



**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA METHOTREXATE TARAFINDAN OLUŞTURULAN OKSİDATİF  
KARACİĞER HASARI ÜZERİNE L-KARNİTİN VE N-ASETİLSİSTEİN'NİN  
ETKİLERİ**

**Dr. ELİF İNANÇ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. BÜLENT KANTARÇEKEN**

**KAHRAMANMARAŞ - 2016**

**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA METHOTREXATE TARAFINDAN OLUŞTURULAN OKSİDATİF  
KARACİĞER HASARI ÜZERİNE L-KARNİTİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN  
ETKİLERİ**

**Dr. ELİF İNANÇ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN**

**Bu araştırma, 2015/2-19D kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam  
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
desteklenmiştir.**

**KAHRAMANMARAŞ - 2016**

# KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

## Tıp Fakültesi Dekanlığı'na

Arş. Gör. Dr. Elif İNANÇ tarafından hazırlanan “Ratlarda Methotrexate Tarafından Oluşturulan Oksidatif Karaciğer Hasarı Üzerine l-Karnitin ve N-asetilsistein'in Etkileri” adlı bu tezin Tıpta Uzmanlık tezi olarak uygun olduğunu onaylım.

**Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN**

**Danışman**

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık tezi olarak 09/11/2016 tarihinde kabul edilmiştir.

Tez Değerlendirme Jüri Tutanağı:			İmza:
Başkan	Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	 K.S.Ü. Tıp Fak. Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları Uzmanı Öğretim Üyesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Prof. Dr. Murat HARPUTLUOĞLU Dip. No: 24435 İç Hast. A.D. (Gastrosentezi) B.B.
Üye	Prof. Dr. Kamile GÜL	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. M. Murat HARPUTLUOĞLU	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Tarih : 09/11/2016

  
**Prof. Dr. Tufan MERT**

**Dekan V.**

Bu tez, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım ve basım yönergesine uygundur.

## TEŞEKKÜRLER

Asistanlık eğitimim süresince emeğini bizden esirgemeyen, bir baba şefkatiyle bizleri kucaklayan, adaletinden şüphe duyulmayan, her türlü işte disiplini esas almayı öğreten sayın hocam Prof. Dr. Bülent Kantarçeken'e,

Sonsuz hoşgörüsü, sabrı ve iyi niyetiyle desteğini gördüğüm, temiz, güzel kalpli, hocam Prof. Dr. Ali Çetinkaya'ya

Kendisiyle çalıştığım sürece kendisinden iş disiplini öğrendiğim, öğretmeyi kendisine prensip edinmiş, bir o kadar da iş dışında arkadaş olarak yaklaşan yardımsever hocam Prof. Dr. Kamile Gül'e

Başımız sıkıştığında yardımımıza koşan, okumanın önemini her defasında vurgulayan, çalışma alışkanlığı edindiren, işten taviz vermeyen hocam Doç. Dr. Özkan Güngör'e

Eğitimimde katkıları olan sayın hocalarım; Prof. Dr. Ekrem Doğan'a, Doç. Dr. Ozan Balakan'a, Doç. Dr. Gözde Yıldırım Çetin'e, Yrd. Doç. Dr. Orçun Altunören'e, Yrd. Doç. Dr. Ayten Oğuz'a, Yrd. Doç. Dr. Dilek Tüzün'e, Yrd. Doç. Dr. Fatih Öçal'a, Yrd. Doç. Dr. Murat İspiroğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Kadir Gişi'ye, Yrd. Doç. Dr. Murat Şahin'e ve Uzm. Dr. Yasemin C. Yavuz'a,

Rotasyon sürecimde, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Kardiyoloji, Göğüs Hastalıkları ve Enfeksiyon hastalıkları öğretim üyesi hocalarıma, ayrıca bu araştırmanın yapılmasında büyük emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Fatma İnanç Tolun'a, Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Harun Çıralık'a,

Asistanlık dönemim boyunca aynı ortamı paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, özellikle tüm sıkıntılı zamanlarımda yanımda olan can dostum Dr. Tuğba Yılmaz'a,

Bende emekleri büyük olan kıymetli anneme, babama, beni hiç yalnız bırakmayan kardeşim Berfin'e, hayatımın her anında desteğini yanımda hissettiğim, asistanlığa başlamamdan bitirmeme kadar bana yardımını esirgemeyen, kıymetli eşim Ömer Faruk İnanç'a ve hayat ışığım biricik oğlum Ahmet Furkan İnanç'a sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Bu araştırma, 2015/2-19D kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

