity, *Journal of Emergency Nursing*, 30, 281-283
- Bhagavan N V, 2002, *Medical Biochemistry*, Harcourt/Academic Press, USA

- Beutler E, Dubon O, Kelly B M, 1963, Improved method for the determination of blood glutathione, *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
- Blazka M E, Wilmer J, Holladay S, Wilson R, Luster M, 1995, Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity, *Toxicology and applied pharmacology*, 133, 43-52
- Blokhina O, Virolainn E, Fagerstedt K, 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Annals of botany*, 91,179-194
- Bogdanos D P, Gao B, Gershwin E M, 2013, Liver Immunology, *Comprehensive Physiology*, 3, 567-598
- Bradford M M, 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72, 248-254
- Brandon G, 2012, Paracetamol Information Centre, Suite.
- Brune K, Renner B, Tiegs G, 2015, Acetaminophen/paracetamol: a history of errors, failures and false decisions, *European Journal of Pain*, 19, 953-965
- Butt M S, Nazir A, Sultan M T, Schroen K, 2008, *Morus alba* L. nature's functional tonic, *Trends in food science & technology*, 19, 505-512
- Champe P C, Harvey R, Ferrier D R, 2005, *Biochemistry*, Lippincott Williams & Wilkins, ISBN:0781722659
- Chen T S, Richie Jr J P, Lang C A, 1990, Life span profiles glutathione and acetaminophen detoxification, *Drug Metab Dispos*, 18, 882-887
- Chen H-Y, Lin F-Y, Liu P-L, Huang Y-T, Chiu J-H, Chang Y-C vd., 2009, Antioxidative and Hepatoprotective Effects of Magnolol on Acetaminophen-induced Liver Damage in Rats, *Archives of Pharmacal Research*, 32, 221-228
- Chen L-D, Liu Z-H, Zhang L-F, Yao J-N, Wang C-F, 2017, Sanggenon C induces apoptosis of colon cancer cells via inhibition of NO production, iNOS expression and ROS activation of the mitochondrial pathway, *Oncology reports*, 38, 2123-2131

- Dat N T, Xuan Binh P T, Phuong Quynh L, Huong H T, 2012, Sanggenon C and O inhibit NO production, iNOS expression and NF- κ B activation in LPS-induced RAW264. 7 cells, *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 34, 84-88
- Delibaş N, Özcankaya R, 1995, Serbest Radikaller, S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, 2, 11-17
- Demirel H H, 2012, Ratlarda Arsenik Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan *Cistus Laurifolius L.* (Cistacea) Bitkisinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 183, Afyonkarahisar
- Dilek O N (Ed), 2003, Karaciğer (Cilt 1 ve 2), Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon
- Dinarello C A, 2010, Anti-inflammatory agents: present and future, *Cell*, 140, 935-950
- Doyon S, Klein-Schwartz W, 2009, Hepatotoxicity despite early administration of intravenous N-acetylcysteine for acute acetaminophen overdose, *Academic Emergency Medicine*, 16, 34-39
- Du J, He Z-D, Jiang R-W, Ye W-C, Xu H-X, But P P-H, 2003, Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba L.*, *Phytochemistry*, 62, 1235-1238
- Durmuş A S, 2005, Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi, Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Dergisi , 3, 20-27
- Dündar Y, 2001, Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2, 131-138
- Dündar Y, Aslan R, 2000, Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, 29-95, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon.
- El-Beshbishy H A, Singab A, Sinkkonen J, Pihlaja K, 2006, Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba L.* (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats, *Life sciences*, 78, 2724-2733
- Emet M, 2016, Asetaminofen (Parasetamol) Zehirlenmesi, *Türkiye Klinikleri J Emerg Med-Special Topics*, 2, 51-57
- Emral R, 2006, Adiponectin and other cytokines, *J Med Sci*, 26, 409-420

