

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜN
NEDEN OLDUĞU DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ**

Uzm. Dr. Zamir Kemal ERTÜRK

Tıbbi Farmakoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2022

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜN NEDEN
OLDUĞU DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ**

Uzm. Dr. Zamir Kemal ERTÜRK

**Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT**

**ANKARA
2022**

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜN NEDEN OLDUĞU
DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ**

Uzm. Dr. Zamir Kemal Ertürk

**Danışman
Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT**

Bu tez çalışması 07.06.2022 tarihinde jürimiz tarafından Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Doktora Programı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

- Jüri Başkanı :** Prof. Dr. Mehmet Yıldırım SARA
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
- Üye :** Prof. Dr. Melih Önder BABAOĞLU
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
- Üye :** Prof. Dr. Remzi ERDEM
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
- Üye :** Doç. Dr. Güray SOYDAN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
- Üye :** Doç. Dr. Ergin DİLEKÖZ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

**Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN
Enstitü Müdürü**

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

04/07/2022

Uzm. Dr. Zamir Kemal Ertürk

Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.*
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

** Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.*

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, **Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT** danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Uzm. Dr. Zamir Kemal ERTÜRK

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki doktora programı eğitimi boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, farmakoloji alanında iyi bir bilgi ve deneyim sahibi olmamda büyük emeği olan, değerli tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın **Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT**'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez sürecimin biyokimyasal analizlerinde desteğini hiç esirgemeyen Sayın **Prof. Dr. Yeşim GÖÇMEN**'e, histopatolojik analizleri gerçekleştiren Sayın **Doç. Dr. Züleyha Doğanyigit**'e teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca eğitimime, bilimselliğime ve akademik gelişimime katkısı olan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyeleri **Prof. Dr. Mehmet Yıldırım SARA**, **Prof. Dr. Melih Önder BABAOĞLU**, **Doç. Dr. Güray SOYDAN**, **Doç. Dr. Ahmet Mert ERTUNÇ**'a teşekkür ederim.

Tez deney sürecimde birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşım **Dr. Esin ÖZÇELEBİ**'ye teşekkür ederim.

Uzm. Dr. Zamir Kemal Ertürk

ÖZET

Ertürk, Z.K., Kolinerjik Agonist Karbakolün Farede Parasetamolün Neden Olduğu Deneysel Hepatotoksisiteye Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2022. Farede parasetamol ile oluşturulan hepatik hasarda kolinomimetik etkinliği olan karbakolün (CCh), hepatik hasar üzerine etkisi *in vivo* olarak değerlendirildi. Ek olarak parasetamole bağlı zehirlenmelerde antidot olarak kullanılan N-Asetilsistein (NAC) ile karbakolün etkinliği karşılaştırıldı. Parasetamol (APAP) toksisitesinde, parasetamolün hepatositler için toksik bir metaboliti olan N-asetil-p-benzokinon imin (NAPQI) üretimi artar. NAC'ın antidot etkisi, bu toksik metaboliti detoksifiye eden glutatyonun (GSH) öncülü olarak fonksiyon göstermesinden ileri gelmektedir. Parasempatomimetik etkinin parasetamol toksisitesinde birçok mekanizma üzerinden olumlu katkısı olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulmuş farelerde NAC, CCh ve NAC+CCh tedavileri uygulandı. Mezenter arter ve portal ven kan akımı ölçüldü. AST, ALT, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 düzeylerine bakıldı ve parasetamol toksisitesi sonrasında bu değerlerde yükselme tespit edildi. NAC, CCh, NAC+CCh uygulanan gruplarda ise bu yükselmenin daha az olduğu görüldü. Çalışmada bu parametrelere ek olarak TAS, TOS, GSH, GSSG düzeyleri ölçüldü. Parasetamol toksisitesi sonrası antioksidan moleküllerde azalma, oksidan moleküllerde ve oksidatif stres indeksinde artma görüldü. NAC, CCh, NAC+CCh uygulanan gruplarda ise antioksidan moleküllerdeki azalmanın, oksidan moleküllerdeki ve oksidatif stres indeksindeki artışın daha az olduğu tespit edildi. Histopatolojik değerlendirmelerde biyokimyasal bulgularla uyumlu sonuçlar elde edildi. Parasetamole bağlı gelişen hepatotoksisitede parasempatomimetik etki inflamasyonu azaltmak, antioksidan yolları etkinleştirmek gibi birçok mekanizma üzerinden koruyucu etki gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: Parasetamol, hepatotoksisite, muskarinik reseptörler, NAC, karbakol.

ABSTRACT

Ertürk, Z.K., The Effect of Cholinergic Agonist Carbachol on Paracetamol-Induced Experimental Hepatotoxicity in Mice, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Philosophy of Doctorate (PhD) Thesis in Medical Pharmacology, Ankara, 2022. The effect of carbachol (CCh), which is a cholinomimetic agent, on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice was evaluated *in vivo*. In addition, the effectiveness of N-acetylcysteine (NAC) as an antidote in APAP-related poisoning and the effectiveness of CCh were compared. In the toxicity of paracetamol (APAP), the production of N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), which is a toxic metabolite of paracetamol for hepatocytes, increases. The antidote effect of NAC is due to its function as a precursor of GSH, which detoxifies NAPQI. Studies in the literature show that the parasympathomimetic effect may contribute positively to paracetamol toxicity through many mechanisms. In this study, NAC, CCh, and NAC+CCh were administered to mice with APAP toxicity. Mesenteric artery and portal vein blood flow were measured. AST, ALT, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, levels were measured and an increase was observed in APAP toxicity. The increases were mild relatively in the groups administered NAC, CCh, NAC+CCh. In addition to these parameters, TAS, TOS, GSH, GSSG levels were also measured in the study. After APAP toxicity, a decrease in antioxidant molecules, an increase in oxidant molecules, and oxidative stress index were observed. In the groups administered NAC, CCh, NAC+CCh, it was found that the decrease in antioxidant molecules, the increase in oxidant molecules and the oxidative stress index were less. Results consistent with biochemical findings were obtained in histopathological evaluations. In APAP-induced hepatotoxicity, the parasympathomimetic stimulation can be protective through many different mechanisms such as reducing inflammation, activating antioxidant pathways.

Keywords: Paracetamol, hepatotoxicity, muscarinic receptors, NAC, carbachol

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Toksikoloji	4
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Parasetamol	6
2.3.1. Parasetamolün Tarihçesi	7
2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetik Özellikleri	9
2.3.3. Parasetamolün Farmakodinamik Özellikleri	11
2.3.4. Parasetamol Toksisitesi	12
2.4. N-Asetilsistein (NAC)	15
2.5. Karbakol	16
2.6. Amaç	17
3. GEREÇ YÖNTEM	18
3.1. Deney Hayvanları	18
3.2. Etik Kurul İzni	18
3.3. Deney Protokolü	18
3.4. Mezenter Arter ve Portal Ven Kan Akım Hızlarının Ölçümü	20
3.5. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	21
3.6. TAS / TOS Düzeylerinin Analizi	21
3.7. Glutasyon (GSH) / Glutasyon Disülfid (GSSG) Analizi	22
3.8. ELISA Analizleri	22
3.9. Biyokimyasal Analizler	23
3.10. Histopatolojik Analizler	24
3.11. İstatistiksel Analiz	24
4. BULGULAR	25
4.1. Kan Akım Hızlarının Karşılaştırılması	25
4.2. Karaciğer Fonksiyon Testleri	27
4.3. TAS / TOS ve OSI Bulguları	28
4.4. Glutasyon / Glutasyon Disülfid Ölçümleri	30
4.5. Sitokin Ölçümleri	32
4.6. Histopatolojik Bulgular	34
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
7. KAYNAKLAR	51
8. EKLER	67
EK-1 : Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri	67
EK-2 : Tez Çalışması Orijinallik Raporu	68
9. ÖZGEÇMİŞ	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAPCC	Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği
ACh	Asetilkolin
ALT / AST	Alanin Aminotransferaz / Aspartat Aminotransferaz
AOM	Azoksimetan
APAP	N-Asetil-P-Aminofenol
AU	Arbitrary Unit
CB	Kannabinoid reseptörleri
CCh	Karbakol
COX	Siklooksijenaz
CYP	Sitokrom P450
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
GSH / GSSG	Glutasyon / Glutasyon disülfid
H&E	Hematoksilen Eozin
HPC	Hepatik Progenitör Hücre
HPR	Horseradish Peroksidaz
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
NAC	N-Asetilsistein
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NAPQI	N-asetil-p-benzokinon imin
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik Oksit
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
OTC	Over The Counter (Tezgah üstü – reçetesiz satılabilen ilaç)
PAM	Pralidoksim
TAS / TOS	Total Antioksidan Seviye / Total Oksidan Seviye
TNB	2-nitro-5-thiobenzoik asit
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü - Alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2-1: Anilin, asetanilid, fenasetin ve parasetamolün moleküler yapıları	8
2-2: Parasetamol ve metabolitleri plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi	9
2-3: Parasetamol metabolizması	10
2-4: Rumack-Matthew nomogramı	14
2-5: Asetilkolin ve karbakolün moleküler yapısı	16
3-1: Deney protokolünün şematik gösterimi	19
3-2: Cerrahi işlem ve kan akım hızlarının ölçülmesi	20
4-1: Kontrol ve APAP gruplarında kan akım hızları	25
4-2: Kontrol ve APAP gruplarında karaciğer fonksiyon testleri	27
4-3: Kontrol ve APAP gruplarında TAS, TOS ve OSI ölçümleri	28
4-4: Kontrol ve APAP gruplarında GSH/GSSG ölçümleri	30
4-5: Kontrol ve APAP gruplarında sitokin düzeyleri	32
4-6: APAP gruplarındaki karaciğer dokularının makroskobik örnekleri	34
4-7: APAP gruplarında karaciğer dokularının mikroskobik örnekleri	35

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4-1: Karaciğer dokularına ait histopatolojik hasar oranları	35

1. GİRİŞ

Zehirlenmeler sağlık alanındaki bütün gelişmelere rağmen günümüzde halen yüksek mortalite ve morbiditeye yol açan önlenebilir bir toplum sağlığı sorunudur (1). Zehirlenme ve zehir, insanlığın varlığından beri önemini korumuş kavramlardır. Birçok faktör, potansiyel olarak ölümlü sonuçlanabilecek zehirlenmelere neden olabilir. Özellikle genç yetişkinlerde zehirlenme önemli bir ölüm nedenidir (2).

Amerika Bileşik Devletlerinde, Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği (AAPCC) 2018 yılında iki milyondan fazla zehirlenme kaydının olduğunu bildirmiştir (3). Mortalite oranının 0,007'nin biraz altında olduğu tespit edilmiştir. Vakaların %31'inin sağlık kuruluşunda takip edildiği, %8,4'ünün ise hastaneye yatırılarak tedavi edildiği açıklanmıştır (3).

Coğrafi bölgelere göre zehirlenme vakalarının sıklığı değişiklik gösterir. Norveç'te yapılan prospektif bir araştırmada benzodiazepinler, etanol, parasetamol, opioidler zehirlenme nedeniyle başvuran hastalarda ilk sıralarda gözlenen ilaçlardır (4). Almanya'da yoğun bakıma yatırılan zehirlenme olguları ile ilgili retrospektif yapılan bir araştırmada antidepresan ve antihistaminik ilaçlar ile zehirlenme ilk sıralarda yer alır (5). Afrika ve Doğu Asya'da pestisitler ile zehirlenme, ilaçlar ile zehirlenmeye oranla daha sık görülmektedir (6, 7).

Antidot uygulaması zehirlenme olgularında morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltır ancak günümüzde zehirlenme olgularının çoğunda kullanılacak bir antidot tedavisi bulunmamaktadır (8). Antidot tedavisi bulunmayan zehirlenme olgularına tedavi yaklaşımı dekontaminasyon, absorpsiyonun engellenmesi ve destek tedavisi şeklinde yürütülmektedir.

Parasetamol dünyada en yaygın kullanılan ilaçlardan biri olup analjezik ve antipiretik etkinlik gösterir. Dünyada zehirlenme olgularında önde gelen ilaçlardan biridir. Tüketicilerin toksik dozda ilaç alımına sebep olabilen faktörler arasında ilaç etiketlerinin farklı isimlerde olması, birçok ülkede reçetesiz satılabilmesi (OTC - Over the counter) ve ürünün parasetamol içeriğini belirlemeyi zorlaştıran gösterimler yer alır (9).

1966'dan beri parasetamolün yüksek dozlarda ölümcül hepatik nekroza sebep olabileceği bilinmektedir (10, 11). Parasetamol, ilaca bağlı gelişen karaciğer hasarına neden olduğu en çok bildirilen ilaçlardan biridir (12-14). Sanayileşmiş ülkelerde bu etkisi nedeniyle yüzlerce insanın ölümüne neden olmuştur (15). Günlük 4 g'ın altındaki dozların güvenli aralıkta olduğu görülmektedir (9, 16). Ancak alkol bağımlılığı zemininde gelişen karaciğer hastalığı gibi predispozan faktörlerin varlığında, tekrarlayan terapötik alımlarda bile parasetamolün hepatotoksik olabileceği düşünülmektedir (17-19).

Parasetamol zayıf asidik yapısı nedeniyle duodenumdan absorbe edilir (20). Oral alımdan 90 dakika sonra plazma pik konsantrasyona ulaşır (21, 22). Terapötik dozlarda parasetamolün yaklaşık %85-%90'ı Faz II reaksiyon ile sülfat ve glukuronür konjugatları şeklinde inaktive edilerek idrarla atılır (21-23). Yaklaşık %2'lik kısmı değişmeden doğrudan idrarla atılır. Parasetamolün kalan %10'luk kısmı hepatik sitokrom P450 enzimleri aracılığı ile toksik ve reaktif bir ara ürün olan N-asetil-p-benzokinon imin'e (NAPQI) dönüştürülür (21-23). Oluşan bu az miktardaki NAPQI hepatik glutatyon ile konjuge olup toksik olmayan metabolitlere çevrilerek idrarla atılır (21, 23, 24). Parasetamolün çok az bir kısmı miyeloperoksidaz (MPO) ve siklooksijenaz-1 tarafından oksitlenir. Bu yolun klinik önemi belirsizdir (23, 24).

Parasetamolün hepatotoksik etkisi doza bağımlıdır. Yüksek dozlarda alındığında sülfatlama ve glukuronidasyon yolları doygunluğa ulaştığı için CYP-P450 enzimleri aracılığı ile toksik ve reaktif metabolit olan NAPQI üretimi artar. NAPQI'nın artması glutatyon (GSH) miktarında azalmaya neden olur ve bu azalma %80 - %90 seviyelerine ulaşınca NAPQI hepatositlere bağlanarak hücrel hasara neden olur (22, 23).

N-Asetilsistein (NAC) parasetamol zehirlenmelerinde hepatotoksisite riski olan hastalarda antidot olarak kullanılır. Mukolitik etkisi de bulunmaktadır. Bu etki mukustaki yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlerdeki disülfid köprülerini kırma yeteneğine bağlıdır (25). NAC'ın antioksidan etkinliği ise redükte glutatyon (GSH) öncülü olmasından kaynaklanır (26). Hepatik glutatyon depolarının sentezine ve yenilenmesine yardımcı

olur (27). Bu sayede yüksek miktarda üretilmiş olan reaktif metabolit NAPQI'nın toksik olmayan metabolitlere dönüşümü sağlanabilir.

Muskarinik reseptörler, G proteinine kenetli reseptör ailesi içindedir. Birçok sistemde eksprese edilir ve biyolojik fonksiyonlarda görev alırlar (28, 29). Tanımlanmış beş tip muskarinik reseptör bulunmaktadır. Muskarinik reseptörlerden M₃ alt tipi insan ve kemirgen karaciğer hücrelerinde eksprese edilmektedir (30, 31). İnsan ve hayvan çalışmalarında kolinerjik aktivasyon karaciğer hasarını modüle etmektedir (32). Kemirgenlerde, vagus sinirinin kesilmesi, galaktozamine bağlı karaciğer hasarında oval hücre reaksiyonunu, hepatosit proliferasyonu ve karaciğer rejenerasyonunu azaltır (30, 33). Sıçanlarda vagus siniri uyarımı hepatik iskemik reperfüzyon hasarını hafifletir (34). İnsanlarda, transplantasyon için kullanılan denerve karaciğer greftleri, innerve edilmiş doğal karaciğerlere kıyasla daha düşük duktüler reaksiyon gösterir (30). Öte yandan "M₃R *geni silinmiş*" fareler üzerinde yapılan çalışmada azoksimetan (AOM) ile oluşturulan karaciğer hasarının daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir (35).

Literatürdeki çalışmalar muskarinik reseptörlerin uyarılmasının toksik madde alımı sonrası oluşan karaciğer hasarına olumlu katkısı olduğu yönündedir. Çalışmamızda parasetamol toksisitesine bağlı gelişen karaciğer hasarında muskarinik agonist karbakolün olası hepatoprotektif etkisini değerlendirmeyi ve bu etkiyi antidot olarak kullanılabilen NAC tedavisi ile karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toksikoloji

Toksikoloji genel olarak “zehir bilim” olarak tanımlanır. Çeşitli kimyasal ajanların biyolojik organizmalar üzerindeki etkileri konusunda bilgi birikimi arttıkça daha açıklayıcı tanımlamalar kullanılmaya başlanmıştır. Toksikoloji günümüzde kimyasal veya fiziksel ajanların biyolojik sistemler üzerindeki istenmeyen etkilerini araştıran bilim olarak tanımlanmaktadır (36).

Toksikoloji kelimesi Yunanca “toxon” kelimesinden köken alır. “Toxon” kelimesi ok veya ok atmakta kullanılan yay demektir. Okların daldırıldığı zehir anlamına gelen “toxicon” kelimesi bu kökenden gelmektedir. Bu kelime Latinceye “toxicum” olarak geçmiş ve buradan da “intoxicare” yani zehirlenmek anlamına gelen kelime türetilmiştir (37).

Herhangi bir madde oral, inhaler, transdermal veya parenteral alındığında, biyolojik sistemlere zarar veriyor ve fonksiyonları bozabiliyorsa bu maddeye zehir, olaya ise zehirlenme denilmektedir (38).

Paracelsus, 1493-1541 yılları arasında yaşamış, modern tıbbın, farmakolojinin ve toksikolojinin kurucusu olarak görülmektedir. Paracelsus, kimyasalların vücuda vereceği zararın doz ile ilişkili olduğunu keşfetmiştir. “Yalnızca doz, bir şeyin zehir olmadığını belirler” görüşünü savunmuştur. Tıbbı getirmiş olduğu bu bakış açısı ile inorganik maddelerin belli dozlarda terapötik amaçlar ile kullanılabileceği anlaşılmıştır. Paracelsus, farmakolojide ve toksikolojide önemli kavramlardan biri olan doz yanıt ilişkisinin anlaşılmasını sağlamıştır. Ayrıca kimyasalların yararlı ve toksik etkilerinin tespit edilebilmesi için deney hayvanlarının kullanılmasını fikrini önermiştir (39).

Toksik maddeler tarihte cezalandırma, intihar yöntemi, suikast aracı, savaşlarda kimyasal silah olarak pek çok durumda kullanılmıştır ve kullanılmaya devam etmektedir. Arkeolojik çalışmalar, taş devri döneminde dahi insanların toksik, zehirli hayvan ve bitkilerden haberdar olduğunu göstermektedir. Savaşlarda, avcılıkta bu bitki ve

hayvanlardan elde edilen özütler kullanılmıştır. Pagan dinleri incelendiğinde zehirlenme ve zehir ile ilgili birçok kavrama ulaşılr. Yunan mitolojisinde zehirli güçleri olan tanrı ve tanrıçalar bulunur. Erken Mezopotamya dönemine ait çivi yazılarında veya Çin yazıtlarında zehir kullanımına ait bilgiler bulunmaktadır.

Endüstrinin gelişmesi, yeni ürünlerin sentezlenmesi, canlıların maruz kalabileceği toksik maddelerin çeşidini artırmıştır. Günümüzde toksik etkenler morbidite ve mortalitede önemli bir yer almaktadır. Bu durum toksikoloji biliminin gelişmesini hızlandırmıştır. Biyolojik sistemler üzerindeki yapılan bilimsel araştırmalar, bilgi birikimini artırarak, toksikolojide hızlı ve önemli gelişmeler yaşanmasını sağlamıştır.

2.2. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütüne göre her yıl yaklaşık 300.000 kişi zehirli maddeler nedeniyle ölmektedir (40). Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği'nin (AAPCC) 2018 yılında yayınlamış olduğu ulusal verilerin analiz edildiği raporda yaklaşık 2.1 milyon insanın toksik maddelere maruz kaldığı tespit edilmiştir. Analjezikler (%10,8), ev temizlik maddeleri (%7,28), kozmetikler / kişisel bakım ürünleri (%6,53), hipnotikler / antipsikotikler (%5,53) ve antidepresanlar (%5,22) bu zehirlenmelerde ilk sırada gelen etkin maddelerdir (3).

Amerika Bileşik Devletleri'nde gerçekleştirilen bir araştırmada ilaç zehirlenmesi nedeniyle acil servise başvuran vaka sayısının yaklaşık 700.000 olduğu ve ilaç zehirlenme vakalarının %43,7'sinin psikotropik ajanlar ve analjeziklerle oluştuğu görülmüştür (41). Ülkemizde acil servise başvuruların %0,5 ile %2,5'i zehirlenmeler nedeniyle gerçekleşmektedir (42). Birleşik Krallık'ta ise zehirlenme akut tıbbi başvuruların %10'unu oluşturmaktadır ve bu başvuruların üçte biri parasetamol nedeniyle gerçekleşmektedir (2).

Zehirlenmeye neden olan maddeler ülkelere ve bölgelere göre farklılık gösterir. Kırsal kesimlerde, tarımda kullanılan ürünler ile zehirlenme görece fazladır. Kentlerde ise analjezikler, psikoaktif maddeler veya sanayi ürünlerine bağlı zehirlenmeler daha sıktır.

İstatistiksel kayıtlara bakıldığında zaman içerisinde zehirlenme vakalarında artış eğilimi görülmektedir. Bu artış toplum sağlığını olumsuz etkilemekte ve sağlık hizmeti sunan birimlerin üzerindeki yükü artırmaktadır.

2.3. Parasetamol

Parasetamol, asetaminofen veya N-Asetil-P-Aminofenol (APAP) olarak da bilinmektedir. Ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak klinik kullanımı vardır. Moleküler ağırlığı 151,5 g/mol'dür. Fizyolojik pH'da büyük ölçüde iyonlaşmaz (21).