# RATLARDA METOTREKSAT TARAFINDAN OLUŞTURULAN OKSİDATİF KARACİĞER HASARI ÜZERİNE L-KARNİTİN VE N-ASETİLSİSTEİN'NİN ETKİLERİ

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. Elif İNANÇ  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Eylül-2016

## ÖZET

**Amaç:** Bu tez çalışmasında, MTX ile oluşturulan deneysel akut karaciğer hasarına karşı L-karnitin (L-CAR) ve N-asetilsistein'nin (NAC) ayrı ayrı ve kombine verilmesinin koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Deneysel çalışmaya her grupta 8 rat olacak şekilde, toplam 40 adet rat alındı. 1. Grup kontrol grubu olarak seçildi. 2.gruptaki (MTX grubu) ratlara ip olarak tek doz 20 mg/kg MTX, 3.gruba MTX+ NAC (500 mg/kg) verildi. 4. gruptaki ratlara MTX+L-CAR (150 mg/kg), 5.Gruptaki ratlara da MTX+ NAC +LCAR verildi. Çalışmanın sonunda (6. gün) ratlar genel anestezi eşliğinde sakrifiye edildi. Ratların kanları alındı ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kanda karaciğer enzimleri, karaciğer dokularında ise glutatyon peroksidaz (GPx), malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), süperoksit dismutaz (SOD) , nitrik oksit (NO) çalışıldı. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 ise hem kanda hem de karaciğer dokusunda çalışıldı. Ayrıca karaciğer dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Serum ALT, total billuribin, ALP değerlerinde anlamlı fark izlenmemekle birlikte, AST düzeyi değerlendirildiğindeyse MTX'a L-CAR'nin tek başına eklenmesiyle AST düzeyinde belirgin düşme olduğu, ancak bunun da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı izlendi. Kan serumunda TNF- $\alpha$  ve lökotrien düzeylerinde anlamlı değişiklik izlenmedi. Karaciğer doku TNF- $\alpha$  düzeyi değerlendirildiğinde sadece MTX verilen grupta kontrole göre arttığı, tedavi gruplarında TNF- $\alpha$  da azalma görülürken, en belirgin azalmanın ise kombine grupta olduğu görüldü ( $p<0,009$ ). IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 doku düzeyi değerlendirildiğinde gruplar arası istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. NO düzeyine bakıldığında, MTX grubunda kontrole göre artmış olduğu, MTX'a NAC eklenmesiyle azalma olurken kombine edilen grupta azalmanın daha belirgin olduğu

görüldü( $p<0.02$ ). Karaciğer dokusunda çalışılan MDA, MPO, GPx, SOD düzeylerinde gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. Karaciğer dokularının histopatolojik olarak değerlendirilmesinde ise tüm gruplarda anlamlı bir fark görülmedi.

**Sonuçlar:** MTX'a bağlı oksidatif karaciğer hasarına karşı NAC ve L-CAR kullanılmasıyla histopatolojik değişiklik izlenilmedi. Biyokimyasal değerlerde ve karaciğer doku üzerinde bazı parametrelerde anlamlı değişiklik izlenilmekle beraber, çoğu parametrelerde önceki çalışmalara paralel beklenen anlamlı farklılık tam saptanmamıştır. Sonuç olarak daha uzun süreli toksisite modelleri ve farklı dozlarda tedavi seçeneklerini araştıran çalışmaların yararlı olabileceği düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Hepatotoksisite, L-karnitin, Metotreksat, N-asetilsistein, Oksidatif stres

**Danışman:** Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN

**L-CARNITINE AND N-ASETYLSYSTEINE EFFECTS ON OXIDATIVE LIVER  
DAMAGE CREATED BY METHOTREXATE IN RATS**

**(Specialization In Medicine Thesis)**

**Dr.Elif İNANÇ**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE**

**September-2016**

**ABSTRACT**

**Aim:** In this thesis study, we aimed to investigate that protective effects of separately and combined administration of L-Carnitine (L-CAR) and N-Acetylsysteine (NAC) against experimental acute liver injury induced by MTX.

**Material and Method:** In experimental study, a total of 40 rats were included in each group to be 8 rats. Group 1 was selected as a control group. The rats in group 2 were given a single dose MTX 20 mg/kg as ip. The rats in group 3 were given MTX+NAC (500 mg/kg).The rats in group 4 were given MTX+L-CAR (150 mg/kg). The rats in group 5 were given MTX+NAC+LCAR. At the end of the study (6th day) rats were sacrificed under the general anesthesia. Blood samples were taken of rats and their liver tissues were removed. Liver enzymes were studied in the blood. Glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD) and nitric oxide (NO) in the liver tissue were studied. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 were studied both in blood samples and liver tissue. The liver tissues were also evaluated histopathologically.