- Eraslan G, Kanbur M, Silici S, 2007, Evaluation of propolis effects on some biochemical parameters in rats treated with sodium fluoride, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 273–283
- Erel O, 2004, A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clinical biochemistry*, 37, 112-119
- Erel O, 2005, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clinical biochemistry*, 38, 1103-1111
- Fairbanks V, Klee G, 1987, Biochemical aspect of hematology, 803-806, *Fundamentals of Clinical Chemistry*
- Fedakar Ö, 2010, Karnozin ve Melatoninin Asetaminofen aracılı Akut Karaciğer toksisitesi üzerine olan etkilerinin araştırılması, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta
- Ghanem C, Perez M J, Manautou J E, Mottino A D, 2016, Acetaminophen from liver to brain: new insights into drug pharmacological action and toxicity, *Pharmacological research*, 109, 119-131
- Gu Y, Gao L, Chen Y, Xu Z, Yu K, Zhang D, vd., 2017, Sanggenon C protects against cardiomyocyte hypoxia injury by increasing autophagy, *Molecular medicine reports*, 16, 8130-8136
- Gutteridge J, 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical chemistry*, 41, 1819-1828
- Güner İ, Özmen D, Bayındır O, 1997, Sitokinler, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 2, 65-74
- Halliwell B, Gutteridge J M C, Cross C E, 1992, Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now?, *J. Lab. Clin. Med.*, 119, 598-620.
- Hames D, Hooper N, 2000, *Instant notes in biochemistry*, Garland Science, ISBN:0203645278
- Harris E D, 1992, Regulation of antioxidant enzymes 1, *The FASEB Journal*, 6, 2675-2683

- Hedenrud T, Håkonsen H, 2017, Purchase habits, use of paracetamol, and information sources on a reregulated Swedish pharmacy market: a population-based study, *Health policy*, 121, 35-41
- Hilal-Dandan R (Ed), Brunton L (Ed), 1996, *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, McGraw-Hill New York, ISBN: 978-0-07-179288-2, USA
- Holtman H, Resch K, 1995, Cytokines, *Naturwissenschaften*, 82, 178-187
- Hornig C-T, Liu Z-T, Huang Y-T, Lee H-J, Wang C-J, 2017, Extract from Mulberry (*Morus australis*) leaf decelerate acetaminophen induced hepatic inflammation involving downregulation of myeloid differentiation factor 88 (MyD88) signals, *Journal of food and drug analysis*, 25, 862-871
- Huang H, Liu N, Zhao K, Zhu C, Lu X, Li S, vd., 2011, Sanggenon C decreases tumor cell viability associated with proteasome inhibition, *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3, 1315
- Huang W, Wang Y, Jiang X, Sun Y, Zhao Z, Li S, 2017, Protective effect of flavonoids from *Ziziphus jujuba* cv. Jinsixiaozao against acetaminophen-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammation in mice, *Molecules*, 22, 1781
- Ilavenil S, Al-Dhabi N A, Sriganesh S, Ock Kim Y, Agastian P, Baru R, vd., 2016, Acetaminophen induced hepatotoxicity in wistar rats-A proteomic approach, *Molecules*, 21, 161
- Ishida Y, Kondo T, Ohshima T, Fujiwara H, Iwakura Y, Mukaida N, 2002, A pivotal involvement of IFN- γ in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury, *Faseb J*, 16, 1227-1236
- Jakoby W B, Ziegler D M, 1990, The enzymes of detoxification, *J. Biol. Chem.*, 265, 20715-18
- James L P, Simpson P M, Farrar H, Kearns G, Wasserman G, Blumer J L, vd., 2005, Cytokines and toxicity in acetaminophen overdose, *The Journal of Clinical Pharmacology*, 45, 1165-1171
- Jung J-W, Ko W-M, Park J-H, Seo K-H, Oh E-J, Lee D-Y, vd., 2015, Isoprenylated flavonoids from the root bark of *Morus alba* and their hepatoprotective and neuroprotective activities, *Archives of pharmacal research*, 38, 2066-2075

