



T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

LİV-52'NİN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ. BİYOKİMYASAL VE
HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Seval BULUT

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Ocak 2024
Her Hakkı Saklıdır

SEVAL BULUT

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA

2024

**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**LİV-52’NİN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ. BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK
DEĞERLENDİRME**

Seval BULUT

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

**TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Ocak 2024
Her Hakkı Saklıdır**

Bu tez BAP tarafından TDK-2023-887 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Liv-52’nin sıçanlarda favipiravir ile indüklenen hepatotoksisiteye etkisi. Biyokimyasal ve histopatolojik değeriendirme” isimli “Doktora” tezime tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiğı gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 30/01/2024

(İmza)

Seval BULUT

ÖZET

Doktora Tezi

LİV-52’NİN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTEYE ETKİSİ. BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Seval BULUT

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

Amaç: Liv-52’nin sıçanlarda favipiravirin olası karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Deney hayvanları, sağlıklı (SG), 200 mg/kg favipiravir (FV-200), 400 mg/kg favipiravir (FV-400), 200 mg/kg favipiravir ve 50 mg/kg Liv-52 (LFV-200), 400 mg/kg favipiravir ve 50 mg/kg Liv-52 (LFV-400) olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Favipiravir günde 2 kez, Liv-52 günde 1 kez oral yoldan 7 gün boyunca uygulandı. Sürenin sonunda kan örnekleri alındı ve ötenazi sonrası karaciğer dokuları çıkarıldı.

Bulgular: Biyokimyasal bulgularımız favipiravirin karaciğer dokularında doza bağımlı olarak oksidan bir parametre olan MDA düzeylerinde artışa, tGSH, SOD ve CAT gibi antioksidan düzeylerinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, favipiravir serum ALT, AST ve LDH aktivitelerini artırmıştır. Histopatolojik olarak, favipiravir 400 mg/kg dozda karaciğer dokusunda 200 mg/kg dozuna göre daha şiddetli nekroz, hidropik dejenerasyon ve hemorajiye yol açmıştır. Liv-52, karaciğer dokusunda MDA’nın favipiravir ile yükselişini tGSH, SOD ve CAT düzeylerinin ise azalışını anlamlı önlemiştir. Ayrıca, Liv-52’nin hayvanların kan serumunda ALT, AST ve LDH aktivitelerindeki artışı anlamlı inhibe ettiği ve histopatolojik hasarı hafiflettiği saptanmıştır.

Sonuç: Favipiravir, doza bağlı olarak artan karaciğer hasarına neden olmaktadır. Favipiravir ile Liv-52’nin beraber kullanılması karaciğer hasarının önüne geçebilir.

2024, 79 sayfa

Anahtar Kelimeler: Favipiravir, Hepatotoksisite, Hepatotonik, Liv-52, Oksidatif Stres, Sıçan.

ABSTRACT

PhD Thesis

EFFECT OF LIV-52 ON FAVIPIRAVIR-INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS. BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION

Seval BULUT

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmacology

Supervisor: Professor Doctor Halis SULEYMAN

Aim: To investigate the protective effect of Liv-52 against possible liver damage caused by favipiravir in rats biochemically and histopathologically.

Materials and Methods: Experimental animals were divided into 5 groups consisting of six rats: healthy (SG), 200 mg/kg favipiravir (FV-200), 400 mg/kg favipiravir (FV-400), 200 mg/kg favipiravir and 50 mg/kg Liv-52 (LFV-200), 400 mg/kg favipiravir and 50 mg/kg Liv-52 (LFV-400). Favipiravir was administered twice a day and Liv-52 was administered orally once a day for 7 days. At the end of the period, blood samples were taken and liver tissues were removed after euthanasia.

Results: Our biochemical findings showed that favipiravir caused a dose-dependent increase in MDA levels, an oxidant parameter, and a decrease in antioxidant levels such as tGSH, SOD and CAT in liver tissues. In addition, favipiravir increased serum ALT, AST and LDH activities. Histopathologically, favipiravir caused more severe necrosis, hydropic degeneration and haemorrhage in liver tissue at 400 mg/kg dose than at 200 mg/kg dose. Liv-52 significantly prevented favipiravir-induced increase in MDA and decrease in tGSH, SOD and CAT levels in liver tissue. In addition, Liv-52 significantly inhibited the increase in ALT, AST and LDH activities in the blood serum of the animals and alleviated the histopathological damage.

Conclusion: Favipiravir causes liver damage that increases in a dose-dependent manner. Concomitant use of favipiravir and Liv-52 may prevent liver damage.

2024, 79 pages

Keywords: Favipiravir, Hepatotoxicity, Hepatotonic, Liv-52, Oxidative Stress, Rat.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez sürecimde engin bilgi ve deneyimlerini cömertce aktaran değerli hocam Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN'a,

Eğitimim süresince verdikleri emek ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Durdu ALTUNER, Doç. Dr. Bahadır SÜLEYMAN, Doç. Dr. Renad MAMMADOV ve Doç. Dr. Aslı ÖZBEK BİLGİN'e,

Bu süreçte desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Taha Abdulkadir ÇOBAN'a,

Doktora eğitimim boyunca her daim yanımda bulunan ve deneyimlerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SÜLEYMAN'a,

Proje numarası "TDK-2023-887" olan bu tezime destek veren Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) birimine,

Hayvanların temini ve deney uygulamaları sürecinde yardımlarından dolayı Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne,

Beni bu günlere getiren ve hayata karşı ilk eğitmenlerim anneme ve babama,

Bana güvenen ve bilim sevdamı körükleyen sevgili oğlum Necdet Gökalp BULUT'a,

Her zaman yanımda olan, beni yüreklendiren, beraber yol yürüdüğüm değerli hayat arkadaşım Dr. Necati BULUT'a yürekten teşekkür etmeyi borç bilirim.

Seval BULUT

Ocak, 2024

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kabul ve Onay.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Favipiravir.....	3
2.1.1. Favipiravirin Keşfi.....	3
2.1.2. Favipiravirin Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri.....	3
2.1.3. Favipiravirin Etki Mekanizması.....	5
2.1.4. Favipiravirin Antiviral Etki Spektrumu.....	6
2.1.5. Favipiravir için Tedavi Protokolleri.....	8
2.1.6. Favipiravirin Karaciğer Üzerindeki Etkileri.....	9
2.1.7. Favipiravirin Diğer Organlar Üzerindeki Etkisi.....	11
2.2. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve Oksidatif Stres.....	13
2.2.1. SOR kaynakları.....	13
2.2.2. SOR Çeşitleri.....	14
2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Canlı Organizmalar Üzerindeki Etkileri...	18
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	21
2.3.1. Endojen Enzimatik Antioksidanlar.....	23
2.3.2. Non Enzimatik Antioksidanlar.....	25
2.3.3. Eksojen Antioksidanlar.....	26
2.4. Liv-52.....	27
2.4.1. Liv-52'nin içeriği.....	28
2.4.2. Liv-52'nin Karciğer Üzerindeki Farmakolojik Etkileri.....	32
2.4.3. Liv-52'nin Diğer Organlar Üzerindeki Etkisi.....	35

3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Deney Hayvanları.....	37
3.2. Etik Onay.....	37
3.3. İlaçlar.....	37
3.4. Deney Grupları.....	37
3.5. Deney Prosedürü.....	38
3.6. Kullanılan Alet ve Kimyasal Maddeler.....	38
3.7. Biyokimyasal Analizler.....	39
3.7.1. Biyokimyasal Analiz için Doku Numunelerinin Hazırlanması.....	39
3.7.2. Karaciğer dokularında MDA Seviyelerinin Belirlenmesi.....	39
3.7.3. Karaciğer dokularında tGSH Seviyelerinin Belirlenmesi.....	40
3.7.4. Karaciğer dokularında SOD Aktivitesinin Belirlenmesi.....	40
3.7.5. Karaciğer dokularında CAT Aktivitesinin Belirlenmesi.....	41
3.7.6. Serumda ALT Aktivitesinin Belirlenmesi.....	41
3.7.7. Serumda AST Aktivitesinin Belirlenmesi.....	42
3.7.8. Serumda LDH Aktivitesinin Belirlenmesi.....	42
3.8. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Değerlendirmesi.....	43
3.9. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	44
4.1.1. Karaciğer dokularından elde edilen MDA düzeylerine ait verilerin analiz sonuçları.....	45
4.1.2. Karaciğer dokularından elde edilen tGSH düzeylerine ait verilerin analiz sonuçları.....	46
4.1.3. Karaciğer dokularından elde edilen SOD aktivitelerine ait verilerin analiz sonuçları.....	47
4.1.4. Karaciğer dokularından elde edilen CAT aktivitelerine ait verilerin analiz sonuçları.....	48
4.1.5. Serum ALT aktivitelerine ait verilerin analiz sonuçları.....	49
4.1.6. Serum AST aktivitelerine ait verilerin analiz sonuçları.....	50
4.1.7. Serum LDH aktivitelerine ait verilerin analiz sonuçları.....	51
4.2. Histopatolojik bulgular.....	52
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65

KAYNAKLAR	66
EKLER	77
Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu.....	78
Ek-2. Bilimsel Araştırma Projeleri Onay Formu	79
ÖZGEÇMİŞ	80



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Favipiravirin Ön İlaç ve Aktif Molekül Halindeki Kimyasal Yapısı.....	4
Şekil 2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Kaynakları.....	14
Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	23
Şekil 2.4. Liv-52'nin İçeriği.....	29
Şekil 4.1. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen MDA Düzeylerinin Analiz Sonuçları.....	45
Şekil 4.2. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen tGSH Düzeylerinin Analiz Sonuçları.....	46
Şekil 4.3. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen SOD Aktivitelerinin Analiz Sonuçları.....	47
Şekil 4.4. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen CAT Aktivitelerinin Analiz Sonuçları.....	48
Şekil 4.5. Deney Gruplarının Serumlarında Ölçülen ALT Aktivitelerinin Analiz Sonuçları.....	49
Şekil 4.6. Deney Gruplarının Serumlarında Ölçülen AST Aktivitelerinin Analiz Sonuçları.....	50
Şekil 4.7. Deney Gruplarının Serumlarında Ölçülen LDH Aktivitelerinin Analiz Sonuçları.....	51
Şekil 4.8. SG Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	52
Şekil 4.9 (A-B). FV-200 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	53
Şekil 4.10 (A-B). FV-400 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü....	54
Şekil 4.11. LFV-200 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	55
Şekil 4.12. LFV-400 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	56

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Sınıflandırılması.....	15
Tablo 3.1. Kullanılan Cihazlar ve Firma Listesi.....	38
Tablo 3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Firma Listesi.....	39
Tablo 4.1. Deney Gruplarından Elde Edilen Karaciğer Dokuları ve Serum Örneklerinden Ölçülen Biyokimyasal Parametrelerin Analiz Sonuçları.....	44
Tablo 4.2. Deney Gruplarından Elde Edilen Karaciğer Dokularının Histopatolojik Derecelendirme Analiz Sonuçları.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
$\bar{X}$	Ortalama
SD	Standart Sapma
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

$^1\text{O}_2$	Singlet Oksijen
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
COVID-19	SARS-CoV2'ye Bağlı Koronavirüs Hastalığı
GSH	Glutasyon
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
FV-200	200 mg/kg Favipiravir Verilen Grup
FV-400	400 mg/kg Favipiravir Verilen Grup
GR	Glutasyon Redüktaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutasyon
HOCL	Hipokloröz Asit
H&E	Hemotoksilen-Eozin
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HGPRT	Hipoksantinguanin Fosforibosil Transferaz
HRP	Horseradish Peroksidaz
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LFV-200	200 mg/kg Favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 Verilen Grup
LFV-400	400 mg/kg Favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 Verilen Grup
LPO	Lipit Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz

NADH	Nikotiamid Adenin Dinükleotit
NO	Nitrik Oksit
O ₂	Moleküler Oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
OH [·]	Hidroksil Radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
OD	Optik Dansite
RdRp	RNA Bağımlı RNA Polimeraz
RNA	Ribonükleik Asit
SARS-CoV2	Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2
SG	Sağlıklı Kontrol Grubu
SOD	Süperoksit Dizmutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
T-705	Favipiravir
T-705-RTP	Favipiravir-4-ribofuranosil-5'-trifosfat

1. GİRİŞ

Favipiravir, ribonükleik aside (RNA) bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enziminin seçici ve güçlü bir şekilde inhibisyonu yoluyla virüs genom RNA transkripsiyon ve replikasyonunu önleyen antiviral bir ajandır (Furuta ve ark., 2013). Favipiravir, Toyama Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japonya) tarafından laboratuvar çalışmaları sırasında keşfedildi ve sentezlendi. 2014 yılında da, ilk olarak standart antiviral tedavilere yanıt vermeyen yeni epidemik influenza suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisi için Japonya'da onaylandı (Łagocka ve ark., 2021). Favipiravir influenza virüsüne karşı onaylanmış olsa da daha sonraki yıllarda poliovirüs, rinovirüs ve respiratuar sinsityal virus gibi birçok RNA virüslerine karşı da antiviral aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır. Favipiravir, Batı Afrika'da ölümcül Ebola virüsü hastalığında ve kuş gribi salgınıyla mücadelede kullanılmıştır (Shiraki ve Daikoku, 2020). Aralık 2019'da, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV2) neden olduğu yeni bir koronavirüs hastalığı (COVID-19) salgınıyla mücadelede de, favipiravir antiviral ajan olarak yerini almıştır (Kamali ve ark., 2023). Ancak, yapılan çalışmalar favipiravirin uygun plazma konsantrasyonlarına ulaşabilmesi için bu enfeksiyonların tedavisinde yüksek dozlarda kullanılması gerekliliğini ortaya koymuştur (Ison ve Scheetz, 2021). Enfeksiyonun tipine göre favipiravir tedavisi için çeşitli doz rejimleri önerilmiştir. COVID-19 tedavisi için her 12 saatte bir 2400-3000 mg bir yükleme dozu ve ardından her 12 saatte bir 1200-1800 mg idame dozu düşünülmüştür (Manabe ve ark., 2021). COVID-19 için önerilen diğer bir tedavi rejimi, birinci gün günde iki kez 1800 mg yükleme dozu ve ardından ikinci günden en fazla on dördüncü güne kadar günde iki kez 800 mg favipiravir kullanımını içermektedir (Joshi ve ark., 2021). Ebola için ise ilk gün 6000 mg, ikinci ve dokuzuncu günler arasında günde 2400 mg olacak şekilde yüksek doz favipiravir tedavisi önerilmiştir (Ison ve Scheetz, 2021). Yapılan çalışmalarda, favipiravir tedavisine bağlı çeşitli toksik etkiler raporlanmıştır. Favipiravir kullanımı esnasında görülen yan etkiler arasında diyare, nefrotoksisite, serum ürik asid ve transaminaz düzeylerinde artış, beyaz küre ve nötrofil düzeyinde azalma, bulantı, kusma, karın ağrısı, ciltte kızarıklık, kaşıntı, deliryum, halüsinasyon ve konvülsiyon yer almaktadır (Dogan ve ark., 2021).

Ayrıca, favipiravir kullanılan hastalarda karaciğer hasarına rastlandığı da rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2021a). Deneysel olarak gerçekleştirilen çalışmalarda favipiravirin karaciğer fonksiyon bozukluklarına ve hepatositlerde vakuolizasyon, dejenerasyon ve nekroza yol açtığı ortaya konmuştur (Bilici ve ark., 2023; Doğan ve ark., 2023). Yine yapılan bir deneysel çalışmada favipiravirin oksidatif karaciğer hasarına yol açtığı rapor edilmiştir. Favipiravirin karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonun (LPO) toksik ürünü olarak bilinen malondialdehid (MDA) düzeyini artırdığı, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidan aktivitelerini azalttığı ifade edilmiştir (Kara ve ark., 2022). Literatürden edinilen bu bilgiler, favipiravir tedavisi ile ilişkilendirilen hepatotoksisitenin patogenezinde oksidatif stresin önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda favipiravirin sıçanlarda olası oksidatif karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini araştırdığımız Liv-52, Hindistan Sağlık Bakanlığının ilaç düzenleme otoritesi olan AYUSH departmanı tarafından ayurvedik ilaç olarak ruhsatlandırılmıştır. Liv-52 Himsra (*Capparis spinosa*) 65 mg, Kasani (*Cichorium intybus*) 65 mg, Mandur bhasma 33 mg, Kakamachi (*Solanum nigrum*) 32 mg, Arjuna (*Terminalia arjuna*) 32 mg, Kasamarda (*Cassia occidentalis*) 16 mg, Biranjasipha (*Achillea millefolium*) 16 mg ve Jhavuka (*Tamarix gallica*) 16 mg ekstre içermektedir (Vidyashankar ve ark., 2012). Liv-52'nin sıçan karaciğer dokusunda MDA artışını, antioksidanların ise azalmasını önleyerek karaciğeri doksorubisin toksisitesine karşı koruduğu rapor edilmiştir (Yildirim ve ark., 2022). Liv-52'nin hepatoprotektif etkisini, antioksidan aktivite ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır (Vidyashankar ve ark., 2010). Bu bilgiler, Liv-52'nin favipiravir ilişkili oksidatif karaciğer hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, Liv-52'nin favipiravir ile indüklenen oksidatif karaciğer hasarına etkisini araştıran çalışmalara rastlanmadı. Bu nedenle, bu çalışmada Liv-52'nin sıçanlarda favipiravirin olası karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmak amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Favipiravir

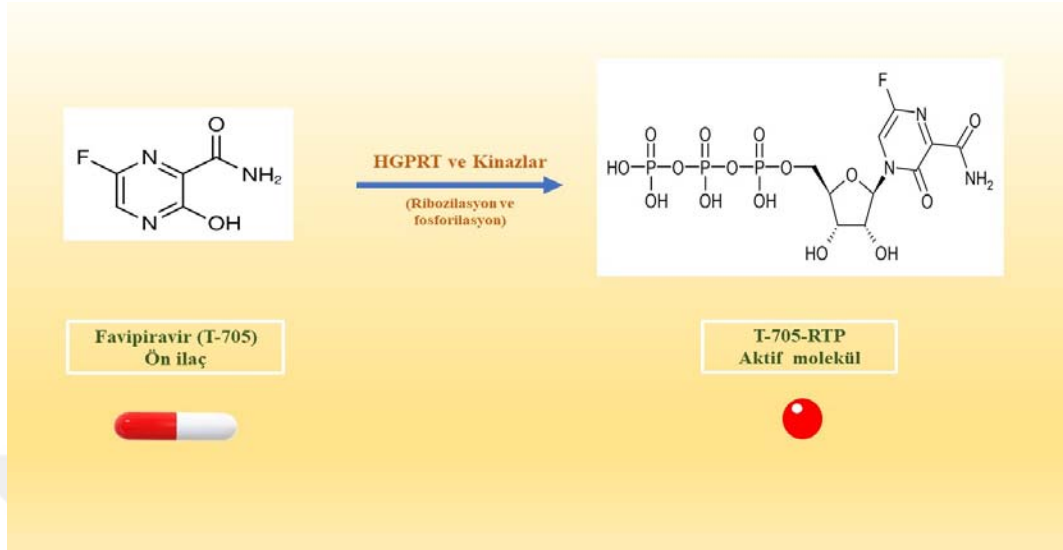
Favipiravir (moleküler formül: C₅H₄FN₃O₂; moleküler ağırlık: 157.1 g/mol; synonyms: 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide; T-705; 259793-96-9; ve 6-fluoro-3-oxo-3,4-dihydropyrazine-2-carboxamide) RdRp'nin rekabetçi bir inhibitörü olarak etkinlik gösteren pürin nükleosid öncülü antiviral bir ajandır (Łagocka ve ark., 2021).

2.1.1. Favipiravirin Keşfi

Favipiravir Toyama Chemical Co. Ltd. (Tokyo, Japonya) tarafından hücrelerde *in vitro* olarak anti-influenza virüs aktivitesi için yapılan bir çalışmada pirazin analogunun kimyasal modifikasyonu sonucu keşfedilmiştir ve sentezlenmiştir. Favipiravirin orijinal adı T-705 olarak bilinmektedir (Furuta ve ark., 2017). Daha sonra yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile antiviral aktivitelerin yanında farmakokinetik özellikler açısından da yapı-aktivite çalışmaları yapılmış ve türevleri sentezlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda T-705 ve ilgili pirazinakarboksamid bileşikleri (T-1105 ve T-1106) ilaç adayı olarak daha ileri araştırmalar için seçilmiştir. 2014 yılında T-705 (favipiravir), standart antiviral tedavilere yanıt vermeyen yeni epidemik influenza suşları için Japonya'da ilaç olarak onaylanmıştır (Łagocka ve ark., 2021).

2.1.1. Favipiravirin Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Favipiravir bir ön ilaçtır ve biyolojik aktivitesi metaboliti olan favipiravir-4-ribofuranosil-5'-trifosfat (T-705-RTP) tarafından sergilenmektedir. Favipiravir endositoz yoluyla hücre içine girer. Aktif metabolitle sonuçlanan hücre içi dönüşümü, hücresel enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar sonucu gerçekleşir (Almutairi ve ark., 2023; Konstantinova ve ark., 2022). Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi favipiravir konakçı hücrelerine girdikten sonra önce hipoksantinguanin fosforibosil transferaz (HGPRT) tarafından riboz 5'-monofosfata dönüştürülür. Ardından hücresel kinazlar tarafından da T-705-RTP formuna metabolize edilir (Konstantinova ve ark., 2022).



Şekil 2.1. Favipiravirin Ön İlaç ve Aktif Molekül Halindeki Kimyasal Yapısı

Favipiravirin metabolize olması sonucu başlıca iki metabolit meydana gelir (Kara ve ark., 2022). Favipiravirin esas olarak metabolize olduğu yol M1 yoludur. M1 yolunda favipiravir karaciğerde aldehit oksidaz ve kısmen de ksantin oksidaz tarafından metabolize edilir ve inaktif bir oksidatif metabolit olan T-705M1 üretilir (Joshi ve ark., 2021). M2 yolunda ise glukuronid metaboliti oluşumunu içeren reaksiyonlar yer almaktadır (Kara ve ark., 2022).

Favipiravir, ana enzimatik yolun saturasyonu ve/veya otoinhibisyonu nedeniyle doza ve zamana bağlı doğrusal olmayan bir farmakokinetik sergiler. Favipiravirin *in vitro* aldehit oksidazı inhibe ettiği gösterilmiştir (Madelain ve ark., 2016). Tekrarlayan dozlarda favipiravir kullanımı sonrasında aldehit oksidaz inhibisyonu ile karaciğerde metabolizmanın azalması, dolaşımdaki favipiravir/inaktif metabolit oranında bir artışla sonuçlanabilir. Bu durum favipiravir-RTP'nin dokularda alımını ve aktivasyonunu kolaylaştırabilir (Joshi ve ark., 2021).

Metabolitlerin çoğu böbrek yoluyla hidroksillenmiş formlar halinde atılır. İdrarla atılan metabolitlerin fraksiyonu yaklaşık bir hafta sonra %80-100'e ulaşmaktadır (Madelain ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda, favipiravirin biyoyararlanımı %97.6 olarak tespit edilmiştir. Favipiravirin insanlarda plazma proteinlerine bağlanması ise %54 olarak

bulunmuştur. Serum albüminine %65.0 ve α 1-asit glikoproteine ise %6.5 oranında bağlanmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalar favipiravirin tek bir doz oral uygulamadan 2 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaştığını ve kanda ulaştığı maximum konsantrasyonun ise 51.5 μ g/mL olduğunu ortaya koymuştur. Favipiravir için ortalama ana dağılım hacmi 15-20 L olarak hesaplanmıştır. Eliminasyon yarılanma ömrü 2-5.5 saat olan favipiravirin oral kullanımdan sonra hızla kan konsantrasyonlarının düştüğü gösterilmiştir (Du ve Chen, 2020; Joshi ve ark., 2021). Ancak, maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı ve yarı ömür, tekrarlayan dozlardan sonra artmaktadır (Madelain ve ark., 2016). Ayrıca, literatürde favipiravirin metabolizmasının etnik farklılıklardan etkilendiğinden bahsedilmektedir. Amerikalı hastalar Japon hastalarla karşılaştırılmış ve Amerikalı hastalarda aynı dozlarda yaklaşık %50'lik daha düşük bir plazma konsantrasyonu olduğu saptanmıştır (Madelain ve ark., 2016).

Favipiravir için yapılan tek doz toksisite çalışmalarına dayanarak, fareler için oral ve intravenöz öldürücü dozun 2000 mg/kg'ın, sıçanlarda oral öldürücü dozun 2000 mg/kg'ın, köpekler ve maymunlarda ise oral öldürücü dozun 1000 mg/kg'ın üzerinde olduğu öngörülmüştür (Łagocka ve ark., 2021).

2.1.2. Favipiravirin Etki Mekanizması

Favipiravir etkisini RNA virüslerinin RdRp enzimini seçici ve güçlü bir şekilde inhibe ederek göstermektedir (Dindar Demiray ve ark., 2022). RdRp PB1, PB2 ve PA alt birimlerinin birleşmesinden oluşur. Bu üç alt birim birlikte viral genomun transkripsiyonundan ve replikasyonundan sorumludur (Jin ve ark., 2013). İnsan hücre genomunda RdRp alanları bulunmadığından bu spesifik mekanizma, favipiraviri ayrıcalıklı kılmaktadır (Łagocka ve ark., 2021; Tian ve ark., 2021).