Parasetamol 1955 yılından beri dünyada en yaygın kullanılan analjeziktir (8). Amerika Bileşik Devletlerinde 2003 yılında ülke genelinde 28 milyon doz parasetamol kullanılmıştır. 2005 yılında 89 milyon ayaktan hasta reçetesi arasında en yaygın reçete edilen ilaç parasetamol-hidroksidon olmuştur (22, 43). Parasetamol antipiretik ve analjezik ilaçlar içinde özellikle pediatrik yaş grubunda en yaygın kullanılan ilaçtır (44, 45).

Parasetamolün solunum ve kardiyovasküler sistem üzerinde klinik önem arz edecek belirgin bir etkisi saptanmamıştır. Gastrointestinal sistemde irritasyon ve kanamaya neden olmadığı bilinmektedir. Asit-baz dengesinde bozulmaya neden olmaz (45). Parasetamolün antiinflamatuvar ve antiromatizmal aktiviteleri ihmal edilebilir düzeydedir. Antitrombotik etkinliği zayıftır. Kanama süresini değiştirmez (45).

Ülkemizde ve bazı ülkelerde reçetesiz satılabilen ilaçlar (OTC) arasındadır. Tablet, şurup ve intravenöz formları bulunur. Yaygın kullanımı nedeniyle parasetamol zehirlenmesi sık görülen bir durumdur. Güvenli doz erişkinde günlük dört gramın altı olarak belirlenmiştir. Üzerinde henüz bir görüş birliğine varılamasa da karaciğer hastalığı olan kişilerde toksik etkilerin görülmemesi için günlük iki gramın geçilmemesi önerilir (9). Hayvan deneylerinde fareler için $LD_{50}=338$ mg/kg (oral) ve sıçanlar için $LD_{50}=1944$ mg/kg (oral) olarak tespit edilmiştir.

Parasetamol, Amerika Bileşik Devletlerinde ve birçok dünya ülkesinde, aşırı dozda ilaç kullanımına bağlı akut karaciğer yetmezliğinin ve ölümlerin majör nedenidir

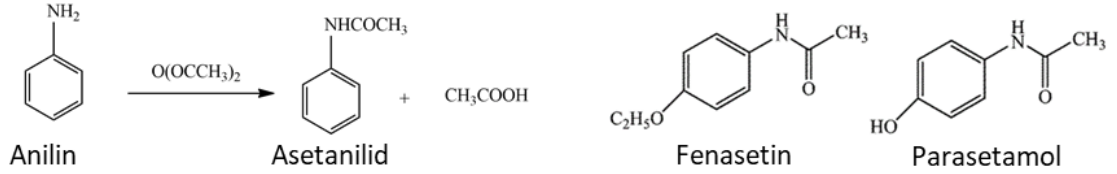
(44). Amerika Bileşik Devletlerinde zehir danışma merkezlerine yıllık yapılan bildirimlerde parasetamol zehirlenmesi ilk sırada gelmektedir. Yılda 56.000 acil servis başvurusuna, 2600 hastane yatışına ve yaklaşık olarak akut karaciğer yetmezliği nedeniyle yılda 450 ölüme neden olmaktadır (44).

2.3.1.Parasetamolün Tarihçesi

1884 yılında Strazburg Tıp Kliniği yöneticisi Profesör Adolf Kussmaul asistanları A. Cahn ve P. Hepp'e barsak solucanlarından muzdarip, ateş dahil birçok semptom ve bulgusu olan bir hastanın tedavisi için o dönem barsak antiseptiği (46) olarak gösterilen naftalin kullanmalarını önerir. İzleminde hastada tedaviye rağmen klinik bulguların birçoğu devam etmiştir ve tedavinin barsak solucanlarına bir etkisi gözlemlenmemiştir. Ancak klinisyenler uyguladıkları tedaviden kısa süre sonra hastanın ateşinin düştüğünü fark ederler. O güne kadar naftalinle ilgili daha önce antipiretik etkinlik raporlanmamıştır. Bu yeni bir bulgudur. Klinisyenler konu ile ilgili yaptıkları araştırma sonrasında kendilerine ilaç sağlayan eczanenin naftalin yerine yanlışlıkla asetanilid verdiğini fark etmişlerdir.

Klinisyenler asetanilidi köpeklerde ve tavşanlarda test ederler. Kısa süreli antipiretik etkinlik gösterdiğini gözlemlerler (47). Bunun üzerine iki klinisyen yirmi dört hasta üzerinde asetanilidin etkinliğini denerler ve antipiretik etkinliği insanlarda da gözlemlerler. Asetanilid ile antipiretik etkinlik sağlanabiliyordu ancak o dönemde pek de ciddiye alınmayan bir yan etki daha gözlemlenmişti. Hastaların cilt renklerinde mavileşme olduğu fark edildi. İlacın yaygın kullanılmasıyla birlikte deride mavileşme etkisi çokça rapor edilmeye başlandı. Çalışmalar sonucunda asetanilidin neden olduğu bu mavileşme etkisinin methemoglobinden kaynaklandığı anlaşıldı. Asetanilid, hematotoksik olduğu bilinen anilinden sentezlenen bir üründü. Bu gözlemlenen yan etki ihmal edilebilir bir durum değildi ve ilacın yeni türevlerini araştırmayı zorunlu kılmıştı (15).

Sonrasında ilaç firmaları etki ve yan tesir profili daha iyi olan ilaçlar üretmeye çalıştılar. Parasetamol bu ilaçlardan biriydi. O dönemde fenasetinin bir metaboliti olduğu düşünülmekteydi. İlaç firmaları tarafından dönemin ünlü farmakologlarından J. Von Mering'e parasetamolün klinikte kullanılabilirliği ile ilgili görüş soruldu (1893). O ise parasetamolün fenasetine üstün bir özelliğinin olmadığı görüşünü bildirdi. Çalışmasında parasetamolün, asetanilid gibi methemoglobinemi yaptığını gözlemlemişti. J. Von Mering'in parasetamol için gözlemlemiş olduğu methemoglobinemi nedeninin o dönemde saf, iyi ayrıştırılmış parasetamolün üretilmemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (15).



Şekil 2-1: Anilin, asetanilid, fenasetin ve parasetamolün moleküler yapıları

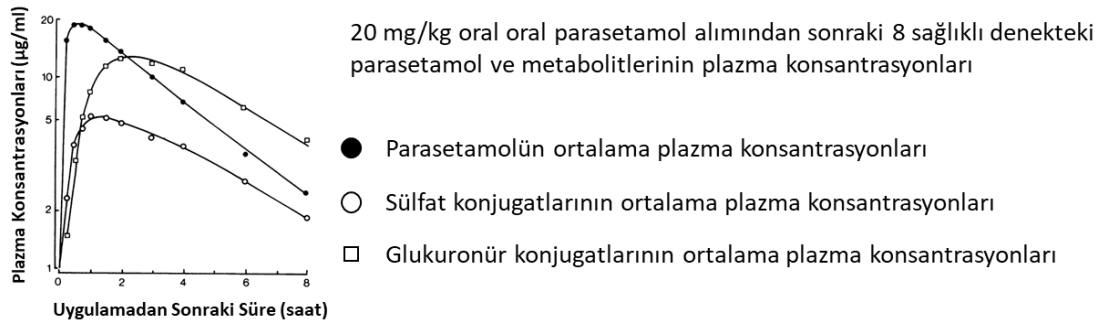
1946 yılında Amerikalı bilim insanları fenasetinin metabolizmasını tekrar araştırmaya başladılar. Axelrod, Brodie ve ekibi tarafından fenasetinin asıl ve aktif metabolitinin parasetamol olduğu gösterildi. Brodie'ye göre parasetamol daha güvenli ve etkindi. Üstelik fenasetinin aniline dönüşebilme potansiyeli vardı ancak parasetamolde böyle bir risk bulunmamaktaydı (15). Axelrod ve ekibinin topladığı verilere göre parasetamolün methemoglobinemi yapmadığı ve fenasetinin göstermiş olduğu analjezik ve antipiretik etkinliği tam olarak sağladığı anlaşıldı.

2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetik Özellikleri

Parasetamol, gastrointestinal sistemden hızla emilir. Oral uygulamadan değişken bir oranda ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır (48, 49). Yemeklerle birlikte veya yemekten hemen sonra alınırsa biyoyararlanımı düşer (21). Parasetamol rektumdan iyi absorbe edilmesine rağmen oral kullanıma göre absorpsiyon hızı ve oranı düşüktür (50).

Sağlıklı deneklerde parasetamol solüsyonu ile yapılan deneylerde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi 22 dakika olarak belirlenmiştir (51). Parasetamol tablet olarak alındığında bu sürenin uzadığı görülmektedir (52, 53).

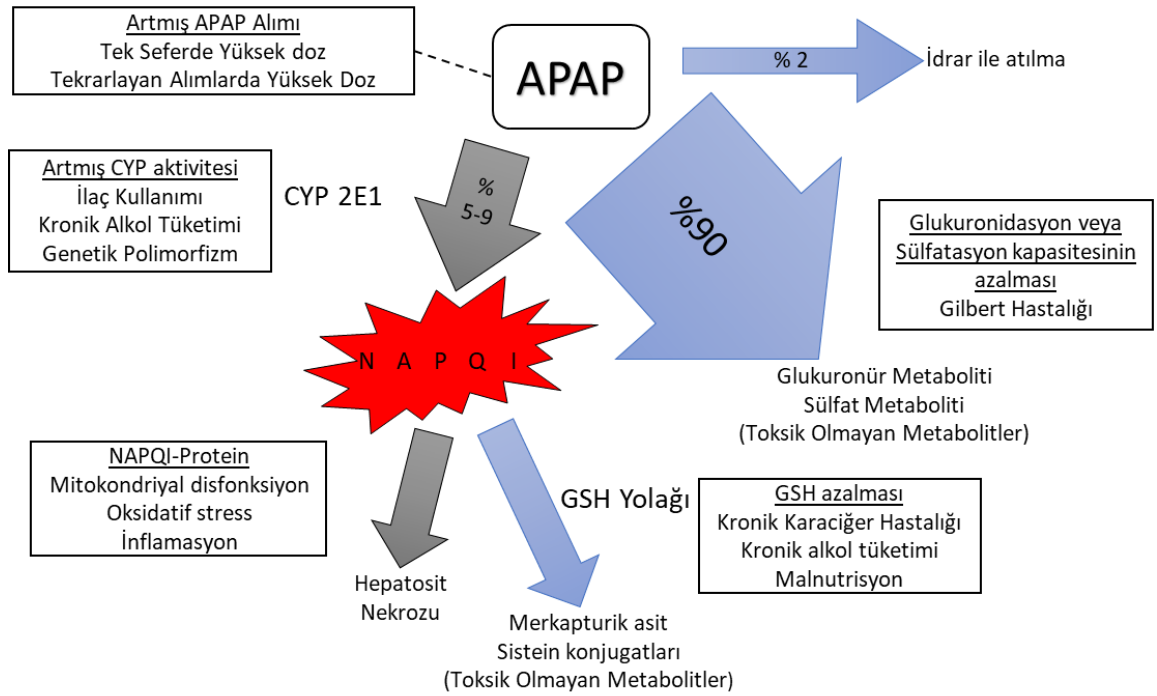
Parasetamol birçok dokuya dağılır. Yağ ve beyin omurilik sıvısı hariç bütün dokularda doku/plazma konsantrasyon oranı yaklaşık olarak aynıdır (54, 55). Dağılım hacmi (V_d) yaklaşık 0,9 L/kg'dır (22). Parasetamol terapötik plazma konsantrasyonlarında plazma proteinlerine bağlanmaz ancak yüksek dozlarda %15 ile %21 arasında bağlanabildiği izlenmiştir (56). Yarılanma ömrü yaklaşık 2-2,5 saattir (22). Yüksek dozlarda ve karaciğer hasarında yarılanma ömrü 4-8 saate kadar çıkabilmektedir (22).



Şekil 2-2: Parasetamol ve metabolitleri plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi (57)

Parasetamol terapötik miktarlarda alındığında başlıca sülfasyon (%20 ile %46) ve glukuronidasyon (%40 ile %67) yoluyla karaciğerde metabolize edilir. Glukuronidasyon erişkinde, sülfasyon ise 12 yaşından küçük çocuklarda baskındır (57). Yaklaşık %2'lik bir kısmı metabolizmaya uğramadan üriner sistem yoluyla itrah edilir (12). %5 ile %15'lik

kısmı CYP-P450 enzimleri tarafından reaktif bir metabolit olan NAPQI'ya okside edilir. Bu Faz I oksidasyon çoğunlukla CYP2E1 tarafından gerçekleştirilir (12). Üretilen reaktif ürün hepatik glutatyon tarafından konjuge edilir ve toksik olmayan parasetamol-merkapturat bileşiğine dönüştürülür. Parasetamolün küçük bir yüzdesi miyeloperoksidaz ve siklooksijenaz-1 tarafından okside edilir ancak bu yolağın klinik önemi bilinmemektedir (23, 24).



Şekil 2-3: Parasetamol metabolizması (12)

2.3.3. Parasetamolün Farmakodinamik Özellikleri

Parasetamol analjezik ilaçlar içerisinde özgün bir yere sahiptir. Etki mekanizması ile ilgili çeşitli görüşler bulunmaktadır. Çalışmalar birçok farklı yolak üzerinden etki ediyor olabileceğini göstermektedir.

Parasetamolün antinosiseptif etkinliğinin santral sinir sisteminden kaynaklandığını düşündüren birçok bulgu vardır. Sıçanlarda parasetamolün intraperitoneal verilmesinin ardından ventral talamusta nosiseptif aktivitede doza bağımlı azalma olduğu görülmüştür (58). Bu etkinlik bazı insan çalışmalarında da tespit edilmiştir (59). Sıçanlarda spinal serotonerjik inen yolakların da parasetamolün antinosiseptif etkisinde rolü olduğu gösterilmiştir (60).

Parasetamol peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu ortamlarda COX enzimini inhibe eder (61). Parasetamol görece peroksitlerden fakir ortamda yani hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda, prostaglandin sentezi ve saliverilmesi üzerine inhibitör etki gösteriyor olabilir. Antipiretik ve analjezik etkinliğinin bu inhibisyondan kaynaklı olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır. Beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazın inhibe edilmesi santral analjezik etkinlikte rol oynamaktadır (62).

Farklı mekanizmalar üzerinden de etkisi olduğunu düşündüren çalışmalar bulunmaktadır. Nitrik oksit oluşumunu (63, 64) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) veya P maddesi ile indüklenen hiperaljeziyi inhibe ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (65).

Kannabinoid reseptörleri (CB) üzerinden de analjezik etkinliği olduğunu destekleyen çalışmalar vardır. Sıçanlarda CB₁ reseptörüne bağlı analjezik etkinliği tamamiyle bloke edecek dozda CB₁ reseptör antagonisti verildiğinde parasetamolün analjezik etkinliğinin ortadan kalktığı görülmüştür (66).

2.3.4. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol için günlük 4 gramın altındaki dozlar genellikle güvenli doz olarak kabul edilir (9, 16). Akut yüksek dozda alımlarda, kronik olarak günlük 4-6 g alımlarda veya komorbid hastalığı olan belli gruplarda daha düşük dozlarda bile parasetamol hepatotoksisitesi gözlenebilir (9, 67, 68). Çalışmalarda akut karaciğer yetmezliğine neden olan ortanca dozun günlük 7,5 g olduğu görülmüştür (69).

Patogenez

Parasetamol genellikle üç farklı yoldan metabolize edilir. Büyük bir kısmı sülfasyon ve glukuronidasyon yoluyla metabolize olur. Yaklaşık %10'luk kısmı CYP-P450 enzimleri üzerinden metabolize edilir. Parasetamolün yüksek dozlarında glukuronidasyon ve sülfasyon yolları doyunluğa ulaşır. Bunun sonucunda daha fazla miktarda parasetamol CYP2E1 enzimi üzerinden reaktif ara ürün olan NAPQI'ya çevrilir. NAPQI üretimi arttıkça glutatyon miktarı düşer. Bu düşüş %70-80 seviyelerine çıkınca, NAPQI hepatositlere bağlanmaya başlar ve hepatik hasar oluşur (22, 23). Glutatyon yokluğunda NAPQI hepatositlerde bulunan proteinler üzerindeki sistein gruplarına kovalent bağlanır. Bu süreç geri dönüşüzdür. Hücrede oksidatif hasara ve hepatoselüler nekroza neden olur (12, 22, 23). Kesin olmamakla birlikte, parasetamole bağlı gelişen hepatoselüler hasarın oluşmasında, mitokondriyal hasar, nükleer DNA'nın parçalanması ve lipid peroksidasyonun da rolü vardır (23, 70, 71).

Mikroskopik değerlendirmede hepatositlerde CYP2E1 enziminin görece yüksek olduğu alanlar, parasetamole bağlı oluşan karaciğer hepatotoksisitesine daha duyarlıdır. Bu durum parasetamole karakteristik hepatoselüler nekrozun "sentrilobüler" görünümde oluşmasına yol açar (22).

Parasetamol toksisitesinde genetik, yaş, malnütrisyon, kronik karaciğer hastalığı, gebelik durumu gibi birçok faktör toksisitenin şiddeti üzerinde etkilidir (12). Kronik alkol kullanımı, CYP2E1 enziminin yarılanma ömrünü uzatır ve sentezini indükler (17, 23, 72).

Kronik alkol kullanımında, CYP2E1'nin "up-regüle" olması ve glutatyon miktarının azalması, parasetamolün hepatotoksisite riskini artırır (17, 23, 72-74).

Parasetamol zehirlenmelerinde böbrek hasarı da görülebilmektedir. Nefrotoksisite mekanizmasının böbrekte CYP tarafından oksitlenen parasetamolün toksik metabolitleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (75).

Klinik

Parasetamol zehirlenmesi belirti ve bulgulara göre 4 evrede değerlendirilir.

Evre 1 ilk 24 saatlik süreçte hastada halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma görülebilir. Bu süreç bazı hastalarda asemptomatik olabilir.

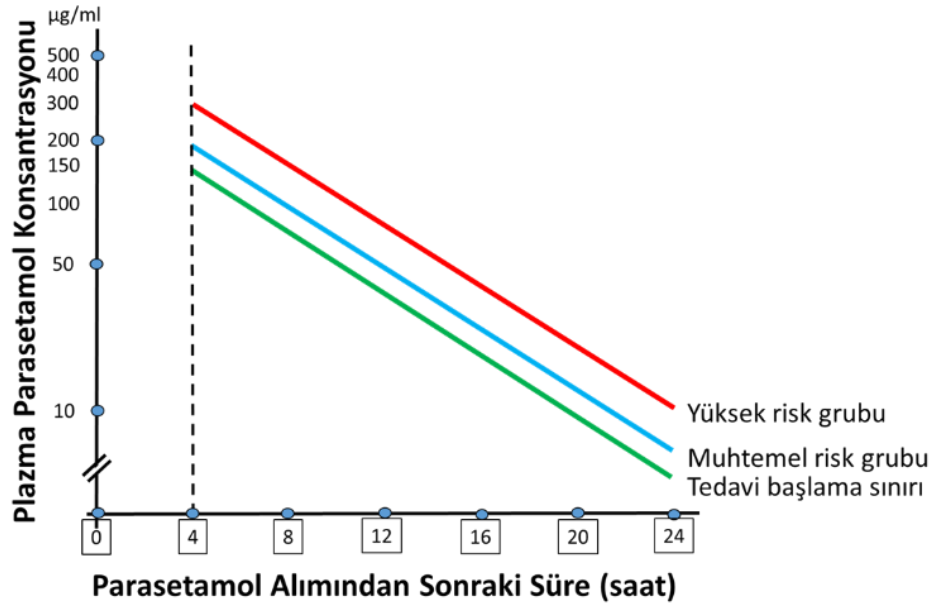
Evre 2 ilk 24-72 saatlik süreçte görülen klinikdir. Evre 1'deki semptom ve bulgularda iyileşme veya ilerleme görülür. ALT, AST değerlerinde subklinik yükselme olabilir. Şiddetli olgularda sağ üst kadranda ağrısı, ağrılı hepatomegali, sarılık ve uzamış protrombin zamanı görülür. İlacın nefrotoksik etkileri görülmeye başlayabilir.

Evre 3 ilk 72-96 saatlik süreçte görülen klinikdir. ALT, AST değerlerinde artış görülür. Sarılık, ensefalopati, uzamış protrombin zamanı, laktik asidoz gelişebilir. Akut böbrek yetmezliği ve pankreatit bu evrede görülebilen durumlardır. Ölüm en çok bu evrede genellikle çoklu organ yetmezliği nedeniyle gerçekleşir.

Evre 4, 96 saat ile 2 haftalık süreç arasındaki görülen klinikdir. Evre 3'ü geçip hayatta kalanlar için iyileşme fazıdır. Histopatolojik iyileşme klinik iyileşmeden daha yavaş gerçekleşir. Üç aya kadar uzayabileceği bildirilmektedir.

Tedavi yaklaşımı

Hastanın tek seferde toksik dozda parasetamol alması ve 24 saat içinde sağlık kuruluşuna başvurması durumunda hastanın tanı ve tedavi yönetiminde Rumack-Matthew Nomogramı değerli bir araçtır (12). Bu nomograma göre hepatotoksisite riski belirlenebilir ve tedavi başlanabilir.



Şekil 2-4: Rumack-Matthew nomogramı

Parasetamol zehirlenmesinde yapılacak ilk işlemler standart yaklaşımdan farklı değildir. Parasetamolün absorpsiyonunu azaltmak, plazmadaki ilaç konsantrasyonunu düşürmek ve toksik metabolitlerin miktarını azaltmak akut tedavideki temel prensiptir.

Gastrointestinal dekontaminasyon yöntemleri parasetamol zehirlenmesinde kullanılmaktadır. Eğer gastrointestinal sistemde yaralanma veya hava yolu güvenliğini korumada zorluk gibi bir kontrendikasyon bulunmuyorsa parasetamol zehirlenmesinde oral alımdan sonraki ilk dört saat içinde aktif kömür uygulanması parasetamol absorpsiyonunu azaltmaktadır (12). Gastrik lavaj yönteminin rutin kullanımı önerilmemektedir. Çalışmalar bu yöntemin etkisinin az olduğunu ve aktif kömür tedavisi alan hastalarda ek bir yararının olmadığını göstermektedir (76, 77).

N-Asetilsistein (NAC) GSH prekürsörüdür. Parasetamole bağlı gelişen veya gelişebilecek hepatotoksisite tedavisinde kullanılır (12). Parasetamol toksisitesinde ilk 8-10 saat içinde NAC tedavisinin verilmesi parasetamole bağlı gelişen hasarda belirgin azalmaya neden olur (22).