**Findings :** ALT, total billuribin and ALP in serum levels was not observed significant difference, additionally when AST level are evaluated, with the addition of L-CAR alone at MTX, AST level was significant decline, but it was not found to be statistically significant. Significant change in TNF- $\alpha$  and leukotriens in blood serum levels were not observed. When assessing liver tissue TNF- $\alpha$  levels have increased compared with the control group given only MTX, in the treatment groups experienced a reduction in TNF- $\alpha$  and maximum reduction was observed in the combined group (p<0,009). When IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 tissue levels are evaluated, there was no statistically significant difference between groups. When NO levels are evaluated, group of MTX is increased compared to the control group, while the reduction was observed by adding NAC to MTX, a decrease in the combined group were found to be more pronounced (p<0,02). In the MDA, MPA, GPx, SOD levels in the liver tissue were no significant differences

between groups. A significant difference in all groups were not observed in the histopathological evaluation of liver tissue.

**Results:** Histopathological changes in the use of NAC and L-CAR against oxidative MTX-induced liver damage was not observed. Significant changes in biochemical parameters and some parameters on liver tissue was observed. Additionally anticipated significant difference similar to previous studies was not detected in full for most parameter. As a result, more long-term toxicity models and studies investigating treatment options with different doses were thought to be useful.

**Key words:** Hepatotoxicity, L-Carnitine, Methotrexate, N-Acetylsysteine, Oxidative stress

**The Advisor:** Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	ii
OZET .....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer .....	3
2.1.1. Karaciğerin anatomisi ve histolojisi .....	3
2.1.2. Karaciğerin arterial ve venöz drenajı .....	4
2.1.3. Mikroskopik anatomi.....	5
2.1.4. Karaciğerin fonksiyonları .....	8
2.1.5. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları .....	9
2.2. Metotreksat (MTX) .....	10
2.2.1. Etki mekanizması .....	10
2.2.2. Farmakolojik özellikler .....	12
2.3. Serbest Radikaller .....	14
2.3.1.Reaktif oksijen türleri .....	15
2.3.2. Serbest radikallerin etkileri.....	18
2.4. Antioksidan Sistemler .....	19
2.4.1. Antioksidan koruma sistemi .....	19
2.4.2. Enzimatik antioksidan sistemler .....	20
2.4.3. Non-enzimatik antioksidan sistemler .....	23
2.5. N-Asetil Sistein .....	24

2.5.1. Yapısı ve farmakokinetiği .....	24
2.5.2. Etki mekanizması .....	26
2.6. L-Karnitin .....	28
2.6.1.Yapısı ve farmakokinetiği .....	28
2.6.2. Etki mekanizması .....	29
2.6.3. Endikasyonları .....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	32
3.1. Deney Hayvanları: .....	32
3.2. Deney grupları ve deney protokolü .....	32
3.3. Karaciğer Testlerinin Değerlendirilmesi: .....	33
3.4. Karaciğer Dokusunda Oksidan ve Antioksidan Belirteçlerin Ölçülmesi: .....	33
3.4.1. Karaciğer Dokusunda MDA Düzeylerinin Ölçülmesi ( Lipid Peroksidasyonu .....	33
3.4.2. Karaciğer Dokusunda MPO Aktivitesinin Ölçülmesi: .....	34
3.4.3. Karaciğer Dokusunda SOD Aktivitesinin Ölçülmesi: .....	34
3.4.4. Karaciğer Dokusunda NO Aktivitesinin Ölçülmesi: .....	35
3.4.5. Karaciğer Dokusunda GPx Düzeyinin Ölçülmesi: .....	35
3.5. Serum ve Karaciğer Dokusunda TNF- $\alpha$ ve Lökotrien Düzeylerinin Ölçülmesi: .....	35
3.6. Karaciğer Dokularının Histopatolojik İncelenmesi: .....	35
3.7. İstatistiksel Analiz .....	36
4. BULGULAR .....	37
4.1. Kan Biyokimyası Sonuçları Serum ALT, AST, Total Bilirubin, ALP düzeyleri değerlendirildiğinde; .....	37
4.2. Karaciğer Dokusundaki Antioksidan Parametrelerin Sonuçları: .....	37
4.3. Karaciğer Dokusundaki Oksidatif Stres Parametrelerinin Sonuçları: .....	38
4.4. Kan Lökotrien ve TNF- $\alpha$ Düzeyinin Sonuçları: .....	39
4.5. Karaciğer Dokusunda Lökotrien ve TNF- $\alpha$ Düzeyinin Sonuçları: .....	39