Virüs konakçı bir hücreye saldırdıktan sonra, virüs genomik RNA'sını kalıp olarak kullanır ve RdRp'nin çevirisi de konakçı hücredeki protein sentez mekanizmaları tarafından gerçekleştirilir. Bu süreçlerde üretilen RdRp, onbinlerce nükleotidi düzgün ve verimli bir şekilde sentezleyebilir. Böylece, virüsün konakçı hücre istilalasından sonra gerçekleştirilen tüm biyolojik aktiviteler kolaylıkla gerçekleştirilir (Tian ve ark., 2021).

Favipiravirin RdRp ile etkileşim mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olmakla beraber birkaç hipotez mevcuttur.

1- Bu hipotezlerden biri favipiravirin viral RdRp tarafından substrat olarak tanındığıdır. Bu tanınma sayesinde favipiravir pürin gibi davranarak RNA transkripsiyonunu ve replikasyonunu önler. Favipiravirin aktif formu olan T-705-RTP, doğal substratlar olan guanozin trifosfat ve daha az ölçüde adenozin trifosfat ile rekabete girer, viral RdRp tarafından tanınır ve büyüyen RNA zincirine dahil edilir. Aynı zamanda RdRp aktivitesini inhibe eder ve böylece virüse özgü RNA transkripsiyonu ve replikasyonu engellenmiş olur (Konstantinova ve ark., 2022). Geçmişte yapılan çalışmalar pürin analoglarının varlığının favipiravirin antiviral aktivitesini azaltabileceğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, favipiravirin bir psödopurin gibi davrandığına ve favipiravir ile pürin nükleozitleri arasında RdRp'ye bağlanabilmek için rekabet olduğuna işaret etmektedir (Furuta ve ark., 2005).

2- Favipiravirin etki mekanizmasına yönelik diğer bir görüş, yeni oluşan viral RNA zincirinde zincir sonlandırılması yoluyla RNA sentezini inhibe ettiğini savunmaktadır. Bu görüşe göre, favipiravirin yeni oluşan RNA zincirine bir kez dahil edilmesi, RNA zincirinin daha fazla uzamasını kısmen önleyebilmektedir. Ancak favipiravirin tekrar tekrar RNA zincirine dahil olması, RNA zincirinin uzamasının tamamen önlenmesi ile sonuçlanmaktadır (Łagocka ve ark., 2021).

3- Bazı raporlar da favipiravirin öldürücü mutajenezin indüklenmesi yoluyla da etki gösterdiğini savunmaktadır (Jin ve ark., 2013). Çoğu RNA virüs, viral genom replikasyonu sırasında hataları düzelten bir mekanizmanın olmaması nedeniyle yüksek bir mutasyon oranına sahiptir. Viral genom replikasyonu sırasında ortamda mutagenezi artıran bir etken olduğunda mutasyon hızı eşik seviyesini aşar ve kusurlu genomlar sentezlenir, bu da cansız viral partiküllerin oluşumuna yol açar. Bu durum da virüsün enfektivitesinde önemli bir azalmaya neden olur (Konstantinova ve ark., 2022).

2.1.3. Favipiravirin Antiviral Etki Spektrumu

Favipiravir ilk olarak influenza virüslerine karşı etkili bulunmuştur. Daha sonra yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile favipiravirin hem negatif iplikçikli RNA virüslerine hem de pozitif iplikçikli RNA virüslerine karşı aktivite gösterdiği saptanmıştır (Ghasemnejad-

Berenji ve Pashapour, 2021). Yapılan *in vitro* çalışmalarda Arenaviridae (Junin, Pichinde, Lassa virüsü vb.), Bunyaviridae (La Crosse virüsü, Rift Valley humması virüsü, Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü, Trombositopeni sendromlu şiddetli ateş virüsü ve hantavirüs vb.), Flaviviridae (sarı humma virüsü ve Batı Nil virüsü vb.), Togaviridae (Western at ensefalit virüsü, Chikungunya virüsü vb.), Picornaviridae (Şap hastalığı virüsü vb.), Caliciviridae (murin norovirüs), Filoviridae (Ebola virüs), Rhabdoviridae (Kudus virüsü) virüslerine karşı etkili olduğu ortaya konmuştur (Furuta ve ark., 2017).

Favipiravir, mevsimsel influenza A(H1N1), A(H3N2) ve B suşları ile insandan izole edilen yüksek patojenik kuş gribi virüsü A(H5N1) dahil influenza virüslerinin çoğalmasını engelleme kapasitesi bakımından laboratuvar ortamında *in vitro* olarak değerlendirilmiştir (Furuta ve ark., 2013; Furuta ve ark., 2002). Favipiravirin, influenza tip A, B ve C dahil olmak üzere influenza virüsü suşlarının tüm alt tiplerine karşı antiviral aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Furuta ve ark., 2002). Favipiravirin fareler üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada mevsimsel influenza A(H3N2) enfeksiyonuna karşı antiviral aktivitesi değerlendirilmiş, ve çalışma sonucunda favipiravirin kuş gribi virüsü enfeksiyonlarının tedavisinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır (Sidwell ve ark., 2007). Yapılan klinik çalışmalar da favipiravirin antiinfluenza aktivitesini ortaya koymuştur. İnfluenza ile enfekte 271 katılımcının katıldığı bir randomize kontrollü çalışmada, favipiravir tedavisi alan grup plasebo grubuyla karşılaştırılmıştır. Favipiravirin, influenza semptomlarının hafifletilmesinde ve viral yükün azaltılmasında anlamlı derecede etkili olduğu ortaya konmuştur (McKimm-Breschkin ve Fry, 2016).

Favipiravirin Ebola virüs üzerindeki etkisi hücre kültürlerinde ve deney hayvan modellerinde test edilmiştir. Favipiravirin hücre kültürlerinde virüs replikasyonunu azalttığı bulunmuştur. Farelere verilen favipiravir tedavisinin, hızlı virüs temizliği sağladığı, biyokimyasal parametrelerdeki bozulmayı azalttığı ve hayvanların sağ kalımında başarıyı artırdığı sonucuna varılmıştır (Oestereich ve ark., 2014). Favipiravir, 2014 yılında Batı Afrika'daki ölümcül Ebola virüsü salgını sırasında bir tedavi olarak öne çıkarılmıştır. Ebola virüsü enfeksiyonu olan hastaların maruziyet sonrası profilaksisi ve tedavisinde favipiravir başarıyla kullanılmıştır (Shiraki ve Daikoku, 2020).

Favipiravir koronavirüslere bağlı enfeksiyonlar için de test edilmiştir. COVID-19 salgını döneminde virüse yönelik spesifik bir antiviral tedavi mevcut olmadığından en kısa

sürede tedavi seçeneklerinin belirlenmesi önem arz etmekteydi. SARS-CoV-2'nin SARS-CoV ile yüksek oranda benzer genom dizisine sahip olması, SARS-CoV için mevcut tedavi seçeneği olan favipiraviri, COVID-19 tedavisinde de öne çıkarmıştır (Ghasemnejad-Berenji ve Pashapour, 2021). Yüksek doz favipiravir bir hamster modelinde SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı kullanılmış antiviral aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Driouich ve ark., 2021). COVID-19 salgınında yapılan klinik bir çalışmada favipiravir kullanılmış ve etkisi lopinovir/ritonavir kombinasyon tedavisi ile karşılaştırılmıştır. Favipiravirin lopinovir/ritonavir kombinasyon tedavisine göre daha hızlı viral klirens ve göğüs görüntülemeye daha yüksek iyileşme oranları sağladığı belirlenmiştir (Yanai, 2020). Diğer yandan, yakın zamanda çok merkezli olarak yürütülen randomize kontrollü bir çalışmada, COVID-19 hastalarında favipiravir tedavisinin şiddetli COVID-19'a ilerlemede veya viral yayılmanın durdurulmasında etkinliğinin olmadığı sonucuna varılmıştır (Golan ve ark., 2023).

2.1.4. Favipiravir İçin Tedavi Protokolleri

Favipiravir ilk olarak influenza virüsüne karşı geliştirilen bir ilaç olduğundan doz protokolleri de genelde influenza için geliştirilmiştir (Joshi ve ark., 2021). Bütün tedavi protokollerinde favipiravir tedavisinin başlangıcında, ilacın etkili kan konsantrasyonuna hızlıca ulaşılabilmesi için yükleme dozu önerilmektedir (Łagocka ve ark., 2021). İnfluenza için Japonya'da onaylanan favipiravir dozu 1. gün günde iki kez 1600 mg'lık yükleme dozu ve sonraki dört gün günde 2 kez 600 mg şeklindedir (Joshi ve ark., 2021).

Ebola virüsü hastalığı salgını sırasında orta ile yüksek viral yükü olan hastalarda influenza tedavisine göre daha yüksek favipiravir dozları kullanılmıştır. Birinci gün günde 6000 mg yükleme dozu, daha sonra dokuzuncu güne kadar 2400 mg/gün'lük idame dozunun hayatta kalma oranını artırdığı ortaya konmuştur (Sissoko ve ark., 2016). Diğer yandan Ebola hastaları üzerinde yapılan başka bir çalışmada influenza için önerilen tedavi rejimi uygulandı (1. gün günde 2 kez 1600 mg, 2-5 gün arası günde 2 kez 600 mg). Çalışmanın sonuçlarına göre, favipiravir tedavisinin hayatta kalma oranını ve viral yükü anlamlı derecede azalttığı belirtilmiştir (Bai ve ark., 2016). Ebola virüsle enfekte olan hastalarda gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise favipiravirin 6000 mg'lık yükleme dozu ve sonraki 9 gün 2400 mg/gün'lük idame dozunda kullanılmasına rağmen plazma konsantrasyonlarının zamanla azaldığı ortaya konmuştur. Bu durumun, aldehit oksidazın,

favipiravir metabolizması sürecinde inhibisyona uğramasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ek olarak aldehit oksidazın genetik polimorfizm göstermesine de dikkat çekilmiştir (Nguyen ve ark., 2017).

COVID-19 için kabul gören doz rejimlerinden biri, birinci günde günde 2 kez 1800 mg yükleme dozu ve ardından 14 gün boyunca günde 2 kez 800 mg idame dozunu içermektedir (Joshi ve ark., 2021). COVID-19 tedavi protokollerinin bir bölümü de ilk gün günde 2 kez 1600 mg'lık yükleme dozu ve ardından 7-14 gün arasında değişen, günde 2 kez 600 mg'lık idame dozunu içermektedir (Deng ve ark., 2022).

2.1.5. Favipiravirin Karaciğer Üzerindeki Etkileri

Karaciğer, besin homeostazisi, glukoz regülasyonu, kolesterol sentezi ve pıhtılaşma faktörlerinin sentezi gibi birçok önemli fizyolojik fonksiyonda rol oynar (Bischoff ve ark., 2018). Diğer yandan karaciğer, ilaçların ve çevresel kimyasalların metabolizmasının ve detoksifikasyonunun yoğunlukla gerçekleştiği yer olması sebebiyle kimyasal hasarlara maruz kalmaktadır (Pannala ve ark., 2020). Karaciğerin onarım ve yenilenme kapasitesinin yüksek olması onu bu tür saldırılara karşı dirençli kılmaktadır. Ancak, yenilenme yeteneği yeterli değilse veya karaciğerdeki hasar çok ciddiye bu saldırılar karaciğer hasarı ve karaciğer yetmezliği ile sonuçlanabilir (Bischoff ve ark., 2018).

Karaciğer sağlığını değerlendirmek, varsa hasarı veya yetmezliği teşhis etmek ve izlemek için çeşitli biyobelirteçler kullanılmaktadır (Pannala ve ark., 2020). Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) hepatosellüler hasarla ilişkili biyobelirteçlerdir (Malkoc ve ark., 2012). AST, hem sitozolik hem de mitokondri içerisinde bulunur. Yükselmesi karaciğer ve karaciğer dışı kaynaklara bağlı olabilir. ALT ise özellikle karaciğerde yüksek miktarlarda bulunan sitozolik bir enzimdir. Bu transaminazların dolaşıma salınması, hücre hasarını ya da hücre ölümünü gösterir (Almutairi ve ark., 2023). LDH, normalde aktif organların çoğunda küçük miktarlarda bulunur. LDH enziminin yüksek seviyeleri, karaciğerden, kas bozukluklarından ve hatta kanserler gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir (Chaudhary ve Chauhan, 2015). Karaciğer hasarını değerlendirme kullanılan diğer biyobelirteçler arasında alkalın fosfataz, total bilirubin, gama-glutamil transferaz, total serum proteini ve protrombin zamanı yer alır (Pannala ve ark., 2020).

Favipiravirin, hepatotoksik olarak bilinen pyrazinamide yapısal benzerliği nedeniyle karaciğer hasarına neden olabileceği düşünülmüştür (Almutairi ve ark., 2023). Literatürde karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda yüksek dozda favipiravir kullanıldığında ciddi akut karaciğer hasarı meydana gelebileceği belirtilmiş, tedavi sırasında da karaciğer fonksiyon testleri ile takip önerilmiştir (Yamazaki ve ark., 2021).

Köpekler, sıçanlar ve maymunları içeren tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında oral favipiravir uygulamasının ALT, AST, alkalın fosfataz ve total bilirubin düzeylerinde ve hepatositlerde vakuolizasyonun artmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Łagocka ve ark., 2021).

Favipiravirin karaciğer üzerindeki etkisini değerlendiren deneysel çalışmalar yayınlanmıştır. Sprague-Dawley erkek sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada favipiravirin karaciğer ve böbrek üzerindeki etkileri araştırıldı. Doğan ve arkadaşları 20 ve 100 mg/kg dozlarda 14 gün boyunca oral uyguladıkları favipiravirin karaciğer üzerine etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelediler. Favipiravirin doku oksidan düzeylerini artırdığını, GSH ve CAT düzeylerinde azalmaya neden olduğunu gözlemlediler. SOD aktivitelerinde ise anlamlı bir değişiklik saptamadılar. Favipiravirin, karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde ven santrallerinde hiperemi, çift nükleuslu hepatositler, karaciğerde perisantral bölgedeki hepatositlerde dejenerasyon ve nekrotik değişikliklere neden olduğunu raporladılar (Doğan ve ark., 2023).

Başka bir deneysel çalışma, sıçanlara 5 ve 10 gün boyunca 200 mg/kg dozunda uygulanan favipiravirin doku MDA seviyelerinin arttığını antioksidanları azalttığını, serum AST, ALT, üre, kreatinin ve C-reaktif protein konsantrasyonlarında artışa neden olduğunu ortaya koydu. Ayrıca, araştırmacılar favipiravir tedavisinin doku düzeyinde histolojik yapıda bozulmalara yol açtığını saptadılar (Kara ve ark., 2022).

COVID-19 salgını ile beraber antiviral bir ajan olarak kullanıma giren favipiravirin etkisi ve toksisitesine dair çok sayıda çalışma gerçekleştirildi. Yüksek karaciğer fonksiyon testleri ve/veya karaciğer hasarı, favipiravirin klinik çalışmalarda sıklıkla gözlemlenen kritik yan etkileri olarak ortaya çıktı (Kara ve ark., 2022).

Hung ve arkadaşları tarafından COVID-19 hastalarında kullanılan favipiravirin etkinlik ve güvenliğine dair 157 çalışmanın incelendiği bir metaanaliz yayınlandı. Çalışmanın sonuçlarına göre favipiravir tedavisine bağlı en sık görülen yan etki hiperürisemi olmuş, ALT seviyelerinde anlamlı yükselme görülürken, AST düzeylerindeki yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır (Hung ve ark., 2022).

Yakın zamanda COVID-19 hastalarında, favipiravir kullanımının karaciğer üzerinde toksik etkilerine dair bir çalışma yapıldı. Çalışma 362 hastanın dahil olduğu retrospektif tek merkezli kohort çalışmasıydı. Hastaları favipiravir tedavisi alan ve almayan olarak 2 gruba ayırdılar. Tedaviden önce ve sonra olmak üzere hastaların kan örneklerinden elde edilen AST, ALT, alkalın fosfataz, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeylerini incelediler. Favipiravir tedavisi alan ve standart bakım yapılan hastaların biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırıldığı çalışmada tedavi alan grupta karaciğer fonksiyon testlerinde anlamlı seviyede yükselme olduğu belirlenmiştir (Almutairi ve ark., 2023).

Doi ve arkadaşları ise COVID-19 tanısı ile hastanede yatan 82 hasta üzerinde prospektif çok merkezli randomize kontrollü klinik bir çalışma gerçekleştirdiler. Bu çalışmada hastalara ilk gün günde 2 kez 1800 mg, sonraki günlerde günde 2 kez 800 mg olacak şekilde toplamda 10 gün boyunca favipiravir tedavisi uygulanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre hastalarda toplamda 144 yan etki görülmüş olup en sık görülen yan etki hiperürisemi (%84.1) olmuştur. Hiperüriseminin geçici olduğu tedavinin bitiminden 5 gün sonra çoğu vakada düzeldiği belirtilmiştir. Diğer en sık görülen yan etkiler serum trigliserid yüksekliği (%11.0) ve serum ALT (%8.5) yüksekliği olarak sıralanmıştır (Doi ve ark., 2020).

2.1.6. Favipiravirin Diğer Organlar Üzerindeki Etkisi

Yapılan prelinik çalışmalar favipiravir tedavisinin çeşitli sistemler üzerindeki toksik etkilerini ortaya koymuştur. Hayvanlarda gerçekleştirilen çoklu doz toksisite çalışmaları favipiravirin eritrosit üretiminde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Literatürde favipiravir ile uzun süreli tedavinin hayvanlarda, testiste histopatolojik değişikliklere ve sperm sayısında azalmaya neden olduğu belirtilmiş, embriyonik ölüm ve teratojenite ile de ilişkilendirilmiştir. Favipiravirin gebe ve emzirenlerde kullanımı da önerilmemektedir. Bilir ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği deneysel bir çalışma sonucunda favipiravirin

kemik metabolizmasını bozduğu ve gelişme geriliğine neden olduğu sonucuna varmışlardır (Bilir ve ark., 2022). Yine hayvan çalışmalarında uzun süreli favipiravir tedavisinin kas anormalliklerine ve ölüme neden olduğu belirtilmiştir (Łagocka ve ark., 2021).

Kara ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile favipiravirin rat böbreklerinde oksidatif hasara yol açtığını ve histopatolojik değerlendirmede tübüler nekroz, kollajen birikimi, fırça kenar kaybı ve tübüler dilatasyon saptadıklarını raporlamışlardır (Kara ve ark., 2022).

Favipiravirin deneysel olarak akciğer dokusu üzerinde etkisi araştırılmış ve favipiravirin akciğer dokusunda oksidatif stres parametrelerini, apoptotik belirteçlerin ekspresyonunu ve proinflamatuvar belirteçleri artırdığı sonucuna varılmıştır (Erbaş ve ark., 2023).

Rat kardiyomiyositleri ve insan deri fibroblastları kullanılarak hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada da favipiravirin kardiyomiyoblastik ve cilt fibroblastik hücre hattını kullanarak oksidatif hasara, sitotoksositeye ve genotoksositeye neden olduğu saptanmıştır (Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022).

Her geçen gün artan sayıda klinik çalışma favipiravir tedavisine bağlanan istenmeyen ve toksik etkileri içeren çalışmalar yayınlanmaktadır. Favipiravir tedavisi alan hastalarda en sık görülen yan etki hiperürisemi olarak tespit edilmiştir. Hiperüriseminin geçici olduğu, tedavi kesildikten sonra ürik asit seviyelerinin normale döndüğü gözlenmiştir. Hiperüriseminin oluşum nedeni favipiravirin M1 metabolitinin ürik asitin atılımını azaltmasına bağlanmıştır (Madelain ve ark., 2016).

Favipiravirin insanlarda sık görülen toksik etkileri arasında ishal, nefrotoksosite, serum ürik asit ve transaminaz düzeylerinde artış, beyaz kan hücresi sayısında ve nötrofil düzeyinde azalma, bulantı, kusma, karın ağrısı, deri döküntüsü, kaşıntı, deliryum, halüsinasyonlar ve konvülsiyonlar yer almaktadır (Bilici ve ark., 2023).

Literatürde favipiravirin kardiyotoksik olduğu belirtilmiş, hastalarda QT uzaması, göğüs ağrısı ve sinus bradikardisi gibi kardiyak yan etkilerin görüldüğü belirtilmiştir (Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022).

Favipiravir kullanımı sonrası anjioödem geliştiğine dair vaka raporları da mevcuttur (Islamoglu ve ark., 2022).

2.2. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve Oksidatif Stres

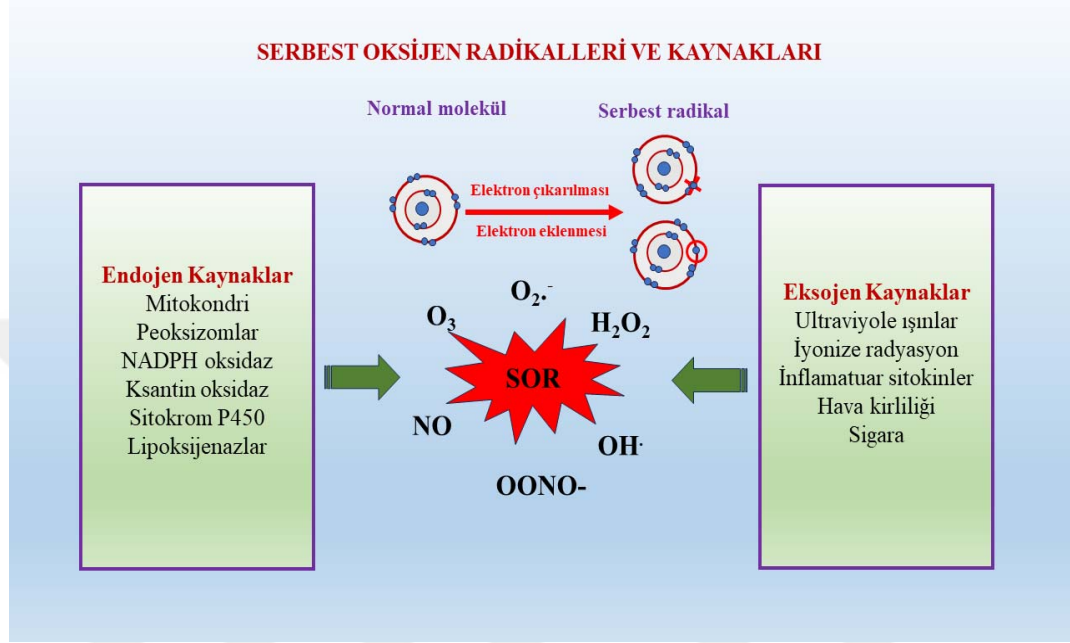
Serbest radikaller, canlı sistemlerdeki normal fizyolojik metabolizmanın sonucu oluşan oldukça reaktif ve kısa ömürlü, bağımsız olarak var olma kapasitesine sahip organik ve inorganik moleküllerdir (Pisoschi ve Pop, 2015; Zaric ve ark., 2022).

Diğer yandan oluşan bu radikaller antioksidan savunma sistemleri tarafından nötralize edilerek redox dengesinin korunması sağlanmaktadır (Pizzino ve ark., 2017). Herhangi bir nedenle serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanların lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır (Zaric ve ark., 2022). Oksidatif stres, artan serbest radikal oluşumunun ve aynı zamanda koruyucu antioksidan savunma sisteminin azalmış aktivitesinin bir yansımasıdır (Pisoschi ve Pop, 2015).

2.2.1. SOR Kaynakları

Organizmada SOR hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından üretilebilir. SOR oluşumu ve kaynaklarına dair örnekler Şekil 2.2’de sunulmuştur (Aslankoç ve ark., 2019; Karabulut ve Gülay, 2016b; Valko ve ark., 2007). SOR, en çok aerobik solunumun bir yan ürünü olarak mitokondrilerde üretilmektedir (Li ve ark., 2021). Mitokondride moleküler oksijenin suya indirgenmesi sürecinde, oksijen miktarının yaklaşık %1-2’i SOR’a dönüşür (Aslankoç ve ark., 2019). Mitokondride üretilen SOR’un önemli bir bölümü solunum zinciri kompleksleri I ve III ile ve çeşitli enzimlerle ilişkilidir. Entegre bir iç membran poliprotein kompleksi olan nikotiamid adenin dinükleotit (NADH)-ubikinon oksidoredüktaz, mitokondri kaynaklı SOR’un başlıca kaynağı olarak bilinmektedir (kompleks I). Diğer bir mitokondriyal SOR kaynağında ise sitokrom c ile oksidaz koenzim Q kompleksi rol almaktadır (kompleks III). Peroksizomlar ve endoplazmik retikulum dahil olmak üzere çok sayıda hücresel organel tarafından da SOR üretimi gerçekleştirilmektedir (Li ve ark., 2021). Ayrıca, hipoksi, mikrobiyal enfeksiyonlara maruz kalma, endoplazmik retikulum stresi, yoğun fiziksel aktivite, alkol, sigara dumanı, radyasyon, pestisitler, lipoksijenaz, siklooksijenaz, sitokrom P450 enzimi, miyeloperoksidaz (MPO) ve redoks işleminde yer alan demir, bakır gibi metal iyonları

gibi pek çok endojen ve eksojen neden insan vücudu için SOR kaynağı olarak sayılabilir (Jie ve ark., 2022; Pisoschi ve Pop, 2015).



Şekil 2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Kaynakları

2.2.2. SOR Çeşitleri

SOR yörüngesinde en az bir eşleşmemiş elektron içeren radikallerdir ya da biyomolekülleri oksitleyebilen radikal olmayan bileşiklerdir. Bu nedenle bu ara maddelere oksidanlar veya prooksidanlar da denir (Gulcin, 2020). Bu eşleşmemiş elektron ya da elektronlar genellikle serbest radikale önemli derecede reaktivite kazandırır (Valko ve ark., 2007). Serbest radikaller çok adımlı zincir reaksiyonlarını başlatabilir. Her reaksiyonda hedef molekül bir elektron kaybederek ve bir sonraki aşamaya katılan yeni bir serbest radikal haline gelir (Zaric ve ark., 2022).