2.4. N-Asetilsistein (NAC)

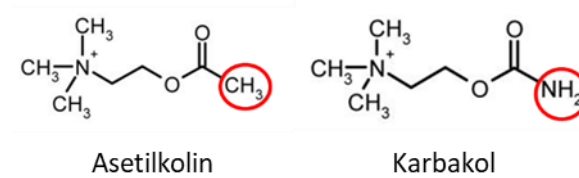
1960'lı yıllardan beri NAC yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin yanında mukolitik etkinlik de gösterir (26, 78). Doğal bir aminoasit olan L-sisteinin türevidir (26, 79). Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalarında kullanımı mevcuttur. Sigara içen hastalarda akciğerlerde lizozim ve laktoferrin konsantrasyonlarını azaltır (80). *In vitro* çalışmalarda nötrofil ve monosit kemotaksisini (81) ve siliyer epitelde bakteriyel adezyonu azaltır (82). Mukolitik etkisini mukustaki yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlerdeki disülfid bağlarının kopararak gösterir. Bu sayede mukusun viskozitesi azalır (26).

Parasetamole bağlı hepatik hasar gelişmiş ve gelişme riski olan hastalarda NAC tedavisinin faydalı olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. 1970'li yıllardan beri NAC parasetamol zehirlenmesinde kullanılmaktadır (83). Parasetamol toksisitesinde NAC, GSH prekürsörü olarak fonksiyon görür. Parasetamole bağlı zehirlenmelerinde NAC, hepatik GSH depolarının yenilenmesi ve korunması için sistein sağlar ve bu şekilde daha fazla miktarda toksik NAPQI molekülü detoksifiye edilir (12). Ayrıca NAC, NAPQI'yı redükte ederek parasetamole dönüşmesini de sağlayabilir (12).

NAC tedavisinin parasetamol ile indüklenen fulminan karaciğer yetmezliği olgularında transplantasyondan önceki dönemde sağ kalımı artırdığı gösterilmiştir (84, 85). Buradaki mekanizma detoksifikasyondan farklı olarak iyileşme sürecini hızlandırmasıdır. Birçok mekanizma NAC'ın göstermiş olduğu bu etkiye katkı sağlamaktadır. Bu vakalarda, NAC hepatik perfüzyonu ve doku oksijen sunumunu artırmaktadır (86). Bir diğer faydalı mekanizma ise reaktif oksijen ve nitrojen bileşiklerinin atılmasının hızlanması ve mitokondriyal enerji üretiminin artmasıdır (87, 88).

2.5. Karbakol

Bir kolin esteri olan karbakol (CCh) asetilkoline yapısal olarak benzer olup asetik asit yerine karbamik asit gelmesiyle oluşur. Karbamikolin olarak da bilinir. Muskarinik ve nikotinik etkinliği bulunmaktadır. Kolin esterleri genellikle hidrofilik yapıdadır. Bu sebepten ötürü gastrointestinal sistemden iyi absorbe olmaz. Santral sinir sisteminde yeterli dağılım göstermez. Karbakol, diğer kolin esterlerine göre asetilkolinesterazlara daha dirençlidir. Bu durum uygulandıktan sonrası etkinlik süresinin uzamasını sağlamaktadır.



Şekil 2-5: Asetilkolin ve karbakolün moleküler yapısı

Preparat olarak genellikle göz kullanımına uygun (oküler) şekli bulunmaktadır. Açık açılı glomda intraoküler basıncı azaltmak amacıyla topikal damla olarak kullanılır. Akut kalp yetmezliği, bronşiyal astım, peptik ülser, hipertiroidizm, Parkinson hastalığı, gastrointestinal spazm ve üriner sistemde obstrüksiyonu olan hastalarda dikkatli kullanılması önerilir.

Karbakol, 1932 yılında bulunmuş bir ilaçtır (89). Başlangıçta bu ilaç birçok hastalıkta faydası olabileceği düşüncesiyle denenmiştir. Örneğin migren tedavisinde (90) veya diürezis indüklemek (91) için oral olarak insanlar üzerinde deneysel amaçlı uygulanmış ancak istenilen yanıtın alınamaması ve yan etki profili daha iyi olan ilaçların keşfedilmesiyle ilacın sistemik kullanımı zaman içerisinde gerilemiştir.

İlacın kullanılmaya başlaması ile birlikte ciddi yan etkiler ve ölümler bildirilmeye başlanmıştır. Aşırı dozda alımlarda parasempatometik etkinlikten ötürü hipotansiyon, hipersalivasyon, miyozis, dispne, terleme, bulantı şikayetleri görülmüştür (89).

Vücutta muskarinik ve nikotirik reseptörlerin yaygın olması nonselektif parasempatomimetik ilaçların kullanımında geniş bir yan etki profilinin görülmesine neden olur. Karbakol nonselektif olarak her iki reseptör türüne de bağlanıp reseptörleri aktive eder. Bu sebepten ötürü karbakol sistemik kullanım açısından tercih edilen bir ilaç değildir. Günümüzde karbakol intoksikasyonu nadir görülür. Karbakolün sistemik kullanımı genellikle hayvan deneylerinde modellemelerde veya deneysel çalışmalarda tercih edilir.

2.6. Amaç

Bu tez çalışmasında farelerde parasetamol toksisitesine bağlı gelişen karaciğer hasarında kolinerjik agonist CCh'ın proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesini kontrol ederek olası hepatoprotektif etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Ayrıca parasetamol toksisitesinde antidot olarak kullanılan NAC tedavisine göre NAC+CCh kombine tedavi yaklaşımının üstünlüğünün olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

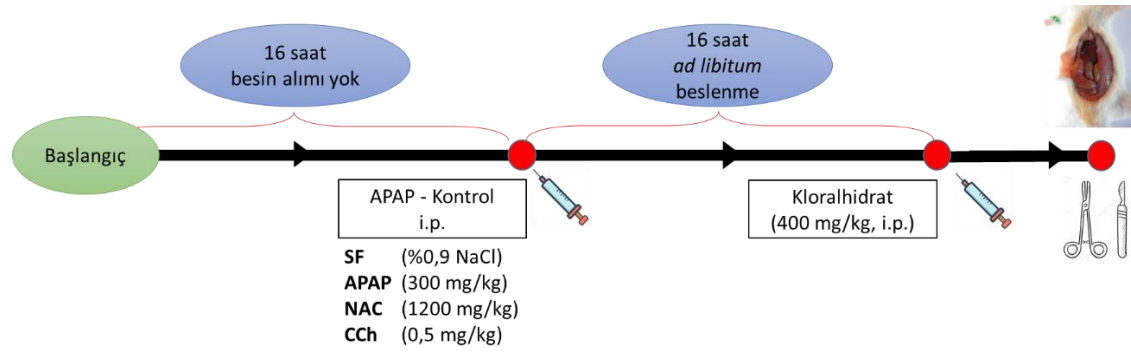
Çalışmada 8-10 haftalık Swiss Albino cinsi erkek fareler (25-35 g) kullanıldı. Hayvanlar 12 saat karanlık / 12 saat aydınlık döngüsünün sağlandığı, sıcaklığın $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulduğu ortamda barındırıldı. Hayvanlar alışmaları için deney prosedürüne başlamadan 15 gün önce ortama yerleştirildi. Standart kemirgen laboratuvar yemi ve su ile *ad libitum* beslendi.

3.2. Etik Kurul İzni

Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 2020/07-02 karar numaralı 20.08.2020 tarihli onayı sonrasında tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerekli önlemler alınarak gerçekleştirildi.

3.3. Deney Protokolü

Çalışmada öncelikle parasetamolün toksik etkisinin gözlemlenmesi ve gözlemlenen bu toksisiteyi önleyebilecek tedavilerin karşılaştırılması planlandı. Deneyde 66 adet erkek Swiss albino fare kullanıldı. Toksikite çalışmasında mortalitenin görüldüğü hayvanlar çalışma dışı olarak değerlendirildi. Deney protokolüne başlamadan önce hayvanlar 16 saat boyunca aç bırakıldı (92, 93). İzleminde gruplara göre intraperitoneal yoldan enjeksiyon yapıldı. Literatürdeki benzer çalışmalar referans alınarak çalışmada kullanılan ilaçların dozları belirlendi. Salin [%0,9'luk NaCl], APAP [300 mg/kg, i.p. (94)], NAC [1200 mg/kg, i.p. (94)], Karbakol [0,5 mg/kg, i.p. (95, 96)] ve bu tedavilerin kombinasyonları uygulandı. Enjeksiyonlardan sonra hayvanların tekrar besin alımına izin verildi ve 16 saat sonra kloralhidrat [400 mg/kg i.p.] enjeksiyonu yapılarak anestezi sağlandı. Yeterli anestezi derinliğine ulaşıldıktan sonra cerrahi işleme başlandı.



Şekil 3-1: Deney protokolünün şematik gösterimi

Çalışmada hayvanlar 8 gruba ayrıldı.

Kontrol	SF (n=6)	APAP	APAP (n=11)
Kontrol	SF + NAC (n=6)	APAP	APAP + NAC (n=8)
Kontrol	SF + CCh (n=6)	APAP	APAP + CCh (n=7)
Kontrol	SF + NAC + CCh (n=6)	APAP	APAP + NAC + CCh (n=8)

Çalışmada APAP grubundan 4 adet, APAP+NAC grubundan 1 adet, APAP+CCh grubundan 2 adet ve APAP+NAC+CCh grubundan 1 adet farede, enjeksiyon sonrası izleminde mortalite gözlemlendi. Bu hayvanlar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmada APAP grubunda bir hayvanın, APAP+NAC+CCh grubunda iki hayvanın mezenter arter ve portal ven akımları, cerrahi sorunlar nedeniyle ölçülemedi. Mezenter arter ve portal ven kan akım hızları değerlendirilirken bu hayvanlar çalışma dışı bırakıldı ancak bu hayvanlara ait doku ve serum örnekleri değerlendirmeye dahil edildi.

3.4. Mezenter Arter ve Portal Ven Kan Akım Hızlarının Ölçümü

Kloralhidrat enjeksiyonu sonrasında yeterli anestezi derinliğine ulaşan hayvanlar cerrahi masaya yerleştirildi. Ayak çekme refleksi ile anestezi derinliği cerrahi işlem sırasında sürekli takip edildi. Hayvanların vücut sıcaklığı rektal termistör prob ile sürekli ölçüldü. Cerrahi masanın 40 cm yukarısında yerleştirilen 150 W'lık bir lamba ile hayvanın vücut sıcaklığı 37 °C'de sabit tutuldu.

Şekilde gösterildiği gibi umbilikusun 1 cm altından, orta hat insizyonu yapılarak karın boşluğuna girildi. Bağırsaklar sol tarafa alınarak cerrahi alanda görüş alanı açıldı ve aort takip edilerek süperior mezenter arter bulundu. Çevre dokular arterden diseke edildi. Arter izole edilerek akım ölçüm işlemine başlandı. Portal ven kan akımı ölçümünde karaciğer hafif kaldırıldı. Karın içi arter ve ven traseleri takip edilerek portal ven tespit edildi. Ölçümün hassasiyetini artırabilmek amacıyla çevre dokular diseke edildi.

Akım ölçümü doppler prensibine göre çalışan bir prob vasıtasıyla gerçekleştirildi (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems, USA). Probdan gelen sinyaller cihaz (Small animal blood flowmeter T 106X, TransonicSystems, USA) aracılığı ile işlendi ve kayıt edildi.



Şekil 3-2: Cerrahi işlem ve kan akım hızlarının ölçülmesi

3.5. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Mezenter arter ve portal ven kan akım hızları ölçüldükten sonra göğüs kafesi açılarak intrakardiyak ponksiyon ile kan alındı. Alınan örnekler biyokimya tüplerine konuldu. Santrifüj (3000rpm, 10dk) edildi. Santrifüj sonrası diğer kan materyallerinden ayrılan serum tüplere konuldu ve iç sıcaklığı -80°C olan derin dondurucuda analizler gerçekleştirilene kadar saklandı. Karaciğer ağırlığı tartıldıktan sonra %10'luk formaldehit solüsyonuna koyularak histopatolojik değerlendirme için ilgili birime götürüldü.

3.6. TAS / TOS Düzeylerinin Analizi

Parasetamol toksisitesi sonrasında oluşan oksidatif hasarın incelenmesi ve farklı tedavi yöntemlerinin etkisini araştırmak amacıyla serumda ve karaciğer dokularında "Total Antioksidan Seviye" (TAS) ve "Total Oksidan Seviye" (TOS) analizleri yapıldı. Ölçümler için ticari olarak satılan kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı.

TAS ve TOS ölçümleri Erel tarafından geliştirilen metoda dayanarak yapıldı (97, 98). TAS ölçümünün temel prensibi, hidrojen peroksit varlığında 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)'in ABTS⁺'ye oksidasyonuna dayanmaktadır. 660 nm'deki absorbansın değişimi ile hesaplanır. Tetkik geleneksel olarak vitamin E analogu olan standart bir antioksidan çözelti ile kalibre edildi. TOS ölçümünün temel prensibi oksidan materyal varlığında ferrous ion-o-dianisidine kompleksinin ferrik iyonuna oksidasyonuna dayanmaktadır. Ferrik iyonu asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Numunedeki oksidan ile ilişkili renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek TOS miktarı belirlenir. Kalibrasyon hidrojen peroksit ile yapılmaktadır. Bu sebepten ötürü ölçüm birimi hidrojen peroksite göre hesaplanır. Oksidatif Stres İndeksi (OSI), TOS'un TAS değerine oranıdır (99, 100).

$$OSI = \frac{(TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{equiv./L})}{(TAS, \mu\text{mol Trolox equiv./L})} \times 100$$

3.7. Glutasyon (GSH) / Glutasyon Disülfit (GSSG) Analizi

GSH düzeyleri, Seldak-Linsey (101) ve Fairbanks-Klee (102) GSH ölçüm yöntemlerinin kombinasyonu oluşturularak tespit edildi. Bu ölçüm yönteminin temel prensibi nonprotein sülfidril gruplarının tümünün redükte glutasyon formunda olması ve 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) sülfidril bileşikler ile indirgenerek koyu sarı renkli bir disülfit kromojen oluşturmasıdır. Reaksiyon sonrası DTNB indirgenerek 2-nitro-5-thiobenzoik asit (TNB) oluşur. Oluşan sarı rengin absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak 412 nm'de ölçülmesi ile GSH düzeyi tespit edilir.

GSSG konsantrasyonu tayini için Ferreira ve diğ. yöntemi kullanıldı (103). Öncelikli olarak ortamda bulunan GSH, GSSG düzeyinde hatalı ölçüm yapılmaması için 4-vinil piridin (4-VP) ile inhibe edildi. GSSG, öncelikli olarak NADPH ve glutasyon redüktaz ile GSH'a indirgenir. Oluşan GSH'ın 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile tepkimeye girmesi sonucu 2-nitro-5-tiyobenzoik asit (TNB) oluşur. Bu bileşiğin optik dansitesindeki değişim GSSG konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.8. ELISA Analizleri

IL-1 β (Elabscience E-EL-M0037), IL-6 (Elabscience E-EL- M0044), IL-17 (Abcam ab100702), TNF- α (Abcam ab208348), IL-8 (MyBioSource MBS1601073), IL-10 (MyBioSource MBS018124) ölçümleri için ticari ELISA kitleri kullanıldı.

Kullanılan ELISA kitleri, Sandwich-ELISA prensibine göre çalışmaktadır. İşleme başlamadan önce bütün preparatlar oda sıcaklığına getirildi. Kitlerde bulunan mikro ELISA plakası, araştırılan interlökinine özgü bağlanan bir antikor ile kaplanmıştır. Öncelikli olarak standartlardan veya hayvanlardan elde edilen serum-doku homojenatı antikor kaplı mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklendi ve kitlerin prosedürlerinde belirtilen süre kadar inkübe edildi. Antijen-antikor kompleksi oluşuktan sonra bağlanmamış proteinler yıkama basamakları ile ortamdan uzaklaştırıldı ve hemen ardından araştırılan interlökinine spesifik biyotinlenmiş tespit antikorunu her bir plakaya eklendi. Prosedürde belirtilen süre

kadar sonra solüsyon aspire edildi ve plakalar absorbant kağıdı ile kurulandı. Yıkama işleminden sonra Horseradish Peroksidaz (HRP) eklendi ve inkübasyona bırakıldı. İzleminde plakalar tekrar yıkama işlemine alınarak substrat solüsyonu kuyucuklara eklendi. Işıktan etkilenmeyecek şekilde kapatılarak inkübe edildi. Yeterli süre beklenildikten sonra durdurma çözeltisi eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Renk değişimi gözlenmiş olan plaklarda optik yoğunluğu (OD) belirleyebilmek için spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. Tüm numunelerin OD değerleri araştırılan antijenin serum düzeyiyle orantılı olmasından ötürü numunelerin OD değerlerini standart eğri ile karşılaştırarak tespit edilen antijene ait konsantrasyon hesaplandı.

Çalışmada farklı firmalardan temin edilen kitler kullanıldı. Kullanılan kitlerde, üretici firmanın önerilerinde diğer firmalara göre bazı farklılıklar bulunmaktaydı. Analizler yapılırken bu farklılıklara dikkat edildi ve her kit için belirlenen prosedürel yönteme göre analiz yapıldı.

3.9. Biyokimyasal Analizler

Serum aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) ölçümü gerekli validasyon işlemleri yapıldıktan sonra otomatik analizatörler (Beckman Coulter AU680) tarafından gerçekleştirildi.

Aspartat aminotransferaz, amino grupların transferi yoluyla amino asitlerin ve ketoasitlerin birbirine dönüşümünü katalize eden bir enzim grubudur. AST ölçümünde kullanılan temel prensip L-aspartat ve α -ketoglutaratın AST enzimi aracılığı ile L-glutamat ve oksaloasetata dönüştürülmesidir. İzleminde oksaloasetat ortamda bulunan NADH ile tepkimeye girer. L-Malat ve NAD^+ oluşur. $NADH$ 'ın tüketimi nedeniyle absorbanstaki azalma 340 nm'de ölçülür. Bu ölçüm numunedeki AST aktivitesi ile orantılıdır.

Alanin aminotransferaz düzeyinin ölçümünde kullanılan temel prensip, L-alaninden bir amino grubunun α -ketoglutarata transferinin katalize edilmesidir. Pirüvat ve glutamat oluşur. Pirüvat $NADH$ ile laktat dehidrogenaz enziminin katalizlediği bir tepkimeye girer. Tepkime sonucunda laktat ve NAD^+ oluşur. $NADH$ 'ın tüketimi nedeniyle

absorbanstaki azalma 340 nm'de ölçülür. Bu ölçüm numunedeki ALT aktivitesi ile orantılıdır.

3.10. Histopatolojik Analizler

Dokular %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edildi ve parafine gömüldü. Doku örneklerinden alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler Harris Hematoksilen Eozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi (Olympus BX53). Karaciğer kesitlerinde inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, sinüzoidal genişleme, kanama ve vakuollü ve/veya piknotik hasarlı hepatositler değerlendirildi. Histopatolojik sonuçlar, 0 = yok, 1= hafif, 2 = orta ve 3 = şiddetli olarak kategorize edilip puanlandırıldı.

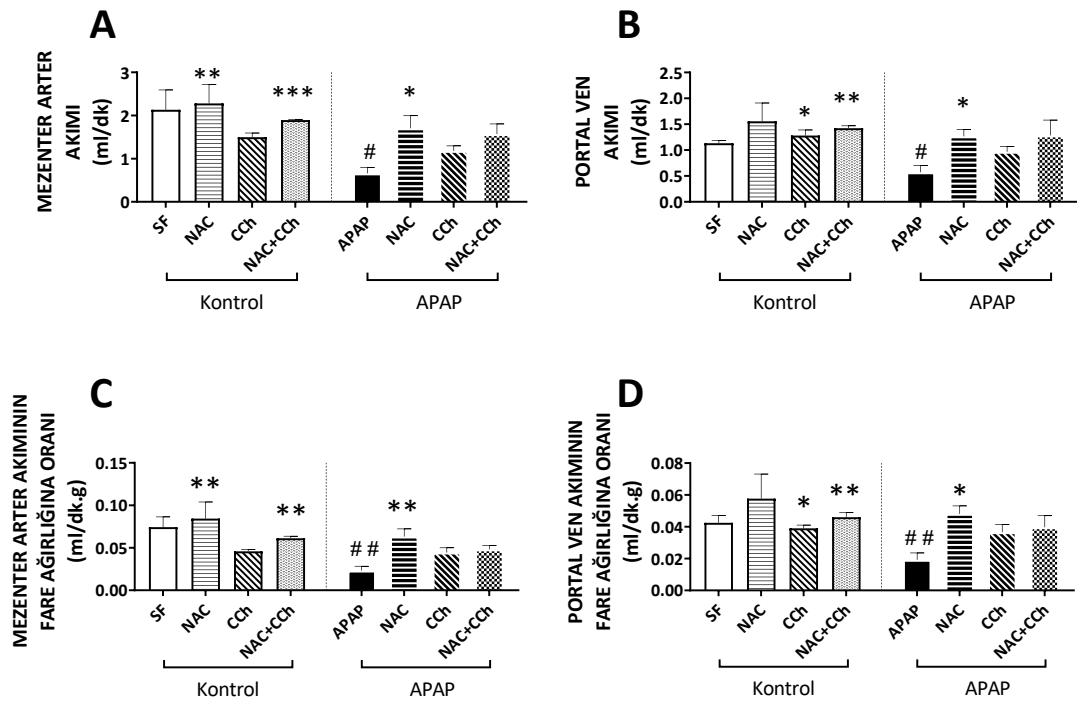
3.11. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 24.0, GraphPad Prism 9.0, Microsoft Excel 2016 yazılımları kullanılarak gerçekleştirildi. Analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) ve görsel (histogram ve olasılık grafikleri) olarak değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu incelendi. Tanımlayıcı analizler ortalama, standart hata ve ortanca, 25-75 persentil olarak gösterildi. İki'den çok grup arasında yapılan karşılaştırmalarda "One-way ANOVA" ve "Kruskal-Wallis" testleri uygulandı. P değerinin 0,05'den küçük olduğu durumlar, gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık olarak yorumlandı. "One-way ANOVA" analizinde gruplar arası farklılık tespit edilen karşılaştırmalarda varyansların homojenliği "Levene testi" ile analiz edildi. Analiz sonucuna göre "Dunnett's T3 Multiple Comparison" veya "Bonferroni's Multiple Comparison" *post hoc* testleri uygulandı. Kruskal-Wallis testinin uygulandığı analizlerde gruplar arası farklılık tespit edilmesi durumunda "Dunn's Multiple Comparison" testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.