4.6. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları: .....	42
5. TARTIŞMA .....	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR .....	52
ZGEMIŐ .....	66



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACR	: American College of Rheumatology
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
CBZ	: Karbamezapin
CCl <sub>4</sub>	: Karbontetraklorür
DHF	: Dihidrofolat
DHFR	: Dihidrofolat Redüktaz
G6PD	: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
L-CAR	: L-Karnitin
MDA	: Malondialdehid
MPO	: Myeloperoksidaz
MTHF	: Metilen Tetrahidrofolat
MTX	: Metotreksat
NAC	: N-asetilsistein
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP	: Nikotinamid Adenozin Difosfat
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksit
ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri
SH	: Sülfidril
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
THF	: Tetrahidrofolat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karaciğerin önden görünüşü(Kaynak 27).....	4
Şekil 2. Karaciğerin inferiordan görünüşü ve anatomik yapıları(Kaynak 27).....	4
Şekil 3. Karaciğerdeki kan ve safra akış yönlerini göstermektedir (Kaynak 33). ....	6
Şekil 4. Karaciğerdeki kan ve safra akış yönlerini göstermektedir (Kaynak 33). ....	6
Şekil 5. Karaciğer lobül zonlarının şematik görünümü (Kaynak 34). ....	7
Şekil 6. Metotreksatın kimyasal yapısı (Kaynak 51). ....	11
Şekil 7. Oksijenin yüklü durumları ve hücre içindeki oksijen radikallerinin oluşumu, detoksifikasyonu. Hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlara katılan moleküler oksijen gibi, elektronlarda moleküller arasında hareket eder ve yüksek oranda reaktif ara ürünler üretilir. Bunlar, daha sonra spesifik enzim aktiviteleri ile kaldırılır. Bu reaksiyonlar yukarıdaki şemada özetlenmiştir (68).....	16
Şekil 8. Glutatyon metabolizması. ....	22
Şekil 9. N-asetilsisteinin moleküler yapısı (Kaynak 94). ....	25
Şekil 10. NAC'ın etki mekanizması (kaynak 93). ....	27
Şekil 11. L-karnitinin kimyasal yapısı (Kaynak: 14).....	28
Şekil 13. NAC ve LCAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku TNF- $\alpha$ düzeyleri üzerine etkileri. * $p<0.05$ , kontrol ve tedavi gruplarında anlamlı fark izlendi. ....	40
Şekil 14. NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-1B düzeyleri üzerine etkileri. ....	41
Şekil 15. NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-6 düzeyleri üzerine etkileri .....	41
Şekil 16. NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-10 düzeyleri üzerine etkileri .....	42

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları ve histolojik tipleri (Kaynak 45, 46). ....	9
Tablo 2. Bazı reaktif oksijen türleri( Kaynak 71). ....	15
Tablo 3: Karaciğer dokusundaki mikroskobik bulguların skorlanması:.....	36
Tablo 4. Kan Biyokimyası Sonuçları.....	37
Tablo 5. Methotrexata bağlı akut karaciğer hasarındaki oksidatif ve antioksidan parametreler .....	38



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, toksik kimyasal maddelerin atılımı ve detoksifikasyonunda önemli rolü olan bir organdır. MTX ve metabolitlerinin vücuttan atılımında hem hepatobiliyer hem de böbrekler birlikte çalışır. MTX böbreklerden sonra en fazla karaciğerde biriktiğinden dolayı, yüksek doz uygulanması hepatotoksisiteye neden olabilir (1, 2).

MTX lösemi, çeşitli solid tümörler, psöriazis, romatoid artrit ve diğer bazı otoimmün hastalıkların ve de sarkoidoz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve vaskülitlerin tedavisinde kullanılmaktadır. MTX, S fazındaki hücreleri etkileyen folat antagonisti antimetabolittir. Dihidrofolat analogu olan ilaç, hücre replikasyonunda anahtar enzim dihidrofolat redüktaz'a bağlanarak pürin ve primidin yapımı için gerekli tetrahidrofolat sentezini inhibe eder. Pürin ve primidin sentez inhibisyonu apoptozisle sonuçlanan DNA defektlerine yol açar (3, 4).