SOR, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen (1O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) gibi hem radikal hem de radikal olmayan oksijenli moleküller tarafından temsil edilir (Pisoschi ve Pop, 2015). İlâveten reaktif nitrojen, demir, bakır ve kükürt türlerine de rastlanmaktadır. Oksijen radikalleri biyolojik sistemlerde hem fotosentez hem de aerobik solunumun oksijen kullanması nedeniyle en yaygın olarak oluşan serbest radikal çeşididir. Bu nedenle serbest radikallere SOR adı da verilmektedir

(Zaric ve ark., 2022). Serbest oksijen radikalleri ve sınıflandırılmasına dair örnekler Tablo 2.1’de sunulmuştur (Gulcin, 2020).

Tablo 2.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Sınıflandırılması

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Süperoksit anyonu	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil radikali	$HO\cdot$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil radikali	$HOO\cdot$	Ozon	O_3
Lipit peroksil radikali	$LOO\cdot$	Lipit hidroperoksit	$LOOH$
Peroksil radikali	$ROO\cdot$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Lipit alkoksil radikali	$LO\cdot$	Peroksinitrit	$ONOO^-$
Nitrik oksit radikali	$NO\cdot$	Dinitrojen trioksit	N_2O_3
Thil radikali	$RS\cdot$	Peroksinitröz asit	$ONOOH$
Protein radikali	$P\cdot$	Nitröz oksit	N_2O

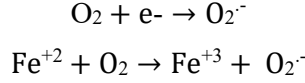
Süperoksit radikali

Oksijenden türetilen radikaller, canlı sistemlerde üretilen radikal türlerin en önemli sınıfını temsil eder. Moleküler oksijen (O_2) kendisi de bir radikaldir. Moleküler oksijene bir elektronun eklenmesi $O_2^{\cdot-}$ radikalini oluşturur (Valko ve ark., 2007). $O_2^{\cdot-}$, tüm aerobik organizmalarda oluşur (Andrés ve ark., 2023). Metabolik süreçler yoluyla veya çeşitli eksojen nedenlerle oksijenin aktivasyonunu takiben ortaya çıkan süperoksit anyonu, birincil SOR olarak kabul edilir. Doğrudan veya daha sık olarak enzim ya da metaller aracılığıyla ikincil SOR oluşturmak için diğer moleküllerle etkileşime girebilir (Valko ve ark., 2007).

$O_2^{\cdot-}$ toksik bir radikal, bir sinyal ajanı ya da kendiliğinden ayrılan zararsız bir ara madde olarak görev yapabilir (Andrés ve ark., 2023). $O_2^{\cdot-}$, hücredeki indirgeyici maddelerle veya biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girme kapasitesine sahiptir. Örneğin; SOD ile girdiği reaksiyon sonucunda H_2O_2 üretilir. Nitrik oksit (NO) ile girdiği reaksiyon ise peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşumu ile sonuçlanır (Jie ve ark., 2022).

$O_2^{\cdot-}$ ’nin yükü nedeniyle membranlardan geçebilme kapasitesi zayıftır. Bu nedenle, üretildiği fizyolojik bölgede büyük ölçüde reaksiyona girer. Milisaniyelik bir yarı ömre

sahip olan O_2^- nispeten kararsız bir moleküldür. O_2^- , oldukça güçlü bir oksidan olup hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak işlev görebilir. O_2^- indirgenerek H_2O_2 'ye, indirgeyici olarak davranarak da moleküler oksijene dönüşebilir (Andrés ve ark., 2023).



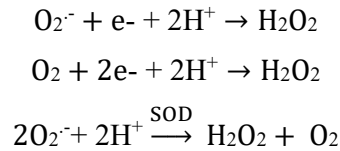
Hidrojen peroksit

H_2O_2 oksijen-oksijen tekli bağına sahip en basit peroksittir. Kararsız bir molekül olan H_2O_2 ışık varlığında yavaşça ayrışır. O_2 'nin iki elektron indirgenmesiyle oluşur. H_2O_2 serbest radikal değildir, ancak oksitleyici bir maddedir. Ayrıca, O_2^- enzim aracılığıyla (Örn; SOD) ya da kendiliğinden H_2O_2 'ye dönüştürülür (Gulcin, 2020).

O_2^- ile kıyaslandığında H_2O_2 daha düşük reaktivite sergiler. Ancak sistein kalıntılarında bulunan tiyol gruplarına yüksek afinite gösterir. H_2O_2 'yi kullanan veya parçalayan enzimler peroksidazlardır. H_2O_2 yıkımı heme bağımlı CAT, selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx) ve tiyol içeren peroksiredoksin tarafından katalize edilir (Gulcin, 2020; Lennicke ve Cochemé, 2021).

H_2O_2 , membranlar arasında pasif difüzyonla veya akuaporinler gibi kanallar aracılığıyla kolaylaştırılmış difüzyonla hareket edebilip etkilerini oluşturduğu bölgeden başka bir yerde gösterebilir (Lennicke ve Cochemé, 2021).

H_2O_2 , vücuttaki her hücre tarafından üretilir ve membran sinyal iletimi, gen ekspresyonu, hücre farklılaşması, insülin metabolizması, hücre şeklinin belirlenmesi ve büyüme faktörünün neden olduğu sinyalleşme basamakları gibi çeşitli süreçlerde önemli bir fizyolojik role sahiptir (Pravda, 2020).



Hidroksil radikali

$OH^\cdot$, hidroksit iyonlarının nötr formudur. Bu radikalin tahmini yarı ömrü yaklaşık 10^{-9} saniye olup en reaktif tür olarak bilinmektedirler. Kolayca hidroksil gruplarına

dönüşürler. Bu radikalın yüksek reaktivitesi ve kısa yarı ömrü nedeniyle, üretildiği bölgenin yakınlarında reaksiyona girer (Gulcin, 2020).

Hücresel redoks durumunun sürdürülmesinde demir (bazen de bakır vb.) düzeyinin fizyolojik düzeylerde tutulması önemlidir. Hücrel stres durumunda üretilen aşırı O_2^- , demir içeren moleküllerden "serbest demir" açığa çıkarır. Açığa çıkan demir, yüksek derecede reaktif $OH^\cdot$ 'nin üretildiği Fenton reaksiyonuna katılabilir. O_2^- radikalının katıldığı Haber-Weiss reaksiyonu da $OH^\cdot$ 'nin üretimiyle sonuçlanır. H_2O_2 'nin iyonlaştırıcı radyasyona maruziyeti sonucunda da $OH^\cdot$ ve hidrojen atomları oluşur (Valko ve ark., 2006).

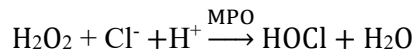


Singlet oksijen

1O_2 , aktive edilmiş bir türden oksijen molekülüne kimyasal ya da fotokimyasal yollar vasıtasıyla enerji aktarımıyla üretilir. Diğer üretildiği yerler, H_2O_2 'nin katıldığı MPO'nun katalize ettiği reaksiyonlar, peroksil radikallerinin ayrışması sürecinde, enflamasyon sürecinde fagositozda endojen enzimatik reaksiyonlar şeklinde sayılabilir. 1O_2 , elektrofilik özelliklere sahip olduğundan bileşiklerin π -bağlarına saldırarak hidroperoksit veya endoperoksit oluşumunu sağlayabilir. Proteinlerin bileşenleri olan amino asitler ile reaksiyona girmeye yatkındır. Deoksiribonükleik asit (DNA) bazlarının guanin kısmıyla etkileşerek mutajenik etki gösterebilir. Ayrıca hücre zarlarındaki fosfolipitler ile reaksiyona girerek yağ asitlerinin oksidatif modifikasyonuna neden olabilir (Murotomi ve ark., 2023).

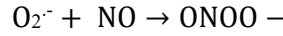
Hipokloröz asit

Fagositik hücrelerde bulunan MPO, H_2O_2 'yi kullanarak klorürün hipokloröz aside iki elektron oksidasyonunu katalize eder. Bu bileşik, güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve aynı zamanda da oksitleyici bir maddedir (Tolmacheva ve Nevinsky, 2022).



Nitrik oksit

NO, L-arginin'in nitrik oksit sentazlar tarafından sitruline enzimatik oksidasyonu ile oluşur. NO molekülleri oldukça uzun ömürlüdür ve biyolojik ortamda serbestçe yayılabilirler. NO, oldukça toksik olan ONOO⁻ oluşturmak için O₂⁻ ile reaksiyona girebilir (Tolmacheva ve Nevinsky, 2022).



2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Canlı Organizmalar Üzerindeki Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin faydalı etkileri

SOR fizyolojik koşullarda vücutta sınırlı miktarlarda üretilmektedir. Oluşan bu radikaller düşük veya orta konsantrasyonlarda muhafaza edildiğinde organizma için birçok faydalı görev üstlenirler (Pizzino ve ark., 2017). Hücre homeostazisinin sürdürülmesi, sinyal iletimi, gen ekspresyonu, reseptör aktivasyonu, patojen tanınması, hücre canlılığının sağlanması, hücre çoğalması, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi faaliyetler SOR'un faydalı etkileri arasındadır (Pisoschi ve ark., 2021). Fagositler, patojen mikroorganizmaların yok edilmesi sürecinde kullanmak amacıyla serbest radikalleri sentezler ve depolar. Ayrıca, serbest radikaller fibroblastlar, endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, kalp miyositleri ve tiroid dokusu gibi çeşitli hücre tiplerinde hücre içi sinyalleşme basamaklarında önemli bir düzenleyici olarak görev alırlar (Pizzino ve ark., 2017). Bunların dışında SOR genleri aktive edebilir ve endotelden türetilen gevşetici faktörün sentezini, salınımını veya inaktivasyonunu etkileyerek apoptozu indükleyebilir (Mironczuk-Chodakowska ve ark., 2018).

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri

Patolojik koşullar altında aşırı miktarlarda üretilen SOR hücre homeostazını bozar (Li ve ark., 2021). SOR, başta lipid, protein ve nükleik asitler olmak üzere hücresel pek çok substratı hedef alabilir ve onlarla etkileşime girebilir. Bu durum kademeli olarak oksidatif hasara, hücre fonksiyonlarının bozulmasına sonunda da hücre ölümüne neden olabilmektedir (Gulcin, 2020).

Serbest oksijen radikallerinin membran lipidleri üzerine etkileri

Lipitler, hücre zarı, golgi aygıtı, endoplazmik retikulum gibi hücresel birimlerin temel bileşenleridir. Lipit çift katmanlarından oluşan hücre zarları, hücreyi çevreleyerek yapısal bütünlük sağlar. Bir zarın akışkanlığı, onun fonksiyonlarını önemli ölçüde etkiler. Doymamış yağ asitlerini içeren lipitlerde çift bağların varlığı membran akışkanlığını arttırır. Diğer yandan çift bağ sayısındaki artış membran lipitlerini okside olmaya da duyarlı kılar (Demirci-Cekic ve ark., 2022). Serbest oksijen radikallerinden olan OH[·], LPO reaksiyonunu başlatan bir radikaldir (Karabulut ve Gülay, 2016b). LPO sürecinde, SOR'un lipitlerdeki karbon-karbon çift bağlarına saldırması söz konusudur. (Aguilar Diaz De Leon ve Borges, 2020). LPO, karbon ile hidrojen arasında var olan bağdan hidrojenin koparılması ile başlar. Yağ asidi yapısından ayrılan hidrojen ile moleküler yapı konjuge dien olarak adlandırılan yeni bir forma dönüşür. Konjuge dienler de oksijenle birleşerek lipit peroksil radikallerini oluşturmuş olur. Bu peroksil radikalleri de diğer yağ asitlerine saldırarak zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarını başlatır (Özcan ve ark., 2015). LPO, yukarıda anlatılan enzimatik olmayan yolun dışında lipoksijenazlar, siklooksijenazlar ve sitokrom P450 gibi enzim sistemleri tarafından da gerçekleştirilebilmektedir (Demirci-Cekic ve ark., 2022). LPO, membran akışkanlığını bozar, membran potansiyelinde azalmaya ve iyonlara karşı geçirgenliğinde değişikliklere neden olur. Neticede lipidlere yapılan SOR saldırısı, membranların yırtılıp organel içeriğinin sitoplazmaya sızmasına, hücre hasarına ya da hücre ölümüne neden olabilmektedir (Juan ve ark., 2021; Özcan ve ark., 2015).

Oksijenden türetilen serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleriyle ilişkisi, LPO sırasında çok sayıda aşırı reaktif olan elektrofilik aldehitlerin üretimiyle sonuçlanır (Juan ve ark., 2021). LPO'nun ana aldehit ürünleri, 3-karbonlu bir dialdehit türü olan MDA ve 4-hidroksi-2-nonenal'dır (Su ve ark., 2019).

MDA, mutajenik ve toksik etkilere sahip olduğu bilinen çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun başlıca ve en çok çalışılan ürünüdür (Cordiano ve ark., 2023). Bu aldehit toksik bir süreç sonucu oluşmakla beraber kendisi de toksik bir moleküldür. MDA'nın protein ve DNA gibi biyomoleküllerle reaksiyona girme yeteneği yüksektir (Aslankoç ve ark., 2019).

Biyolojik numunelerdeki MDA'nın ana kaynağı, çoklu doymamış yağ asitlerinin iki veya daha fazla metilenle kesintiye uğramış çift bağ ile peroksidasyonudur (Del Rio ve ark., 2005). Ayrıca MDA, tromboksan A₂'nin biyosentezi sırasında da bir yan ürün olarak oluşabilmektedir (Cordiano ve ark., 2023).

MDA oluşuktan sonra iki ayrı yola gidebilir. Çeşitli enzimler tarafından, sıklıkla da mitokondriyal düzeyde aldehit dehidrojenazlar tarafından metabolize edilebilir. İkinci seçenekte de proteinler ve nükleik asitlerle kovalent düzeyde etkileşerek DNA-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve çeşitli biyomoleküllerde hasar oluşturabilecek farklı toksik maddelerinin oluşumuna yol açabilir (Cordiano ve ark., 2023; Gulcin, 2020). MDA'nın bu potansiyel genotoksik aktiviteleri, mutasyonlar ve ardından da kanserle sonuçlanabilmektedir (Gulcin, 2020).

Serbest oksijen radikallerinin proteinler üzerine etkileri

Proteinler SOR'un ana hedefleridir çünkü oksidasyona karşı hassas olan belirli amino asit kalıntılarını ve tiyol gruplarını içerirler (Demirci-Cekic ve ark., 2022). SOR'un proteinleri etkileme derecesini proteini oluşturan amino asit içerikleri belirler. Yapısında triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri bulunduran proteinlerin SOR ile reaksiyona girme ihtimali daha yüksektir (Karabulut ve Gülay, 2016d). SOR'un proteinler üzerindeki etkileri çeşitlidir. Amino asit kalıntılarının oksidasyonu, peptid bağlarının bölünmesi ve proteinler arasında agregasyon bu etkiler arasında sayılabilir (Juan ve ark., 2021). Başta OH· olmak üzere reaktif türlerin saldırısı sonucu proteinlerin okside olması ile yan zincirler (prolin, arginin, lizin ve treonin) üzerinde karbonil grupları oluşur (Özcan ve ark., 2015). Oksitlenmiş proteinlerin, metabolik ağda difüzyonlarını veya diğer proteinlerle etkileşimlerini önlemek için proteazom tarafından hidrolize edilmesi veya işlenmesi gerekir (Juan ve ark., 2021). Oksitlenmiş proteinler ya hızlı bir şekilde uzaklaştır ya da kademeli olarak dokuda birikirler (Karabulut ve Gülay, 2016b). SOR kaynaklı protein oksidasyonu sonucunda protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler meydana gelir (Karabulut ve Gülay, 2016b). Oluşan oksidatif değişiklikler, proteinlerde ve enzimlerde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler ile sonuçlanır. Protein karbonilasyonu ve tirozin nitrasyonu geridönüşümsüz oksidatif modifikasyonlar arasında yer alırken, sistein

modifikasyonların geridönüşümlü olduğu kabul edilir ve bütün bu değişiklikler pek çok hastalığın patogenezinin de sorumlu tutulmaktadır (Özcan ve ark., 2015).

Serbest oksijen radikallerinin DNA üzerine etkileri

DNA hasarı, genetik bilginin yorumlanması ve iletilmesini sekteye uğratabilen DNA'daki fizikokimyasal değişiklikleri ifade etmektedir. DNA düzeyinde SOR, azotlu bazlar ve deoksiriboz ile reaksiyona girerek önemli oksidatif reaksiyonlara neden olur. DNA bazlarındaki oksidatif hasarın mekanizmaları, karbon merkezli radikallerin oluşumuyla birlikte SOR'un ekleme ve çıkarma reaksiyonlarını kapsar. Bu durum mutasyonlara, karsinogeneze, apoptoz, nekroz ve kalıtsal hastalıklara yol açabilir (Juan ve ark., 2021). SOR grubu içerisinde özellikle OH[·], DNA'daki pürin ve pürimidin bazlarındaki çift bağlara hidrojen atomu ekleyerek veya 2-deoksiribozun karbon-hidrojen bağlarından ve timin yapısındaki metil gruplarından hidrojen atomu çıkararak DNA molekülü ile etkileşime girer. Meydana gelen timin peroksil radikalleri neticede indirgenmiş olur ve çeşitli oksidasyon ürünlerine dönüşürler (Özcan ve ark., 2015).

Diğer üç DNA bazına kıyasla guanin en kolay oksitlenen bazdır. DNA'nın SOR saldırısına maruziyeti, başta 8-hidroksiguanin olmak üzere çok sayıda oksitlenmiş baz eklentisinin oluşmasına yol açabilir. Guaninin oksidasyonunun kolaylığı nedeniyle 8-hidroksiguanin, DNA oksidasyonunun biyobelirteci olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Lovell ve Markesbery, 2007). Ayrıca, bakır iyonları özellikle guanin bazlarına yüksek seçicilikle bağlanır ve H₂O₂ ile de ilişki kurarak DNA hasarının oluşumunu sağlarlar (Özcan ve ark., 2015). SOR, DNA bazlarını oksitlemenin yanı sıra, DNA şeker-fosfat omurgasına saldırarak DNA iplikçiklerinin kırılmasına da neden olabilmektedir (Juan ve ark., 2021).

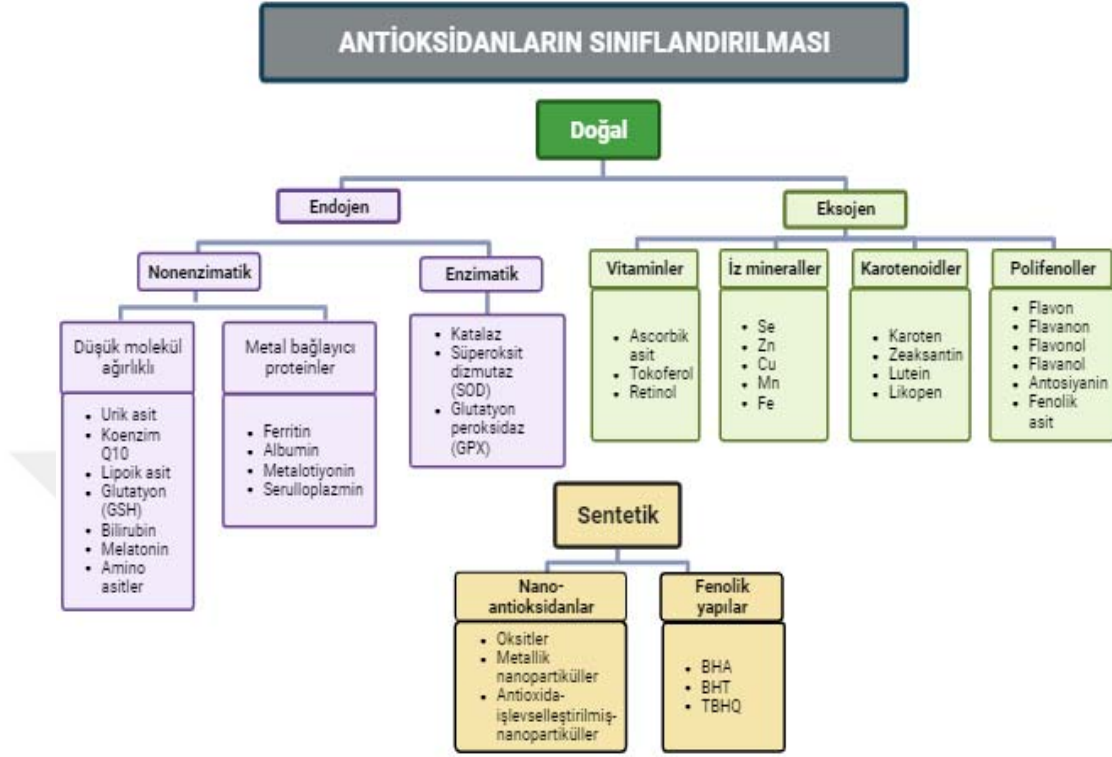
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücrelerin, dokuların ve hücre dışı matriksin, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı bu radikallerin ve türevlerinin ortadan kaldırılmasını sağlayan çoklu savunma mekanizmaları mevcuttur (Mironczuk-Chodakowska ve ark., 2018). İnsan vücudu serbest radikallerin ve oksidatif stresin etkilerine karşı koymak için enzimatik (örn. SOD, CAT ve GPx gibi) ve nonenzimatik (örn. lipoik asit, glutatyon, L-arginin ve koenzim Q10 gibi)

antioksidan moleküllere dayanan ve hepsi endojen antioksidanlar olan çeşitli stratejiler uygulamaya koymuştur. Bunların yanı sıra, çoğunlukla diyet veya besin takviyesi yoluyla alınan hayvansal veya bitkisel kaynaklı ve sentetik olarak da üretilen çeşitli eksojen antioksidan moleküller de mevcuttur (Gómez ve ark., 2021; Pizzino ve ark., 2017). Çeşitli hastalık durumlarında vücuttaki oksidanlar artabileceğinden eksojen kaynaklardan antioksidanların alımı önerilmektedir (Demirci-Cekic ve ark., 2022). Antioksidan sınıflandırılması ve örnekler Şekil 2.3'te sunulmuştur (Gómez ve ark., 2021).

Antioksidanlar çeşitli mekanizmalar kullanarak SOR hasarına karşı koruyucu aktivite gösterirler. Bu mekanizmalar aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- 1- Moleküler oksijenin uzaklaştırılması ve konsantrasyonunun azaltılması.
- 2- SOR'un hasar mekanizmalarına katılan metal iyonlarının ortamdan uzaklaştırılması
- 3- Oluşmuş olan SOR'un ortamdan uzaklaştırılması ya da daha az reaktif moleküllere dönüştürülmesi.
- 4- SOR kaynaklı hasarla sonuçlanan zincirleme reaksiyonların başlamasının önlenmesi.
- 5- Oluşmuş olan SOR hasarının onarıcı mekanizmalar kullanılarak ortadan kaldırılması (Özcan ve ark., 2015).



Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

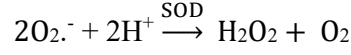
2.3.1. Endojen Enzimatik Antioksidanlar

Serbest radikallere karşı ilk savunma hattında rol oynayan en önemli enzimatik antioksidanlardan biri SOD'dur. İlk savunma hattında yer alan diğer önemli enzimatik antioksidanlar arasında CAT, GPx, glutasyon redüktaz (GR) ve peroksiredoksinler yer almaktadır (Mirończuk-Chodakowska ve ark., 2018).

Süperoksit dismutaz

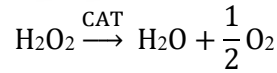
SOD, en etkili hücre içi enzimatik antioksidanlardan biridir. SOD'un, aktif merkezinde farklı metaller bulundurması ve amino asit bileşiminin yanı sıra alt birimlerinin sayısı, kofaktörleri ve diğer özellikleri bakımından farklılık gösteren çeşitli izoformları mevcuttur. İnsanlarda SOD'un üç izoformu tanımlanmıştır: sitozolik Cu, Zn-SOD (zarlar arası boşlukta lokalize olan SOD1), mitokondriyal Mn-SOD (matrikste lokalize olan SOD2), ve hücre dışı SOD (EC-SOD). SOD, aktif bölgedeki geçiş metali iyonunun art arda oksidasyonu ve indirgenmesi yoluyla, oldukça yüksek reaksiyon hızlarıyla $O_2^{\cdot -}$ 'yi

yok eder. SOD katalizörlüğündeki reaksiyonun sonucunda O_2^- yok edilirken daha az reaktif olan H_2O_2 ve moleküler oksijen oluşur (Valko ve ark., 2006).



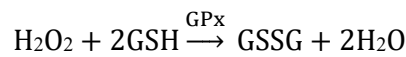
Katalaz

Katalazlar tetramerik hem grubuna sahip enzimlerdir ve çeşitli katabolik olaylarda yer alan oksidazlar tarafından peroksizomlarda üretilen H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda rol oynarlar. CAT enzimi H_2O_2 'yi su (H_2O) ve O_2 'ye dönüştürerek detoksifiye eder. CAT dakikada milyonlarca H_2O_2 molekülünü parçalayabilme kapasitesine sahiptir. Ayrıca CAT'ın peroksidatif reaksiyon yoluyla bazı toksik bileşikler üzerinde de etkili olduğu rapor edilmiştir (Demirci-Cekic ve ark., 2022). CAT enziminin esas olarak bulunduğu yer peroksizomlardır. Mitokondride oluşan O_2^- , ilk olarak Mn-SOD ve GPx enzimleri tarafından nötralize edilir. Oluşan H_2O_2 mitokondriden ayrılarak sitoplazmaya geçer. Bu H_2O_2 'in yok edilmesi işlemi de peroksizomlarda bulunan CAT enzimleri tarafından gerçekleştirilir. (Aslankoç ve ark., 2019).