4. BULGULAR

Farelerin ortalama ağırlıkları $29,4 \pm 0,62$ g'dır. Gruplarda hayvan ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p=0,084$). Farelerde karaciğer ağırlığının ortalama $1,71 \pm 0,04$ g olduğu tespit edilmiştir. Karaciğer ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,380$)

4.1. Kan Akım Hızlarının Karşılaştırılması



Şekil 4-1: Kontrol ve APAP gruplarında kan akım hızları. Mezenter arter kan akım hızı (A) , portal ven kan akım hızı (B), mezenter arter akımının fare ağırlığına oranı (C) ve portal ven akımının fare ağırlığına oranı (D). Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. Kontrol grubundaki hayvan sayıları her bir alt grup için $n=6$ 'dır. APAP grubunda alt grupların hayvan sayıları APAP $n=10$, NAC $n=8$, CCh $n=7$, NAC+CCh $n=6$ 'dır. Gruplar arası karşılaştırmalarda "Kruskal Wallis" (A,C) ve "One-way ANOVA" (B,D) testleri yapıldı. Post Hoc analizlerde "Dunn's Multiple Comparison" (A,C) ve "Dunnett's T3 Multiple Comparison" (B,D) testleri uygulandı. "*" sadece APAP uygulanan grup ile yapılan karşılaştırmalardaki, "#" ise Kontrol-SF grubu ile yapılan karşılaştırmalardaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. (*, # $p<0,05$ **, ## $p<0,01$ ***, ### $p<0,001$)

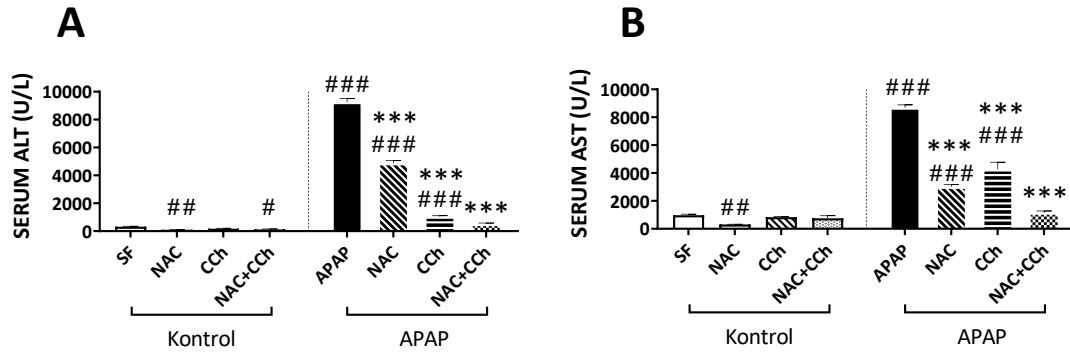
Mezenter arter akımlarına bakıldığında APAP uygulanan grupta ($0,66\pm 0,13$ ml/dk) Kontrol-SF uygulanan gruba ($2,13\pm 0,46$ ml/dk) göre akım hızının azaldığı görülmektedir ($p=0,030$). APAP uygulanan grup ile APAP'a ek olarak NAC ($1,70\pm 0,29$ ml/dk), CCh ($1,18\pm 0,12$ ml/dk) ve NAC+CCh ($1,57\pm 0,23$ ml/dk) uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, mezenter kan akımlarında APAP grubuna göre artış görüldü ancak APAP+NAC grubu dışında bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0,048$; $p=0,990$; $p=0,200$). (Bkz. Şekil 4-1 A).

Mezenter arter akımının hayvan ağırlığına oranlandığı analizlerde sadece APAP uygulanan ($0,02\pm 0,01$ ml/dk.g) gruptaki mezenter akım hızı /ağırlık oranında Kontrol-SF ($0,07\pm 0,01$ ml/dk.g) grubuna göre azalma görüldü ($p=0,008$). APAP grubunda NAC, CCh, ve NAC+CCh uygulanan gruplarda (ml/dk.g; sırasıyla $0,06\pm 0,01$; $0,04\pm 0,01$; $0,05\pm 0,01$) mezenter akım/ağırlık oranı, APAP grubuna göre artış gösterdi ancak sadece APAP+NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlılık tespit edildi (sırasıyla $p=0,008$; $p=0,996$; $p=0,992$). (Bkz. Şekil 4-1 C).

Portal ven akımları incelendiğinde Kontrol-SF grubu ($1,13\pm 0,05$ ml/dk) referans alındığında, APAP uygulanması ($0,57\pm 0,13$ ml/dk) sonrasında portal ven akımında azalma görülmüştür ($p=0,044$). APAP grubunda NAC ($1,26\pm 0,13$ ml/dk), CCh ($0,96\pm 0,10$ ml/dk) ve NAC+CCh ($1,28\pm 0,29$ ml/dk) uygulanması portal ven kan akım hızlarında artış sağlamıştır. Bu artış sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında APAP+NAC uygulanan gruptaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0,041$; $p=0,452$; $p=0,596$). (Bkz. Şekil 4-1 B).

Portal ven akımının hayvan ağırlığına oranlandığı analizlerde APAP ($0,02\pm 0,01$ ml/dk.g) uygulanması sonrasında Kontrol-SF grubuna ($0,04\pm 0,01$ ml/dk.g) göre portal ven akımı/ağırlık oranında azalma görüldü ($p=0,003$). APAP grubunda NAC ($0,05\pm 0,01$ ml/dk.g), CCh ($0,04\pm 0,01$ ml/dk.g) ve NAC+CCh ($0,04\pm 0,01$ ml/dk.g) uygulananlar gruplar, sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında APAP+NAC grubunda akım/ağırlık oranındaki artış, istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (sırasıyla $p=0,013$; $p=0,300$; $p=0,468$). (Bkz. Şekil 4-1 D).

4.2. Karaciğer Fonksiyon Testleri



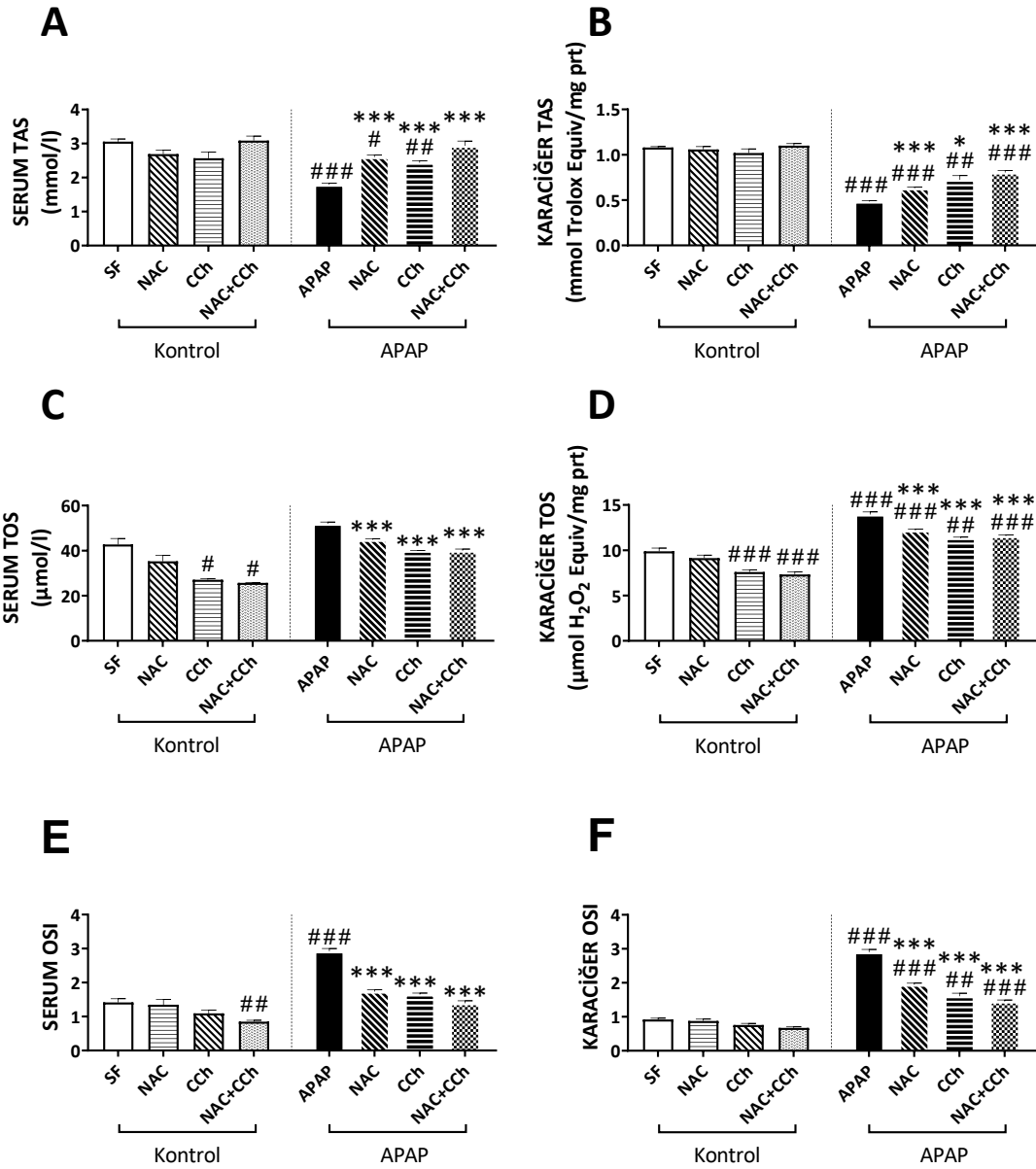
Şekil 4-2: Kontrol ve APAP gruplarında karaciğer fonksiyon testleri (A,B). Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. Kontrol grubundaki hayvan sayıları her bir alt grup için n=6'dır. APAP grubunda alt grupların hayvan sayıları APAP n=11, NAC n=8, CCh n=7, NAC+CCh n=8'dir. Gruplar arası karşılaştırmalarda "One-way ANOVA" testi yapıldı. *Post Hoc* analizlerde "Dunnett's T3 Multiple Comparison" testi uygulandı. . " * " sadece APAP uygulanan grup ile yapılan karşılaştırmalardaki, " # " ise Kontrol-SF grubu ile yapılan karşılaştırmalardaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. (*, # p<0,05 ** , ## p<0,01 *** , ### p<0,001)

Çalışmada serum ALT ve AST düzeyleri incelendiğinde APAP uygulanması sonrasında (U/L, sırasıyla 9256 ± 258 ; 8690 ± 199) Kontrol-SF grubuna göre (U/L, sırasıyla 322 ± 27 ; 973 ± 76) karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik tespit edildi ($p < 0,001$).

APAP'a ek olarak NAC (U/L, ALT: 4867 ± 187 ; AST: 3009 ± 161), CCh (U/L, ALT: 1037 ± 68 ; AST: 4256 ± 518) ve NAC+CCh (U/L, ALT: 525 ± 59 ; AST: 1160 ± 118) uygulanan gruplar, sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında karaciğer fonksiyon testlerindeki yükselmenin daha az olduğu görüldü ($p < 0,001$).

APAP grubunda NAC+CCh'in birlikte uygulandığı farelerde ALT ve AST değerleri, Kontrol-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (sırasıyla $p = 0,173$; $p = 0,979$)

4.3. TAS / TOS ve OSI Bulguları



Şekil 4-3: Kontrol ve APAP gruplarında TAS, TOS ve OSI ölçümleri. Serum TAS (A), karaciğer TAS (B), serum TOS (C), karaciğer TOS (D), serum OSI (E) karaciğer OSI (F) değerleri. Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. Kontrol grubundaki hayvan sayıları her bir alt grup için n=6'dır. APAP grubunda alt grupların hayvan sayıları APAP n=11, NAC n=8, CCh n=7, NAC+CCh n=8'dir. Gruplar arası karşılaştırmalarda "One-way ANOVA" testi yapıldı. Post Hoc analizlerde "Dunnett's T3 Multiple Comparison" (A,B,C) ve "Bonferroni's Multiple Comparison" (D,E,F) testleri yapıldı. " * " sadece APAP uygulanan grup ile yapılan karşılaştırmalardaki, " # " ise Kontrol-SF grubu ile yapılan karşılaştırmalardaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir

(* , # p<0,05 ** , ## p<0,01 *** , ### p<0,001)

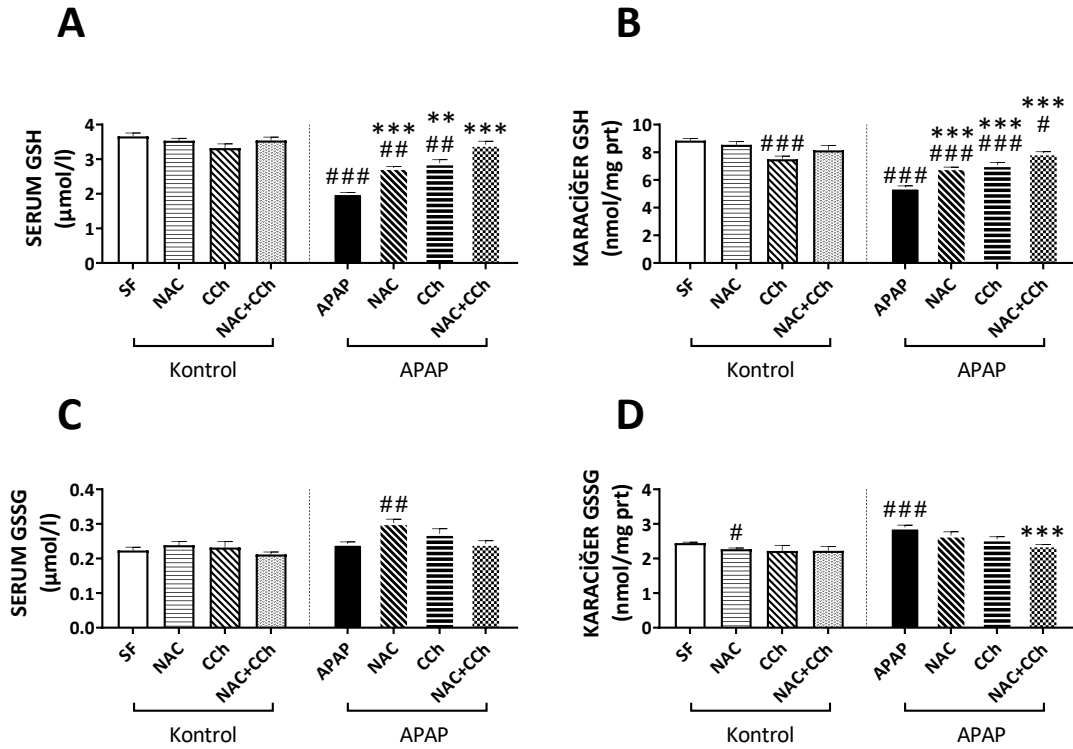
Serumda ve karaciğerde TAS analizi yapıldığında, APAP uygulaması sonrasında serumdaki ($1,79 \pm 0,04$ mmol/l) ve karaciğer dokusundaki ($0,48 \pm 0,01$ mmol Trolox Equiv/mg prt) TAS değerlerinde, Kontrol-SF grubuna (serum TAS: $3,06 \pm 0,08$ mmol/l; doku TAS: $1,08 \pm 0,01$ mmol Trolox Equiv/mg prt) göre azalma görüldü ($p < 0,001$). (Bkz. Şekil 4-3 A,B).

APAP'a ek olarak NAC ($2,60 \pm 0,06$ mmol/l), CCh ($2,43 \pm 0,05$ mmol/l), NAC+CCh ($2,93 \pm 0,14$ mmol/l) uygulanan gruplarda, sadece APAP uygulanan gruba göre serum TAS düzeyinde artış tespit edildi ($p < 0,001$). Benzer bulgular karaciğer dokusunda da görüldü. APAP grubundan NAC ($0,63 \pm 0,01$ mmol Trolox Equiv/mg prt), CCh ($0,72 \pm 0,05$ mmol Trolox Equiv/mg prt) ve NAC+CCh ($0,80 \pm 0,02$ mmol Trolox Equiv/mg prt) uygulanan farelerde karaciğer dokusundaki TAS değerlerinde sadece APAP uygulanan gruba göre artış vardı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0,001$; $p = 0,020$; $p < 0,001$). (Bkz. Şekil 4-3 A,B).

Serum TOS analizlerinde, kontrol grubundan CCh ve NAC+CCh uygulanmış gruplarda, Kontrol-SF grubuna göre TOS değerlerinde azalma görüldü (Sırasıyla $p = 0,027$; $p = 0,018$). Bu gruplar için karaciğer dokusunda yapılan TOS analizinde de kontrol grubuna göre TOS değerinde azalma tespit edildi ($p < 0,001$). APAP uygulaması sonrası serumda ve karaciğer dokusunda ortalama TOS değerlerinde artış görüldü. APAP grubundan NAC, CCh, NAC+CCh uygulanan gruplar, sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında serum ve karaciğer dokusunda TOS değerlerinde azalma olduğu görüldü ($p < 0,001$). (Bkz. Şekil 4-3 C,D).

Oksidatif stres indeksi TOS ve TAS değerlerinin bir çarpan eşliğinde birbirine oranı ile elde edilir. Serumda ve karaciğer dokusunda APAP uygulanan grupta (serum: $2,92 \pm 0,27$ AU; doku: $2,90 \pm 0,27$ AU), Kontrol-SF grubuna göre (serum: $1,41 \pm 0,26$ AU; doku: $0,92 \pm 0,10$ AU) OSI'de artış olduğu görüldü ($p < 0,001$). APAP grubunda NAC, CCh ve NAC+CCh uygulanan gruplarda, sadece APAP uygulanan gruba göre OSI değerinde azalma mevcuttu ($p < 0,001$). (Bkz. Şekil 4-3 E,F).

4.4. Glutasyon / Glutasyon Disülfid Ölçümleri



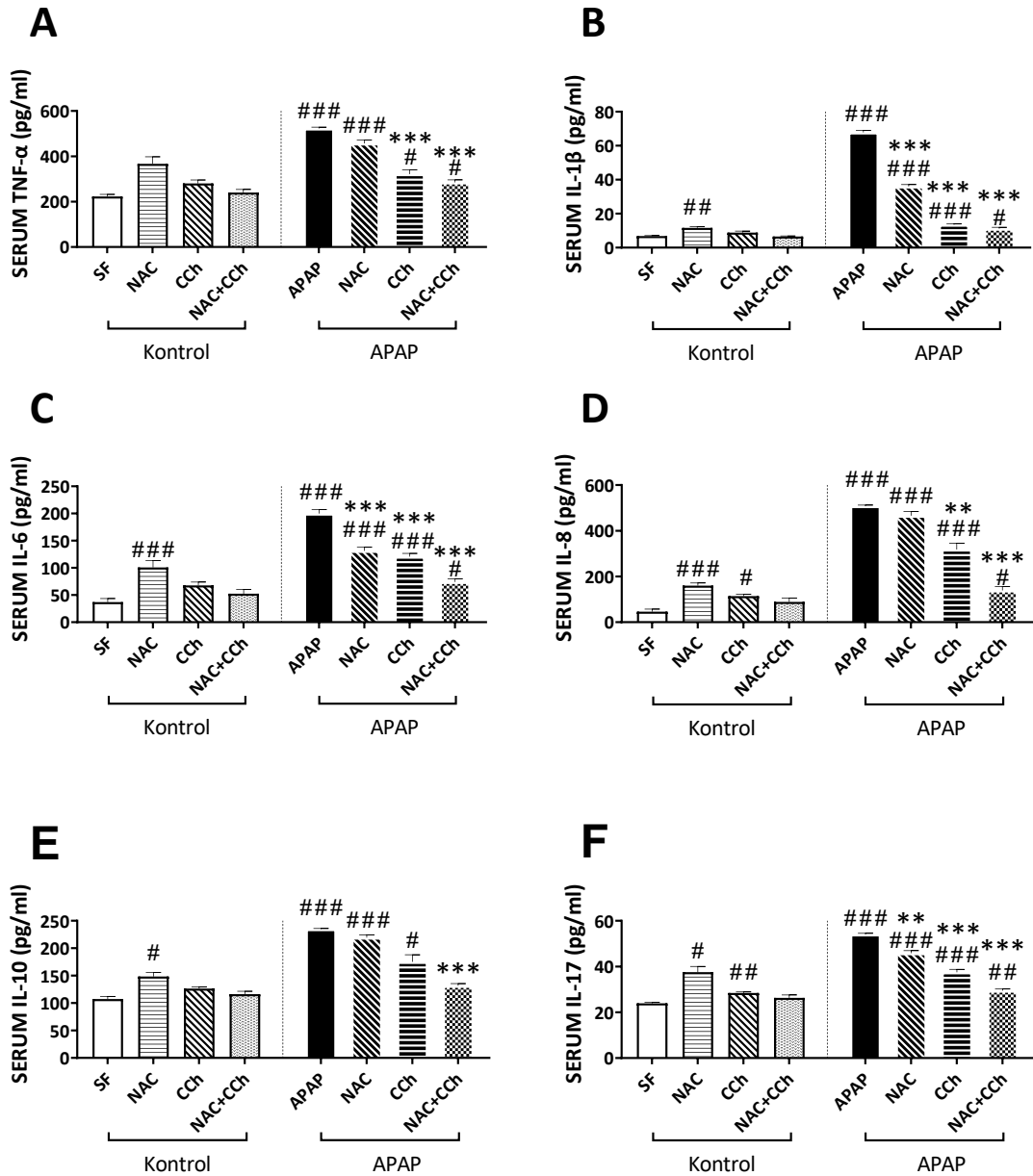
Şekil 4-4: Kontrol ve APAP gruplarında GSH/GSSG ölçümleri. Serum GSH (A), serum GSSG (B), karaciğer GSH (C), karaciğer GSSG (D) değerleri. Veriler ortalama \pm Standart hata olarak sunuldu. Kontrol grubundaki hayvan sayıları her bir alt grup için n=6'dır. APAP grubunda alt grupların hayvan sayıları APAP n=11, NAC n=8, CCh n=7, NAC+CCh n=8'dir. Gruplar arası karşılaştırmalarda "One-way ANOVA" (A,B,D) ve "Kruskal Wallis" (C) testleri yapıldı. Post Hoc analizlerde "Dunn's Multiple Comparison" (C), "Dunnett's T3 Multiple Comparison" (A,D) ve "Bonferroni's Multiple Comparison" (B) testleri uygulandı. . " * " sadece APAP uygulanan grup ile yapılan karşılaştırmalardaki, " # " ise Kontrol-SF grubu ile yapılan karşılaştırmalardaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (*, # p<0,05 ** , ## p<0,01 *** , ### p<0,001)

Serumda ve karaciğer dokusunda GSH, GSSG düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,001$).