- Kahraman A, Serteser M, Köken T, 2002, Flavonoidler, Kocatepe Tıp Dergisi, 3, 1-8
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik A M, 2006, Biyokimya, Nobel Yayın, ISBN:9755911316
- Katzung B G, 2012, Basic and clinical pharmacology, Mc Graw Hill, ISBN:007176402X
- Kayaalp O, 1996, Tıbbi farmakoloji, Hacettepe-Taş, ISBN:9757731234, Ankara
- Klover P J, Mooney R A, 2004, Hepatocytes: critical for glucose homeostasis, The international journal of biochemistry & cell biology, 36, 753-758.
- Li L-C, Shen F, Hou Q, Cheng G-F, 2002, Inhibitory effect and mechanism of action of sanggenon C on human polymorphonuclear leukocyte adhesion to human synovial cells, Acta Pharmacologica Sinica, 23, 138-142
- Li G, Chen J-B, Wang C, Xu Z, Nie H, Qin X-Y, vd., 2013, Curcumin protects against acetaminophen-induced apoptosis in hepatic injury, World Journal of Gastroenterology: WJG, 19, 7440
- Li X, Ren Z, Wu Z, Fu Z, Xie H, Deng L, vd., 2018, Steric Effect of Antioxidant Diels-Alder-Type Adducts: A Comparison of Sanggenon C with Sanggenon D, Molecules, 23, 2610
- Margetts R, 1976, Phenacetin and Paracetamol, Journal of International Medical Research, 4, 55-70
- Marshall T, Williams J, Williams K M, 1991, Electrophoresis of serum isoenzymes and proteins following acute myocardial infarction, J Chromatogr, 569:323-45
- Mccord J M, 1993, Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance, Clinical biochemistry, 26, 351-357
- Mercan U, 2004, Toksikolojide serbest radikallerin önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15, 91-96
- Meredith T, Goulding R, 1980, Paracetamol, Postgraduate medical journal, 56, 459-473
- Middleton E, Kandaswami C, 1992, Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell function, Biochem. Pharmacol., 43, 1167-1179
- Miranda K M, Espey M G, Wink D, 2001, A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, Nitric oxide, 5, 62-71

- More S S, Nugent J, Vartak A P, Nye S M, Vince R, 2017, Hepatoprotective effect of ψ -glutathione in a murine model of acetaminophen-induced liver toxicity, *Chemical research in toxicology*, 30, 777-784
- Murray R K, Granner D K, Mayes P A, Rodwell V W, 2000, *Harper's Biochemistry*, Appleton and Lange, Stamford, CT.
- Nomura T, Fukai T, Hano Y, 1983, Constituents of the Chinese Crude Drug „Sāng-Bái-Pí”(Morus Root Bark), *Planta medica*, 47, 30-34
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K, 1979, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical biochemistry*, 95, 351-358
- Opal S, DePalo V A, 2000, Anti-inflammatory cytokines, *Chest*, 117, 1162-1172
- Oyman A, 2014, Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte silymarin'in koruyucu etkileri, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne
- Pietta P-G, 2000, Flavonoids as antioxidants, *Journal of natural products*, 63, 1035-1042
- Prescott L, 1980, Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin, *British journal of clinical pharmacology*, 10, 291-298
- Price V F, Miller M G, Jollow D J, 1987, Mechanisms of Fasting-Induced Potentiation of Acetaminofen Hepatotoxicity in the Rat, *Biochem Pharmacol*, 36, 427-433
- Racanelli V, Reherrmann B, 2006, The Liver as an Immunological Organ, *Hepatology*, 43, 54-62
- Rang H P, Dale M M, 2007, *Rang and Dale's pharmacology*, ISBN:0443069115, Elsevier Brasil
- Repine J E, Bast A, Lankhorst I, 1997, Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 156, 341-357
- Reznick A Z, Carroll E C, Hu M, Suzuki Y J, Khwaja S, Safadi A, vd., 1992, Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation, *Biochem. J.*, 286, 607-611
- Rice-Evans C, 2001, Flavonoid antioxidants, *Current medicinal chemistry*, 8, 797-807
- Ronco P M, Flahault A, 1994, *Drug-induced end-stage renal disease*, ISBN/ISSN: 0028-4793, Mass Medical Soc.