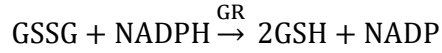
Glutasyon peroksidaz

GPx, elektron donörü olarak indirgenmiş glutasyonu kullanarak H_2O_2 veya organik hidroperoksitlerin suya veya karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eden çoklu izozimlerden oluşan bir ailenin genel adıdır (Margis ve ark., 2008). GPx çoğunlukla mitokondride ve bazen de sitozolde bulunur. İnsanda 8 adet GPx formu tanımlanmıştır. GPx'ler arasında GPx1 en bol bulunan selenoperoksidazdır ve neredeyse tüm hücrelerde bulunur. GPx aktivitesi çoğu zaman selenyuma bağlıdır. Bu nedenle GPx genellikle selenosistein peroksidaz olarak da adlandırılır. Enzim, lipid peroksidasyon sürecini engellemek gibi önemli bir rol oynar ve bu nedenle hücreleri oksidatif stresten korur (Ighodaro ve Akinloye, 2018).



Glutasyon redüktaz

GR, flavin adenin dinükleotid içeren flavoprotein bir enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016a). Hücrelerde NADPH varlığında okside glutasyonun (GSSG) serbest GSH'ye indirgenmesini katalize eder, dolayısıyla oksidatif stresin oluşmasını önler (Jiang ve ark., 2021).



Glutasyon S transferaz

Glutasyon S transferaz enzimi esas olarak tripeptit glutasyonun elektrofilik ksenobiyotik substratlarla reaksiyonunu katalize eder. Ayrıca hormon homeostazisinde hidroksiperoksit ve pestisitler gibi toksik maddelerin toksik olmayan metabolitlere dönüştürülmesinde rol oynar (Demirci-Cekic ve ark., 2022).

2.3.2. Non Enzimatik Antioksidanlar

Glutasyon

Glutasyon, çoğu hücrede yüksek konsantrasyonlarda bulunan sistein, glisin ve glutamik asitten oluşan düşük molekül ağırlıklı bir tripeptittir. Fizyolojik koşullarda pek çok farklı dokularda sentezlenmesine rağmen GSH en yoğun olarak hepatositlerde sentezlenmektedir (Mironczuk-Chodakowska ve ark., 2018). GSH, bazı hidroperoksinler ve GPx tarafından hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar ve böylece hücre savunma sisteminde önemli bir rol oynar (Demirci-Cekic ve ark., 2022; Pizzorno, 2014). GSH, SOR'ları yakalayarak hücreleri oksidatif strese karşı korumada önemli rol oynar. Ayrıca GSH, eksojen antioksidanları indirgenmiş formlarında tutma görevini de yerine getirir (Jiang ve ark., 2021). Glutasyon ayrıca birçok proteinin sülfhidril gruplarını indirgenmiş formda tutan bir tiyol tamponu olarak da bilinir. Glutasyon yalnızca sitozolde üretilir ve aktif olarak mitokondriye pompalanır. GSH singlet oksijenin, hidroksil radikallerinin ve süperoksit radikallerinin doğrudan kimyasal nötralizasyonunu sağlar. Çeşitli antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak görev yapar. Kimyasal toksinlerin Faz I karaciğer metabolizması tarafından üretilen serbest radikallerin nötralizasyonunu sağlar (Pizzorno, 2014).

Glutasyon hücrelerde indirgenmiş (GSH) ve oksitlenmiş (GSSG) olmak üzere 2 formda bulunur. GSH'nin GSSG'ye oranı hücrelerin redoks durumunu belirler. Dinlenme halindeki hücrelerde GSH/GSSG oranı >100 iken, oksidan strese maruz kalan hücrelerde bu oran 1/10'a kadar düşer (Pizzorno, 2014).

Diğer nonenzimatik antioksidanlar

Oksidatif saldırıya karşı ilk savunma hattında rol oynayan enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak seruloplazmin, ferritin, transferrin, metalotiyoneinler ve albumin verilebilir. Bu proteinler, demir ve bakır gibi geçiş metallerini bağlayarak yeni reaktif türlerin oluşumunu engellerler ve bu nedenle metal bağlayan proteinler olarak da adlandırılırlar. Bu proteinlerden bazıları reaktif türlerin gerçek temizleyicileri olarak da görev yapabilir. Bu antioksidan özellikleri, yapılarında çok sayıda sülfidril grubu barındırmalarından kaynaklanmaktadır. Örneğin albumin ve metalotiyoneinlerdeki sisteinin serbest sülfhidril grupları, hidroksil radikallerini doğrudan temizleme kapasitesine sahiptir (Mironczuk-Chodakowska ve ark., 2018).

Melatonin, başlıca pineal bezde sentezlenir ve dolaşıma salınır. Melatonin hem doğrudan hem de dolaylı antioksidan aktivite gösterir. $\text{OH}^\cdot$, $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^\cdot$ ve NO gibi serbest radikallerin farklı formlarını temizler. Ayrıca, bazı enzimatik antioksidanları uyarıcı etki yapar. Melatonin, lipooksijenaz ve nitrik oksit sentaz gibi prooksidatif enzimleri baskılar. Melatonin hücrel membranları oksidatif hasara karşı sağlamlaştırır. Mitokondride elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikal üretilmesini ve elektron kaçaklarını azaltır (Karabulut ve Gülay, 2016a).

Bir atık ürün olarak kabul edilen ürik asit kanın toplam antioksidan kapasitesinin önemli bir yüzdesini karşılar. Ürik asit, $\text{OH}^\cdot$, $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^\cdot$ ve peroksinitrit anyonu gibi radikalleri etkisiz hale getirir ve geçiş metallerini bağlar. Lipit peroksidasyonu engelleyerek koruyucu olarak görev yapabilir (Karabulut ve Gülay, 2016a).

2.3.3. Eksojen Antioksidanlar

Endojen antioksidan savunma sistemleri, canlı organizmalardaki birçok antioksidan mekanizmada önemli bir rol oynayan askorbik asit (C vitamini), E vitamini, karotenoidler ve polifenoller gibi eksojen kökenli indirgeyici bileşikler olmadan eksik kalır. Eksojen

antioksidanlar, mitokondriyal solunum gibi moleküler oksijeni kullanarak normal hücrel metabolizma sırasında üretilen aşırı oksijenden türetilen reaktif türleri söndürme rolünü üstlenir. Oksidasyon lehine bir dengesizlik olarak tanımlanan oksidatif stresi önlemek için eksojen antioksidanlara sürekli bir talep vardır (Bouayed ve Bohn, 2010).

Doğal antioksidanlar olarak fenolik bileşikler, bitki kaynaklı maddeler arasında büyük yapısal çeşitliliğe ve kimyasal bileşimde farklılıklara sahiptir. Fenolik bileşiklerin çoğu insan beslenmesinin ayrılmaz bir parçasıdır ve aynı zamanda tıbbi preparatlar olarak da tüketilmektedir. Fenolik bileşiklerin sağlığı koruyucu etkileri onların antioksidan, antikarsinogenik, antimutajenik, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar gibi aktivitelerine bağlanmaktadır. Doğal eksojen antioksidanların çoğunluğu fenolik bileşiklerdir ve en önemli grupları tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitlerdir (Gulcin, 2020).

Diğer bir eksojen antioksidan olan askorbik asit, O_2^- , $\cdot OH$ ve hidroperoksil radikali gibi çeşitli SOR'ların inaktivasyonunda rol oynayan önemli bir antioksidandır. Serbest radikalleri bağlayıp etkisiz hale getirerek düşük yoğunluklu lipoproteinleri ve diğer membran lipitlerini oksidatif hasardan korur (Tolmacheva ve Nevinsky, 2022).

Diğer bir eksojen antioksidan olan E vitamininin en aktif formu α -tokoferoldur ve ana antioksidan fonksiyonu lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır. Çalışmalar, α -tokoferol ve askorbik asidin döngüsel tipte bir süreçte birlikte çalıştığını göstermektedir. Antioksidan reaksiyon sırasında, α -tokoferol, kararsız bir hidrojenin bir lipit veya lipit peroksil radikaline bağışlanmasıyla α -tokoferol radikaline dönüştürülür. α -tokoferol radikali daha sonra askorbik asit ile orijinal α -tokoferol formuna indirgenebilir (Valko ve ark., 2006).

2.4. Liv-52

Liv 52, Hindistan Hükümeti Sağlık ve Aile Refahı Bakanlığı AYUSH (ayurveda, yoga, unani, siddha, homeopati) Departmanı tarafından ayurvedik ilaç olarak onaylanmış bir üründür (Patwardhan, 2014; Vidyashankar ve ark., 2010). İlk olarak 1955'te The Himalaya Drug Company tarafından piyasaya sürülen Liv-52, Hindistan'da çeşitli kronik karaciğer hastalıklarının tedavisinde hepatotonik olarak kullanılan ayurvedik

kavramlarına göre hazırlanmış bir üründür (Kantharia ve ark., 2023; Mukherjee ve ark., 2017).

Kökeni Hindistana dayanan Ayurveda, eski ama hala aktif olarak yaşayan sağlık geleneklerinden biridir. 400.000'den fazla kayıtlı Ayurveda uygulayıcısıyla Hindistan hükümeti, ayurvedik geleneğin kalitesini, eğitimini ve uygulamasını düzenleyen resmi bir yapıya sahiptir. Ayurveda kelime manası itibarıyla 'yaşam bilimi' olarak tercüme edilmektedir (Patwardhan, 2014). Ayurveda hastayı tek başına değil, bir bütün olarak ele almaktadır. İnsan vücudunun fiziksel, zihinsel ve ruhsal fonksiyonlarını dengeleyerek sağlık hizmetlerine bütünsel bir yaklaşımı benimser. Ayurvedik anlayış ayrıca, sadece hastalıkları iyileştirmek için değil aynı zamanda hastalıkların ortaya çıkmasını önlemek için de kullanılan geleneksel bir Hint tıp sistemidir. Antik çağlardan günümüze ulaşan bu ilaç ve formülasyon kavramı, çevre, yaşam tarzı, kültür ve hastalık anlayışı ve tanımlamalarındaki değişikliklere rağmen hala geçerliliğini korumaktadır (Mukherjee ve ark., 2017).

Ayurvedik sistemde, şifalı bitkiler birçok hastalığın tedavisinde en değerli kaynak görevi görmektedir. Bitki türlerinden elde edilen terapötik ajanlara yönelik artan araştırmalar faydalı etkilerini ortaya koyarak tedavi amaçlı kullanımlarını haklı çıkarmaktadır. Farklı şifalı bitkilerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin, insan sağlığının korunması ve sağlığın iyileştirilmesindeki rolü gün geçtikçe artmaktadır (Mukherjee ve ark., 2017).

2.4.1. Liv-52'nin İçeriği

Liv-52 formülasyonunda 65 mg *Capparis spinosa*, 65 mg *Cichorium intybus*, 33 mg Mandur bhasma, 32 mg *Solanum nigrum*, 32 mg *Terminalia arjuna*, 16 mg *Achillea millefolium*, 16 mg *Cassia occidentalis*, 16 mg *Tamarix gallica* bulunmaktadır (Vidyashankar ve ark., 2012).



Şekil 2.4. Liv-52'nin İçeriği

Capparis spinosa, Akdeniz bölgesine özgü *Capparaceae* familyasına ait, yaygın olarak kullanılan çok yıllık aromatik bir bitkidir. *Cappari spinosa*, alkaloidler, glikozitler, tanenler, fenolik, flavonoidler, triterpenoidler, steroidler, karbonhidratlar, saponinler ve çok çeşitli mineraller ve eser elementler dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif birçok kimyasal grup içermekte ve tıbbi bir bitki olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal, sitotoksik, anti-diyabetik, anti-enflamatuar, hepatoprotektif, antioksidan etki ve diğerleri dahil olmak üzere birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir (Rahnavard ve Razavi, 2017). *Capparis spinosa*'nın çeşitli bölümlerinden elde edilen ekstratlar antioksidan açıdan değerlendirilmiştir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada tert-bütül hidroperoksit ile indüklenen karaciğer hasarında *Capparis spinosa*, yapraklarının MDA düzeylerindeki artışı GSH seviyesi ile SOD ve CAT aktivitelerindeki düşüşü ve histopatolojik hasarı hafiflettiği gözlenmiştir (Kalantari ve ark., 2018).

Geleneksel bir Uygur ilacı olan *Cichorium intybus* L.(hindiba) *asteraceae* familyasından çok yıllık bir bitkidir (Li ve ark., 2014). Kökeni Avrupa olmakla beraber tüm ılıman bölgeler ve yarı kurak bölgelerde de yetişmektedir. *Cichorium intybus* zengin bir besin bileşimine sahiptir ve aynı zamanda zengin bir biyoaktif madde kaynağıdır. Yapısında,

inülin, seskiterpen laktonlar, kafeik asit türevleri, yağlar, proteinler, hidrosikumarinler, flavonoidler, alkaloidler, steroidler, terpenoidler, yağlar, uçucu bileşikler, vitaminler, β -karoten, zeaksantin ve mineraller içermektedir. Uzun bir tıbbi kullanım geçmişine sahip olan *Cichorium intybus* hepatoprotektif, anti-inflamatuar, antioksidan, sedatif, immünolojik, kardiyovasküler, hipolipidemik, antidiyabetik, antikanser, mide-koruyucu, antimikrobiyal etkinlik gibi birçok biyolojik aktivite göstermektedir (Perović ve ark., 2021).

Ayurveda'da yakılmış demir preparatı Mandur bhasma olarak bilinir. Demir yıllarca toprak altında kaldığında kimyasal olarak ferrik oksit oluşması ile paslanma olarak bilinen sürece maruz kalır. Ferrik oksit, Mandur Bhasma'yı oluşturmak için saflaştırılır ve ezilir. Mandur bhasma'nın hazırlanması, shodhana (arındırma), marana (yakma) ve puta terimi altında çeşitli yakma derecelerini içeren yöntemlere göre takip edilir. Demirin yakılması sadece inceltilmesi için değil aynı zamanda kalitesinin artırılması için de yapılır. Mandur bhasma ferrik oksitten yapıldığından anemi, karaciğer ve dalak bozukluklarının iyileştirilmesine yardımcı olur. Güçlü hematinik, hematojenik, antihelmintik, yağ yakıcı ve karminatif özelliklere sahiptir (Thorat ve ark., 2021).

Solanum nigrum, Güneydoğu Asya'ya özgü olan ve şu anda pek çok tropik ve ılıman bölgede yetişen *Solanaceae* familyasının yenilebilir şifalı bir bitkisidir. Geçmişten günümüze geleneksel olarak çeşitli kanser türlerinde, üriner rahatsızlıklarda, boğaz ağrısı, diş ağrısı, dermatit, egzama, karbonkül gibi cilt rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmıştır. *Solanum nigrum*'dan çok sayıda kimyasal bileşen tanımlanmıştır. Bunlar arasında steroidal saponinler, alkaloidler, fenoller ve polisakkaritler başlıca biyoaktif bileşenlerdir. *Solanum nigrum* farmakolojik olarak ta hepatoprotektif, antitümör, antiinflamatuar, antioksidan, antibakteriyel gibi pek çok aktiviteye sahiptir (Chen ve ark., 2022).

Terminalia arjuna, Hindistan ve Sri Lanka yetişen, kardioprotektif ve hepatoprotektif özellikleri nedeniyle geleneksel olarak kullanılan endemik bir ağaçtır. *Terminalia arjuna*'dan arjunin, arjunik asit, arjungenin, terminik asit, terminoltin ve bunların glikozitleri gibi çeşitli triterpenoidler, arjunon, luteolin, baicalein, kampferol, pelargonidin ve pirokatekoller gibi fenolik bileşikler izole edilmiştir. Hepatoprotektif özelliklere sahip olduğu bilinen *Arjunolik asit*, *Terminalia arjuna*'nın öz odunundan izole edilen başlıca oleanan türü pentasiklik triterpenoidlerden biridir (Toppo ve ark., 2018).

Terminalia arjuna'nın hepatoprotektif özelliklerinin yanında antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, kardiyoprotektif, antiartritik, sitotoksik, antidiarreal, antidisentrik aktivite gibi birçok tıbbi özelliğe sahip olduğu da rapor edilmiştir (Kalem ve ark., 2017).

Achillea millefolium yaygın olarak civanperçemi veya milfoil olarak bilinen *Asteraceae* familyasında yer alan bir bitkidir. Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika dahil kuzey yarımkürede yüksek rakımlarda yetişen bir bitkidir. *Achillea millefolium* bitkisi tıbbi özelliğinden dolayı halk ve geleneksel tıpta, spazmodik mide-bağırsak bozuklukları, hepatobiliyer rahatsızlıklarda, jinekolojik rahatsızlıkların tedavisinde, iltihaplanmaya karşı ve yara iyileştirici bir bitki olarak kullanılmaktadır. *Achillea millefolium* kimyasal yapısı itibarıyla terpenler, tanenler, alkaloidler, steroller, vitaminler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi çeşitli fitobiyokimyasal bileşenler yönünden zengindir (Ali ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2021b). *Achillea millefolium* üzerinde yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar koleretik, antimalarial, antioksidan, antihipertansif, antimikrobiyal, antispazmodik, hepatoprotektif, gastroprotektif vb. gibi çok çeşitli farmakolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Ali ve ark., 2017).

Cassia occidentalis, çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel tıpta kullanılan bir Ayurveda şifalı bitkisidir. *Cassia occidentalis*'in yapısında akrosin, aloemodin, emodin, antrakınonlar, antronlar, apigenin, aurantiobtusin, kampesterol, kassiollin, kriso-obtusin, krizofanik asit, krizarobin, krizofanol, krizoeriol vb. gibi çeşitli fitokimyasal bileşenler bulunmaktadır. *Cassia occidentalis* ekstraktlarının antiinflamatuvar, antibakteriyel, antioksidan, hepatoprotektif ve immünosupresyon gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmektedir (Singh ve ark., 2016).

Tamarix gallica, *Tamaricaceae* familyasına ait, nemli bölgelerde ve özellikle tuzlu topraklarda yetişen otsu, yaprak döken ve çok yıllık ince dallı bir çalı bitkisidir. *Tamarix gallica* geleneksel olarak lökoderma, dalak ve karaciğer bozukluklarında kullanılmaktadır. *Tamarix gallica*, flavonoidler, fenoller, saponinler, tanenler, kumarinler ve terpenler gibi polifenolik maddeler açısından zengindir. *Tamarix gallica*'nın hepatoprotektif, antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal aktiviteleri olduğu rapor edilmiştir (Nisar ve ark., 2023).

2.4.2. Liv-52'nin Karaciğer Üzerindeki Farmakolojik Etkileri

Poliherbal tedaviler, Ayurveda'da sıklıkla kullanılan tedavi protokolleridir. Poliherbal formülasyon iki veya ikiden fazla bitki içeren formülasyonlar anlamına gelmektedir. Bitkiler ayrı olarak lullanıldığında vücuda giren aktif bileşenler, yeterli farmakolojik etki sağlamak için yetersiz olabilir. Bu nedenle, poliherbal ve bitkisel mineralli formülasyonlar, birden fazla bitkiyi dikkatli bir oranda bir araya getirerek, artırılmış bir terapötik etki ile azaltılmış toksik etkiyi hedeflemektedir. Kısaca, poliherbal formülasyonlar, güvenli yüksek dozla yüksek etkinliği ifade etmektedir. Bu formülasyonlardaki sinerjizmanın farmakokinetik ve farakodinamik olarak ortaya çıktığı belirtilmektedir. Farmakokinetik sinerjizma, bitkinin diğer bitkilerin emilimini, dağılımını, metabolizmasını ve eliminasyonunu kolaylaştırma kapasitesine dikkati çekmektedir. Farmakodinamik sinerjizma ise benzer terapötik aktiviteye sahip aktif bileşenlerin farklı etki mekanizmaları tarafından hedeflenmesi ile oluşan sinerjistik etkiyi ifade etmektedir (Karole ve ark., 2019).

Geçmişte Liv-52'nin hepatoprotektif etkisini değerlendirmek amacıyla preklinik ve klinik olarak çalışmalar yürütülmüştür. Liv-52'nin içeriğindeki bileşenlerin, kimyasal olarak indüklenen hepatotoksisiteye karşı güçlü hepatoprotektif özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Liv-52'nin, alkolik karaciğer hastalığı, viral hepatit, siroz, anoreksi ve radyasyon tedavisinden kaynaklanan karaciğer hasarının tedavisinde kullanımının faydalı olduğu bildirilmiştir. Ek olarak Liv-52'nin, hepatotoksik ilaçlarla beraber (kemoterapötik ajanlar, statinler, anti-tüberküloz ilaçlar ve antiretroviraller), uzun süreli hastalık ve ardından iyileşme dönemlerinde de kullanılması tavsiye edilmiştir (Kantharia ve ark., 2023).

Geçmişte yapılan bir çalışmada, iskemi reperfüzyonla indüklenen karaciğer hasarında Liv-52'nin etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, iskemi reperfüzyon protokolünden bir saat önce Liv-52 grubundaki ratlara 20 mg/kg ağızdan Liv-52 uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre Liv-52 ön tedavisi, iskemi reperfüzyona bağlı doku MDA ve MPO düzeylerindeki artış ile antioksidanlardaki azalmayı inhibe etmiştir. Ayrıca, yazarlar Liv-52'nin karaciğer fonksiyon testlerindeki yükselmeyi baskıladığını ve histopatolojik hasarı hafiflettiğini ve böylece hepatoprotektif aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Cimen ve ark., 2020).

Yine ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada doksorubisinle indüklenen karaciğer hasarında Liv-52 yedi gün süreyle kullanılmış ve Liv-52'nin hepatoprotektif olduğu sonucuna varılmıştır. Doksorubisinle kullanımıyla MDA düzeyi, ALT, AST ve LDH aktivitelerindeki artış ile tGSH düzeylerinde ve SOD aktivitesindeki azalmanın Liv-52 kullanımıyla önemli ölçüde engellendiği ortaya konmuştur. Ayrıca doksorubisin tedavisinde Liv-52 ön uygulamasının, karaciğerin histolojik yapısındaki bozulmayı da hafiflettiğini göstermişlerdir (Yildirim ve ark., 2022).

Vidyashangar ve arkadaşları tarafından tert-butil hidroperoksit tarafından indüklenen oksidatif hasara karşı Liv-52'nin hepatoprotektif etkisi *in vitro* olarak HepG2 hücrelerinde değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, Liv 52'nin HepG2 hücrelerinde lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı ve GSH tükenmesini, SOD, CAT ve GPx aktivitelerindeki azalmayı önlediğini saptamışlardır. Yine yaptıkları sitotoksikite testinde tert butil hidroperoksitin HepG2 hücrelerinde sitotoksik etki ve morfolojik değişikliklere neden olduğunu ve sitotoksitenin Liv-52 ile azaldığını ortaya koymuşlardır. Yazarlar bu çalışmada Liv-52'nin hepatoprotektif etkisini, Liv-52'de bulunan bileşiklerin doğasına ve antioksidan aktivitelerine bağlamışlardır (Vidyashankar ve ark., 2010).

Yine yakın zamanda ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada karbontetraklorürle indüklenen karaciğer hasarında Liv-52 kontrol ilacı olarak kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçları, karbontetraklorürle beraber uygulanan Liv-52'nin ALT, alkalen fosfataz ve total bilirubindeki artışı ve karaciğer dokusunun histolojik yapısındaki bozulmayı önemli ölçüde hafiflettiğini ortaya koymuştur (Siddique ve ark., 2022).

Hogade ve Kuthar'ın yaptıkları deneysel bir çalışmada da parasetamolle indüklenen hepatotoksistide Liv-52, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Farelerde parasetamol kullanımı ile serum ALT, AST, alkalen fosfataz ve bilirubin düzeylerindeki artışın ve karaciğer dokusunda histopatolojik hasarın Liv-52 ile önlendiğini raporlamışlardır (Hogade ve Kuthar, 2021).

Liv-52'nin karaciğer sirozlu hastalarda hepatoprotektif etkisine dair, Huseini ve arkadaşları da 32 hasta üzerinde çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışma gerçekleştirdiler. Bir grup 6 ay boyunca Liv-52 tabletleri alırken diğer grup plasebo

tabletlerini kullandı. Çalışmanın sonuçlarına göre, plasebo grubunda tedavi öncesi ve sonrası fark gözlenmezdi. Ancak, 6 ay boyunca kullanılan Liv-52, tedavi öncesine göre asit miktarında, ALT ve AST düzeylerinde azalmaya neden oldu (Huseini ve ark., 2005).

Liv-52'nin hepatit hastalarındaki etkisini orataya koyan, 50 klinik çalışmanın incelendiği bir metaanaliz Kolhapure ve Mitra tarafından yayınlandı. Bu çalışmaya toplamda 4490 hasta dahil edilmiş oldu. Yapılan kümülatif veri analizi, Liv-52 tedavisinin hepatit hastalarında ALT, AST aktivitelerinde, protrombin zamanında ve toplam iyileşme için gereken ortalama sürede önemli bir azalmaya neden olduğunu gösterdi. Ayrıca, azalan albumin ve globulin düzeylerinin de tedavi öncesi değerlerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artmış olduğu görüldü. Yazarlar inceledikleri çalışmalarda raporlanan ve gözlemlenen bir advers olayla karşılaşmadıklarını ve Liv-52 tedavisinin etkili ve güvenli olduğunu belirttiler (Kolhapure ve Mitra, 2004).