APAP uygulanmış grupta ($2,03\pm 0,02$ $\mu\text{mol/l}$) serum GSH düzeyinin Kontrol-SF grubuna ($3,66\pm 0,10$ $\mu\text{mol/l}$) göre düşük olduğu görüldü ($p<0,001$). APAP grubundan NAC ($2,75\pm 0,05$ $\mu\text{mol/l}$), CCh ($2,88\pm 0,10$ $\mu\text{mol/l}$) ve NAC+CCh ($3,42\pm 0,10$ $\mu\text{mol/l}$) uygulanmış gruplar ile sadece APAP uygulanan grup karşılaştırıldığında GSH seviyelerinde artış saptandı (Sırasıyla $p<0,001$; $p=0,002$; $p<0,001$). APAP grubundan NAC+CCh uygulanmış grup ile Kontrol-SF grubu arasında serum GSH düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,872$). Karaciğer dokusu üzerinde yapılan GSH analizleri serumdan elde edilen bulguları destekler niteliktedir. Karaciğer dokusunda APAP uygulaması ($5,46\pm 0,11$ nmol/mg prt) sonrası Kontrol-SF grubuna ($8,84\pm 0,15$ nmol/mg prt) göre GSH düzeyinde azalma gözlemlendi ($p<0,001$). APAP ile birlikte NAC ($6,86\pm 0,07$ nmol/mg prt), CCh ($7,08\pm 0,17$ nmol/mg prt), NAC+CCh ($7,93\pm 0,12$ nmol/mg prt) uygulanan gruplarda bu azalmanın daha az olduğu görüldü ve sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,001$). (Bkz. Şekil 4-4 A,B).

Serum ve Karaciğer GSSG düzeyleri değerlendirildiğinde, serumda APAP+NAC uygulanan grupta GSSG değerinde Kontrol-SF grubuna göre artış görüldü ($p=0,007$). Karaciğer dokusunda APAP uygulanan grupta ($2,90\pm 0,07$ nmol/mg prt) GSSG düzeyi Kontrol-SF ($2,45\pm 0,03$ nmol/mg prt) grubuna göre artış gösterdi ($p<0,001$). Karaciğer dokusunda APAP grubundan NAC+CCh uygulanan grup, sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GSSG düzeyinde azalma olduğu görüldü ($p<0,001$). (Bkz. Şekil 4-4 C,D).

4.5. Sitokin Ölçümleri



Şekil 4-5: Kontrol ve APAP gruplarında sitokin düzeyleri. Serum TNF- α (A), IL-1 β (B), IL-6 (C), IL-8 (D), IL-10 (E), IL-17 (F) değerleri. Veriler ortalama \pm Standart hata olarak sunuldu. Kontrol grubundaki her bir grup için n=6'dır. APAP grubunda alt grupların hayvan sayıları APAP n=11, NAC n=8, CCh n=7, NAC+CCh n=8'dir. Gruplar arası karşılaştırmalarda "One-way ANOVA" testi yapıldı. Post Hoc "Dunnett's T3 Multiple Comparison" (A, B, D, E, F) ve "Bonferroni's Multiple Comparison" (C) testleri yapıldı. " * " sadece APAP uygulanan grup ile yapılan karşılaştırmalardaki, " # " ise Kontrol-SF grubu ile yapılan karşılaştırmalardaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (*, # p<0,05 ** , ## p<0,01 *** , ### p<0,001)

Çalışmada serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 düzeylerine bakıldı. Kontrol-SF grubuna (pg/ml, sırasıyla 222,7 \pm 9,4; 6,82 \pm 0,25; 36,9 \pm 6,6; 46,0 \pm 11,1; 107,3 \pm 4,8; 23,9 \pm 0,6) göre APAP uygulanan (pg/ml, sırasıyla 523,1 \pm 5,7; 67,83 \pm 1,23; 199,9 \pm 7,2; 508,4 \pm 4,1; 234,8 \pm 1,1; 54,1 \pm 0,4) grupta TNF- α ve interlökin düzeylerinde artış olduğu görüldü (p<0,001).

APAP ile birlikte NAC uygulanan gruptaki TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve IL-17 düzeyleri (pg/ml, sırasıyla 457,1 \pm 15,1; 36,04 \pm 1,06; 131,2 \pm 6,7; 465,9 \pm 18,6; 219,5 \pm 4,6; 45,8 \pm 1,1) APAP grubu ile karşılaştırıldığında ortalama TNF- α ve interlökin düzeylerinde azalma görüldü. IL-1 β , IL-6 ve IL-17 düzeylerindeki bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (sırasıyla p<0,001; p<0,001; p=0,002). TNF- α , IL-8 ve IL-10 düzeylerindeki azalma ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Sırasıyla p=0,050; p=0,057; p=0,180).

APAP ile birlikte CCh uygulanan gruplardaki TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve IL-17 düzeyleri (pg/ml, sırasıyla 321,8 \pm 18,5; 13,53 \pm 0,43; 120,8 \pm 5,8; 318,3 \pm 27,9; 175,1 \pm 12,8; 37,5 \pm 1,3) APAP grubu ile karşılaştırıldığında, TNF- α ve interlökin düzeylerinde azalma görüldü. IL-10 dışında (p=0,051) TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla p<0,001; p<0,001; p<0,001; p=0,008; p<0,001). APAP grubunda CCh ve NAC grupları karşılaştırıldığında CCh uygulanan grupta IL-6 ve IL-10 dışında (sırasıyla p=0,999; p=0,173) diğer interlökin düzeylerinin, TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-17'nin, NAC uygulanan gruba göre daha düşük olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,003; p<0,001; p=0,022; p=0,007).

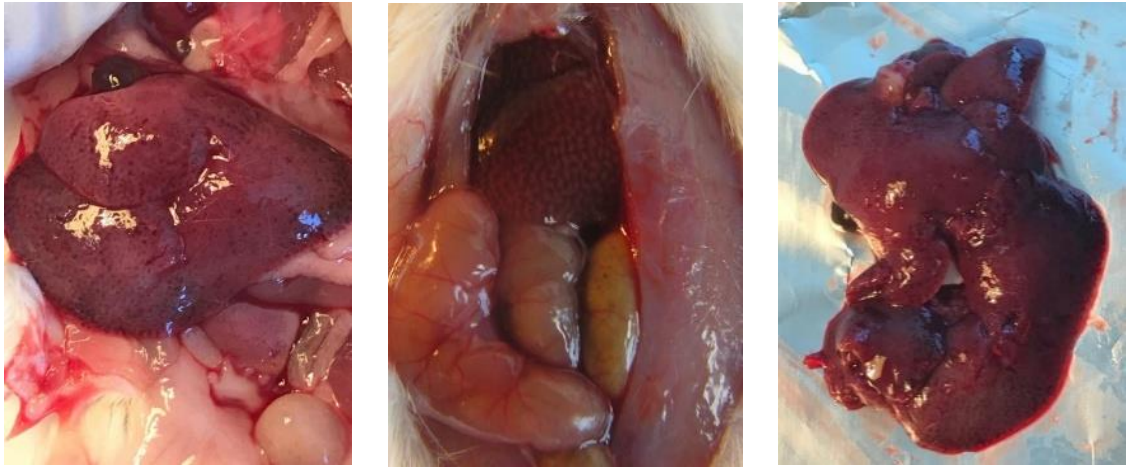
APAP ile birlikte kombine NAC+CCh uygulanan gruplardaki TNF- α , IL1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve IL-17 düzeyleri (pg/ml, sırasıyla 284,8 \pm 11,5; 11,16 \pm 0,82; 74,0 \pm 5,7; 138,9 \pm 17,1; 131,5 \pm 3,9; 29,4 \pm 0,7) sadece APAP uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, kombine NAC+CCh uygulanan grupta TNF- α ve interlökin düzeylerinde azalma görüldü (p<0,001).

APAP grubunda NAC+CCh ile NAC uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, kombine NAC+CCh uygulanan grupta TNF- α ve interlökin düzeylerinin daha az olduğu görüldü (p<0,001).

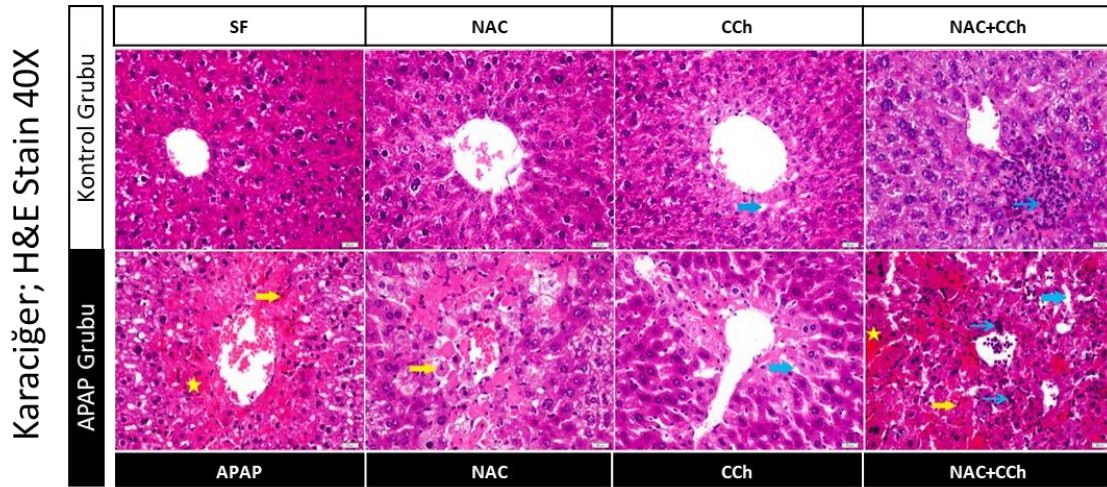
4.6. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarına ait karaciğer dokuları histopatolojik yönden inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal genişleme, kanama ve vakuollü/piknotik hepatosit oluşumu açısından değerlendirildi.

Sadece APAP uygulanan grup ile Kontrol-SF grubu karşılaştırıldığında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal genişleme, kanama ve vakuollü/piknotik hepatosit oluşumu gibi hepatosit nekrozunun ve hasarının göstergesi parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (sırasıyla $p=0,031$; $p=0,009$; $p<0,001$; $p=0,024$). Kontrol-SF grubu ile APAP grubundan NAC, CCh ve NAC+CCh grupları karşılaştırıldığında bütün bu parametreler yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Tablo 4-1)



Şekil 4-6: APAP gruplarındaki karaciğer dokularının makroskobik örnekleri



Şekil 4-7: APAP gruplarında karaciğer dokularının mikroskopik örnekleri

Karaciğer görüntülerinde işaretlenen ince mavi ok: inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu, mavi ok sinüzoidal genişlemeyi, yıldız: kanamayı ve sarı ok: vakuollü/piknotik hasarlı hepatositleri temsil etmektedir.

Tablo 4-1: Karaciğer dokularına ait histopatolojik hasar oranları

Karaciğer Gruplar	İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu (AU)		Sinüzoidal Genişleme (AU)		Kanama (AU)		Vakuollü Piknotik Hepatosit (AU)	
	Ortanca (25-75 Persentil)		Ortanca (25-75 Persentil)		Ortanca (25-75 Persentil)		Ortanca (25-75 Persentil)	
SF	0(0-1)	e	0(0-1)	e	0(0-0)	e,f	0(0-1)	e
SF+NAC	0(0-1)	e	0(0-1)	e	0(0-1)	e	0,5(0-2)	e
SF+CCh	0(0-0)	e,h	0(0-1)	e	0(0-1)	e	1(0-1)	e
SF+NAC+CCh	1(0-2)		0,5(0-1)		0,5(0-1)	e	1(1-2)	
APAP	2(1-2,5)	a,b,c	2(1,5-3)	a,b,c	3(2-3)	a,b,c,d	3(2-3)	a,b,c
APAP+NAC	1(1-2)		1,5(1-2,5)		2(2-2,5)	a	2,5(1,5-3)	
APAP+CCh	1(0,5-1)		1(0,5-1)		1(1-1,5)		2(0,5-2)	
APAP+NAC+CCh	2(1,5-2,5)		1,5(1-2)		2(1-2,5)		1,5(1-2,5)	

Veriler, ortanca ve 25-75 persentil olarak ifade etmektedir. "Kruskal Wallis" testi ve *Post Hoc* analizde "Dunn's Multiple Comparison" testi yapıldı. (a SF, b SF+NAC, c SF+CCh, d SF+NAC+CCh, e APAP, f APAP+NAC, g APAP+CCh, h APAP+NAC+CCh alt grupları ile olan farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söylemektedir. $p < 0,05$)

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında farelerde deneysel olarak oluşturulan parasetamol toksisitesinde kolinerjik aktivasyonun etkisi incelenmiştir. Çalışmada APAP toksisitesi oluşturulmuş farelerde ve kontrol gruplarında, mezenter arter ve portal ven kan akım hızlarındaki değişim ölçüldü. APAP toksisitesinde beklenildiği gibi karaciğer fonksiyon testlerinden ALT ve AST değerlerinde artış görüldü. Serbest oksijen radikallerine karşı hücrel komponentlerin korunmasında önemli fonksiyonu olan GSH'ın ve onun okside hali GSSG'nin serum ve karaciğer dokusundaki düzeyleri ölçüldü. Ek olarak TAS, TOS ve OSI değerleri ölçüldü. APAP toksisitesinde TAS ve GSH düzeyinin düştüğü ve TOS, OSI ve GSSG düzeyinin arttığı görüldü. Sitokin düzeylerine bakıldığında APAP toksisitesinde TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 düzeylerinde artış tespit edildi. Araştırmada APAP toksisitesinde antidot olarak kullanılan NAC ile CCh aracılığıyla gerçekleştirilen kolinerjik aktivasyonun bozulan parametreler üzerine etkisi incelendi ve iki tedavi yöntemi karşılaştırıldı. Her iki grupta da toksisite sonrası yükselmiş olan KCFT testleri, sitokinler, GSSG, TOS ve OSI'de düşüş, azalmış TAS ve GSH düzeylerinde artış görüldü. CCh ve NAC kombine edildiğinde ALT, AST, GSH/GSSG, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-17 parametrelerinde kombine tedavi verilen hayvanlarda ayrı ayrı tedavi verilen gruplara göre bozulan parametrelerde daha fazla düzelmeye olduğu görüldü. Histopatolojik analizlerde NAC, CCh ve bu ilaçların kombine kullanımının APAP toksisitesinde tedavi edici etkisi olduğu tespit edildi. Ancak mortaliteye bakıldığında APAP grubunda tedaviye rağmen bütün alt gruplarda mortalitenin görüldüğü fareler oldu.

Parasetamolün doğrudan vasküler sistem üzerinde etkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Hostovsky ve diğ. yenidoğan sıçanlar kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında *in vitro* olarak pulmoner ve karotid arterin artan dozlarda APAP'a verdikleri yanıtları incelemişlerdir (104). Çalışmalarında ön deneylerde karotid ve pulmoner arterde APAP'a yanıt olarak vasküler tonusta bir değişim gözlemlenmemesinden ötürü bazal tonusu artırıp APAP'ın tonus üzerine etkisini tekrar değerlendirmişlerdir. Bu şartlarda APAP'ın doz bağımlı olarak yenidoğan hayvanların

pulmoner ve karotid arterlerinde kasılma yanıtını artırdığı görülmüştür. Ancak bu durumun erişkin hayvanlarda görülmediği ve yüksek konsantrasyonlarda APAP'ın vazodilatör etkisinin olduğu saptanmıştır. APAP uygulanmasının kemirgenlerde peroksinitrit oluşumuna neden olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (105). Bu vasküler tonustaki değişikliklerin NAPQI oluşumu ve sonrasında peroksinitrit üretimi ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Yenidoğan hayvan deneylerinde ortama glutasyon, süperoksit dismutaz inhibitörü eklendiğinde veya peroksinitriti azaltacak ilaçlar eklendiğinde yetişkin sıçanlarda görülen doz-yanıt eğrisine benzer cevabın ortaya çıktığı görülmüştür. Çalışmalarında APAP'ın vasküler tonus üzerindeki etkisinin peroksinitrit üzerinden olduğu anlaşılmıştır (104).

Porto ve diğ.'nin sıçanlarda APAP'ın yüksek dozda (400 mg/kg/gün) kronik kullanımı sonrası vasküler sistem üzerindeki etkilerini inceledikleri bir başka çalışmada hayvanların kan basınçları üzerinde APAP'ın anlamlı bir etkisi gözlenmezken, organ banyosunda izole torasik aortada yaptıkları deneylerde asetilkolin ile oluşturulan endotel bağımlı vazodilatasyonda azalma tespit edilmiştir (106).

Mezenter arter üzerinde *in vitro* yapılan bir çalışmada artan konsantrasyonlarda parasetamol verildiğinde sıçan mezenter arter tonusunda herhangi bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir. Ancak aynı deney parasetamolün bir metaboliti olan NAPQI ile yapıldığında mezenter arter tonusunda azalma görülmüş ve bu gevşeme yanıtı arteriyel tonusta önemli bir regülatör olan ve vasküler düz kas hücrelerinde de eksprese edilen Kv7 (KCNQ) kanalların bloke edilmesi ile ortadan kalkmıştır (107-111). Bu kanalların NADPQI ile aktive edilmesi sonrasında hücrede hiperpolarizasyon gerçekleşmiştir. İnsanlarda APAP-bağımlı geçici kan basıncı düşüşünden Kv7 potasyum kanallarının sorumlu olduğu düşünülmektedir (107).

Literatürdeki çalışmalar dikkate alındığında parasetamolün doğrudan vasküler düz kas üzerinde bir etkisinin olmadığı ancak metabolitlerinin, peroksinitrit gibi vazodilatör etki gösteren moleküller veya bazı reseptörler aracılığı ile vasküler sistem üzerinde etkisinin olduğu anlaşılmaktadır. Dolayısıyla parasetamol toksisitesi sonrası

vazodilatör etkinin gözlenmesi ve sonucunda kan akım hızının artması beklenmektedir. Çalışmamızda APAP toksisitesinde kan akım hızlarında artma görülmemiştir. *In vitro* analizlerde ortama eklenen NADPQI'nın etkisi vazodilatasyon yönündedir. *In vivo* çalışmalarda kompensatuvar mekanizmalar ve diğer yollar nedeniyle NADPQI'nın neden olduğu vazodilatör etkinin doğrudan gözlemlenmesi mümkün değildir. Çalışmamızda serumda NADPQI miktarı ölçülmemiştir. Serumda NADPQI, Kv7 gibi vasküler düz kas tonusunda etkisi olan reseptörleri uyurabilecek konsantrasyonlara ulaşmamış olabilir veya vasküler düz kasta endotel hücrelerinde vazodilatasyon cevabına neden olacak kadar peroksinitrit sentezi gerçekleşmemiş olabilir. Çalışmamızda APAP uygulanan alt grupta beklenenin aksine kan akımlarında azalma görüldü. Bu grupta toksisite sonrası mortalitenin gerçekleştiği denekler oldu ve kalan deneklerin de genel durumlarının görece kötü olduğu gözlemlendi. Bu grupta kan akımı parasetamolün veya metabolitlerinin vasküler düz kas üzerindeki etkisinden çok toksisiteye bağlı dolaşımın bozulması sonucu azalmış olabilir.

Parasetamol toksisitesinde NAC, GSH prekürsörü olarak fonksiyon gösterir ve sülfasyon yolağının işlevini artırır. NAC'ın bilinen bu koruyucu etkilerine ek olarak başka bazı mekanizmalar ile de fayda gösterdiğini iddia eden çalışmalar mevcuttur. NAC, nitrik oksit saliverilmesini sağlayarak mikrosirkülasyonu artırmasıyla da hepatoprotektif etki sağlıyor olabilir (86, 112). Harrison ve diğ. parasetamole bağlı fulminan hepatit gelişen hastalar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, NAC'ın hastalarda mikrosirkülasyonu ve dokunun oksijenizasyonunu artırdığını gözlemlemişlerdir (86). Vasküler düz kasların gevşeyebilmesi için sülfidril gruplarına ihtiyaç vardır (113). NAC hızla "S-nitroso-N-acetylcysteine" oluşumu ile sülfidril gruplarını artırmakla vazodilatasyonu yeniden düzenleyerek nitrat toleransını tersine çevirmektedir (114). NAC, NO-bağlı cGMP seviyelerini yükseltip prostaglandin ve endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörler üzerinden intraselüler kalsiyum konsantrasyonlarını da azaltmaktadır (115). Lopez ve diğ. izole edilmiş mezenter arter üzerinde *in vitro* gerçekleştirdikleri ve NAC'ın vazodilatör etkisini araştırdıkları çalışmalarında üç farklı sonuca ulaştılar. Buna göre NAC;

NOS ve guanilil siklaz aktivitesini modüle ederek NO saliverilmesini uyarır, NO ile tepkimeye girerek S-nitroso-N-acetylcysteine'e dönüşüp NO'in etkisini uzatır. Ayrıca antioksidan özelliği olan NAC, ortamdaki reaktif oksijen radikallerini temizleyip, NO'nun yarılanma ömrünü uzatmaktadır (112). Vezir ve diğ. *in vitro* çalışmalarında, NAC uygulamasının sıçan aortundaki gevşemeyi doz bağımlı arttırdığını saptamışlardır (115).

Literatürdeki *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda NAC uygulanması sonrasında, kan akım hızında artış olmasını destekler nitelikte sonuçlara ulaşılmıştır. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda ve APAP grubunda NAC uygulanan hayvanlarda kan akım hızlarında diğer gruplara göre artış görüldü.