- Sánchez-Salcedo E M, Mena P, Garcia-Viguera C, Martinez J J, Hernandez F, 2015, Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties, *Journal of Functional Foods*, 12, 399-408
- Serafini M, Peluso I, Raguzzini A, 2010, Flavonoids as anti-inflammatory agents, *Proceedings of the Nutrition Society*, 69, 273-278
- Solomons G, Fryhle C, 2002, *Organik Kimya*, Çeviri: Okay G, Yıldırım Y, 7. Baskı, Literatür Yayıncılık, İstanbul
- Stevenson M A, Pollock S S, Coleman C N, Calderwood S, 1994, X-irradiation, phorbol esters, and H₂O₂ stimulate mitogen-activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates, *Cancer research*, 54, 12-15
- Su G L, 2002, Lipopolysaccharides in liver injury: molecular mechanisms of Kupffer cell activation, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283, 256-265
- Subramanya S, Venkataraman B, Meeran M F N, Goyal S, Patil C, Ojha S, 2018, Therapeutic potential of plants and plant derived phytochemicals against acetaminophen-induced liver injury, *International journal of molecular sciences*, 19, 3776
- Thomas M J, 1995, The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working?, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35, 21-39
- Venkatesh Kumar R, Chauhan S, 2008, Mulberry: life enhancer, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 271-278
- Wang L, Chen M, Xu M, Li J, Feng P, He R, vd., 2018, Ratio of Creatine Kinase to Alanine Aminotransferase as a Biomarker of Acute Liver Injury in Dystrophinopathy, *Disease Markers*, Article ID 6484610
- Wang H, Feng T, Guo D, Zhang M, Chen L, Zhou Y, 2018, Sanggenon C stimulates osteoblastic proliferation and differentiation, inhibits osteoclastic resorption, and ameliorates prednisone-induced osteoporosis in Zebrafish model, *Molecules*, 23, 2343

- Weber G, Shen F, Prajda N, Yang H, Li W, Yeh A, vd., 1997, Regulation of the signal transduction program by drugs, *Advances in enzyme regulation*, 37, 35-55
- Wei H, Zhu J-J, Liu X-Q, Feng W-H, Wang Z-M, Yan L-H, 2016, Review of bioactive compounds from root barks of *Morus* plants (Sang-Bai-Pi) and their pharmacological effects, *Cogent Chemistry*, 2, 1212-320
- Wei B, Yang W, Yan Z-X, Zhang Q-W, Yan R, 2018, Prenylflavonoids sanggenon C and kuwanon G from mulberry (*Morus alba* L.) as potent broad-spectrum bacterial β -glucuronidase inhibitors: Biological evaluation and molecular docking studies, *Journal of Functional Foods*, 48, 210-219
- Wu Y-X, Kim Y-J, Kwon T-H, Tan C-P, Son K-H, Kim T, 2020, Anti-inflammatory effects of mulberry (*Morus alba* L.) root bark and its active compounds, *Natural product research*, 34, 1786-1790
- Xiao L, Gu Y, Gao L, Shangguan J, Chen Y, Zhang Y, vd., 2017, Sanggenon C protects against pressure overload-induced cardiac hypertrophy via the calcineurin/NFAT2 pathway, *Molecular medicine reports*, 16, 5338-5346
- Yan S-L, Wu S-T, Yin M-C, Chen H-T, Chen H-C, 2009, Protective Effects from Carnosine and Histidine on Acetaminophen-Induced Liver Injury, *Journal of Food Science*, 74, 259-265
- Yıldırım Y, Yılmaz Z, Kara A V, Kadiroğlu A K, Yılmaz M E, 2016, Nonsteroid Antienflamatuar İlaçlar ve Böbrek, *Konuralp Medical Journal/Konuralp Tip Dergisi* , 8, 56-60
- Young I, Woodside J, 2001, Antioxidants in health and disease, *Journal of clinical pathology*, 54, 176-186
- Yu B P, 1994, Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiological reviews*, 74, 139-162
- Yurttas H, Schafer H W, Warthasen J J, 2000, Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus* spp.) phenolics, *Journal of food science*, 65, 276-280
- Zhao Y, Xu J, 2020, Sanggenon C Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Inflammation and Oxidative Stress through Regulating RhoA-ROCK Signaling, *Inflammation*, DOI: 10.1007/s10753-020-01225-w