Yapılan başka bir metaanaliz çalışmasında, antitüberküloz tedavisi alan çocukların da dahil olduğu toplamda 689 hastayı içeren sekiz kontrollü çalışmanın verileri Dange tarafından incelendi. Çalışmada amacının, antitüberküloz tedavisi alan hastalarda hepatoprotektif olarak Liv-52'nin etkinliğini ve kısa ve uzun vadeli güvenliğini araştırmak olduğu belirtildi. Dahil edilen çalışmalardaki tedavi süresleri dört haftadan bir yıla kadar değişiyordu. Çalışmaların sonuçları, hepatomegali, anoreksi, kilo alımı, genel iyilik hali ve karaciğer fonksiyon testlerinde iyileşme ve hepatobiliyer sistemin ultrasonografik bulgularındaki iyileşme yönünden değerlendirildi. Metaanalizin sonuçlarına göre Dange, antitüberküloz ve Liv-52 alan hastalarda hepatotoksisitede istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme görüldüğünü belirtti. Liv-52, anoreksi, kilo alımı, hepatomegali ve genel refah gibi ilişkili semptomlarda önemli iyileşmelere neden oldu. Ayrıca, Liv-52'nin ALT değerlerinin azaltılmasında ve gastrointestinal semptomların hafifletilmesinde etkili olduğu sonucuna varıldı (Dange, 2010).

Liv-52'nin etkisi alkole bağlı erken siroz hastalığı tanısı alan 50 hasta üzerinde yürütülen klinik bir çalışma ile de değerlendirildi. Bu çalışmada, ALT, AST, total bilirubin, alkalen fosfataz, albümin ve protrombin zamanı analizleri yapıldı. Liv-52 ile altı aylık tedavinin asteni, anoreksi, bulantı, yorgunluk, kolay yorulma, karın ağrısı, karın rahatsızlığı, dışkı sıklığı ve kas krampları gibi klinik semptom skorlarında anlamlı düzeyde iyileşme

görüldüğü belirtildi. Yine, altı aylık tedavinin sonunda kas erimesi, ödem, anemi, sarılık, asit ve hepatomegalide de önemli ölçüde azalma olduğu gözlemlendi. Bu çalışmanın biyokimyasal analiz sonuçları da karaciğer fonksiyon testlerinde iyileşme olduğunu ortaya koydu. Yazarlar çalışmalarında, Liv-52'nin karaciğer bütünlüğünü korumada ve alkolik sirozda karaciğer fonksiyonlarını geri kazanmada rol oynadığını belirttiler (Agal ve Prasad, 2007).

2.4.3. Liv-52'nin Diğer Organlar Üzerindeki Etkisi

Hepatotonik olarak kabul edilen Liv-52 ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle karaciğerle ilgili olmakla beraber farklı dokular üzerinde de yapılan çalışmalar mevcuttur. Geçmişte yapılan bir çalışmada berilyum tuzlarının yetişkin dişi albino sıçanların üreme organları üzerindeki toksik etkileri incelenmiştir. Sıçanlardan, berilyuma maruz kalanlar ve berilyum maruziyeti ile beraber Liv-52 verilmiş olan olmak üzere iki grup oluşturuldu. Çalışmanın sonunda biyokimyasal analizler yapıldı ve overler, uterus, serviks ve vajina dokuları histopatolojik olarak incelendi. Sadece berilyum alan grupta dokularda ciddi nekrotik değişiklikler izlendi. Ayrıca, doku glikojen içeriği ve alkalen fosfataz aktivitesinin önemli ölçüde inhibe edildiği ve kolesterol düzeylerinin arttığı saptandı. Ancak, berilyum enjeksiyonu öncesinde Liv-52 tedavisi alan sıçanlarda biyokimyasal parametrelerde ve histolojik yapıda önemli bir iyileşme gözlemlendi (Mathur ve ark., 1989).

Yapılan başka bir çalışmada, Liv-52'nin albino sıçanlarda kurşun kaynaklı hiperkolesterolemi üzerindeki etkisi araştırıldı. Kurşun asetatın 30 gün boyunca ağızdan uygulanması ile, serum toplam kolesterol, trigliseritler, düşük dansiteli kolesterol seviyesinde önemli bir artış ve serum yüksek dansiteli kolesterol seviyesinde önemli bir düşüş görüldü. Çalışmanın sonuçları, Liv-52 tedavisinin sıçanlarda kurşunun neden olduğu hiperkolesterolemiye karşı belirgin bir koruyucu etki ürettiğini ortaya koydu (Jeyaparakash ve Chinnaswamy, 2004).

Waghmare ve arkadaşları gama ışınlamasına maruz bırakılan farelere Liv-52 vererek bir dizi çalışma yürüttüler. Çalışmada, Liv-52'nin radyasyona bağlı periferik kandaki değişiklikler üzerindeki etkilerini araştırdılar. Farelerin bir grubu sadece radyasyona maruz bırakılırken, diğer grubu radyasyondan önce art arda yedi gün boyunca günde bir

kez oral yoldan 500 mg/kg Liv-52 tedavisi aldı. Toplam lökosit sayısındaki kantitatif değişiklikler, maruz kalma gününden 28. güne kadar çeşitli zaman aralıklarında skorlandı. Liv-52'nin önceden uygulanmasının, lökosit sayısının düşmesini önemli ölçüde önlediği belirlendi (Waghmare ve ark., 2011). Yine gama radyasyonuna maruz kalan farelerde görülen kemik iliğindeki mikronükleusların sıklığının, Liv-52 tedavisi ile önemli ölçüde düşük kaldığı belirlenmişti (Jagetia ve Ganapathi, 1989).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada toplamda 284 ± 6 gram ağırlığında 30 adet Albino Wistar tipi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deneyler, aynı birimin laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Deneysel uygulamalardan bir hafta önce hayvanlar ortama adapte olabilmeleri için deneyin yapılacağı laboratuvar ortamında gruplar halinde barındırıldı. Laboratuvar, 22 ± 2 °C oda sıcaklığına, $\%50 \pm 10$ nem oranına sahipti. Ayrıca, ratların bulunduğu odada otomatik olarak 12 saatlik aydınlık karanlık döngüsünü sağlayan aydınlatma sistemi mevcuttu. Sıçanlar, standart pelet yeme ve musluk suyuna kısıtlama olmaksızın ulaşabildi.

3.2. Etik Onay

Bu çalışma, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Toplantı tarihi: 28.07.2022, Oturum sayısı: 2022/7, Karar no: 34, Sayı: E-85748827-050.01.04-186954).

3.3. İlaçlar

Deneyde kullanılan Favipiravir (200 mg tablet) Atabay'dan (İstanbul, Türkiye), Liv-52 Himalaya Wellness Company'den (Bengaluru, India), tiopental sodium (0.5 gram flakon) İ. E. Ulagay'dan (İstanbul, Türkiye) temin edildi.

3.4. Deney Grupları

Çalışmada kullanılan sıçanlar randomize olarak her grupta altı rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

1- SG: Sağlıklı kontrol grubu

2- FV-200: 200 mg/kg favipiravir verilen grup

- 3- FV-400: 400 mg/kg favipiravir verilen grup
- 4- LFV-200: 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg dozda Liv-52 verilen grup
- 5- LFV-400: 400 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg dozda Liv-52 verilen grup

3.5. Deney Prosedürü

Deney prosedürüne göre ilk olarak ratların LFV-200 ve LFV-400 gruplarına 50 mg/kg dozda olacak şekilde Liv-52, oral gavajla mideye verildi (Yildirim ve ark., 2022). Bu süreçte SG, FV-200 ve FV-400 hayvan gruplarına aynı hacimde distile su aynı yoldan uygulandı. Liv-52 ve distile su verildikten bir saat sonra FV-200 ve LFV-200 gruplarına 200 mg/kg dozda, FV-400 ve LFV-400 gruplarına ise 400 mg/kg dozda favipiravir oral gavajla mideye verildi (Bilici ve ark., 2023). SG grubu ise benzer hacimde oral yoldan distile su aldı. Liv-52 tedavisi günde bir kez, favipiravir tedavisi ise günde 2 kez olacak şekilde uygulandı. Bu tedavi protokolüne yedi gün devam edildi. Yedinci günün sonunda bütün gruplardaki sıçanların kuyruk venlerinden kan örnekleri alındı. Ardından ratlara yüksek dozda (50 mg/kg) tiyopental sodyum verilerek ötenazi uygulandı ve karaciğer dokuları analiz için çıkarıldı. Karaciğer dokularında MDA ve tGSH düzeyleri ile SOD ve CAT aktiviteleri ölçüldü. Karaciğer dokuları histopatolojik olarak da incelendi. Kan örneklerinde de ALT, AST ve LDH aktivite ölçümleri yapıldı. LFV-200, LFV-400 ve SG hayvan gruplarından elde edilen tüm biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar FV-200 ve FV-400 grupları ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.6. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Tablo 3.1. Kullanılan Cihazlar ve Firma Listesi

Cihazlar	Firma
Beckman Coulter AU5800 clinical chemistry analyzer	Beckman Coulter
Santrifüj	Centrifuge 5430 R
Hassas terazi	RADWAG AS 220.R2
Magnetik karıştırıcı	IKA RH Digital
Su banyosu	Memmert WNB 7
pH metre	pH60 Violab
Distile su cihazı	KROS Clinic
Karıştırıcı (Vortex)	Velp Scientifica
Otomatik pipet	Dragon Lab
Spektrofotometre	Multiskan Skyhigh

Tablo 3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Firma Listesi

Kimyasal Maddeler	Firma
Favipiravir (tablet)	Atabay
Liv-52	Himalaya Wellness
Tiyopental sodyum (flakon)	IE ULAGAY
Potasyum fosfat monobasic	SIGMA
Potasyum fosfat dibasic	SIGMA
Potasyum klorür	SIGMA
Hidroklorik asit	SIGMA
Sodyum hidroksit	SIGMA
MDA Analiz kiti	BT LAB Bioassay Technology Laboratory
tGSH Analiz kiti	BT LAB Bioassay Technology Laboratory
SOD Analiz kiti	BT LAB Bioassay Technology Laboratory
CAT Analiz kiti	BT LAB Bioassay Technology Laboratory

3.7. Biyokimyasal Analizler

3.7.1. Biyokimyasal Analiz için Doku Numunelerinin Hazırlanması

Biyokimyasal analiz için doku örnekleri tartıldı. Daha sonra fizyolojik salinle yıkandı. Karaciğer dokularının üzerine sıvı nitrojen eklenerek havan ve tokmak kullanılarak hızlıca öğütüldü. Öğütülen dokular, potasyum fosfat monobasic ve potasyum fosfat dibasic ile hazırlanan 50 mM (pH=7.2) tampon karışımına aktarıldı. Oluşan homojenatlar +4 °C'de 15000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatantlar dikkatlice toplandı. Süpernatantlar, analize kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.7.2. Karaciğer Dokularında MDA Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku MDA düzeyi, rat MDA ELİSA Kit (Katalog no: E0156Ra, BT LAB ®, Zhejang, Çin) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, sandviç enzim bağlı immunosorban testi (Sandwich-ELİSA) prensibini kullanır. Kite sağlanan 96 kuyuluk ELİSA mikro plakası, rat MDA antikoru ile önceden kaplanmış. Analiz için standartlar ve örnekler ELİSA mikro plakasındaki kuyucuklara eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Sonra rat MDA

için spesifik bir biyotinile tespit antikor ve streptavidin-horseradish peroksidaz (HRP) konjugatı her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenir. Sadece rat MDA içeren, biyotinlenmiş antikor ve Avidin-HRP konjugatı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop solüsyonu eklenerek sona erdirilir ve renk sarıya döner. Optik dansite (OD), spektrofotometrik olarak $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ dalga boyunda ölçülür. OD değeri, rat MDA konsantrasyonu ile orantılıdır. Standart çözeltilerin OD değerlerinin ölçülmesiyle çizilen standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen formüle göre örneklerdeki rat MDA konsantrasyonları hesaplanır.

3.7.3. Karaciğer Dokularında tGSH Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku GSH düzeyi, rat GSH ELİSA Kit (Katalog no: E1101Ra, BT LAB®, Zhejiang, Çin) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, sandviç ELİSA prensibini kullanır. Kite mevcut olan 96 kuyuluk ELİSA mikro plakası, rat GSH antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler ELİSA mikro plakasındaki kuyucuklara ilave edilir ve spesifik antikor ile birleşmeleri sağlanır. Sonra rat GSH için spesifik bir biyotinile tespit antikor ve streptavidin- HRP konjugatı her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Her bir kuyucuğa substrat solüsyonu eklenir. Sadece Rat GSH içeren, biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop solüsyonu eklenerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. OD, $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, rat GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart çözeltilerin OD değerlerinin ölçülmesiyle çizilen standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen formüle göre örneklerdeki rat GSH konsantrasyonları hesaplanır.

3.7.4. Karaciğer Dokularında SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

Doku SOD aktivitesi, rat SOD ELİSA Kit (Katalog no: E0168Ra, BT LAB®, Zhejiang, Çin) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, sandviç ELİSA prensibini kullanır. Kite sağlanan 96 kuyuluk ELİSA mikro plakası, rat SOD antikor kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler ELİSA mikro plakasındaki kuyucuklara eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Sonra rat SOD için spesifik bir biyotinile tespit antikor ve streptavidin- HRP konjugatı, mikro

plaka kuyularuna eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenir. Sadece Rat SOD içeren, biyotinlenmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjugatı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop solüsyonu kullanılarak sona erdirilir ve renk sarıya döner. OD, spektrofotometrik olarak $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ dalga boyunda ölçülür. OD değeri, rat SOD konsantrasyonu ile orantılıdır. Standart çözeltilerin OD değerlerinin ölçülmesiyle çizilen standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen formüle göre örneklerdeki rat SOD konsantrasyonları hesaplanır.

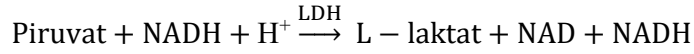
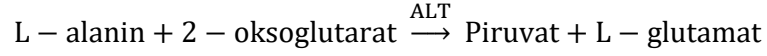
3.7.5. Karaciğer Dokularında CAT Aktivitesinin Belirlenmesi

Doku CAT aktivitesi, rat CAT ELİSA Kit (Katalog no: E-0869Ra, BT LAB®, Zhejiang, Çin) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, sandviç ELİSA prensibini kullanır. Kite sağlanan 96 kuyuluk ELİSA mikro plakası, rat CAT antikoru ile önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler ELİSA mikro plakasındaki kuyucuklara eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Sonra rat CAT için spesifik bir biyotinile tespit antikoru ve streptavidin- HRP konjugatı her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenir. Sadece Rat CAT içeren, biyotinlenmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjugatı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop solüsyonu eklenerek sona erdirilir ve renk sarıya döner. OD, spektrofotometrik olarak $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ dalga boyunda ölçülür. OD değeri, rat CAT konsantrasyonu ile orantılıdır. Standart çözeltilerin OD değerlerinin ölçülmesiyle çizilen standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen formüle göre örneklerdeki rat CAT konsantrasyonları hesaplanır.

3.7.6. Serumda ALT Aktivitesinin Belirlenmesi

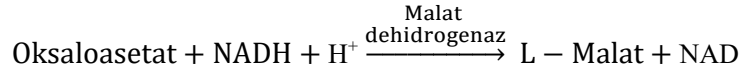
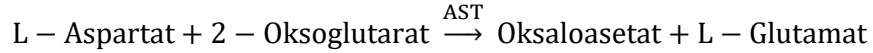
Serum ALT aktivitelerinin belirlenmesi için, Beckman Coulter AU5800 clinical chemistry analyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) kullanıldı. Serum numunelerindeki ALT, L-alanin ile 2-oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize eder. Reaksiyon sonucunda pirüvat ve L-glutamat oluşur. Oluşan pirüvat LDH'nin katalize ettiği bir reaksiyonda NADH tarafından indirgenir. Piridoksal fosfat, amino transfer reaksiyonunda koenzim görevi görür. Bu reaksiyonda katalitik ALT aktivitesi NADH

oksidasyon hızıyla paralellik göstermektedir. Absorbanstaki azalma cihazla spektrofotometrik olarak 340 nm’de ölçülerek ALT aktivitesi belirlenmiştir.



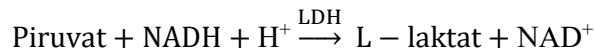
3.7.7. Serumda AST Aktivitesinin Belirlenmesi

Serum AST aktivitesinin belirlenmesi için, Beckman Coulter AU5800 clinical chemistry analyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) kullanıldı. Serum numunelerindeki AST, L-aspartat ve 2-oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize eder. Reaksiyon sonucunda oksaloasetat ve L-glutamat oluşur. Oluşan oksaloasetat, malat dehidrogenaz tarafından katalizlenen reaksiyonda NADH ile reaksiyona girer. Reaksiyon sonucunda L-malat ve NAD⁺ oluşur. Piridoksal fosfat, amino transfer reaksiyonunda koenzim görevi görür. Bu reaksiyonda katalitik AST aktivitesi NADH oksidasyon hızıyla paralellik göstermektedir. Absorbanstaki azalma cihazla spektrofotometrik olarak 340 nm’de ölçülerek AST aktivitesi belirlenmiştir.



3.7.8. Serumda LDH Aktivitesinin Belirlenmesi

Serum LDH aktivitesinin belirlenmesi için, Beckman Coulter AU5800 clinical chemistry analyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) kullanıldı. Serum numunelerindeki LDH, piruvat ile NADH arasındaki reaksiyonu katalize eder. Reaksiyon sonucunda L-laktat ile NAD⁺ oluşur. NADH yükseltgenmesinin başlangıç hızı katalitik LDH aktivitesiyle paralellik göstermektedir. Absorbanstaki azalma cihazla spektrofotometrik olarak 340 nm’de ölçülerek LDH aktivitesi belirlenmiştir.



3.8. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Değerlendirmesi

Histopatolojik değerlendirme için karaciğer doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonu içerisinde konularak doku stabilitesi sağlandı. Daha sonra musluk suyu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla doku örnekleri dereceli alkol serilerinden (%50-99) geçirildi. Dokuları şeffaflaştırmak için ksilol kullanıldı. Bu işlemten sonra dokular parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Bu bloklardan histopatolojik inceleme için 5 µm'lik kesitler hazırlandı ve kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Karaciğer dokuları tedavi protokolünden habersiz olan bir patolog tarafından ışık mikroskobu ile (Olympus BX 51, Tokyo, Japan) değerlendirildi ve fotoğraflar dijital kamera ile (Olympus DP 71, Tokyo, Japan) çekildi. Her bir doku kesitindeki histopatolojik hasar şiddeti 0-3 arasında (0-hasar yok, 1- hafif hasar, 2-orta hasar ve 3-şiddetli hasar) derecelendirildi.

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp. Released 2013. Armonk, NY) programı kullanıldı. Elde edilen veriler mean $\pm$ standart deviasyon ($X \pm SD$) olarak sunuldu. Verilerin normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı ve test sonuçları verilerin normal dağıldığını gösterdi. Bu nedenle istatistiksel analiz için one way ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda kullanılacak olan testi belirlemek için verilere varyansın homojenliğini değerlendiren Levene testi uygulandı. Levene testi sonuçlarına göre de post hoc test olarak MDA ve tGSH için Games-Howell testi, SOD, CAT, ALT, AST ve LDH için de Tukey HSD testi tercih edildi. Histopatolojik derecelendirme verileri semikantitatif olduğu için istatistiksel analiz nonparametrik testlerden Kruskal Wallis testi ile yapıldı. İkili grup karşılaştırmaları için, Mann-Whitney U testi kullanıldı. Veriler medyan (çeyrek 1- çeyrek 3) olarak sunuldu. P değerinin 0.05'in altında olduğu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Karaciğer dokularından ve serum örneklerinden elde edilen biyokimyasal bulguların analiz sonuçları Tablo 4.1’de sunuldu.

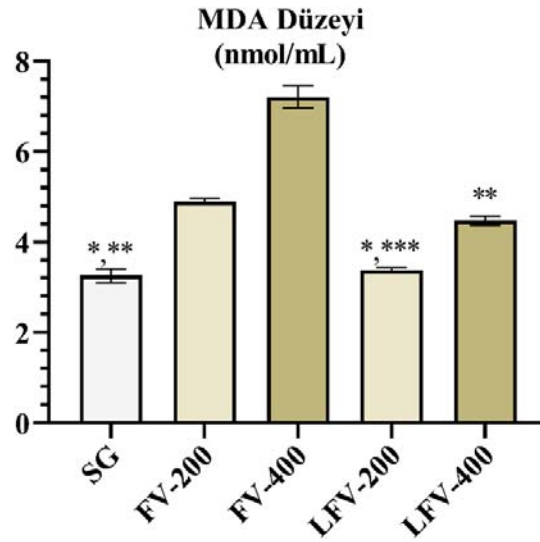
Tablo 4.1. Deney Gruplarından Elde Edilen Karaciğer Dokuları Ve Serum Örneklerinden Ölçülen Biyokimyasal Parametrelerin Analiz Sonuçları

Parametreler	Deney Grupları					F (4, 25)	p değerleri
	SG (n=6)	FV-200 (n=6)	FV-400 (n=6)	LFV-200 (n=6)	LFV-400 (n=6)		
	Mean ± Standart deviation (X ± SD)						
MDA (nmol/mL)	3.26±0.12 ^{*,**}	4.89±0.07	7.21±0.24	3.38±0.03 ^{*,***}	4.47±0.11 ^{**}	840.751	<0.001
tGSH (mg/mL)	7.43±0.11 ^{*,**}	5.47±0.20	3.27±0.08	7.21±0.06 [*]	5.03±0.13 ^{**}	991.447	<0.001
SOD (ng/mL)	9.37±0.15 ^{*,**}	7.37±0.27	5.28±0.16	8.81±0.13 [*]	7.35±0.16 ^{**}	473.788	<0.001
CAT (ng/mL)	8.62±0.10 ^{*,**}	6.37±0.27	3.43±0.13	8.13±0.07 [*]	6.38±0.13 ^{**}	1043.367	<0.001
ALT (U/L)	27.67±4.80 ^{*,**}	59.00±5.97	167.67±6.65	29.17±4.07 ^{*,***}	57.00±3.46 ^{**}	577.635	<0.001
AST (U/L)	38.17±2.32 ^{*,**}	93.50±4.09	268.00±13.04	39.00±5.76 ^{*,***}	75.17±5.12 ^{**}	1085.448	<0.001
LDH (U/L)	131.00±8.22 ^{*,**}	231.67±12.71	377.83±6.74	133.67±9.56 ^{*,***}	178.00±1.18 ^{**}	666.596	<0.001

*, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$, ***, SG ile karşılaştırıldığında $p>0.05$. MDA, malondialdehit; tGSH, total glutatyon; SOD, süperoksit dizmutaz; CAT, katalaz; ALT, alanin aminotransferaz; AST, aspartat aminotransferaz; LDH, laktat dehidrogenaz. SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.1. Karaciğer Dokularından Elde Edilen MDA Düzeylerine ait Verilerin Analiz Sonuçları

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de görüldüğü gibi, FV-200 ve FV-400 gruplarındaki ratlardan elde edilen doku MDA seviyelerinin sağlıklı gruptakilerinden daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). Bu yükselme FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Liv-52 tedavisi, hem 200 mg/kg hem de 400 mg/kg favipiravir uygulanan ratlarda MDA düzeylerindeki bu artışı baskılayabildi. FV-200 ve LFV-200 ($p<0.001$) ile FV-400 ve LFV-400 ($p<0.001$) grupları arasında anlamlı fark tespit edildi. LFV-200 grubu ile sağlıklı grup arasında MDA düzeyleri bakımından istatistiksel olarak fark tespit edilmedi ($p=0.239$).

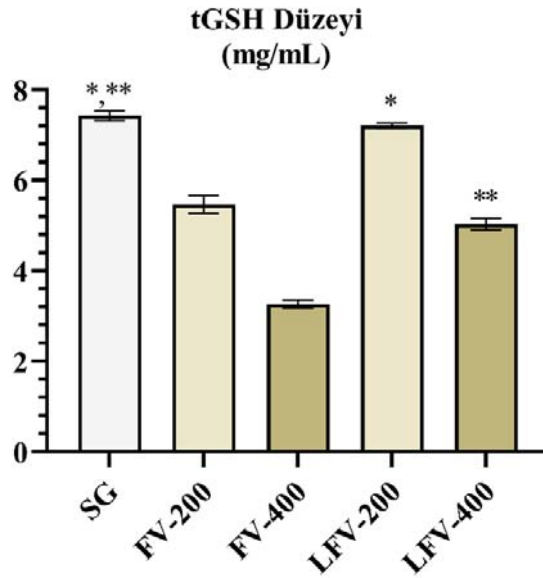


Şekil 4.1. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen MDA Düzeylerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; ***, SG ile karşılaştırıldığında $p>0.05$. MDA, malondialdehit; SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.2. Karaciğer Dokularından Elde Edilen tGSH Düzeylerine Ait Verilerin Analiz Sonuçları

Karaciğer dokuları antioksidanlar yönünden de değerlendirildi. Karaciğer dokuları tGSH düzeyleri bakımından analiz edildiğinde FAV-200 ve FAV-400 gruplarındaki seviyelerin sağlıklı gruptaki ratlara göre düşük olduğu saptandı ($p<0.001$). Bu düşme, FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Liv-52 tedavisi alan LFV-200 grubundaki tGSH düzeyleri sadece 200 mg/kg favipiravir alan ratlara göre yüksekti ($p<0.001$). Benzer şekilde favipiravir ile beraber kullanılan Liv-52, 400 mg/kg favipiravir tedavisine bağlı tGSH düşüşünü inhibe etti ($p<0.001$) (Tablo 4.1 ve Şekil 4.2).