Sıçanlarda mezenter arterde M₁, M₂ ve M₃ reseptörleri eksprese edilmektedir. M₁ ve M₃ reseptörleri M₂'lere göre daha fazla bulunmaktadır (116). Reseptörlerin vasküler yataktaki dağılımı farklı arterlerde vazodilatasyon cevabında değişikliklerin gözlenmesine neden olabilir (117). Vasküler endotelde M₁ ve M₅ yaygın olarak bulunur ve bu reseptörlerin uyarılmasıyla potent vazodilatasyon cevabı alınır (118). Hendriks ve diğ. sıçan mezenter arterde vazodilatasyondan ağırlıklı M₃ reseptörlerinin sorumlu olduğunu bulmuşlardır (119). Takenaga ve diğ. sıçanlarda mezenter arterde uzamış gevşeme yanıtının endotelden bağımsız olarak, perivasküler yerleşim gösteren muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucu saliverilen potent vazodilatör CGPR'in neden olduğunu göstermişlerdir (120). Sonuç olarak, literatürdeki çalışmalar parasempatometik uyarım sonucunda vazodilatasyona neden olarak kan akım hızlarında artışın görülmesini destekler niteliktedir. Bir parasempatometik olan CCh, çalışmamızda APAP toksisitesi sonrası düşen mezenter kan akımını artırmıştır.

Ohm kanununa göre portal sistemdeki basınç, kan akım hızı ve dirençle doğru orantılıdır (121). Toksikite sonrası karaciğer sinüzoidal yapılarının bozulması direncin artmasına ve beraberinde portal sistemde basıncın yükselmesine neden olacaktır. Yüksek basınç kan akım hızının azalması ile sonuçlanacaktır. Ancak literatürde bu düşüncüyü desteklemeyen yayınlar bulunmaktadır. Scorticati ve diğ. sıçanlarda yaptıkları çalışmada akut parasetamol toksisitesi sonucunda portal vendeki basıncı kontrol

grubuyla karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit etmemişlerdir (122). Fizyolojik olarak postprandiyal zaman diliminde portal vendeki kan akım hızı artar ancak basınçta belirgin bir artış görülmez. Bunun nedeni portal sistemin kompliyansının yüksek olmasıdır (121). Histopatolojik değerlendirmede parasetamol toksisitesinde sinüzoidal yapıda bozulma, inflamatuvar hücre infiltrasyonunda artış ve sinüzoidal genişleme görüldü. Çalışmamızda parasetamol toksisitesinde portal vende kan akım hızının azaldığı tespit edildi. Portal hipertansiyon genellikle kronik karaciğer hastalıklarında fibrozise bağlı yapısal düzenin bozulması, mikrovasküler trombuslar, sinüzoidal endotel disfonksiyonu ve hepatik satellit hücre aktivasyonu gibi nedenlerle intrahepatik vasküler rezistansın artması sonucu gözlenir (123). Karaciğerde sinüzoidal yapıların bozulması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi nedenler kan akımının bozulmasına ve direncin artmasına neden olmuş olabilir. Bu durumun sonucunda da portal kan akımı ölçümlerinde azalma tespit edilmiştir. NAC, CCh ve NAC+CCh tedavisi uygulanan gruplarda karaciğerdeki hasarın daha az olduğu biyokimyasal ve histopatolojik analizlerde görüldü. Bu gruplarda portal ven akımlarında tespit edilen yükselmenin nedeni karaciğerde görülen hasarın az olmasından kaynaklanması muhtemeldir.

İlaça bağlı hepatik hasar gelişmesinde genellikle iki farklı mekanizma üzerinde durulmaktadır. İlki ilacın metabolizması sırasında ortaya çıkan reaktif metabolitler nedeniyle gelişen hepatik hasar, diğeri ise hepatositlerde oluşan ilaç protein kompleksine veya yeni oluşan antijenlere karşı gelişen immün yanıtın neden olduğu hepatik hasardır. İki mekanizma da ilaç nedeniyle gelişen hepatik hasarı başlatabilir ve oluşan hasarın ilerlemesine katkıda bulunabilir (124). APAP'ın hepatositlerde apoptozisi indüklediğini gösteren birçok çalışma mevcut olsa da asıl karaciğer hasarından nekrozun sorumlu olduğu konusunda görüş birliği bulunmaktadır (125-127).

Literatürde bu tez çalışmasına benzer şekilde APAP uygulaması sonrası serumda ve dokuda TAS düzeyinde azalma, TOS ve OSI düzeylerinde artışın görüldüğü çalışmalar bulunmaktadır (128-130). NAC, antioksidan bir molekül olan GSH öncülü olarak

fonksiyon görmektedir (12, 26). GSH, reaktif oksijen ve nitrojen bileşiklerinin atılmasını sağlar ve mitokondriyal enerji üretimini arttırır (87, 88). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda olduğu gibi APAP üzerine NAC tedavisi uygulanan alt gruplarda TAS değerinde yükselme, TOS değerinde ve OSI'de düşme görülmesi beklenen bir durumdur.

Literatürde muskarinik reseptörler üzerinden antiinflamatuvar ve antioksidan etkinin gözlendiği çalışmalar bulunmaktadır (131). Proinflamatuvar sitokinlerin artması reaktif oksijen radikallerinin üretilmesine ve patofizyolojik cevapların oluşmasına neden olmaktadır. Parasempatomimetik uyarımın proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığını ve antiinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır (30, 32, 34, 35, 132, 133). Çalışmamızda parasempatomimetik etkinlik gösteren CCh antiinflamatuvar ve proinflamatuvar sitokinlerin saliverilmesini etkilemiş olması olasıdır. Ayrıca NAC'dakine benzer şekilde parasempatomimetik uyarım TAS'da artışa, TOS'da ve OSI'de düşüşe sitokin saliverilmesi üzerinden etki etmiş olabilir.

APAP toksisitesinde artan NAPQI'nın toksik etkileri ilk önce mitokondri üzerinden ortaya çıkar ve toksisitenin erken evrelerinde mitokondriyal GSH düzeylerinin düşmesine neden olur, protein çökeltileri oluşur (74, 134, 135). GSH depleasyonu sonrası Jnk (C-Jun n-terminal kinaz) aktivasyonu aracılığı ile hücrede peroksinitrit üretimi artar. APAP'a bağlı hepatotoksistide oksidatif strese neden olan ana faktör peroksinitrittir (136). Bu tez çalışmasında APAP toksisitesi sonrası, literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak serumda ve karaciğerde GSH düzeylerinde azalma görüldü ve GSH prekürsörü olarak fonksiyon gören NAC'ın uygulanması sonrasında GSH düzeylerinde yükselme tespit edildi (136, 137). APAP intoksikasyonunda NAC'ın etki mekanizması incelendiğinde beklenen bir durumdur. GSH'ın okside hali GSSG düzeylerine bakıldığında APAP+NAC tedavisi alan alt grupta serum GSSG düzeyinde artış görüldüğü halde bu artış karaciğer GSSG düzeyinde görülmedi. Karbakol ile parasempatomimetik uyarımda da NAC'dakine benzer şekilde GSH düzeylerinde artış görüldü. Bunun nedeni proinflamatuvar sitokinlerin saliverilmesinin azalması ve GSH'ı kullanan diğer yolların baskılanması olabilir.

Birçok çalışmada, APAP toksisitesinde sitokin üretiminin arttığı gösterilmiştir (138, 139). Hepatotoksitenin gelişmesinde parankimal ve parankimal olmayan hücreler rol oynar. Lokalize inflamatuvar yanıt hepatotoksitede önemli bir komponenttir. IL-1, TNF- α ve IL-6 üretiminin arttığı siroz kliniğinde, viral-bakteriyel hepatik enfeksiyonlarda, kadmiyum, karbon tetraklorür ve etanol gibi kimyasallara bağlı oluşan hepatik hasarda lokalize inflamatuvar yanıtın etkisi olduğunu gösterilmiştir (140-142). APAP intoksikasyonu, karaciğerde Kupffer hücrelerinde aktivasyona neden olan mediyatörler salgılatır (138, 143). IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α sitokinlerinin ekspresyonlarındaki artış nötrofil aktivasyonu ve akut karaciğer hasarı ile korelasyon gösterir (144-146). Kupffer hücrelerinin aktivasyonu, IL-1 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesinin artmasına, reaktif oksijen radikallerinin üretilmesine ve çeşitli patofizyolojik cevapların oluşmasına neden olabilmektedir. TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler APAP toksisitesinde rol oynamaktadır. IL-10'un ise hepatoprotektif etkilerinin olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (138). Bütün bu bilgiler, APAP nedeniyle oluşan hepatosit hasarında immun yanıtın da rolünü göstermektedir (138, 143).

IL-10 özellikle antiinflamatuvar ve immunsupresif sitokin olarak fonksiyon gösterir. Sentezi Kupffer hücreleri, hepatositler, CD4⁺ T-helper hücreler, sitotoksik CD4 T hücreleri, B- hücreleri, eozinofiller gibi hücrelerde gerçekleşmektedir (147, 148). Karaciğerdeki asıl kaynağı aktive olmuş Kupffer hücreleridir (145). IL-10, monositlerin ve dendritik hücrelerin antijen sunumunu ve uyarılma kapasitesini düşürür. Antijen sunumu üzerindeki inhibitör etki sayesinde T hücrelerinin karaciğere yönelmesi azalır (149). Makrofaj aktivasyonunu, Th1 hücrelerini inhibe eder (135). Ek olarak TNF- α , IL-1, IL-8, IL-12, prostaglandinler, nitrik oksit gibi proinflamatuvar mediyatörlerin ve reaktif oksijen ara ürünlerinin sentezini azaltır (148). IL-10 doğrudan iNOS ekspresyonunu inhibe edebilir ve süperoksit oluşumuna engel olabilir (150, 151). Concanavalin A veya CCl₄ ile indüklenmiş karaciğer hasarı, parsiyel hepatektomi, alkolik karaciğer hastalığı gibi birçok durumda IL-10'nun antiinflamatuvar özelliği rapor edilmiştir (152). Deneysel oluşturulmuş akut karaciğer hasarında IL-10'nun makrofajlar ve T-hücreleri aracılığı ile

hepatoprotektif olduğunu, hepatosit proliferasyonu ve fibrozisi kontrol ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (147, 153, 154). Çalışmamızda tedavi uygulanmış gruplarda IL-10 düzeyi düşmektedir. Akut karaciğer toksisitesinde Kupffer hücrelerinin aktivasyonu artmaktadır. Tedavi uygulanmış gruplarda daha az hepatik hasar gelişmesi, IL-10 için asıl kaynak olan Kupffer hücrelerinin daha az aktive olmasını sağlar. Bu durum IL-10'un serum seviyesinin tedavi gruplarında normale yakın olmasını açıklayabilir.

Nitrik oksit, hepatositlerde hasarlanmanın oluş şekline göre sitoprotektif veya sitotoksik etkinlik gösterebilmektedir. Sitotoksik etkisi doğrudan hücrel enzimlerin tiyol rezidüleri üzerinden olur. Dolaylı olarak ise süperoksit ile reaksiyona girerek reaktif ve toksik bir ürün olan peroksinitrit oluşumuna bağlı hücrel hasar gerçekleşebilir (155, 156). Parasetamol toksisitesinde, karaciğerde indüklenebilir nitrik oksit sentazın *up regüle* olduğu gösterilmiştir (157). Bourdi ve diğ.'nin indüklenebilir nitrik oksit sentazın ve IL-10'un parasetamol ile oluşturulmuş karaciğer hasarına etkisini araştırdıkları çalışmalarında APAP toksisitesinde IL-4, IL-10 ve IL-13'ün karaciğer enzimleri ile birlikte yükseldiği gözlemlenmiştir. "IL-10 *geni silinmiş*" farelerde, karaciğer hasarının normal farelere göre daha fazla olduğunu tespit edildi. "IL-10-*iNOS genleri silinmiş*" farelerde ise karaciğerdeki hasar normal fareler ile benzer seyir göstermiştir. APAP toksisitesinde, hepatosit hasarının oluşmasında nitrik oksit üretiminin ve IL-10'un önemli bir etkiye sahip olabileceği sonucuna varılmıştır (132). Literatürde iNOS inhibitörüyle veya "iNOS *geni silinmiş*" hayvanlar üzerinde yapılan diğer APAP toksisitesi çalışmalarında da bu bulguları destekler nitelikte sonuçlara ulaşılmıştır (157, 158)

APAP toksisitesinde IL-17 düzeyinin yükseldiğini ve NAC ve CCh uygulamasının bu yükselmeyi azalttığını tespit ettik. IL-17 proinflamatuvar bir sitokindir. Th17 hücrelerinin birçok otoimmün hastalıkta rolü olduğu keşfedilmiştir. İlaça bağlı gelişen otoimmünite ve idiyopatik otoimmünitedeki birçok benzerlik bu yolak üzerindeki dikkatleri arttırmıştır. İnflamatuvar hücreler için IL-17, IL-21 ve IL-22 kemoatraktan özellik gösterirler. Th17 ile ilişkili otoimmünite için IL-17 majör proinflamatuvar sitokindir (159). IL-17 karaciğer hasarında önemli rolü olan bir sitokin olabilir. Literatürde IL-17, genellikle

otoimmün hastalık modellerinde çalışılmış bir interlökindir. APAP toksisitesinde IL-17 düzeyine bakılan bir çalışmaya araştırmamızda rastlanmamıştır. APAP toksisitesinde tedavi alan gruplarda IL-17 düzeyinin düşmesi, APAP'a bağlı gelişen karaciğer hasarında immünolojik komponentin tedavi gruplarında daha az olduğunu ve hepatotoksitenin hafif gözlenmesinin sebebi olabileceğini düşündürmektedir.

İnsanda otoimmün hepatit kliniğinin modellendiği concaavalin A ile indüklenmiş karaciğer hasarı modelleri bulunmaktadır (160). Zhao ve diğ. çalışmalarında bu modellemede nikotinin etkisi incelemiştir (161). Güçlü bir parasempatometik alkaloid olan nikotin, periferde makrofaj, monosit, lenfosit gibi hücrelerde eksprese edilen α -7nAChR'lerini aktive ederek antiinflamatuvar fonksiyon göstermektedir (161). Çalışmalarında concaavalin-A verilen hayvanlarda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde yükseklik görülmüş ve concaavalin-A 'ya ek olarak nikotin uygulanan hayvanlarda ise TNF- α , IL-1 β ve IL-6 üretiminde dikkate değer bir baskılanma tespit edilmiştir (160). Nikotinik ve muskarinik etkinlik gösteren CCh'nin APAP toksisitesinde görülen olumlu etkisinden kısmen α -7nAChR uyarımı sorumlu olabilir. Literatürde CCh'nin α -7nACh reseptörlerine afinitesi ve ilgili reseptörlere etkisi açısından bir çalışma bulunmamaktadır. Parasempatometik uyarımın immun sistemde regülatör etkisi bu hepatotektif cevabın alınmasını sağlamış olabilir.

Proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 ve IL-8 nötrofil ve diğer immün hücrelerin enfeksiyon alanına toplanmasında, karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezinin indüklenmesinde fonksiyonu olan sitokinlerdir (135, 162). İnsanda parasetamol toksisitesinde IL-8 artar ve bu artış hepatik hasar ile orantılıdır (162). APAP intoksikasyonunda IL-1'i nötralize eden antikorlar, toksisiteye bağlı oluşan karaciğer hasarını kısmi olarak engellemektedir (138). IL-1 β , IL-1 ailesine ait olup, halotan gibi ilaç-ilişkili karaciğer hasarında rol aldığı tespit edilmiştir (135). Çalışmamızda toksisite sonrası IL-1 β ve IL-8 üretiminde artış görülmüş ve tedavi uygulanan gruplarda bu artışın daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular biyokimyasal açıdan tedavi verilen grupta karaciğer hasarının daha az olduğunun göstergesidir.

TNF- α birçok fonksiyonu bulunan bir sitokindir ve karaciğerde Kupffer hücreleri de dahil olmak üzere monositler, aktive olmuş makrofajlar, CD4 ve CD8 T hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir (135, 163). TNF- α , IL-1 dahil diğer birçok sitokinin üretimini ve sekresyonunu stimule edebilmektedir ve doku nekrozunda rol oynamaktadır (164). Vasküler endoteli, makrofajları aktive ederek NO üretimini sağlar (135). TNF- α 'nın üretiminde Kupffer hücreleri sorumlu tutulmaktadır ve karaciğer hasarında bu sitokin artması farklı yollar üzerinden gerçekleşmektedir (165). TNF- α duruma göre koruyucu veya protoksik etki gösterebilmektedir (135). TNF- α hepatosit proliferasyonunu indükleyerek doku tamirini ve hepatik rejenerasyonu sağlayabilir (166, 167). Diğer yandan IL-1, IL-8, IFN- γ üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı arttırıp hepatosit ölümünü tetkikleyebilir (168-171). Blazka ve diğ. önceden TNF- α antikoru verilmiş hayvanlarda APAP toksisitesi oluşturulduğunda serumda karaciğer enzimlerinin 4. ve 8. saatlerde yükselmesinin azaldığını ancak 12. saatte görülen pik konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre bir değişiklik olmadığını gözlemlədiler. Çalışmada enzimlerin normal seviyelere inmesi TNF- α antikoru varlığında daha hızlı gerçekleşmiştir. TNF- α ve IL-1 bazı sitokrom P450 enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmektedir (172, 173). Çalışmalarında, TNF- α 'nın ortamda olmaması durumunda APAP'nın reaktif metaboliti NAPQI'nın üretimi, inhibisyonun ortadan kalkması nedeniyle artmıştır. Karaciğer enzimlerinin pik yaptığı 12. saatte kontrol grubuna göre farklılık olmamasını artan NAPQI düzeyine bağlamışlardır (138). Çalışmamızda TNF- α ve diğer parametrelerin tek bir zaman dilimi içinde ölçümü yapıldığı için zaman içindeki değişim paterni incelenememiş ve karşılaştırılamamıştır.

Makrofajlarda ve diğer sitokin üreten hücrelerde asetilkolin reseptörleri bulunur ve bu reseptörlerin uyarılması sonucu sitokin üretiminin inhibisyonu sağlanır (174). Vagus siniri uyarımıyla veya $\alpha 7$ nAChR reseptör agonisti uygulandığında TNF, IL-1, IL-6 ve IL-8 üretimi baskılanmaktadır (174). Bu kolinerjik antiinflamatuvar yolak, CCh uygulanan gruplarda TNF düzeyinin düşüklüğünü ve TNF'ye bağlı hepatotoksik nekrozun az olmasını açıklayabilir.

IL-6, monositlerden, aktive olmuş makrofajlardan, CD4 T hücrelerinden salgılanır ve hematopoietik, immun, nöronal, hepatik sistem dahil olmak üzere birçok hücreyel fonksiyonda görev alır (175). IL-6 akut inflamatuvar yanıtta ve akut protein sentezinin regülasyonunda fonksiyonu olan bir sitokindir (176). Apoptotik faktörlerin eksprese edilmesini durdurarak hepatosit nekrozunun azalmasını, hepatosit proliferasyonunu stimule ederek karaciğer rejenerasyonunun gerçekleşmesini sağlar ve APAP veya başka etiyolojik faktörlerle hepatik hasar oluşturulmuş hayvan modellerinde koruyucu etki gösterir (135, 177-182). İnsan çalışmalarında ve bu tez çalışmasında IL-6 düzeyinin APAP'a bağlı karaciğer hasarında yükseldiği gösterilmiştir (132, 162). James ve diğ. "IL-6 geni silinmiş" farelerde rejenerasyonun azaldığını gözlemlədiler. Buna ek olarak APAP toksisitesinden önce IL-6 enjeksiyonu yapılan farelerde karaciğer enzimlerindeki yükselişin daha az ve hepatosit proliferasyonunun daha çok olduğu gözlemlendi. Çalışmalarında APAP toksisitesinde IL-6 üretiminin hepatosit rejenerasyonu için "up regüle" edildiği hipotezini destekleyen sonuçlara ulaştılar (178). Bu tez çalışmasının bulguları da bu hipotezi destekler niteliktedir. APAP verilen gruplarda IL-6 düzeyi yükselmiştir ve NAC, CCh gruplarında bu artış azalmıştır. Bu gruplarda daha az karaciğer hasarı gözlemlendiği için daha az rejenerasyon gereksinimi söz konusudur.

Kesin mekanizmalar bilinmese de muskarinik uyarımın yani vagus sinirinin karaciğer rejenerasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Parasempatometik sisteme ait M₁ ve M₃ muskarinik reseptörler gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunur (28). M₃R aktivasyonu, hasarlanmış çeşitli hücrelerde apoptozisin indüklenmesini engelleyebilmektedir (133). Çeşitli çalışmalarda genetik olarak M₃R ablasyonu veya M₃R'lerin inhibisyonunun, farelerde apoptozisi ve fibrojenезisi artırarak karaciğer hasarına olumsuz katkı sağladığı gösterilmiştir(32, 35). M₁R ekspresyonu ve aktivasyonu, üzerinde bulunduğu hücreye göre hücrenin yaşam süresi üzerinde modülatör etki gösterebilmektedir. Bazı hücre tiplerinde bu reseptörün blokajı hücre ölümünü stimule ederken bazı hücre tiplerinde bu reseptörün uyarılması kaspaz aktivasyonunu engeller ve apoptozisi inhibe eder (183, 184). Parsiyel

hepatektomi sonrası matür hepatositlerin ve safra kanalı epitel hücrelerinin çoğalması ve rejenerasyonun yavaşladığı, kolanjiyositlerin apoptozisinin indüklendiği gözlemlenir (185). Çeşitli çalışmalarda vagus sinirinin hepatik dallarına vagotomi uygulandığında rejenerasyonun yavaşladığı, hepatik DNA sentezinin geciktiği; sinirin uyarılmasında ise rejenerasyonun hızlandığı göstermiştir (33, 186, 187). Karaciğer rejenerasyonu için gerekli mitojenik stimülasyon, IL-6 tarafından aktive edilen STAT3 (Signal transducer and activator of transcription-3) ile sağlanır. Parsiyel vagotomi sonrası STAT3'ün aktivasyonunda azalma görülür. Asetilkolin karaciğer Kupffer hücrelerinde IL-6 salıverilmesini artırır. Vagotomi sonrası STAT3 aktivasyonundaki azalma kolinerjik agonistler tarafından düzeltilebilmektedir (33, 188). Çalışmamızda CCh bu yolak üzerinden olumlu etki göstermiş olabilir.