Zhou P, Dong X-X, Tang P, 2017, Sanggenon C induces apoptosis of prostate cancer PC3 cells by activating caspase 3 and caspase 9 pathways, Journal of Southern Medical University, 37, 1206-1210

İnternet Kaynakları

- 1- https://pediatrics.aappublications.org/content/113/Supplement_3/1097.long/,
15/12/2020
- 2- <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.21060/>,
07/08/2020
- 3- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2984286/>, 21/06/2020

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zeyneb KARAKUŞ
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya 21.06.1989
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0531 551 81 44 / zeynebaslan@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi
Kimya Bölümü (2008-2012)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi-
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı (2012-2014)
Doktora : Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı (2015-2021)

Yayımları (SCI ve diğer)

Aksoy L, Kolay E, Ağılönü Y, Aslan Z, Kargıoğlu M, 2013, Free Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Content, Total Antioxidant Status, and Total Oxidant Status of Endemic Thermopsis turcica, Saudi Journal of Biological Science, 20, 235-239

Aslan Z, Aksoy L, 2014, Anti-inflammatory Effects of Royal Jelly on Ethylene Glycol Induced Renal Inflammation in Rats, International Brazillian Journal of Urology, 41, 1008-1013

Aksoy L, Aslan Z, 2017, Nephroprotective and Antioxidative Effects of Royal Jelly on Ethylene Glycol Induced Nephropathy in Rats, Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg, 64, 241-248

Karakuş Z, Aslan R, 2019, Fonksiyonel Bir Gıda Takviyesi: Arı Sütü (Royal Jelly), Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi, 70, 13-18

Aslan R, Karakuş Z, 2019, Gelenekten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Goller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi Ayrıntı, 73, 60-66

EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(AKUHADYEK)

Sayı: 49533702/ 43
Konu: AKUHADYEK-35-19-Referans nolu araştırma
Doç. Dr. Laçine AKSOY
AKÜ. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Böl.
Afyonkarahisar

Tarih : 19/02/2019

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğunuz "Ratlarda Asetaminofen Toksikasyonunda Sanggenon C'nin Antioksidan ve Antiinflamatuar Etkilerinin Araştırılması" isimli araştırma projesi AKUHADYEK yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna karar verilmiş ve **onaylanmıştır**.

Görevi	Adı	İmza	Görevi	Adı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Yahya KUYUCUOĞLU		Üye	Doç. Dr. Musa KORKMAZ	
Üye	Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ		Üye	Vet. Hekim Engin GÖKSEL	
Üye	Prof. Dr. Hatice ÇİÇEK		Üye	(sivil toplum kuruluş üyesi) Halil KARGA	
Üye	Doç. Dr. Sinan İNCE		Üye	(Halk üyesi) Yunus DOLU	
Üye	Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN				

Gazlıgöl yolu üzeri A.N.S kampüsü 03200 AFYONKARAHİSAR