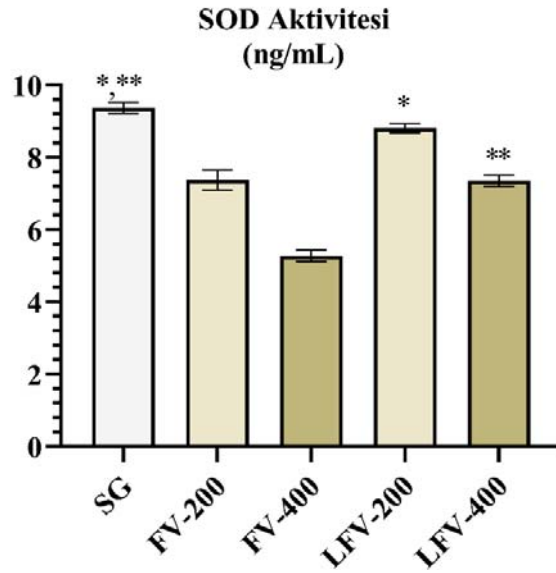


Şekil 4.2. Deney gruplarının karaciğer dokularında ölçülen tGSH Düzeylerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$. tGSH, total glutatyon; SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-400, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.3. Karaciğer Dokularından Elde Edilen SOD Aktivitelerine ait Verilerin Analiz Sonuçları

FV-200 ve FV-400 gruplarının karaciğer dokularındaki SOD aktivitelerinin sağlıklı gruptaki ratlara göre azalmış olduğu tespit edildi ($p<0.001$). Bu azalma, FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Liv-52 tedavisi hem 200 mg/kg hem de 400 mg/kg favipiravir kullanımına bağlı SOD aktivitesindeki düşüşü azalttı. Analiz sonuçlarına göre LFV-200 ve FV-200 grupları ($p<0.001$) ile LFV-400 ve FV-400 grupları ($p<0.001$) arasında SOD aktiviteleri bakımından anlamlı fark belirlendi (Tablo 4.1 ve Şekil 4.3).

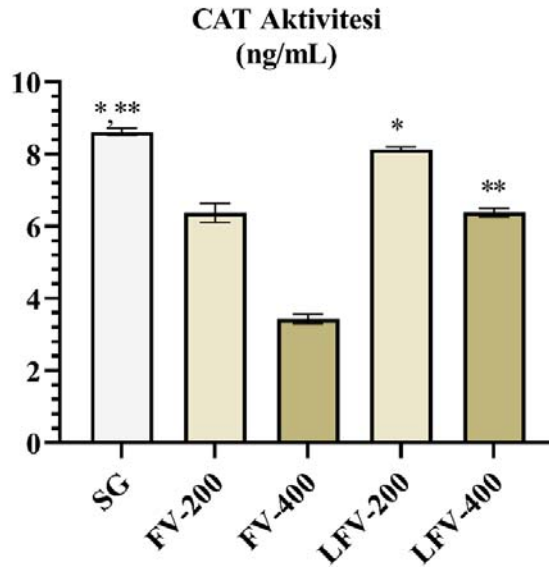


Şekil 4.3. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen SOD Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$. SOD, süperoksit dizmutaz; SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.4. Karaciğer Dokularından Elde Edilen CAT Aktivitelerine ait Verilerin Analiz Sonuçları

Tablo 4.1 ve Şekil 4.4'te FV-200 ve FV-400 gruplarına ait karaciğer dokularındaki CAT aktivitelerinin SG grubuna göre azalmış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Azalma, FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Bu azalmayı Liv-52 tedavisinin baskıladığı görüldü. LFV-200 grubundaki CAT aktivitesi FV-200 grubuna göre daha yüksekti ($p<0.001$). Benzer şekilde LFV-400 grubu ile FV-400 grupları arasında CAT aktivitesi bakımından anlamlı fark mevcuttu ($p<0.001$).

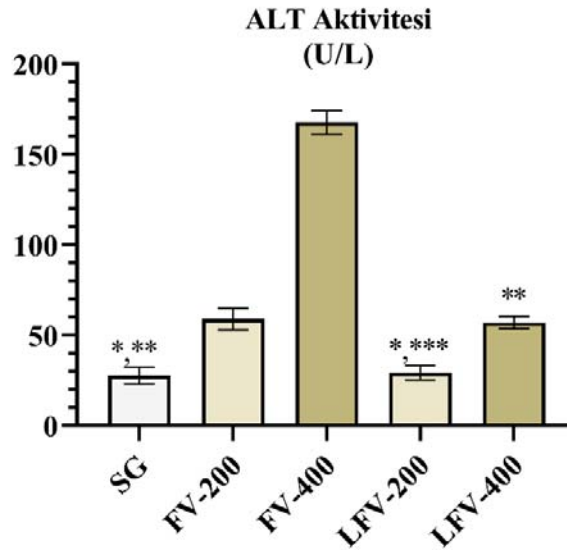


Şekil 4.4. Deney Gruplarının Karaciğer Dokularında Ölçülen CAT Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$. CAT, katalaz; SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.5. Serum ALT Aktivitelerine ait Verilerin Analiz Sonuçları

Tablo 4.1 ve Şekil 4.5'te görülebileceği gibi, ratlara uygulanan 200 mg/kg ve 400 mg/kg favipiravirin, serum ALT aktivitelerini favipiravir almayan ratlara göre artırmış olduğu tespit edildi ($p<0.001$). Bu artış, FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Favipiravir tedavisi ile verilen Liv-52'nin bu artışı inhibe ettiği tespit edildi. Analiz sonuçları FV-200 ve LFV-200 grupları arasında anlamlı fark olduğunu gösterdi ($p<0.001$). LFV-400 grubundaki ALT aktiviteleri de, FV-400 grubuna göre daha düşüktü ($p<0.001$). LF-200 grubu ile SG grubundaki ALT aktiviteleri benzer bulundu ($p=0.986$).

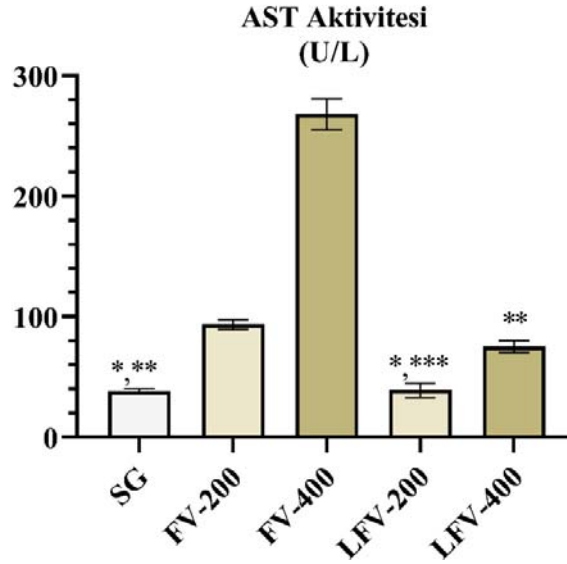


Şekil 4.5. Deney Gruplarının Serumlarında Ölçülen ALT Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; ***, SG ile karşılaştırıldığında $p>0.05$. ALT, alanin aminotransferaz; SG, sağlıklı kontrol grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.6. Serum AST Aktivitelerine Ait Verilerin Analiz Sonuçları

FV-200 ve FV-400 gruplarının plazma serumlarından elde edilen AST aktiviteleri SG grubuna göre daha yüksekti ($p<0.001$). Bu yükselme, FV-400 grubunda FV-200 grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.001$). Favipiravir tedavisine eklenen Liv-52'nin bu artışı ihibe ettiği saptandı. LFV-200 ve FV-200 grupları ($p<0.001$) ile LFV-400 ve FV-400 grupları ($p<0.001$) arasında anlamlı fark tespit edildi. LFV-200 grubundaki AST aktivitesinin sağlıklı grup ile benzer olduğu görüldü ($p=1.000$) (Tablo 4.1 ve Şekil 4.6).

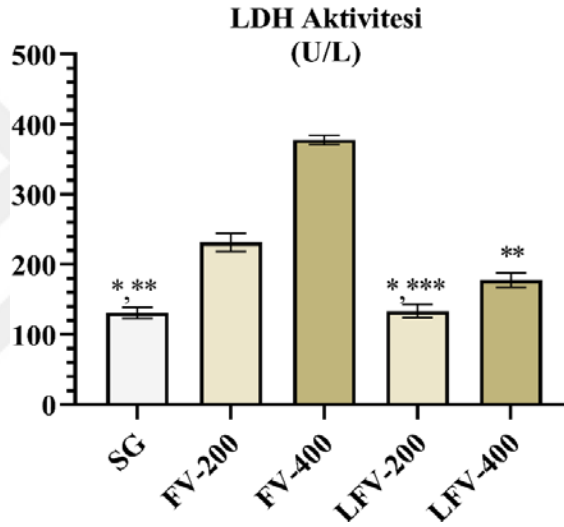


Şekil 4.6. Deney Gruplarının Serumlarında Ölçülen AST Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

Barlar mean $\pm$ standart deviasyonu göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; ***, SG ile karşılaştırıldığında $p>0.05$. AST, aspartat aminotransferaz; SG, sağlıklı control grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

4.1.7. Serum LDH Aktivitelerine Ait Verilerin Analiz Sonuçları

Sadece favipiravir alan FV-200 ve FV-400 gruplarında LDH aktivitelerinin SG grubuna göre yükseldiği tespit edildi ($p<0.001$). LDH aktivitelerini, 400 mg/kg favipiravir 200 mg/kg'a göre daha fazla ertirdi ($p<0.001$). LFV-200 grubunun serumlarında ölçülen LDH aktivitelerinin FV-200 grubuna göre düşük olduğu belirlendi ($p<0.001$). Aynı şekilde 400 mg/kg favipiravir ile beraber verilen Liv-52'nin de LDH aktivitelerindeki artışı inhibe ettiği görüldü ($p<0.001$). LFV-200 ile SG gruplarındaki serum LDH aktiviteleri birbirine benzerdi ($p=0.989$) (Tablo 4.1 ve Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Deney gruplarının Serumlarında Ölçülen LDH Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

Barlar $\text{mean} \pm \text{standart deviasyonu}$ göstermektedir. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; ***, SG ile karşılaştırıldığında $p>0.05$. LDH, laktat dehidrogenaz; SG, sağlıklı control grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-400, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

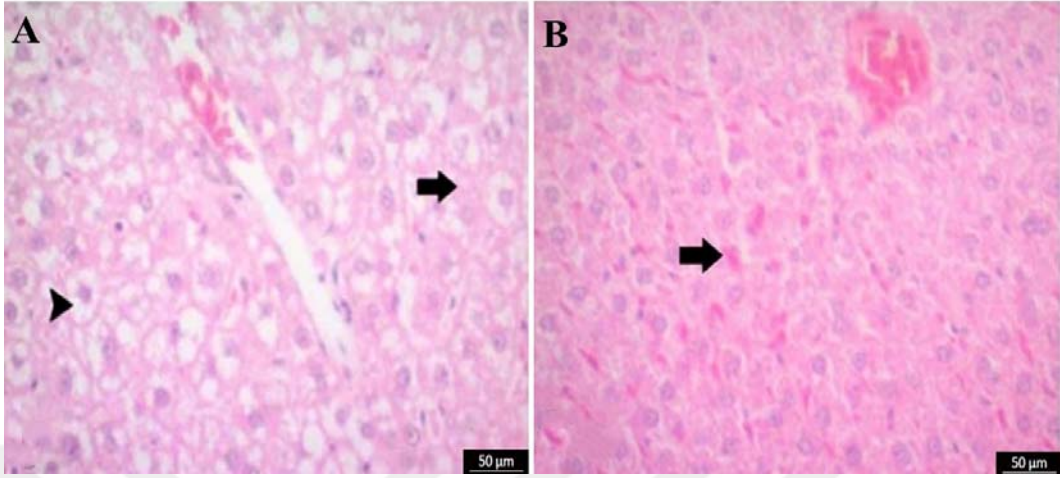
4.2. Histopatolojik Bulgular

SG grubunun karaciğer dokularında herhangi bir histopatolojik hasar bulgusuna rastlanmadı (Figür 4.8., Table 2). Ancak, 200 mg/kg dozda favipiravir uygulanan FV-200 grubundan elde edilen karaciğer dokularında orta düzeyde nekroz ve hidropik dejenerasyon izlenmiştir (Figür 4.9A., Table 2). Yine, FV-200 grubunda orta düzeyde hemoraji izlendi (Figür 4.9B., Table 2). 400 mg/kg dozda favipiravir uygulanan FV-400 grubunun karaciğerinde şiddetli düzeyde nekroz ve hidropik dejenerasyona rastlanmıştır (Figür 4.10A., Table 2). Ayrıca, FV-400 grubunun karaciğerlerinde şiddetli düzeyde hemoraji tespit edilmiştir (Figür 4.10B., Table 2). Favipiravir ve Liv-52 uygulanan LFV-200 grubunun karaciğerlerinde sadece hafif düzeyde hemorajiye rastlanırken (Figür 4.11., Table 2), favipiravir ve Liv-52 tedavisi alan LFV-400 grubunun karaciğerlerinde hafif düzeyde nekroz dışında herhangi bir patolojik bulgular izlenmedi (Figür 4.12., Table 2).



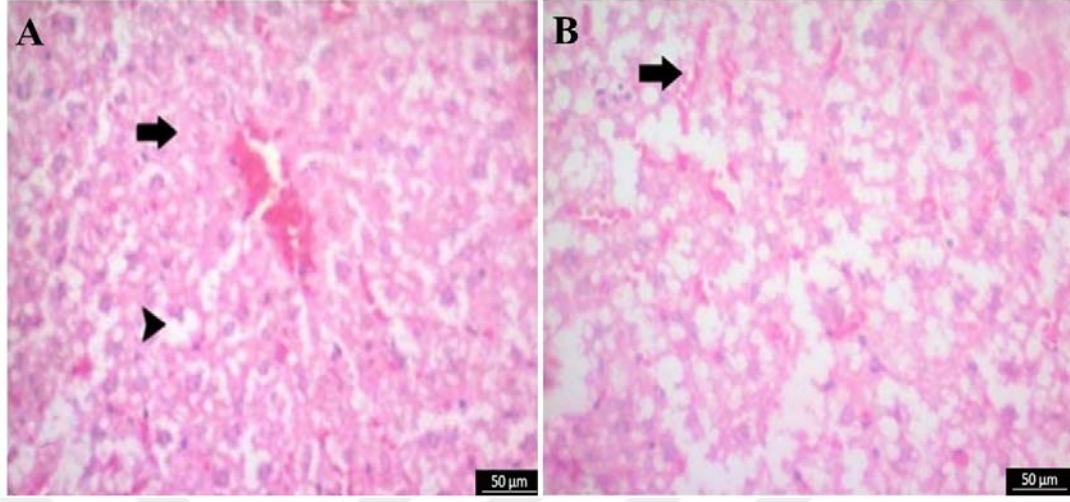
Şekil 4.8. SG Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Normal Histolojik Görünüm (H&E x 40)

SG, sağlıklı kontrol grup.



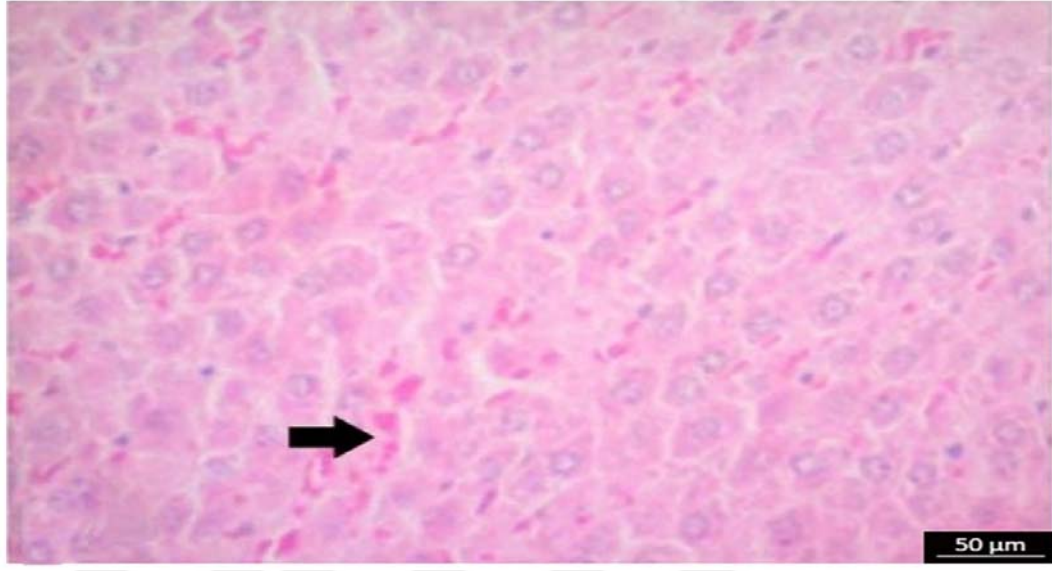
Şekil 4.9 (A-B). FV-200 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü (H&E x40)

A: orta düzeyde nekroz (ok) ve orta düzeyde hidropik dejenerasyon (okbaşı) görünümü B: orta düzeyde hemoraji (ok) görünümü (H&E x40). FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup.



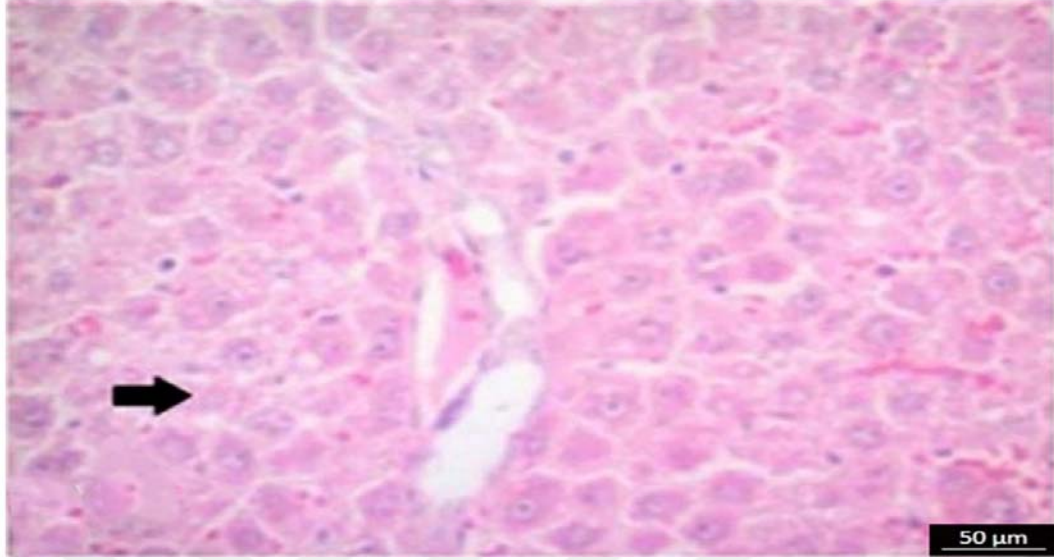
Şekil 4.10. (A-B). FV-400 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü (H&E x40)

A: şiddetli düzeyde nekroz (ok) ve hidropik dejenerasyon (okbaşı) görünümü. B: şiddetli düzeyde hemoraji (ok) görünümü FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup.



Şekil 4.11. LFV-200 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü (H&E x40)

Hafif düzeyde hemoraji (ok) görünümü. LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.



Şekil 4.12. LFV-400 Grubuna Ait Karaciğer Dokusunun Histolojik Görünümü (H&E x40).

Hafif düzeyde nekroz (ok) görünümü. LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.

Tablo 4.2. Deney Gruplarından Elde Edilen Karaciğer Dokularının Histopatolojik Derecelendirme Analiz Sonuçları

Parametreler	Deney Grupları					H	p değerleri
	SG (n=6)	FV-200 (n=6)	FV-400 (n=6)	LFV-200 (n=6)	LFV-400 (n=6)		
	Medyan (çeyrek 1- çeyrek 3)						
Nekroz	0(0-0)**	2(2-2)	3(3-3)	0(0-0.75)***	1(0-1)**	149.179	<0.001
Hidropik dejenerasyon	0(0-0)**	2(1-2)	3(2-3)	0(0-1)*	0(0-0.75)**	148.067	<0.001
Hemoraji	0(0-0)**	2(1-2)	3(2-3)	1(0-1)*	0(0-1)**	143.227	<0.001

*Histopatolojik derecelendirme: 0; hasar yok, 1; hafif hasar, 2; orta hasar, 3; şiddetli hasar. *, FV-200 ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$; **, FV-400 ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$, ***, SG ile karşılaştırıldığında $p > 0.05$. SG, sağlıklı control grup; FV-200, 200 mg/kg favipiravir uygulanan grup; FV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; LFV-200, 200 mg/kg favipiravir + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup; LFV-400, 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup + 50 mg/kg Liv-52 uygulanan grup.*

5. TARTIŞMA

Mevcut çalışmada, Liv-52'nin sıçanlarda favipiravirin yol açtığı karaciğer hasarı ve fonksiyon bozukluklarına karşı etkisi biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırıldı. Biyokimyasal bulgularımız, 200 ve 400 mg/kg dozlarda favipiravirin sıçanların karaciğer dokularında MDA miktarının anlamlı ölçüde artışına tGSH, SOD ve CAT gibi endojen antioksidanların seviyelerinde ise önemli ölçüde azalmaya neden olduğunu ortaya koydu. Bilindiği gibi MDA, çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun ana ürünü olup *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda oksidatif stresi değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir parametredir (Ahmed ve ark., 2023). İlaçlara bağlı olarak gelişen karaciğer hasarının oluşması ve şiddetlenmesinde bilinen mekanizmalar arasında oksidatif stresin ana rol oynadığı kabul edilmektedir (Villanueva-Paz ve ark., 2021; Wang ve ark., 2017). Bu nedenle çalışmamızda, favipiravir ilişkili oksidatif karaciğer hasarı MDA miktar ölçümü ile değerlendirildi. Elde edilen bulgular 200 ve 400 mg/kg dozlarda uygulanan favipiravirin sıçanların karaciğer dokularında MDA seviyelerini anlamlı düzeyde arttırdığını gösterdi. Bununla birlikte yüksek doz favipiravirin karaciğerde oluşturduğu hasarın düşük doz favipiravire göre daha belirgin olduğu tespit edildi. Yakın tarihte yapılan bir deneysel araştırmada favipiravir uygulanan grup, kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve favipiravir uygulanan grubun karaciğer dokusundaki MDA seviyelerinin anlamlı ölçüde artmış olduğu tespit edilmiştir (Bilici ve ark., 2023). Benzer şekilde Kara ve arkadaşları tarafından 200 mg/kg favipiravir ile tedavi edilen sıçanların karaciğer dokularında MDA düzeyinde artışın favipiravir ilişkili hepatotoksisitede rol oynadığı ileri sürülmüştür (Kara ve ark., 2022). Literatürden elde edilen bulgular bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte olup, favipiravirin hepatositlerde yüksek düzeyde ROS üretimini indükleyerek LPO artışına yol açtığını düşündürmektedir.

Bilindiği gibi, hücresel yanıtta oksidatif stresin üstesinden gelebilmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler gereklidir. Oksidatif süreçten antioksidan kapasitenin önemli göstergeleri olan GSH düzeyleri, SOD ve CAT aktiviteleri etkilenir. Enzimatik ve enzimatik olmayan bu antioksidanlar, oksidatif stres düzeyini

değerlendirmek için önemli parametreler olarak kabul edilir (Li ve ark., 2015). Bu sebeple bu çalışmada favipiravirin sıçanların karaciğer dokusunda tGSH düzeyleri ile, SOD ve CAT aktiviteleri üzerine etkisi değerlendirildi. Bilindiği gibi GSH glisin, sistein ve glutamik asitten oluşan bir tripeptit olup hücresel metabolizmanın önemli endojen bir bileşenidir (Pizzorno, 2014). Aynı zamanda en güçlü antioksidanlardan biri olarak kabul edilen GSH'nın büyük bir kısmı vücutta karaciğerde sentezlenmektedir (DeLeve ve Kaplowitz, 1991; Gaucher ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar, yüksek dozda alınan ilaçların GSH depolarının tükenmesine, CYP450 enzimlerinin indüksiyonuna ve glukuronidasyonun azalmasına yol açarak dokuda toksik etki oluşturduğunu göstermiştir (Begriche ve ark., 2011; Mazaleuskaya ve ark., 2015). Bu çalışmada elde edilen bulgular, 200 ve 400 mg/kg favipiravir uygulanan sıçanların karaciğer dokularında tGSH düzeylerinin azaldığını ve bu azalışın yüksek doz favipiravir grubunda daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Elde ettiğimiz bu bulgularımıza benzer şekilde, favipiravirin deney hayvanlarının karaciğer dokusunda tGSH düzeyini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Doğan ve ark., 2023; Kara ve ark., 2022). Hem mevcut çalışmanın bulguları ve hem de literatür bilgileri favipiravirin karaciğerde GSH miktarını azalttığını göstermektedir. Ayrıca, favipiravir ile ilişkili toksik metabolitlerin GSH ile yeterince konjuge edilemediğini ve buna bağlı olarak karaciğer hasarının meydana geldiğini düşündürmektedir.