Hepatik progenitör hücreler (HPC) hepatositlere veya safra sistemine doğru farklılaşabilen epitel hücreleridir (189-191). Cassirman ve diğ. sıçan ve insan karaciğerlerinde vagotominin HPC üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada kronik hepatit kliniği olan böbrek transplant hastalarını ve karaciğer transplant hastalarını iki farklı gruba ayırıp karaciğer biyopsi materyallerini incelemişlerdir (30). Karaciğer transplant hastaları denerve edilmiş karaciğer biyopsileri olup, bu biyopsilerde diğer innerve karaciğer biyopsilerine göre daha az HPC'ler ve "atipik reaktif duktular" hücreler görülmüştür. Devamında yaptıkları hayvan çalışması, insan çalışmalarında elde ettikleri sonuçları destekler niteliktedir (30). Hepatositlerin nikotinic veya muskarinic asetilkolin reseptörü eksprese etmedikleri bilinmektedir (192-194) ancak immunohistokimyasal analizler HPC'lerin, "atipik reaktif duktular" hücrelerin, ara formda hepatosit benzeri hücrelerin muskarinic reseptörleri (M_3) eksprese ettiğini göstermektedir (30). Cassirman ve diğ bu sebepten ötürü vagotominin etkisinin sekonder nedenlere bağlı olduğunu düşünmüşlerdir. Hepatositler kolinesteraz ve asetilkolinesteraz üretirler ve bu enzimler hücre zarında bulunur (195, 196). HPC'ler birçok hepatosit ile çevrilidir. Hepatositlerin salgıladıkları bu kolinesterazlar HPC'de bulunan M_3 reseptörlerine asetilkolinin bağlanmasına engel olup, bu sayede HPC kompartmanı inaktif veya minimal aktif

durumda bulundurur. HPC kompartmanının çevresinde ciddi hepatosit kaybına neden olan bir durum oluştuğunda kolinesteraz inhibisyonu ortadan kalkacağı için HPC'ler üzerinde trofik etki oluşur ve yeterli hepatosit kitlesi oluşana kadar aktivasyon devam eder. Transplantasyon durumunda vagus sinirinin uyarıcı etkisi ortadan kaybolduğu için HPC aktivasyonu yeterli düzeye ulaşamaz (30).

Urrunaga ve diğ. M₁R'lerin hepatosit hasarına etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında hücre kültüründe, *in vitro* ve *in vivo* deneylerde APAP toksisitesinde M₁R'lerinin eksikliğinde antioksidan yanıtın arttığı ve karaciğer hasarında azalmanın olduğunu tespit ettiler. Ayrıca APAP toksisitesinde toksik metabolit olan NAPQI'nın sentezine neden olan CYP2E1'in ekspresyonun azaldığını tespit ettiler (197). CYP2E1 enzimi eksikliği oluşturulmuş fare modellemelerinde hayvanların karaciğer toksisitesine oldukça dirençli olduğu gözlemlendi (198). Hatta CYP2E1 ve CYP1A2 enzimlerinden her ikisinin de eksik olduğu durumlarda bu direncin daha da arttığı gözlenmiştir (199). M₁R inhibisyonu delesyonunun neden olduğu CYP2E1 enzim ekspresyonunda azalma, karaciğer toksisitesinin şiddetinde azalmaya neden olan bir başka faktör olabilir (197).

Urrunaga ve diğ.'nin (197) çalışmalarından elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlarımız ile uyum göstermemektedir. Bu tez çalışmasında muskarinik aktivasyonun toksisitenin azalması yönünde etkisi olduğu gözlemlendi ancak o çalışmada bu bulgunun tam tersi bir sonuca ulaşılmıştır. Farklı muskarinik reseptörler ve alt tipleri gastrointestinal sistemde eksprese edilmektedir. *In vivo* deneylerde, reseptörlerin uyarılmaları sonrası birbirlerine zıt yönde etkiler açığa çıksa bile araştırmacı sadece baskın olan etkiyi gözlemleyip değerlendirebilir. Çeşitli yöntemler ile bazı sistemlerin veya reseptörlerin etkisi nötralize edilebilir ancak *in vitro* deneyler kadar net etki genellikle gözlenemez. Bu tez çalışmasında reseptörler analiz edilip o reseptörlere özgül blokörler uygulandıktan sonra her bir reseptörün izole etkisi araştırılmadı. İlgili çalışmada diğer reseptörlerin etkisi kısmi olarak göz ardı edilmektedir. Karaciğerde eksprese edilen bir başka muskarinik reseptör M₃'tür. Bu reseptörün eksikliğinde hepatosit hasarının arttığı daha önceki çalışmalarda deneysel olarak tespit edilmiştir (32). Farklı reseptörlerin karşıt

etkileri nedeniyle muskarinik aktivasyonun toksisite üzerine etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için konu ile ilgili daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Mezenter arter ve portal ven ölçümlerinde standart hata değerleri yüksektir. Gruplardaki hayvan sayılarının artırılması veya başka ölçüm teknikleri daha kesin sonuçlara ulaşılabildiğini sağlayabilir. Ayrıca *in vitro* çalışmalar ile bu çalışma genişletilmelidir. Bu sayede APAP toksisitesinde parasempatomimetik etki doğrudan gözlemlenebilir. *In vivo* ölçümlerden sonra izole organ banyolarında mezenter arter ve portal venede *in vitro* analizlerin yapılması bazı sonuçlarda daha güvenilir yorumlar yapılmasını sağlayabilirdi. NADPQI düzeyi bu çalışmada değerlendirilemedi. Çalışmamızda APAP toksisitesi sonrası oluşan immun yanıt kısmi olarak değerlendirilebildi. Bu konuda ek çalışmalar gerekmektedir. *In vivo* çalışmamızda reseptör uyarımı sonrası hücrede meydana gelen sonuçlar gözlemlenmedi. Kolinerjik aktivasyon sonrası gerçekleşen reseptör ve reseptör altı mekanizmalar aydınlatılmalı, APAP toksisitesindeki hepatoprotektif etkiyi sağlayan yollar üzerinde çalışılmalıdır. Sonraki çalışmalarda parasempatomimetik etkinin bloklandığı ve vagus siniri aracılığı ile parasempatomimetik etkinliğin aktive edildiği ek grupların oluşturulması verilerin daha etkin yorumlanmasını ve karşılaştırılmasını sağlayabilir.

NAC, CCh ve NAC+CCh tedavisi uygulanan gruplarda biyokimyasal parametrelerde, sitokin ölçümlerinde ve TAS/TOS, GSH/GSSG değerlerinde, histopatolojik analizlerde düzelmeye görüldü ancak APAP toksisitesi sonrasında tedavi gruplarında yine de mortalitenin görüldüğü fareler oldu. Bu dikkate alınması gereken bir bulgudur. Survival analizlerinin yapıldığı yeni çalışmalar planlanmalıdır.

Sonuç olarak APAP toksisitesinde CCh ile kolinerjik aktivasyon, birçok yolak üzerinden hepatik hasarın azalmasına neden olmaktadır. APAP toksisitesinde, antidot tedavisi olan NAC ile CCh'nin kombine edilmesi tedavide üstünlük sağlamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Parasetamole, OTC olması nedeniyle erişilmesi kolaydır. Parasetamol toksisitesi, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu tez çalışmasında kolinerjik aktivasyonun parasetamole bağlı gelişen karaciğer hasarını önlediği gösterildi. Kolinomimetik etkinliği olan karbokolün NAC ile kombine edilmesinin, parasetamol toksisitesinde izole NAC tedavisine göre üstünlüğünün olabileceği gösterildi. Parasetamol toksisitesinde NAC dışında veya NAC'a ek olarak kolinerjik agonistler aracılığı ile antidot tedavi stratejilerinin geliştirilebileceği sonucuna ulaşıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Zhang Y, Yu B, Wang N, Li T. Acute poisoning in Shenyang, China: a retrospective and descriptive study from 2012 to 2016. *BMJ Open*. 2018;8(8):e021881.
2. Bradberry S, Vale A. Epidemiology and clinical presentation. *Clin Med (Lond)*. 2008;8(1):86-8; quiz 104-5.
3. Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE, Beuhler MC, Rivers LJ, et al. 2018 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 36th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2019;57(12):1220-413.
4. Hovda KE, Bjornaas MA, Skog K, Opdahl A, Drottning P, Ekeberg O, et al. Acute poisonings treated in hospitals in Oslo: A one-year prospective study (I): Pattern of poisoning. *Clinical Toxicology*. 2008;46(1):35-41.
5. Sorge M, Weidhase L, Bernhard M, Gries A, Petros S. Self-poisoning in the acute care medicine 2005-2012. *Anaesthetist*. 2015;64(6):456-62.
6. Z'Gambo J, Siulapwa Y, Michelo C. Pattern of acute poisoning at two urban referral hospitals in Lusaka, Zambia. *BMC Emerg Med*. 2016;16:2.
7. Kim K, Choi JW, Park M, Kim MS, Lee ES. A nationwide study of patients hospitalised for poisoning in Korea based on Korea National Hospital Discharge In-Depth Injury Survey data from 2005 to 2009. *BMJ Open*. 2015;5(11):e008823.
8. Litovitz TL, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Jr., Cobaugh DJ, Youniss J, Omslaer JC, et al. 2001 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med*. 2002;20(5):391-452.
9. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2010;77(1):19-27.
10. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *Br Med J*. 1966;2(5512):497-9.
11. Clark R, Fisher JE, Sketris IS, Johnston GM. Population prevalence of high dose paracetamol in dispensed paracetamol/opioid prescription combinations: an observational study. *BMC Clin Pharmacol*. 2012;12:11.
12. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-related hepatotoxicity. *Clin Liver Dis*. 2013;17(4):587-607, viii.
13. Herndon CM, Dankenbring DM. Patient perception and knowledge of acetaminophen in a large family medicine service. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. 2014;28(2):109-16.

14. Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pyrsopoulos N. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: a comprehensive update. *J Clin Transl Hepatol*. 2016;4(2):131-42.
15. Brune K, Renner B, Tieggs G. Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions. *Eur J Pain*. 2015;19(7):953-65.
16. Barozzi N, Tett SE. Perceived barriers to paracetamol (acetaminophen) prescribing, especially following rofecoxib withdrawal from the market. *Clinical Rheumatology*. 2009;28(5):509-19.
17. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*. 1995;22(3):767-73.
18. Maddrey WC. Hepatic effects of acetaminophen. Enhanced toxicity in alcoholics. *J Clin Gastroenterol*. 1987;9(2):180-5.
19. Schiødt FV, Rochling FA, Casey DL, Lee WM. Acetaminophen toxicity in an urban county hospital. *N Engl J Med*. 1997;337(16):1112-7.
20. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: Recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharmaceutical Research*. 2013;30(9):2174-87.
21. Forrest JAH, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical Pharmacokinetics*. 1982;7(2):93-107.
22. Hodgman MJ GA. A review of acetaminophen poisoning. *Crit Care Clin*. 2012;28(4):499–516.
23. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in Liver Disease*. 2007;11(3):525-48.
24. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *Drug Safety*. 2005;28(3):227-40.
25. Balsamo R, Lanata L, Egan CG. Mucoactive drugs. *Eur Respir Rev*. 2010;19(116):127-33.
26. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radic Res*. 2018;52(7):751-62.
27. McPheeters CM, VanArsdale VM, Weant KA. N-Acetylcysteine use in non-acetaminophen-induced acute liver failure. *Advanced Emergency Nursing Journal*. 2016;38(3):183-9.
28. Shah N, Khurana S, Cheng K, Raufman J-P. Muscarinic receptors and ligands in cancer. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009;296(2):C221-C32.

29. Wess J, Eglen RM, Gautam D. Muscarinic acetylcholine receptors: mutant mice provide new insights for drug development. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2007;6(9):721-33.
30. Cassiman D, Libbrecht L, Sinelli N, Desmet V, Denef C, Roskams T. The vagal nerve stimulates activation of the hepatic progenitor cell compartment via muscarinic acetylcholine receptor type 3. *Am J Pathol*. 2002;161(2):521-30.
31. Li JH, Gautam D, Han SJ, Guettier JM, Cui Y, Lu H, et al. Hepatic muscarinic acetylcholine receptors are not critically involved in maintaining glucose homeostasis in mice. *Diabetes*. 2009;58(12):2776-87.
32. Khurana S, Jadeja R, Twaddell W, Cheng K, Rachakonda V, Saxena N, et al. Effects of modulating M3 muscarinic receptor activity on azoxymethane-induced liver injury in mice. *Biochem Pharmacol*. 2013;86(2):329-38.
33. Ikeda O, Ozaki M, Murata S, Matsuo R, Nakano Y, Watanabe M, et al. Autonomic regulation of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Surg Res*. 2009;152(2):218-23.
34. Bernik TR, Friedman SG, Ochani M, DiRaimo R, Susarla S, Czura CJ, et al. Cholinergic antiinflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *J Vasc Surg*. 2002;36(6):1231-6.
35. Khurana S, Shah N, Cheng K, Shiu B, Samimi R, Belo A, et al. Scopolamine treatment and muscarinic receptor subtype-3 gene ablation augment azoxymethane-induced murine liver injury. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;333(3):639-49.
36. Akoğlu H. Toksikoloji Tarihiçesi. Satar S, editor: Nobel Kıtapevi; 2009.
37. Hutchinson G. Words to the wise: Poison arrows. *BMJ*. 1997;314(7082).
38. Yeşil O, Akoğlu H, Özge O, Güneysel Ö. Acil servise başvuran zehirlenme olgularının geriye dönük analizi. *Marmara Medical Journal*. 2008;21(1):26-32.
39. Borzelleca JF. Paracelsus: Herald of modern toxicology. *Toxicological Sciences*. 2000;53(1):2-4.
40. Thundiyil JG, Stober J, Besbelli N, Pronczuk J. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. *Bulletin of the World Health Organization*. 2008;86:205-9.
41. Xiang Y, Zhao W, Xiang H, Smith GA. ED visits for drug-related poisoning in the United States, 2007. *The American journal of emergency medicine*. 2012;30(2):293-301.
42. Selçuk M, Çakar N. Tek merkez kaynaklı akut zehirlenme analizleri: Altı yıllık olgu verisi/Single-center analysis of acute intoxication: Six-year data case. *Türk Yogan Bakim Dergisi*. 2015;13(2):57.

43. Wysowski DK, Governale LA, Swann J. Trends in outpatient prescription drug use and related costs in the US. *Pharmacoeconomics*. 2006;24(3):233-6.
44. Bentley E, Mackie IC. Trends in prescriptions of paracetamol for children. *Bmj*. 1995;311(7001):362.
45. Pandolfini C, Bonati M. A literature review on off-label drug use in children. *European journal of pediatrics*. 2005;164(9):552-8.
46. Sneader W. *Drug discovery: the evolution of modern medicines*: Wiley; 1985.
47. Cahn A, Hepp P. Das antifebrin, ein neues fiebermittel. *Zentralblatt fur klinische medizin*. 1886;77:561-4.
48. Perucca E, Richens A. Paracetamol disposition in normal subjects and in patients treated with antiepileptic drugs. *British journal of clinical pharmacology*. 1979;7(2):201-6.
49. Rawlins M, Henderson D, Hijab A. Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. *European journal of clinical pharmacology*. 1977;11(4):283-6.
50. Moolenaar F, Olthof L, Huizinga T. Absorption rate and bioavailability of paracetamol from rectal aqueous suspensions. *Pharm Weekblad Sci Ed*. 1979;1:25-30.
51. Nimmo W, Heading R, Wilson J, Tothill P, Prescott L. Inhibition of gastric emptying and drug absorption by narcotic analgesics. *British journal of clinical pharmacology*. 1975;2(6):509-13.
52. Dordoni B, Willson R, Thompson R, Williams R. Reduction of absorption of paracetamol by activated charcoal and cholestyramine: a possible therapeutic measure. *Br Med J*. 1973;3(5871):86-7.
53. Heading R, Nimmo J, Prescott L, Tothill P. The dependence of paracetamol absorption on the rate of gastric emptying. *British journal of pharmacology*. 1973;47(2):415.
54. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetophenetidin (phenacetin) in man and methods for the estimation of acetophenetidin and its metabolites in biological material. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1949;97(1):58-67.
55. Gwilt J, Robertson A, Goldman L, Blanchard A. The absorption characteristics of paracetamol tablets in man. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1963;15(1):445-53.
56. Gazzard B, Ford-Hutchinson A, Smith M, Williams R. The binding of paracetamol to plasma proteins of man and pig. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1973;25(12):964-7.

57. Prescott L. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *British journal of clinical pharmacology*. 1980;10(S2):291S-8S.
58. Carlsson K, Jurna I. Central analgesic effect of paracetamol manifested by depression of nociceptive activity in thalamic neurones of the rat. *Neuroscience letters*. 1987;77(3):339-43.
59. Bromm B, Forth W, Richter E, Scharein E. Effects of acetaminophen and antipyrine on non-inflammatory pain and EEG activity. *Pain*. 1992;50(2):213-21.
60. Tjølsen A, Lund A, Hole K. Antinociceptive effect of paracetamol in rats is partly dependent on spinal serotonergic systems. *European journal of pharmacology*. 1991;193(2):193-201.
61. Hanel AM, Lands WE. Modification of anti-inflammatory drug effectiveness by ambient lipid peroxides. *Biochemical pharmacology*. 1982;31(20):3307-11.
62. Hinz B, Brune K. Paracetamol and cyclooxygenase inhibition: is there a cause for concern? *Ann Rheum Dis*. 2012;71(1):20-5.
63. Björkman R, Hallman K, Hedner J, Hedner T, Henning M. Acetaminophen blocks spinal hyperalgesia induced by NMDA and substance P. *Pain*. 1994;57(3):259-64.
64. Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. *Pharmacological Reports*. 2004;56(5):605-10.
65. Hunskar S, Fasmer OB, Hole K. Acetylsalicylic acid, paracetamol and morphine inhibit behavioral responses to intrathecally administered substance P or capsaicin. *Life sciences*. 1985;37(19):1835-41.
66. Ottani A, Leone S, Sandrini M, Ferrari A, Bertolini A. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *European journal of pharmacology*. 2006;531(1-3):280-1.
67. Claridge LC, Eksteen B, Smith A, Shah T, Holt AP. Acute liver failure after administration of paracetamol at the maximum recommended daily dose in adults. *Bmj*. 2010;341.
68. Moling O, Cairon E, Rimenti G, Rizza F, Pristerá R, Mian P. Severe hepatotoxicity after therapeutic doses of acetaminophen. *Clinical therapeutics*. 2006;28(5):755-60.
69. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*. 2005;42(6):1364-72.
70. Knight TR, Fariss MW, Farhood A, Jaeschke H. Role of lipid peroxidation as a mechanism of liver injury after acetaminophen overdose in mice. *Toxicological sciences*. 2003;76(1):229-36.

71. McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(4):1574-83.
72. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *New England journal of medicine*. 2003;349(5):474-85.
73. Lauterburg B, Velez ME. Glutathione deficiency in alcoholics: risk factor for paracetamol hepatotoxicity. *Gut*. 1988;29(9):1153-7.
74. Zhao P, Slattery JT. Effects of ethanol dose and ethanol withdrawal on rat liver mitochondrial glutathione: implication of potentiated acetaminophen toxicity in alcoholics. *Drug metabolism and disposition*. 2002;30(12):1413-7.
75. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Journal of Medical Toxicology*. 2008;4(1):2-6.
76. Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ipecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of Emergency Medicine*. 1990;7(3):148.
77. Christophersen A, Levin D, Høgberg LCG, Angelo H, Kampmann J. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. *British journal of clinical pharmacology*. 2002;53(3):312-7.
78. Rogers DF. Mucoactive drugs for asthma and COPD: any place in therapy? *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2002;11(1):15-35.
79. Hurst GA, Shaw PB, LeMaistre CA. Laboratory and clinical evaluation of the mucolytic properties of acetylcysteine. *American Review of Respiratory Disease*. 1967;96(5):962-70.
80. Linden M, Wieslander E, Eklund A, Larsson K, Brattsand R. Effects of oral N-acetylcysteine on cell content and macrophage function in bronchoalveolar lavage from healthy smokers. *European Respiratory Journal*. 1988;1(7):645-50.
81. Kharazmi A, Nielsen H, Bendtzen K. Recombinant interleukin α and β prime human monocyte superoxide production but have no effect on chemotaxis and oxidative burst response of neutrophils. *Immunobiology*. 1988;177(1):32-9.
82. Niederman MS, Rafferty TD, Sasaki CT, Merrill WW, Matthay RA, Reynolds HY. Comparison of bacterial adherence to ciliated and squamous epithelial cells obtained from the human respiratory tract. *American Review of Respiratory Disease*. 1983;127(1):85-90.
83. Prescott L. New approaches in managing drug overdosage and poisoning. *British medical journal (Clinical research ed)*. 1983;287(6387):274.

84. Harrison P, Keays R, Bray G, Alexander G, Williams R. Improved outcome of paracetamol-induced fulminant hepatic failure by late administration of acetylcysteine. *The Lancet*. 1990;335(8705):1572-3.
85. Keays R, Harrison P, Wendon J, Forbes A, Gove C, Alexander G, et al. Intravenous acetylcysteine in paracetamol induced fulminant hepatic failure: a prospective controlled trial. *British Medical Journal*. 1991;303(6809):1026-9.
86. Harrison PM, Wendon JA, Gimson AE, Alexander GJ, Williams R. Improvement by acetylcysteine of hemodynamics and oxygen transport in fulminant hepatic failure. *New England Journal of Medicine*. 1991;324(26):1852-7.
87. Knight TR, Ho Y-S, Farhood A, Jaeschke H. Peroxynitrite is a critical mediator of acetaminophen hepatotoxicity in murine livers: protection by glutathione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2002;303(2):468-75.
88. Saito C, Zwingmann C, Jaeschke H. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N-acetylcysteine. *Hepatology*. 2010;51(1):246-54.
89. Schulz M, Graefe T, Stuby K, Andresen H, Kupfermann N, Schmoldt A. Case report: acute unintentional carbachol intoxication. *Crit Care*. 2006;10(3):R84.
90. James AK. Oral Carbachol for Prevention of Migraine. *Br Med J*. 1945;1(4401):663-4.
91. Francis RR. The effect of carbachol and of mecholyl on the urinary bladder. *J Urol*. 1948;60(2):290-6.
92. Kane AE, Mitchell SJ, Mach J, Huizer-Pajkos A, McKenzie C, Jones B, et al. Acetaminophen hepatotoxicity in mice: Effect of age, frailty and exposure type. *Exp Gerontol*. 2016;73:95-106.
93. Mossanen JC, Tacke F. Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Lab Anim*. 2015;49(1 Suppl):30-6.
94. James LP, McCullough SS, Lamps LW, Hinson JA. Effect of N-acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation. *Toxicol Sci*. 2003;75(2):458-67.
95. Lubberding AF, Pereira L, Xue J, Gottlieb LA, Matchkov VV, Gomez AM, et al. Aberrant sinus node firing during β -adrenergic stimulation leads to cardiac arrhythmias in diabetic mice. *Acta Physiol (Oxf)*. 2020;229(1):e13444.
96. Zuberi Z, Birnbaumer L, Tinker A. The role of inhibitory heterotrimeric G proteins in the control of in vivo heart rate dynamics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295(6):R1822-30.
97. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*. 2005;38(12):1103-11.

98. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-85.
99. Eren Y, Dirik E, Neşelioğlu S, Erel Ö. Oxidative stress and decreased thiol level in patients with migraine: cross-sectional study. *Acta Neurologica Belgica.* 2015;115(4):643-9.
100. Wu R, Feng J, Yang Y, Dai C, Lu A, Li J, et al. Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer. *PLoS One.* 2017;12(1):e0170003.
101. Sedlák J, L H. Changes of glutathione and protein bound SH-groups concentration in rat adrenals under acute and repeated stress. *Endocrinol Exp.* 1982;16(2):103-9.
102. Klee GG, Fairbanks VF, Pierre RV, O'sullivan MB. Routine erythrocyte measurements in diagnosis of iron-deficiency anemia and thalassemia minor. *American Journal of Clinical Pathology.* 1976;66(5):870-7.
103. Ferreira M, Moradas-Ferreira P, Reis-Henriques M. The effect of long-term depuration on levels of oxidative stress biomarkers in mullets (*Mugil cephalus*) chronically exposed to contaminants. *Marine environmental research.* 2007;64(2):181-90.
104. Tamir Hostovsky L, Pan J, McNamara PJ, Belik J. Acetaminophen increases pulmonary and systemic vasomotor tone in the newborn rat. *Pediatr Res.* 2020;87(7):1171-6.
105. Knight TR, Kurtz A, Bajt ML, Hinson JA, Jaeschke H. Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen toxicity: role of mitochondrial oxidant stress. *Toxicological Sciences.* 2001;62(2):212-20.
106. Porto HKP, Grando MD, Ramalho LNZ, Valadares MC, Bendhack LM, Batista AC, et al. Exposure to acetaminophen impairs vasodilation, increases oxidative stress and changes arterial morphology of rats. *Arch Toxicol.* 2019;93(7):1955-64.
107. Horst Jvd, Manville RW, Hayes K, Thomsen MB, Abbott GW, Jepps TA. Acetaminophen (Paracetamol) metabolites induce vasodilation and hypotension by activating Kv7 potassium channels directly and indirectly. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2020;40(5):1207-19.
108. Mackie AR, Brueggemann LI, Henderson KK, Shiels AJ, Cribbs LL, Scrogin KE, et al. Vascular KCNQ potassium channels as novel targets for the control of mesenteric artery constriction by vasopressin, based on studies in single cells, pressurized arteries, and in vivo measurements of mesenteric vascular resistance. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;325(2):475-83.

109. Suemaru K, Yoshikawa M, Tanaka A, Araki H, Aso H, Watanabe M. Anticonvulsant effects of acetaminophen in mice: Comparison with the effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Epilepsy Res.* 2018;140:22-8.
110. Ohya S, Sergeant GP, Greenwood IA, Horowitz B. Molecular variants of KCNQ channels expressed in murine portal vein myocytes: a role in delayed rectifier current. *Circ Res.* 2003;92(9):1016-23.
111. Yeung SY, Pucovský V, Moffatt JD, Saldanha L, Schwake M, Ohya S, et al. Molecular expression and pharmacological identification of a role for K(v)7 channels in murine vascular reactivity. *Br J Pharmacol.* 2007;151(6):758-70.
112. Lopez BL, Snyder JW, Birenbaum DS, Ma X-l. N-acetylcysteine enhances endothelium-dependent vasorelaxation in the isolated rat mesenteric artery. *Annals of emergency medicine.* 1998;32(4):405-10.
113. Needleman P, Jakschik B, Johnson EM. Sulfhydryl requirement for relaxation of vascular smooth muscle. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1973;187(2):324-31.
114. Torresi J, Horowitz JD, Dusting GJ. Prevention and reversal of tolerance to nitroglycerine with N-acetylcysteine. *Journal of cardiovascular pharmacology.* 1985;7(4):777-83.
115. Vezir Ö, Çömelekoğlu Ü, Sucu N, Yalın AE, Yılmaz ŞN, Yalın S, et al. N-Acetylcysteine-induced vasodilatation is modulated by KATP channels, Na⁺/K⁺-ATPase activity and intracellular calcium concentration: An in vitro study. *Pharmacological Reports.* 2017;69(4):738-45.
116. Tangsucharit P, Takatori S, Zamami Y, Goda M, Pakdeechote P, Kawasaki H, et al. Muscarinic acetylcholine receptor M1 and M3 subtypes mediate acetylcholine-induced endothelium-independent vasodilatation in rat mesenteric arteries. *Journal of pharmacological sciences.* 2016;130(1):24-32.
117. Lamping KG, Wess Jr, Cui Y, Nuno DW, Faraci FM. Muscarinic (M) receptors in coronary circulation: gene-targeted mice define the role of M2 and M3 receptors in response to acetylcholine. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2004;24(7):1253-8.
118. Chiba S, Tsukada M. Possible involvement of muscarinic M1 and M3 receptor subtypes mediating vasodilation in isolated, perfused canine lingual arteries. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 1996;23(9):839-43.
119. Hendriks MGC, Pfaffendorf M, van Zwieten PA. Characterization of the muscarinic receptors in the mesenteric vascular bed of spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension.* 1993;11(12).

120. Takenaga M, Kawasaki H, Wada A, Eto T. Calcitonin gene-related peptide mediates acetylcholine-induced endothelium-independent vasodilation in mesenteric resistance blood vessels of the rat. *Circulation research*. 1995;76(6):935-41.
121. Bloom S, Kemp W, Lubel J. Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. *Intern Med J*. 2015;45(1):16-26.
122. Scorticati C, Prestifilippo JP, Eizayaga FX, Castro JL, Romay S, Fernández MA, et al. Hyperammonemia, brain edema and blood-brain barrier alterations in prehepatic portal hypertensive rats and paracetamol intoxication. *World journal of gastroenterology*. 2004;10(9):1321.
123. McConnell M, Iwakiri Y. Biology of portal hypertension. *Hepatology Int*. 2018;12(Suppl 1):11-23.
124. Park BK, Kitteringham NR, Powell H, Pirmohamed M. Advances in molecular toxicology—towards understanding idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology*. 2000;153(1-3):39-60.
125. Hu B, Colletti LM. CXC receptor-2 knockout genotype increases X-linked inhibitor of apoptosis protein and protects mice from acetaminophen hepatotoxicity. *Hepatology*. 2010;52(2):691-702.
126. Schulze- Osthoff K, Bantel H. Necrosis versus apoptosis in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology*. 2011;53(3):1070-.
127. Jaeschke H, Gujral JS, Bajt ML. Apoptosis and necrosis in liver disease. *Liver Int*. 2004;24(2):85-9.
128. Oksuz E, Yasar S, Erten R, Arihan O, Oto G. Comparison of effects of high and low dose paracetamol treatment and toxicity on brain and liver in rats. *Northern Clinics of İstanbul*. 2020;7(6):541.
129. Paldir E, Eroglu H. Therapeutic potential of ozone and L-carnitine combined administrations against experimentally-induced acetaminophen. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*. 2021;31(4).
130. Pawan Kumar V, Rajinder R, Mudasir S, Maninder S, Pawan K. Acetaminophen induced oxidative and histopathological alterations in hepatic tissue: Protective effects of *Alstonia scholaris* leaf extracts. *Pharmacognosy Journal*. 2016;8(4).
131. Frinchi M, Nuzzo D, Scaduto P, Di Carlo M, Massenti MF, Belluardo N, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) activation in the rat hippocampus. *Scientific Reports*. 2019;9(1):14233.
132. Bourdi M, Masubuchi Y, Reilly TP, Amouzadeh HR, Martin JL, George JW, et al. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality by

- interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology*. 2002;35(2):289-98.
133. De Sarno P, Shestopal SA, King TD, Zmijewska A, Song L, Jope RS. Muscarinic receptor activation protects cells from apoptotic effects of DNA damage, oxidative stress, and mitochondrial inhibition. *J Biol Chem*. 2003;278(13):11086-93.
 134. Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E, Turturro N, Guerrieri F. Effect of acetaminophen administration on hepatic glutathione compartmentation and mitochondrial energy metabolism in the rat. *Biochemical pharmacology*. 1996;52(8):1147-54.
 135. Han D, Shinohara M, Ybanez MD, Saberi B, Kaplowitz N. Signal transduction pathways involved in drug-induced liver injury. *Adverse drug reactions*. 2010:267-310.
 136. Hanawa N, Shinohara M, Saberi B, Gaarde WA, Han D, Kaplowitz N. Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen-induced liver injury. *Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(20):13565-77.
 137. Bruno MK, Cohen SD, Khairallah EA. Antidotal effectiveness of N-acetylcysteine in reversing acetaminophen-induced hepatotoxicity: enhancement of the proteolysis of arylated proteins. *Biochemical pharmacology*. 1988;37(22):4319-25.
 138. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1995;133(1):43-52.
 139. Hogaboam C, Simpson K, Chensue S, Steinhauser M, Lukacs N, Gauldie J, et al. Macrophage inflammatory protein-2 gene therapy attenuates adenovirus-and acetaminophen-mediated hepatic injury. *Gene therapy*. 1999;6(4):573-84.
 140. Kayama F, Yoshida T, Elwell MR, Luster MI. Role of tumor necrosis factor- α in cadmium-induced hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*. 1995;131(2):224-34.
 141. Edwards M, Keller B, Kauffman F, Thurman R. The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*. 1993;119(2):275-9.
 142. Perez HD, Roll FJ, Bissell DM, Shak S, Goldstein IM. Production of chemotactic activity for polymorphonuclear leukocytes by cultured rat hepatocytes exposed to ethanol. *J Clin Invest*. 1984;74(4):1350-7.

143. Laskin DL, Pilaro AM. Potential role of activated macrophages in acetaminophen hepatotoxicity: I. Isolation and characterization of activated macrophages from rat liver. *Toxicology and applied pharmacology*. 1986;86(2):204-15.
144. Ju C. Damage-associated molecular patterns: Their impact on the liver and beyond during acetaminophen overdose. *Hepatology*. 2012;56(5):1599-601.
145. Ju C, Reilly TP, Bourdi M, Radonovich MF, Brady JN, George JW, et al. Protective role of Kupffer cells in acetaminophen-induced hepatic injury in mice. *Chem Res Toxicol*. 2002;15(12):1504-13.
146. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*. 2003;31(12):1499-506.
147. Le Moine O, Louis H, Sermon F, Goldman M, Devière J. Interleukin-10 and liver diseases. *Acta gastro-enterologica belgica (English ed)*. 1999;62(1):1-8.
148. Stordeur P, Goldman M. Interleukin-10 as a regulatory cytokine induced by cellular stress: molecular aspects. *Int Rev Immunol*. 1998;16(5-6):501-22.
149. Knolle P, Uhrig A, Hegenbarth S, Löser E, Schmitt E, Gerken G, et al. IL-10 down-regulates T cell activation by antigen-presenting liver sinusoidal endothelial cells through decreased antigen uptake via the mannose receptor and lowered surface expression of accessory molecules. *Clinical and experimental immunology*. 1998;114(3):427.
150. Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, McAulay M, Millward-Sadler H, Sheron N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology*. 1998;28(6):1597-606.
151. Cunha F, Mohcada S, Liew F. Interleukin-10 (IL-10) inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon- γ in murine macrophages. *Biochemical and biophysical research communications*. 1992;182(3):1155-9.
152. Louis H, Le Moine O, Goldman M, Deviere J. Modulation of liver injury by interleukin-10. *Acta gastro-enterologica Belgica*. 2003;66(1):7-14.
153. Louis H, Van Laethem JL, Wu W, Quertinmont E, Degraef C, Van den Berg K, et al. Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Hepatology*. 1998;28(6):1607-15.
154. Huang Y-H, Shi M-N, Zheng W-D, Zhang L-J, Chen Z-X, Wang X-Z. Therapeutic effect of interleukin-10 on CCl₄-induced hepatic fibrosis in rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2006;12(9):1386.
155. Li J, Billiar TR. IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1999;276(5):G1069-G73.

156. Clemens MG. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology*. 1999;30(1):1-5.
157. Gardner CR, Heck DE, Yang CS, Thomas PE, Zhang XJ, DeGeorge GL, et al. Role of nitric oxide in acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. *Hepatology*. 1998;27(3):748-54.
158. Gardner C, Heck D, Chiu H, Laskin J, Durham S, Laskin D. Decreased hepatotoxicity of acetaminophen in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cells of the Hepatic Sinusoid*. 1999;7:104-5.
159. Benghiat FS, Charbonnier LM, Vokaer B, De Wilde V, Le Moine A. Interleukin 17–producing T helper cells in alloimmunity. *Transplantation reviews*. 2009;23(1):11-8.
160. Zhao J, Park S, Kim JW, Qi J, Zhou Z, Lim CW, et al. Nicotine attenuates concanavalin A-induced liver injury in mice by regulating the $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor in Kupffer cells. *Int Immunopharmacol*. 2020;78:106071.
161. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*. 2003;421(6921):384-8.
162. James LP, Simpson PM, Farrar HC, Kearns GL, Wasserman GS, Blumer JL, et al. Cytokines and toxicity in acetaminophen overdose. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2005;45(10):1165-71.
163. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *European Journal of Biochemistry*. 1990;192(2):245-61.
164. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *The Journal of clinical investigation*. 1987;79(2):319-26.
165. Hatano M, Sasaki S, Ohata S, Shiratsuchi Y, Yamazaki T, Nagata K, et al. Effects of Kupffer cell-depletion on Concanavalin A-induced hepatitis. *Cellular immunology*. 2008;251(1):25-30.
166. Beyer H, Stanley M. Tumor necrosis factor-alpha increases hepatic DNA and RNA and hepatocyte mitosis. *Biochemistry international*. 1990;22(3):405-10.
167. Diehl A, Rai R. Regulation of signal transduction during liver regeneration. *The FASEB Journal*. 1996;10(2):215-27.
168. Diehl AM. Cytokine regulation of liver injury and repair. *Immunological reviews*. 2000;174(1):160-71.
169. Kaplowitz N, Tsukamoto H. Oxidative stress and liver disease. *Progress in liver diseases*. 1996;14:131-59.
170. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annual review of cell biology*. 1993;9(1):317-43.


171. Lacour S, Gautier J-C, Pallardy M, Roberts R. Cytokines as potential biomarkers of liver toxicity. *Cancer Biomarkers*. 2005;1(1):29-39.
172. Peterson TC, Renton KW. Kupffer cell factor mediated depression of hepatic parenchymal cell cytochrome P-450. *Biochemical pharmacology*. 1986;35(9):1491-7.
173. Ghezzi P, Saccardo B, Bianchi M. Recombinant tumor necrosis factor depresses cytochrome P450-dependent microsomal drug metabolism in mice. *Biochemical and biophysical research communications*. 1986;136(1):316-21.
174. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(2):289-96.
175. Gao B. Cytokines, STATs and liver disease. *Cell Mol Immunol*. 2005;2(2):92-100.
176. Dambach DM, Watson LM, Gray KR, Durham SK, Laskin DL. Role of CCR2 in macrophage migration into the liver during acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse. *Hepatology*. 2002;35(5):1093-103.
177. Kovalovich K, Li W, DeAngelis R, Greenbaum LE, Ciliberto G, Taub R. Interleukin-6 protects against Fas-mediated death by establishing a critical level of anti-apoptotic hepatic proteins FLIP, Bcl-2, and Bcl-xL. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(28):26605-13.
178. James LP, Lamps LW, McCullough S, Hinson JA. Interleukin 6 and hepatocyte regeneration in acetaminophen toxicity in the mouse. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309(4):857-63.
179. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*. 1996;274(5291):1379-83.
180. Taub R. Hepatoprotection via the IL-6/Stat3 pathway. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(7):978-80.
181. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE. Stat3 and Stat4: members of the family of signal transducers and activators of transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(11):4806-10.
182. Luttkicken C, Wegenka UM, Yuan J, Buschmann J, Schindler C, Ziemiecki A, et al. Association of transcription factor APRF and protein kinase Jak1 with the interleukin-6 signal transducer gp130. *Science*. 1994;263(5143):89-92.
183. Graham ES, Woo KK, Aalderink M, Fry S, Greenwood JM, Glass M, et al. M1 muscarinic receptor activation mediates cell death in M1-HEK293 cells. *PloS one*. 2013;8(9):e72011.
184. Leloup C, Michaelson D, Fisher A, Hartmann T, Beyreuther K, Stein R. M1 muscarinic receptors block caspase activation by phosphoinositide 3-kinase-and

- MAPK/ERK-independent pathways. *Cell Death & Differentiation*. 2000;7(9):825-33.
185. Fausto N. Liver regeneration: from laboratory to clinic. *Liver transplantation*. 2001;7(10):835-44.
 186. Ohtake M, Sakaguchi T, Yoshida K, Muto T. Hepatic branch vagotomy can suppress liver regeneration in partially hepatectomized rats. *HPB Surgery*. 1993;6(4):277-86.
 187. Kiba T, Tanaka K, Numata K, Hoshino M, Inoue S. Facilitation of liver regeneration after partial hepatectomy by ventromedial hypothalamic lesions in rats. *Pflügers Archiv*. 1994;428(1):26-9.
 188. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science*. 1997;276(5309):60-6.
 189. Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, Tyan DB, Cohen AH, Ferrareso C, et al. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2001;288(1):156-64.
 190. Crosby HA, Kelly DA, Strain AJ. Human hepatic stem-like cells isolated using c-kit or CD34 can differentiate into biliary epithelium. *Gastroenterology*. 2001;120(2):534-44.
 191. Yasui O, Miura N, Terada K, Kawarada Y, Koyama K, Sugiyama T. Isolation of oval cells from Long-Evans Cinnamon rats and their transformation into hepatocytes in vivo in the rat liver. *Hepatology*. 1997;25(2):329-34.
 192. Flora A, Schulz R, Benfante R, Battaglioli E, Terzano S, Clementi F, et al. Neuronal and extraneuronal expression and regulation of the human $\alpha 5$ nicotinic receptor subunit gene. *Journal of neurochemistry*. 2000;75(1):18-27.
 193. MacLennan C, Beeson D, Vincent A, Newsom-Davis J. Human nicotinic acetylcholine receptor α -subunit isoforms: origins and expression. *Nucleic acids research*. 1993;21(23):5463-7.
 194. Smith MA, Stollberg J, Lindstrom J, Berg DK. Characterization of a component in chick ciliary ganglia that cross-reacts with monoclonal antibodies to muscle and electric organ acetylcholine receptor. *Journal of Neuroscience*. 1985;5(10):2726-31.
 195. Brown S, Kalow W, Pilz W, Whittaker M, Woronic C. The plasma cholinesterases: a new perspective. *Advances in clinical chemistry*. 1981;22:1-123.
 196. Perelman A, Brandan E. Different membrane-bound forms of acetylcholinesterase are present at the cell surface of hepatocytes. *European journal of biochemistry*. 1989;182(1):203-7.

197. Urrunaga NH, Jadeja RN, Rachakonda V, Ahmad D, McLean LP, Cheng K, et al. M1 muscarinic receptors modify oxidative stress response to acetaminophen-induced acute liver injury. *Free Radic Biol Med.* 2015;78:66-81.
198. Lee SST, Buters JTM, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Role of CYP2E1 in the Hepatotoxicity of Acetaminophen. *Journal of Biological Chemistry.* 1996;271(20):12063-7.
199. Zaher H, Buters JTM, Ward JM, Bruno MK, Lucas AM, Stern ST, et al. Protection against Acetaminophen Toxicity in CYP1A2 and CYP2E1 Double-Null Mice. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 1998;152(1):193-9.

8. EKLER

EK-1 : Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri

 T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575-68

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 20.08.2020 (PERŞEMBE)
TOPLANTI SAYISI	: 2020/07
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2020/31
KARAR NUMARASI	: 2020/07- 02
ONAY BİTİŞ TARİHİ	: 20.08.2025
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT
HAYVAN DENEYLERİNDE	: Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT, Dr. Zamir ERTÜRK
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: (Doktora Tezi)
DİĞER YARDIMCI	: -
ARAŞTIRMACILAR	
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 56 Adet Swiss Albino Fare (8-10 Hafta)

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT'in araştırma yürütücüsü olduğu 2020/31 kayıt numaralı "*Karbakol Aracılı Muskarinik Reseptör Uyarımının Farede Asetaminofenin Neden Olduğu Deneysel Hepatotoksisiteye Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkanı

Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index_bdk.php

Ayrıntılı Bilgi için:

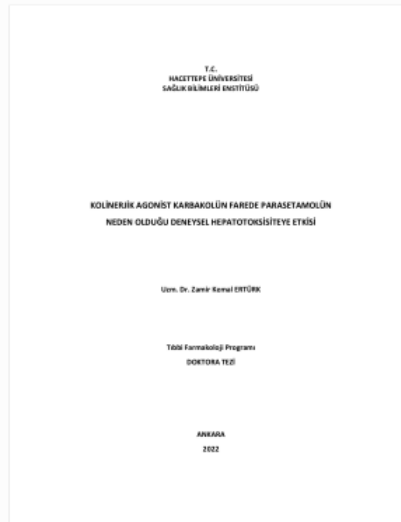
EK-2 : Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Zamir Kemal Ertürk
Ödev başlığı: KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜ...
Gönderi Başlığı: KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜ...
Dosya adı: Parasetamol_karbakol_deneysel_hepatotoksiste.pdf
Dosya boyutu: 1,86M
Sayfa sayısı: 57
Kelime sayısı: 12,753
Karakter sayısı: 85,002
Gönderim Tarihi: 05-Tem-2022 05:44ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1866748348



Öğrenci Adı : Zamir Kemal Ertürk

Tez Başlığı : KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜN NEDEN OLDUĞU DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ

Sayfa Sayısı : 57

KOLİNERJİK AGONİST KARBAKOLÜN FAREDE PARASETAMOLÜN NEDEN OLDUĞU DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

%6	%5	%4	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
2	onlinelibrary.wiley.com İnternet Kaynağı	<%1
3	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
4	James H. Hibben. "Raman Spectra in Organic Chemistry.", Chemical Reviews, 1936 Yayın	<%1
5	Luheshi, Nadia, Gareth Davies, Edmund Poon, Kimberley Wiggins, Matthew McCourt, and James Legg. "Th1 cytokines are more effective than Th2 cytokines at licensing anti-tumour functions in CD40-activated human macrophages in vitro", European Journal of Immunology, 2013. Yayın	<%1

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zamir Kemal ERTÜRK