Çalışmada ayrıca, favipiravirin deney hayvanlarının karaciğer dokularında SOD ve CAT gibi enzimatik antioksidan aktivitelerini anlamlı düzeyde azalttığı da görülmüştür. Favipiravir uygulaması ile hayvan gruplarında SOD aktivitesinin azalışına paralel bir şekilde CAT aktivitesinde de azalma tespit edildi. Tüm oksijen metabolize eden hücrelerin yanı sıra tüm hücre içi bölmelerin (kloroplastlar, mitokondri, çekirdekler, peroksizomlar, sitoplazma ve apoplastlar gibi) SOD içerdiği varsayılmaktadır (Mishra ve ark., 2023). Favipiravir gruplarının karaciğer dokularında aktivitesinin azaldığını tespit ettiğimiz SOD, ROS'a karşı ilk savunma hattını oluşturup süperoksit radikalinin detoksifikasyonunu katalize etmede görevlidir. Aynı zamanda, bir süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve suya dismutasyonuna da iştirak eder (Wang ve ark., 2018). Bulgularımızdan anlaşılacağı gibi, 200 ve 400 mg/kg dozlarda favipiravir sıçanların karaciğer dokusunda SOD aktivitesinde belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Mevcut

literatürde favipiravir ile ilişkili karaciğer hasarı ile SOD enzim aktivitesi arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bilici ve arkadaşları, favipiravirin neden olduğu karaciğer hasarında artan oksidatif stresin SOD aktivitesinde azalmaya yol açtığını belirtmişlerdi (Bilici ve ark., 2023). Doğan ve arkadaşları ise favipiravir uygulaması sonucu deney hayvanlarının karaciğer dokularında SOD aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir (Doğan ve ark., 2023). Literatürde SOD enzim aktivitesi ile ilgili bu farklı bulguların, uygulanan favipiravir dozu ve süresindeki farklılıklar ile ilişkili olabilmesi muhtemeldir.

Tetramerik bir enzim olan CAT temel olarak memelilerin peroksizomlarında bulunur. CAT, yağ asidi oksidasyonu sırasında üretilen hidrojen peroksitin su ve oksijene indirgenmesini destekler (Demirci-Cekic ve ark., 2022). CAT ve SOD enzimleri serbest radikalleri ortadan kaldırmak için birlikte çalışırlar ve bu enzimlerin aktivitelerindeki azalma çeşitli karaciğer hastalık durumları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kamel ve ark., 2015; Samadi ve ark., 2022). Çalışmamızın sonuçları, favipiravirin neden olduğu LPO'daki artışla birlikte azalan CAT aktivitesinin favipiravir ile ilişkili hepatosit hasarının tetiklenmesinde önemli bir rol oynadığını gösteren önceki çalışmalarla uyum sağlamaktadır (Bilici ve ark., 2023; Doğan ve ark., 2023). Ayrıca, literatürden anlaşılacağı gibi, favipiravirin sadece karaciğer dokusunda değil, diğer organ dokularında da oksidatif hasar oluşturma söz konusudur (Balcı ve ark., 2022).

Çalışmamızda ayrıca favipiravir uygulanan hayvanların kan serumunda ALT ve AST gibi karaciğer fonksiyon testleri de ölçülmüştür. Bu karaciğer fonksiyon testleri, kullanılan ilaçların yan etkilerinin değerlendirilmesinde sıklıkla tercih edilmektedir (Lala ve ark., 2023; Pannala ve ark., 2020). Dokulara spesifik olan enzimlerin kandaki seviyelerini saptamak karaciğer, kalp, böbrek gibi dokulardaki hasarın klinik teşhisine kesinlik kazandırmak amacı ile kullanılmaktadır (Evans, 2009; Lala ve ark., 2023). ALT ve AST ise karaciğer hücre hasarının hassas bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Lidbury ve Steiner, 2013; McGill, 2016). Yapılan çalışmalarda karaciğer hasarında serum ALT ve AST aktivitelerinin hepatosellüler hasarın en iyi göstergeleri içinde yer aldıkları bildirilmiştir (Evans, 2009). Karaciğer için göreceli spesifik bir parametre olan ALT, hepatositlerin sitozolünde bulunan bir enzimdir. ALT, hepatosit membran geçirgenliği arttığında veya hepatosellüler nekrozda hücrelerden salınır ve serum düzeyleri artar;

ancak, bu durumda ALT nin intraselüler düzeylerinde de azalma meydana gelir. Hepatoselüler hasarın diğer bir belirteci olan AST yalnızca karaciğerde değil aynı zamanda kalp ve iskelet kaslarında da bulunan bir enzimdir (Lidbury ve Steiner, 2013). Bu çalışmada favipiravir uygulanan sıçanların serum ALT ve AST düzeylerinde artış tespit edildi. Ayrıca favipiravir 400 mg/kg dozda ALT ve AST düzeylerini 200 mg/kg dozuna göre daha anlamlı olarak yükseltti. Bilindiği gibi, ALT'nin büyük kısmı sitoplazmada, AST'nin ise %80'i mitokondridedir. Bu nedenle hepatosit membran hasarında ALT düzeyi, AST'den daha yüksek olarak tespit edilir (Lidbury ve Steiner, 2013). Ancak mitokondrial membran hasarı oluştuğunda AST düzeyi de yükselir. Bu yükseliş mitokondri membran hasarında, AST enziminin dolaşıma geçmesinden ileri gelir (Wallach, 2007). Al-Shammari ve arkadaşları, herhangi bir karaciğer hastalığı olmayan COVID-19 hastalarında 5 gün boyunca favipiravir uygulamasının ALT ve AST aktivitelerinde artışa neden olduğunu, fakat bu artışın anlamlı düzeye ulaşmadığını bildirmişlerdir (Al-Shammari ve Ali Shahadha, 2022). Mevcut çalışmada ALT ve AST ölçümleri üzerindeki bulgularımız Al-Shammari ve arkadaşlarının bulgularının aksine; favipiravir ile indüklenen oksidatif stresin hepatositlerin yapısal bütünlüğünde hasara yol açarak serum ALT ve AST düzeylerinin yükselmesine neden olduğunu düşündürmektedir. Bu düşüncemizi destekleyen Rashid ve arkadaşlarının çalışmasında karaciğer enzim düzeylerinin yükselmesi, antioksidan savunma sisteminin tükenmesi ve SOR oluşumuyla yakından ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Rashid ve ark., 2013).

Bu çalışmada ayrıca, favipiravir ile ilişkili karaciğer hasarında artan diğer bir enzim LDH olmuştur. Anaerobik glikolizin önemli enzimlerden biri olan LDH, vücuttaki hemen hemen her hücrede yaygın olarak bulunur. Hücrelerin sitoplazmasında bulunan LDH, akut ve kronik hücre hasarında hücre dışına çıkarak serum veya plazmada artış gösterir (Li ve ark., 2022). Deney sonuçlarımız 200 ve 400 mg/kg dozlarda favipiravir uygulanan gruplardaki sıçanların serum LDH düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde bir artış olduğunu gösterdi. Literatürde favipiravir ilişkili karaciğer hasarında LDH aktivitesini inceleyen çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bununla birlikte çalışma sonuçlarımızı destekler nitelikte, İzci-Çetinkaya ve arkadaşları favipiravir ile tedavi edilen hasta grubunda COVID-19 tanısı konulmuş hastaların serum ALT değerlerinin yanısıra LDH düzeylerinde de anlamlı bir artış tespit etmişlerdi ve sunulan bu sonuçlar bizim bulgularımızı destekler nitelikteydi (İzci-Çetinkaya ve ark., 2020).

Favipiravirin olası karaciğer toksisitesine karşı etkisini test ettiğimiz Liv-52, MDA'nın favipiravir ile artmasını anlamlı olarak azaltmıştır. Literatürde, Liv-52'nin favipiravir ilişkili hepatotoksistede etkisini gösteren çalışmalara rastlanmadı. Fakat, Cimen ve arkadaşları karaciğer iskemi reperfüzyon modeli oluşturulan sıçanların karaciğer dokularında artan MDA düzeylerinin Liv-52 uygulaması ile anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir (Cimen ve ark., 2020). Aynı zamanda Sandhir ve Gill, Liv-52'nin etanol ile ilişkili karaciğer hasarında LPO'yu baskılayarak hepatoprotektif etki gösterdiğini rapor etmiştir (Sandhir ve Gill, 1999). Yıldırım ve arkadaşları da Liv-52'nin sıçan karaciğerlerinde MDA'nın doksorubisin ile artışını anlamlı düzeyde inhibe ettiğini savunmuşlardır (Yıldırım ve ark., 2022). *In vitro* yapılan çalışmalarda da Liv-52, LPO reaksiyonunu baskılamada etkili bulunmuştur (Suja ve ark., 1997). Liv-52'nin sıçan karaciğerinde favipiravirle MDA düzeyinin artışını anlamlı önlemiş olması literatür bilgileri ile de örtüşmektedir. Bu bulgularımız ve literatür bilgileri Liv-52'nin karaciğer dokusunu favipiravirin oksidatif hasarına karşı koruduğuna işaret etmektedir.

Deney sonuçlarımıza göre Liv-52, favipiravirin karaciğerde neden olduğu enzimatik olmayan endojen antioksidan olan tGSH tükenmesine karşı etkili olduğu anlaşılmıştır. Vidyashankar ve arkadaşları bakır ile indüklenen *in vitro* karaciğer toksisitesinde azalan GSH düzeylerinin Liv-52 uygulaması ile anlamlı engellendiğini ve Liv-52'nin hepatoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Vidyashankar ve Patki, 2010). Bir başka çalışmada ise Liv-52'nin, tert-butil hidroperoksin HepG2 hücrelerinde neden olduğu GSH tükenmesini durdurarak hepatositleri oksidatif hasardan koruduğu tespit edilmiştir (Vidyashankar ve ark., 2010). Hepatositlerde GSH içeriğinin azalmasının karaciğer hasarı ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, Liv-52, GSH depolarının boşalmasını önlemiştir. Bu sonuçlarda, Liv-52'nin karaciğer dokusunda favipiravir ile oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değişmesi durumunu tersine çevirdiğini düşündürmektedir.

Favipiravirin karaciğer toksisitesine karşı etkisini test ettiğimiz Liv-52, SOD ve CAT aktivitelerinin azalmasını da anlamlı baskılamıştır. Literatürde Liv-52'nin karaciğer dokusunda favipiravir kullanımına bağlı SOD ve CAT aktivitelerinde meydana gelen değişikliklere karşı etkisini araştıran bilgilere rastlanmadı. Ancak, Gandhi ve Kakkar yaptıkları çalışmada, sıçan karaciğerinde SOD ve CAT aktivitelerinin parasetamol

uygulanmasıyla meydana gelen azalışının Liv-52 tedavisi ile hafifletildiği bildirilmiştir (Gandhi ve Kakkar, 2019). Bir başka deneysel çalışmada ise, doksorubisinin neden olduğu oksidatif karaciğer hasarında Liv-52'nin SOD aktivitesinin baskılanmasını inhibe ettiği ve hepatoprotektif etki gösterdiği bulunmuştur (Yildirim ve ark., 2022). Yine yapılan *in vitro* bir çalışmada, Liv-52'nin karaciğer hücrelerinde SOD aktivitesini % 81, CAT aktivitesini ise %46 oranında artırdığı rapor edilmiştir (Vidyashankar ve Patki, 2010). Hem çalışmamızın sonuçları hem de literatür verileri Liv-52'nin oksidan sistemlerin indüklenmesini ve antioksidan savunma sistemlerinin harcanmasını baskılayarak karaciğer dokusunu oksidatif hasardan koruduğunu ortaya koymaktadır.

Sunulan çalışmamızda Liv-52 tedavisinin favipiravir ile ilişkili karaciğer hasarına bağlı ALT, AST ve LDH enzim aktivitelerindeki artışı normal değerlere yaklaştırması dikkati çekmiştir. Sıçanlarda favipiravirin neden olduğu karaciğer hasarında artan adı geçen enzimlere Liv-52'nin etkisini değerlendiren herhangi bir çalışma literatürde bulunamadı. Fakat Huseini ve arkadaşları Liv-52 tedavisinin karaciğer sirozlu hastalarda ALT ve AST artışını önleyerek hepatoprotektif etki gösterdiğini ortaya koymuş, bu etkiyi de Liv-52'nin yapısında bulunan bileşenlerin anti-oksidatif ve immünomodülatör özellikleri ile ilişkilendirmiştir (Huseini ve ark., 2005). Cimen ve arkadaşları da Liv-52'nin ALT ve AST'nin yanısıra LDH enziminin serum aktiviteleri üzerindeki etkisini değerlendirmiş ALT, AST ve LDH aktivitelerinin Liv-52 ile önemli ölçüde düştüğünü bildirmişlerdir (Cimen ve ark., 2020). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, Liv-52'nin antioksidan özelliği sayesinde favipiravir kaynaklı oksidatif stresi önleyerek karaciğer hasarına karşı koruyucu özellik gösterdiğini düşündürmektedir.

Liv-52'nin favipiravir hepatotoksitesine etkisini araştırdığımız bu çalışmada, karaciğer dokuları histopatolojik olarak da değerlendirildi. Histopatolojik deney sonuçları, sadece sağlıklı kontrol grubunun karaciğer dokularında yapısal bozukluklara rastlanmadığını göstermiştir. Ancak, 200 mg/kg dozda favipiravir uygulanan hayvanların karaciğerinde orta düzeyde nekroz, hidropik dejenerasyon ve hemoraji bulgularına rastlanmıştır. Bu histopatolojik hasar 400 mg/kg dozunda favipiravir alan hayvan grubunda daha şiddetli olarak saptanmıştır. Liv-52 alan hayvanların karaciğerinde histopatolojik bulguların önemli ölçüde azalmış olduğu karaciğer dokularının sağlıklı grubuna yakın olduğu görülmüştür. Bu histopatolojik hasarın favipiravirin düşük dozunda hafif, yüksek

dozunda ise şiddetlendiği, yani doza bağlı olarak hasarın da arttığı bundan önce yapılan çalışmalarda da ortaya konmuştu (Bilici ve ark., 2023). Ayrıca, favipiravirin karaciğer dokusunda oluşturduğu nekroz ve diğer histopatolojik hasar şiddetinin uygulama süresine de bağlı olduğu ifade edilmiştir. Kara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada histopatolojik hasarın oksidan artışı ve antioksidan azalışı ile bağlantılı olduğunu savunmuşlardır (Kara ve ark., 2022). Doğan ve arkadaşları da, favipiravir uygulanan hayvanların karaciğerinde vena santrallerinde hiperemi, çift çekirdekli hepatositler, karaciğerin perisantral bölgesindeki hepatositlerde dejenerasyon ve nekrotik değişikliklere rastladıklarını rapor etmişlerdir (Doğan ve ark., 2023). Literatürde, Liv-52'nin çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen karaciğer dokusundaki histopatolojik hasarı engelleyici yönde etki gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur. Yildirim ve ark. tarafından doksorubisine bağlı hepatotoksitede, Liv-52 ön uygulamasının, karaciğerin histolojik yapısındaki bozulmayı hafiflettiği gösterilmiştir (Yildirim ve ark., 2022). Yine karbontetraklorürle beraber uygulanan Liv-52'nin deney hayvanlarında karaciğer dokusunun histolojik yapısındaki bozulmayı önemli ölçüde engellediği ortaya konmuştur (Siddique ve ark., 2022).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; Favipiravir uygulanan hayvanların karaciğer dokusunda oksidatif hasarın geliştiği saptanmıştır. Favipiravir hayvanların karaciğer dokularında oksidan düzeylerinin artışına yol açmıştır. Favipiravir ayrıca hayvanların karaciğer dokusunda tGSH, SOD ve CAT gibi enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidan düzeylerinin azalmasına neden olmuştur. Oksidan düzeyleri yüksek, antioksidan düzeyleri düşük olan favipiravir grubunun kan serumunda ALT, AST ve LDH gibi karaciğer hasarını belirlemede kullanılan enzim aktivitelerinin yükseldiği görülmüştür. Favipiravir 400 mg/kg dozda MDA, ALT, AST ve LDH düzeylerini 200 mg/kg dozuna göre daha anlamlı yükseltmiştir. Favipiravir ayrıca 400 mg/kg dozda tGSH, SOD ve CAT düzeylerini 200 mg/kg dozuna göre daha anlamlı düşürmüştür. Favipiravirin karaciğer dokusunda doza bağımlı olarak histopatolojik hasar oluşturduğu görülmüştür. Liv-52, karaciğer dokusunda favipiravir ilişkili oksidanların artışını ve antioksidanların azalışını anlamlı önlemiştir. Liv-52, ayrıca kan serumunda ALT, AST ve LDH aktivitelerinin favipiravirle artışını anlamlı inhibe etmiştir. Liv-52, karaciğer dokusunda 400 mg/kg favipiravir ilişkili şiddetli histopatolojik hasarı hafifletmiş, 200 mg/kg dozunun oluşturduğu orta şiddetteki hasarı ortadan kaldırmıştır.

Biyokimyasal ve histopatolojik deney sonuçlarımız, Liv-52'nin favipiravire bağlı hepatotoksitenin tedavisinde yararlı olabileceğine işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

- Agal, S. and Prasad, S. (2007). Liv. 52 DS Tablets Evaluation of Efficacy and Safety in Alcoholic Liver Cirrhosis. *Medicine Update*, 15, 25-32.
- Aguilar Diaz De Leon, J. and Borges, C.R. (2020). Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *Journal of Visualized Experiments*, 12(159), e61122.
- Ahmed, A.R., Farris, F.F. and Ray, S.D. (2023). Lipid Peroxidation. Eriřim Adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128243152006242> Eriřim Tarihi: 10.11.2023.
- Al-Shammari, A.H. and Ali Shahadha, M.A. 2022. The Effect of Favipiravir on Liver Enzyme Among Patients with Mild to Moderate COVID-19 Infection: A Prospective Cohort Study. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*, 29(4), e46-e54.
- Ali, S.I., Gopalakrishnan, B. and Venkatesalu, V. (2017). Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Achillea millefolium* L.: A Review. *Phytotherapy research*, 31(8), 1140-1161.
- Almutairi, A.O., El-Radi, M.Z., Althubiti, M., Alhindi, Y.Z., Ayoub, N., Alzahrani, A.R., Al-Ghamdi, S.S. and Eid, S.Y. (2023). Liver Injury in Favipiravir-Treated COVID-19 Patients: Retrospective Single-Center Cohort Study. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 8(2), 129.
- Andrés, C.M.C., Pérez de la Lastra, J.M., Andrés Juan, C., Plou, F.J. and Pérez-Lebeña, E. (2023). Superoxide Anion Chemistry-Its Role at the Core of the Innate Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1841.
- Aslankoç, R., Demirci, D., Ümmahan, İ., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş. ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Bai, C.-Q., Mu, J.-S., Kargbo, D., Song, Y.-B., Niu, W.-K., Nie, W.-M., Kanu, A., Liu, W.-W., Wang, Y.-P. and Dafaie, F. (2016). Clinical and Virological Characteristics of Ebola Virus Disease Patients Treated with Favipiravir (T-705)-Sierra Leone, 2014. *Clinical Infectious Diseases* 63(10), 1288-1294.
- Balcı, S., Çöllüoğlu, Ç., Yavuzer, B., Bulut, S., Altındağ, F., Akbaş, N. and Süleyman, H. 2022. Effect of Low and High Dose of Favipiravir on Ovarian and Reproductive Function in Female Rats: Biochemical and Histopathological Evaluation. *General Physiology and Biophysics*, 41(5), 457-463.
- Begriche, K., Massart, J., Robin, M.A., Borgne-Sanchez, A. and Fromenty, B. (2011). Drug-induced Toxicity on Mitochondria and Lipid Metabolism: Mechanistic Diversity and Deleterious Consequences for The Liver. *Journal of Hepatology*, 54(4), 773-794.
- Bilici, S., Altuner, D., Suleyman, Z., Bulut, S., Sarigul, C., Gulaboglu, M., Altindag, F., Ozcecek, A., Gursul, C. and Suleyman, H. (2023). Favipiravir-Induced

- Inflammatory and Hydropic Degenerative Liver Injury in Rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 32(8), 881-887.
- Bilir, A., Atay, E., Firat, F. and Kundakci, Y.E. (2022). Investigation of Developmental Toxicity of Favipiravir on Fetal Bone and Embryonic Development. *Birth Defects Research*, 114(17), 1092-1100.
- Bischoff, K., Mukai, M. and Ramaiah, S.K. (2018). Liver Toxicity. In: *Veterinary Toxicology* (p. 239-257). United States: Academic Press.
- Bouayed, J. and Bohn, T. (2010). Exogenous Antioxidants--Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses Versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228-237.
- Chaudhary, A. and Chauhan, V. (2015). Lactate Dehydrogenase As an Indicator of Liver Diseases. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*, 3(5), S20.
- Chen, X., Dai, X., Liu, Y., Yang, Y., Yuan, L., He, X. and Gong, G. (2022). Solanum Nigrum Linn.: An Insight into Current Research on Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 918071.
- Cimen, O., Eken, H., Keskin Cimen, F., Cekic, A.B., Kurt, N., Ozbek Bilgin, A., Suleyman, B., Suleyman, H., Mammadov, R. and Pehlivanoglu, K. (2020). The Effect of Liv-52 on Liver Ischemia Reperfusion Damage in Rats. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 21(1), 1-9.
- Cordiano, R., Di Gioacchino, M., Mangifesta, R., Panzera, C., Gangemi, S. and Minciullo, P.L., 2023. Malondialdehyde As a Potential Oxidative Stress Marker for Allergy-Oriented Diseases: An Update. *Molecules*, 28(16), 5979.
- Dange, S. (2010). Liv. 52 in the Prevention of Hepatotoxicity in Patients Receiving Antitubercular Drugs: A Metaanalysis. *Indian Journal of Clinical Practice*, 21(2), 81-86.
- Del Rio, D., Stewart, A.J. and Pellegrini, N. (2005). A Review of Recent Studies on Malondialdehyde As Toxic Molecule and Biological Marker of Oxidative Stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
- DeLeve, L.D. and Kaplowitz, N. (1991). Glutathione Metabolism and Its Role in Hepatotoxicity. *Pharmacology and Therapeutics*, 52(3), 287-305.
- Demirci-Cekic, S., Özkan, G., Avan, A.N., Uzunboy, S., Çapanoğlu, E. and Apak, R. (2022). Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 209, 114477.
- Deng, W., Yang, C., Yang, S., Chen, H., Qiu, Z. and Chen, J. (2022). Evaluation of Favipiravir in The Treatment of COVID-19 Based on The Real-World. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 20(4), 555-565.
- Dindar Demiray, E.K., Durgun, M. ve Mizrak, S. (2022). SARS COV2 Tedavisinde Favipiravir Yan Etkilerinin Araştırılması. *Troia Medical Journal*, 3(1), 15-18.
- Dogan, E., Ceviker, S.A., Vurucu, S., Sener, A., Yuksel, B., Gonlugur, U., Simsek, T. ve Ulusoy, M.H. (2021). SARS-COV-2 Tedavisi Olarak Favipiravir Uygulanan Hastalarda Yan Etki Sikliginin Arastirilmesi. *KLIMIK Journal* 34(2), 95-99.

- Doğan, M.F., Kaya, K., Demirel, H.H., Başeğmez, M., Şahin, Y. and Çiftçi, O. (2023). The Effect of Vitamin C Supplementation on Favipiravir-Induced Oxidative Stress and Proinflammatory Damage in Livers and Kidneys of Rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 45, 521-526.
- Doi, Y., Hibino, M., Hase, R., Yamamoto, M., Kasamatsu, Y., Hirose, M., Mutoh, Y., Homma, Y., Terada, M., Ogawa, T., Kashizaki, F., Yokoyama, T., Koba, H., Kasahara, H., Yokota, K., Kato, H., Yoshida, J., Kita, T., Kato, Y., Kamio, T., Kodama, N., Uchida, Y., Ikeda, N., Shinoda, M., Nakagawa, A., Nakatsumi, H., Horiguchi, T., Iwata, M., Matsuyama, A., Banno, S., Koseki, T., Teramachi, M., Miyata, M., Tajima, S., Maeki, T., Nakayama, E., Taniguchi, S., Lim, C.K., Saijo, M., Imai, T., Yoshida, H., Kabata, D., Shintani, A., Yuzawa, Y. and Kondo, M. (2020). A Prospective, Randomized, Open-Label Trial of Early versus Late Favipiravir Therapy in Hospitalized Patients with COVID-19. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(12), e01897.
- Driouich, J.-S., Cochin, M., Lingas, G., Moureau, G., Touret, F., Petit, P.-R., Piorkowski, G., Barthélémy, K., Laprie, C. and Coutard, B. (2021). Favipiravir Antiviral Efficacy Against SARS-COV-2 in a Hamster Model. *Nature Communications*, 12(1), 1735.
- Du, Y.X. and Chen, X.P. (2020). Favipiravir: Pharmacokinetics and Concerns About Clinical Trials for 2019-nCoV Infection. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 108(2), 242-247.
- Erbaş, E., Celep, N.A., Tekiner, D., Genç, A. and Gedikli, S. (2023). Assessment of Toxicological Effects of Favipiravir (T-705) on The Lung Tissue of Rats: An Experimental Study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, e23536.
- Evans, G.O. (2009). *Animal Clinical Chemistry: A Practical Handbook for Toxicologists and Biomedical Researchers* (p. 1-368). Florida: CRC Press.
- Furuta, Y., Gowen, B.B., Takahashi, K., Shiraki, K., Smee, D.F. and Barnard, D.L. (2013). Favipiravir (T-705), a Novel Viral RNA Polymerase Inhibitor. *Antiviral Research*, 100(2), 446-454.
- Furuta, Y., Komeno, T. and Nakamura, T. (2017). Favipiravir (T-705), a Broad Spectrum Inhibitor of Viral RNA Polymerase. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 93(7), 449-463.
- Furuta, Y., Takahashi, K., Fukuda, Y., Kuno, M., Kamiyama, T., Kozaki, K., Nomura, N., Egawa, H., Minami, S., Watanabe, Y., Narita, H. and Shiraki, K. (2002). In Vitro and in Vivo Activities of Anti-Influenza Virus Compound T-705. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(4), 977-981.
- Furuta, Y., Takahashi, K., Kuno-Maekawa, M., Sangawa, H., Uehara, S., Kozaki, K., Nomura, N., Egawa, H. and Shiraki, K. (2005). Mechanism of Action of T-705 Against Influenza Virus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(3), 981-986.
- Gandhi, A., Kakkar, P., 2019. IDDF2019-ABS-0326 Evaluation of the Effects of The Hydroalcoholic Extract of Liv. 52 DS on Paracetamol Induced Liver Toxicity and Oxidative Stress in Rats. *Gut*, 68(1), A60.

- Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P. and Parent, M. (2018). Glutathione: Antioxidant Properties Dedicated to Nanotechnologies. *Antioxidants (Basel)*, 7(5), 62.
- Ghasemnejad-Berenji, M. and Pashapour, S. (2021). Favipiravir and COVID-19: A Simplified Summary. *Drug Research*, 71(3), 166-170.
- Golan, Y., Campos, J.A.S., Woolson, R., Cilla, D., Hanabergh, R., Gonzales-Rojas, Y., Lopez, R., Finberg, R. and Balboni, A. (2023). Favipiravir in Patients With Early Mild-to-moderate Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Randomized Controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases*, 76(3), e10-e17.
- Gómez, X., Sanon, S., Zambrano, K., Asquel, S., Bassantes, M., Morales, J.E., Otáñez, G., Pomaquero, C., Villarroel, S. and Zurita, A. (2021). Key Points for The Development of Antioxidant Cocktails to Prevent Cellular Stress and Damage Caused By Reactive Oxygen Species (ROS) During Manned Space Missions. *NPJ Microgravity*, 7(1), 35.
- Gulcin, İ., 2020. Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gunaydin-Akyildiz, A., Aksoy, N., Boran, T., Ilhan, E.N. and Ozhan, G. (2022). Favipiravir Induces Oxidative Stress and Genotoxicity in Cardiac and Skin Cells. *Toxicology Letters*, 371, 9-16.
- Hogade, M. and Kuthar, S. (2021). Hepatoprotective Activity of Morus Alba (Linn). Leaves Extract Against Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8(3), 124-128.
- Hung, D.T., Ghula, S., Aziz, J.M.A., Makram, A.M., Tawfik, G.M., Abozaid, A.A.-F., Pancharatnam, R.A., Ibrahim, A.M., Shabouk, M.B. and Turnage, M. (2022). The Efficacy and Adverse Effects of Favipiravir on COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Published Clinical Trials and Observational Studies. *International Journal of Infectious Diseases*, 120, 217-227.
- Huseini, H.F., Alavian, S., Heshmat, R., Heydari, M. and Abolmaali, K. (2005). The Efficacy of Liv-52 on Liver Cirrhotic Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled First Approach. *Phytomedicine*, 12(9), 619-624.
- Ighodaro, O. and Akinloye, O. (2018). First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in The Entire Antioxidant Defence Grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
- Islamoglu, M.S., Dokur, M., Borku Uysal, B. and Onal, B. (2022). Angioedema After Favipiravir Treatment: Two Cases. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(9), 3704-3706.
- Ison, M.G. and Scheetz, M.H. (2021). Understanding the Pharmacokinetics of Favipiravir: Implications for Treatment of Influenza and COVID-19. *EBioMedicine* 63, 103204.
- İzci-Çetinkaya, F., Karagöz, H. ve Yıldız, O. (2020). COVID-19 Tedavisinde Favipiravir ve Hidroksiklorokin Karaciğer Güvenliğinin Karşılaştırılması. *Klinik Dergisi*, 33(3), 235-240.

- Jagetia, G.C. and Ganapathi, N. (1989). Inhibition of Clastogenic Effect of Radiation by Liv. 52 in the Bone Marrow of Mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 224(4), 507-510.
- Jeyaprakash, K. and Chinnaswamy, P. (2004). Hypocholesterolaemic Effect of Spirulina and Liv-52 in Lead Induced Toxicity in Albino Rats. *Ancient Science of Life*, 24(2), 73-78.
- Jiang, C., Zhang, C., Song, J., Ji, X. and Wang, W. (2021). Cytidine-Gold Nanoclusters as Peroxidase Mimetic for Colorimetric Detection of Glutathione (GSH), Glutathione Disulfide (GSSG) and Glutathione Reductase (GR). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 250, 119316.
- Jie, Z., Liu, J., Shu, M., Ying, Y. and Yang, H. (2022). Detection Strategies for Superoxide Anion: A review. *Talanta*, 236, 122892.
- Jin, Z., Smith, L.K., Rajwanshi, V.K., Kim, B. and Deval, J. (2013). The Ambiguous Base-Pairing and High Substrate Efficiency of T-705 (Favipiravir) Ribofuranosyl 5'-Triphosphate Towards Influenza A Virus Polymerase. *PLoS One*, 8(7), e68347.
- Joshi, S., Parkar, J., Ansari, A., Vora, A., Talwar, D., Tiwaskar, M., Patil, S. and Barkate, H. (2021). Role of Favipiravir in The Treatment of COVID-19. *International Journal of Infectious Diseases*, 102, 501-508.
- Juan, C.A., Pérez de la Lastra, J.M., Plou, F.J. and Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.
- Kalantari, H., Forouzandeh, H., Khodayar, M.J., Siahpoosh, A., Saki, N. and Kheradmand, P. (2018). Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide-induced acute liver damage in mice. *Journal of traditional and complementary medicine*, 8(1), 120-127.
- Kalem, I.K., Bhat, Z., Kumar, S. and Desai, A. (2017). Terminalia Arjuna: A Novel Natural Preservative for Improved Lipid Oxidative Stability and Storage Quality Of Muscle Foods. *Food Science and Human Wellness*, 6(4), 167-175.
- Kamali, A., Sarmadian, H., Mahmoodiyeh, B., Valibeik, S., Farmani, F. and Bashirgonbadi, Z. (2023). Evaluation of The Effect of Favipiravir on Patients with COVID-19. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 12(2), 242-245.
- Kamel, H.H., Sarhan, R.M. and Saad, G.A. (2015). Biochemical Assessment of Oxidative Status Versus Liver Enzymes in Patients with Chronic Fascioliasis. *Journal of Parasitic Diseases*, 39(4), 628-633.
- Kantharia, C., Kumar, M., Jain, M.K., Sharma, L., Jain, L. and Desai, A. (2023). Hepatoprotective Effects of Liv. 52 in Chronic Liver Disease Preclinical, Clinical, and Safety Evidence: A Review. *Gastroenterology Insights*, 14(3), 293-308.
- Kara, A., Yakut, S., Caglayan, C., Atçalı, T., Ulucan, A. and Kandemir, F.M., 2022. Evaluation of The Toxicological Effects of Favipiravir (T-705) on Liver and Kidney in Rats: Biochemical and Histopathological Approach. *Drug and Chemical Toxicology*, 46(3), 546-556.

- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. (2016a). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. (2016b). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.
- Karole, S., Shrivastava, S., Thomas, S., Soni, B., Khan, S., Dubey, J., Dubey, S.P., Khan, N. and Jain, D.K. (2019). Polyherbal Formulation Concept for Synergic Action: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1-s), 453-466.
- Kolhapure, S. and Mitra, S. (2004). Meta-Analysis of 50 Phase III Clinical Trials in Evaluation of Efficacy and Safety of Liv. 52 in Infective Hepatitis. *Medicine Update*, 12(2), 51.
- Konstantinova, I.D., V, L.A., Fateev, I.V. and Esipov, R.S. (2022). Favipiravir and Its Structural Analogs: Antiviral Activity and Synthesis Methods. *Acta Naturae*, 14(2), 16-38.
- Kumar, P., Kulkarni, A., Sharma, M., Rao, P.N. and Reddy, D.N. (2021a). Favipiravir-Induced Liver Injury in Patients with Coronavirus Disease 2019. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 9(2), 276-278.
- Kumar, P., Shruthi, R., Bindu, I. and Raghavendra, P. (2021b). Pharmacognosy, Phytochemistry, and Molecular Studies of an Important Medicinal Herb Achillea Millefolium L. *Ayu*, 42(2), 93-102.
- Łagocka, R., Dziedziejko, V., Kłos, P. and Pawlik, A. (2021). Favipiravir in Therapy of Viral Infections. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 273.
- Lala, V., Zubair, M. and Minter, D.A. (2023). Liver Function Tests, In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Lennicke, C. and Cochemé, H.M. (2021). Redox Metabolism: ROS As Specific Molecular Regulators of Cell Signaling and Function. *Molecular Cell*, 81(18), 3691-3707.
- Li, D., Ding, Z., Du, K., Ye, X. and Cheng, S. (2021). Reactive Oxygen Species as a Link between Antioxidant Pathways and Autophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 5583215.
- Li, G.Y., Gao, H.Y., Huang, J., Lu, J., Gu, J.K. and Wang, J.H. (2014). Hepatoprotective Effect of Cichorium Intybus L., A Traditional Uighur Medicine, Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Fibrosis in Rats. *World Journal of Gastroenterology*, 20(16), 4753-4760.
- Li, S., Tan, H.Y., Wang, N., Zhang, Z.J., Lao, L., Wong, C.W. and Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087-26124.
- Li, X., Yang, Y., Zhang, B., Lin, X., Fu, X., An, Y., Zou, Y., Wang, J.X., Wang, Z. and Yu, T. (2022). Lactate Metabolism in Human Health and Disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 305.
- Lidbury, J.A., Steiner, J.M., 2013. Chapter 61 - Liver, in: Washabau, R.J., Day, M.J. (Eds.), *Canine and Feline Gastroenterology*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 849-957.

- Lovell, M.A. and Markesbery, W.R. (2007). Oxidative DNA Damage in Mild Cognitive Impairment and Late-Stage Alzheimer's Disease. *Nucleic Acids Research*, 35(22), 7497-7504.
- Madelain, V., Nguyen, T.H.T., Olivo, A., De Lamballerie, X., Guedj, J., Taburet, A.-M. and Mentré, F. (2016). Ebola Virus Infection: review Of The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drugs Considered for Testing in Human Efficacy Trials. *Clinical Pharmacokinetics*, 55(8), 907-923.
- Malkoc, I., Cetin, N., Altuner, D., Hacimuftuoglu, A., Gursan, N., Bakan, E., Akcay, F. and Suleyman, H. (2012). Comparative Review of Biochemistry and Cell Anatomy of The Hepatic Tissue in Rats Administered Some Anti Hypertensive Drug for a Long Time. *Latin American Journal of Pharmacy*, 31, 537-544.
- Manabe, T., Kambayashi, D., Akatsu, H. and Kudo, K. (2021). Favipiravir for The Treatment of Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 1-13.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F.K. and Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione Peroxidase Family - An Evolutionary Overview. *The FEBS Journal*, 275(15), 3959-3970.
- Mathur, R., Mathur, S., Prakash, A. (1989). Liv-52 Protection Against Beryllium Toxicity in Female Albino Rats. *Reproductive Toxicology*, 3, 249-260.
- Mazaleuskaya, L.L., Sangkuhl, K., Thorn, C.F., FitzGerald, G.A., Altman, R.B. and Klein, T.E. (2015). PharmGKB Summary: Pathways of Acetaminophen Metabolism at The Therapeutic Versus Toxic Doses. *Pharmacogenetics and Genomics*, 25(8), 416-426.
- McGill, M.R. (2016.) The Past and Present of Serum Aminotransferases and The Future of Liver Injury Biomarkers. *EXCLI Journal*, 15, 817-828.
- McKimm-Breschkin, J.L. and Fry, A.M. (2016). Meeting Report: 4th ISIRV Antiviral Group Conference: Novel Antiviral Therapies for Influenza and Other Respiratory Viruses. *Antiviral Research* 129, 21-38.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., 2018. Endogenous Non-Enzymatic Antioxidants in The Human Body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68-78.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A. and Shen, G. (2023). Achieving Abiotic Stress Tolerance in Plants Through Antioxidative Defense Mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
- Mukherjee, P.K., Harwansh, R.K., Bahadur, S., Banerjee, S., Kar, A., Chanda, J., Biswas, S., Ahmmed, S.M. and Katiyar, C. (2017). Development of Ayurveda–Tradition to Trend. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 10-24.
- Murotomi, K., Umeno, A., Shichiri, M., Tanito, M. and Yoshida, Y. (2023). Significance of Singlet Oxygen Molecule in Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2739.
- Nguyen, T.H., Guedj, J., Anglaret, X., Laouénan, C., Madelain, V., Taburet, A.M., Baize, S., Sissoko, D., Pastorino, B., Rodallec, A., Piorkowski, G., Carazo, S., Conde, M.N., Gala, J.L., Bore, J.A., Carbonnelle, C., Jacquot, F., Raoul, H., Malvy, D.,

- de Lamballerie, X. and Mentré, F. (2017). Favipiravir Pharmacokinetics in Ebola-Infected Patients of The JIKI Trial Reveals Concentrations Lower Than Targeted. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(2), e0005389.
- Nisar, J., Ali Shah, S.M., Ayaz, S., Akram, M., Rashid, A., Mustafa, I. and Nisar, Z. (2023). In Vitro Comparative Evaluation of Tamarix Gallica Extracts for Antioxidant and Antidiabetic Activity. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 248(3), 253-262.
- Oestereich, L., Lüdtke, A., Wurr, S., Rieger, T., Muñoz-Fontela, C. and Günther, S. (2014). Successful Treatment of Advanced Ebola Virus Infection with T-705 (Favipiravir) in A Small Animal Model. *Antiviral Research*, 105, 17-21.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. and Yönden, Z. (2015). Oxidative Stress and Its Impacts on Intracellular Lipids, Proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Pannala, V.R., Estes, S.K., Rahim, M., Trenary, I., O'Brien, T.P., Shiota, C., Printz, R.L., Reifman, J., Oyama, T., Shiota, M., Young, J.D. and Wallqvist, A. (2020). Mechanism-Based Identification of Plasma Metabolites Associated with Liver Toxicity. *Toxicology*, 441, 152493.
- Patwardhan, B. (2014). Bridging Ayurveda with Evidence-Based Scientific Approaches in Medicine. *The EPMA Journal*, 5(1), 19.
- Perović, J., Tumbas Šaponjac, V., Kojić, J., Krulj, J., Moreno, D.A., García-Viguera, C., Bodroža-Solarov, M. and Ilić, N. (2021). Chicory (Cichorium Intybus L.) As a food Ingredient - Nutritional Composition, Bioactivity, Safety, and Health Claims: A Review. *Food chemistry*, 336, 127676.
- Pisoschi, A.M. and Pop, A. (2015). The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Pisoschi, A.M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G. and Serban, A.I. (2021). Oxidative Stress Mitigation by Antioxidants-An Overview on Their Chemistry and Influences on Health Status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763.
- Pizzorno, J. (2014). Glutathione! *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 13(1), 8-12.
- Pravda, J. (2020). Hydrogen Peroxide and Disease: Towards a Unified System of Pathogenesis and Therapeutics. *Molecular Medicine*, 26(1), 41.
- Rahnavard, R., Razavi, N., 2017. A Review on The Medical Effects of Capparis Spinosa L. *Advanced Herbal Medicine*, 3(1), 44-53.
- Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S.T., Arjumand, W., Hasan, S.K. and Sultana, S. (2013). Alleviation of Doxorubicin-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity by Chrysin in Wistar Rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(5), 337-345.

- Samadi, M., Moradinazar, M., Khosravy, T., Soleimani, D., Jahangiri, P. and Kamari, N., 2022. A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical and Clinical Studies on The Efficacy of Ginger for The Treatment of Fatty Liver Disease. *Phytotherapy Research*, 36(3), 1182-1193.
- Sandhir, R. and Gill, K.D. (1999). Hepatoprotective Effects of Liv-52 on Ethanol Induced Liver Damage in Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37(8), 762-766.
- Shiraki, K. and Daikoku, T. (2020). Favipiravir, an Anti-Influenza Drug Against Life-Threatening RNA Virus Infections. *Pharmacology and Therapeutics*, 209, 107512.
- Siddique, A., Gaur, A., Bajpai, A. and John, A. (2022). Evaluation of Hepatoprotective Potential of Rubia Cordifolia in Experimentally (Carbon Tetrachloride) Induced Hepatotoxicity in Albino Rats. *International Journal of Health Sciences*, 6(S4), 804-814.
- Sidwell, R.W., Barnard, D.L., Day, C.W., Smee, D.F., Bailey, K.W., Wong, M.H., Morrey, J.D. and Furuta, Y. (2007). Efficacy of Orally Administered T-705 on Lethal Avian Influenza A (H5N1) Virus Infections in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(3), 845-851.
- Singh, V.V., Jain, J. and Mishra, A.K. (2016). Pharmacological and Phytochemical Profile of Cassia occidentalis L: A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 6(5), 91-96.
- Sissoko, D., Laouenan, C., Folkesson, E., M'lebing, A.-B., Beavogui, A.-H., Baize, S., Camara, A.-M., Maes, P., Shepherd, S. and Danel, C., 2016. Experimental Treatment with Favipiravir for Ebola Virus Disease (the JIKI Trial): A Historically Controlled, Single-Arm Proof-of-Concept Trial in Guinea. *PLoS Medicine*, 13(3), e1001967.
- Su, L.J., Zhang, J.H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Jiang, F. and Peng, Z.Y. (2019). Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 5080843.
- Suja, V., Sharmila, S.L. and Shyamala Devi, C. (1997). Protective Effect of Liv.52 and Liv.100, Ayurvedic Formulations on Lipid Peroxidation in Rat Liver Homogenate--An in Vitro Study. *Indian Journal of Experimental Biology*, 35(1), 50-52.
- Thorat, Y., Hosmani, A., Patil, A. (2021). Formulation and Evaluation of Mandur Bhasma Tablet in The Treatment of Iron Deficiency Anemia. *International journal of Creative Research Thoughts*, 9(7), f1-f7.
- Tian, L., Qiang, T., Liang, C., Ren, X., Jia, M., Zhang, J., Li, J., Wan, M., YuWen, X., Li, H., Cao, W. and Liu, H. (2021). RNA-Dependent RNA Polymerase (RdRp) Inhibitors: The Current Landscape and Repurposing for The COVID-19 Pandemic. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 213, 113201.
- Tolmacheva, A.S. and Nevinsky, G.A. (2022). Essential Protective Role of Catalytically Active Antibodies (Abzymes) with Redox Antioxidant Functions in Animals and Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3898.

- Toppo, E., Darvin, S.S., Esakkimuthu, S., Buvanesvaragurunathan, K., Krishna, T.A., Caesar, S.A., Stalin, A., Balakrishna, K., Pandikumar, P. and Ignacimuthu, S. (2018). Curative Effect of Arjunolic Acid from Terminalia Arjuna in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Models. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 979-988.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Vidyashankar, S., K Mitra, S. and Nandakumar, K.S. (2010). Liv. 52 Protects Hepg2 Cells From Oxidative Damage Induced by Tert-Butyl Hydroperoxide. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 333(1-2), 41-48.
- Vidyashankar, S., Kumar, L.S., Barooah, V., Varma, R.S., Nandakumar, K.S. and Patki, P.S. (2012). Liv. 52 Up-Regulates Cellular Antioxidants and Increase Glucose Uptake to Circumvent Oleic Acid Induced Hepatic Steatosis in HepG2 Cells. *Phytomedicine*, 19(13), 1156-1165.
- Vidyashankar, S. and Patki, P.S. (2010). Liv.52 Attenuate Copper Induced Toxicity by Inhibiting Glutathione Depletion and Increased Antioxidant Enzyme Activity in Hepg2 Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1863-1868.
- Villanueva-Paz, M., Morán, L., López-Alcántara, N., Freixo, C., Andrade, R.J., Lucena, M.I. and Cubero, F.J. (2021). Oxidative Stress in Drug-Induced Liver Injury (DILI): From Mechanisms to Biomarkers for Use in Clinical Practice. *Antioxidants (Basel)*, 10(3), 390.
- Waghmare, G., Waghmare, S., Chavan, R. and Mane, D. (2011). Leucocytes Response in Mice to Low Level Gamma Irradiation and Their Protection by Liv. 52. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 2(6), 405-409.
- Wallach, J. (2000). *Interperatation of Diagnostic Tests* (p. 199-235). Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins.
- Wang, X., Wu, Q., Liu, A., Anadón, A., Rodríguez, J.L., Martínez-Larrañaga, M.R., Yuan, Z. and Martínez, M.A. (2017). Paracetamol: Overdose-Induced Oxidative Stress Toxicity, Metabolism, and Protective Effects of Various Compounds in Vivo and in Vitro. *Drug Metabolism Reviews*, 49(4), 395-437.
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A. and Hekimi, S. (2018). Superoxide Dismutases: Dual Roles in Controlling ROS Damage and Regulating ROS Signaling. *The Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915-1928.
- Yamazaki, S., Suzuki, T., Sayama, M., Nakada, T.-a., Igari, H. and Ishii, I. (2021). Suspected Cholestatic Liver Injury Induced by Favipiravir in a Patient with COVID-19. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 27(2), 390-392.
- Yanai, H. (2020). Favipiravir: A Possible Pharmaceutical Treatment for COVID-19. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 33-34.

- Yildirim, N., Lale, A., Yazıcı, G.N., Sunar, M., Aktas, M., Ozcicek, A., Suleyman, B., Ozcicek, F. and Suleyman, H. (2022). Ameliorative Effects of Liv-52 on Doxorubicin-Induced Oxidative Damage in Rat Liver. *Biotechnic and Histochemistry*, 97(8), 616-621.
- Zaric, B.L., Macvanin, M.T. and Isenovic, E.R. (2022). Free Radicals: Relationship to Human Diseases and Potential Therapeutic Applications. *The International Journal of International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 154, 106346.





EKLER

Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu

k Tarih ve Sayısı: 03.08.2022-186954



T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-85748827-050.01.04-186954
Konu : Etik Kurul Kararı (Prof. Dr. Halis
SÜLEYMAN)

03.08.2022

Sayın Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

Oturum Tarihi
28.07.2022

Oturum Saati
13:00

Oturum Sayısı
2022/07

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu yukarıda belirtilen tarih ve saatte Kurul Başkanı Prof. Dr. Durdu ALTUNER başkanlığında, kurul üyelerinin katılımıyla toplanarak gündem konuları görüşülmüş ve aşağıdaki karar alınmıştır.

Bilgilerini ve gereğini rica ederim.

Karar 34 Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anadilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN'ın *"Liv-52'nin Sıçanlarda Favipiravir ile İndüklenen Hepatotoksisiteye Etkisi. Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme."* başlıklı çalışması ile ilgili 08.07.2022 tarihli başvurusu ve ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi gereği etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine oy birliğiyle karar verildi.

Prof.Dr. Durdu ALTUNER
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BSC4FB6CZC

Belge Takip Adresi : https://ebys.ebyu.edu.tr/enVision/Validate_Doc.aspx

Adres:Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü Fatih Mahallesi, 24100, Erzincan

Telefon:444 8 024 – (0446) 226 66 66 Faks:(0446) 226 66 65

e-Posta:rektorluk@erzincan.edu.tr Web:<https://ebyu.edu.tr/tr/>

Kep Adresi:erzincanunv@hs02.kep.tr

Bilgi için: Şehriban AKKUŞ

Unvanı: Birim Evrak Sorumlusu

Tel No: (0446) 226 6666 - 10058

je, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek-2. Bilimsel Araştırma Projeleri Onay Formu



TC
ERZİNCAN BİNALI YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
(Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi)

Konu:Yürürlüğe Giren Proje Öneriniz

Tarih
17.01.2023

Sayın : Prof.Dr. HALİS SÜLEYMAN

Aşağıda bilgileri özetlenen proje önerinize yönelik değerlendirme süreci tamamlanmış ve BAP Komisyonu tarafından desteklenmesi uygun görülen projeniz, proje sözleşmesinin Rektörlük Makamı tarafından onaylanmasıyla yürürlüğe girmiş bulunmaktadır.

Tebrik eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.

Saygılarımla,

Prof.Dr. MEMET ALİ YILDIRIM
Koordinatör

Proje Başlığı: Liv 52'nin sıçanlarda favipiravir ile indüklenen hepatotoksositeye etkisi. Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme

Proje No: TDK-2023-887

Proje Türü: Doktora

Süresi: 12 ay

Başlama Tarihi: 17.01.2023

Onaylanan Bütçesi: 22445,76 TL

Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. HALİS SÜLEYMAN

Araştırmacı(lar): ÖĞRENCİ SEVAL BULUT

ÖZGEÇMİŞ

Seval Bulut 1994-2001 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun olmuştur. 2001-2010 yılları arasında Erzincan Akyazı Sağlık Ocağı ve Erzincan 3 Nolu Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak görev yaptı. 2010-2020 yılları arasında Erzincan Merkez Karaağaç Aile Sağlığı Merkezinde Aile Hekimi olarak görev yaptı. 2020 yılından itibaren Erzincan Merkez 13 Şubat Aile Sağlığı Merkezi'nde Aile hekimisi olarak görevine devam etmektedir. 2020 yılında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başlamıştır. Doktora eğitimi döneminde bilimsel çalışmalar yürütmüştür. Uluslararası 38 makalesi bulunan Seval Bulut orta düzeyde İngilizce biliyor. Evli ve 1 çocuk annesidir.