MTX'in indüklediği hepatotoksisitede altta yatan mekanizma tam olarak aydınlatılamamışken bu durumun etkileri bilinmektedir. En çok çalışılan iki etkisi ise özellikle karaciğeri içeren çeşitli dokularda serbest radikallere bağlı oksidatif strese ve lipid peroksidasyonunda artmadır. MTX hücre içinde poliglutamat formunda tutulur. MTX kullanımı ile hücre içindeki poliglutamat formunun miktarı artar ve folik asit seviyeleri düşer. Bu da hepatosit nekrozuna sebep olur (5). Poliglutamat formunun seviyesinin artması intrasellüler alanda ilacın varlığını artırır. Bu mekanizmanın MTX'in hepatotoksik etkisinin sebebi olduğu düşünülmektedir (6).

Antikanser ilaçlarla yapılan toksisite çalışmalarında oksidatif stres üzerine dikkat çekilmektedir. Karaciğer, böbrek, ince barsak ve merkezi sinir sistemindeki MTX'in yan etki mekanizması olarak oksidatif stres sorumlu tutulmaktadır ( 2, 7, 8, 9).

Serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunun, hücre membran hasarı ile MTX aracılı doku hasarında önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir. Çeşitli kimyasal maddeler tarafından oluşturulan doku hasarında, serbest oksijen radikallerine bağlı mikrovasküler bozukluklar üzerinde durulmaktadır (10). Serbest radikallerin dokuya doğrudan zarar verici etkileri yanı sıra; dokuda karmaşık bir şekilde lökosit birikimini tetikledikleri de gösterilmiştir. Aktifleşen nötrofillerin myeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz gibi enzimleri sentezledikleri ve serbest radikalleri ortaya çıkardıkları izlenmiştir (11). Bu sebeple MTX 'a bağlı

oksidatif organ hasarında karaciğer ve böbrek dokularında artan MPO seviyeleri, nötrofil birikimi de katkı sağlamaktadır.

NAC, redükte glutatyon sentezini stimüle eder, glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırır, detoksifikasyonu uyarır ve reaktif oksidan radikallerini direkt olarak etkileyip, temizlerler (12, 13). NAC akut respiratuar distres sendromunda, kronik bronşitte, kolon kanserinde, protein enerji malnutrisyonunda, diyabette faydaları gösterilmiştir (14, 15, 16, 17).NAC, asetaminofen zehirlenmesi, kontrastın indüklediği nefropatide renal protektan, atrial fibrilasyon için koruyucu bir ajandır (18, 19).

L-CAR, hücrel enerji üretimi için mitokondriyel matrikse transportu gereken serbest uzun zincirli yağ asitlerinin açilkarnitinlere transformasyonu için gerekli bir kofaktördür (20). L-CAR varlığı, yağ asidi oksidasyonu için zorunludur. Serbest radikal üretimini durdurur ve sonuçta hücrel hasar azaltılmış olur (21). Klinikte diyaliz hastalarında, prematur respiratuar distress sendromunda, hipertiroidizmde, anoreksiada, kardiyovaskuler hastalıklarda, yağlı karaciğer, hepatit, hepatik ensefolapati gibi karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, kanser ve inflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalıkta yaygın olarak kullanılmakta olan bir antimetabolit olan MTX'in, meydana getirdiği oksidatif hasar üzerinde NAC, L-CAR ve bunların kombine kullanımının oksidan-antioksidan sistem üzerindeki etkilerini ve karaciğer histolojisi üzerine etkilerini değerlendirmektir.



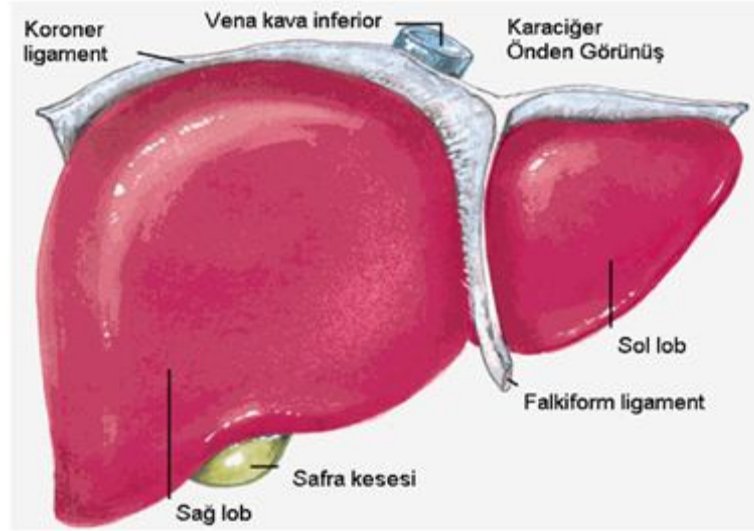
## **2- GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Karaciğer**

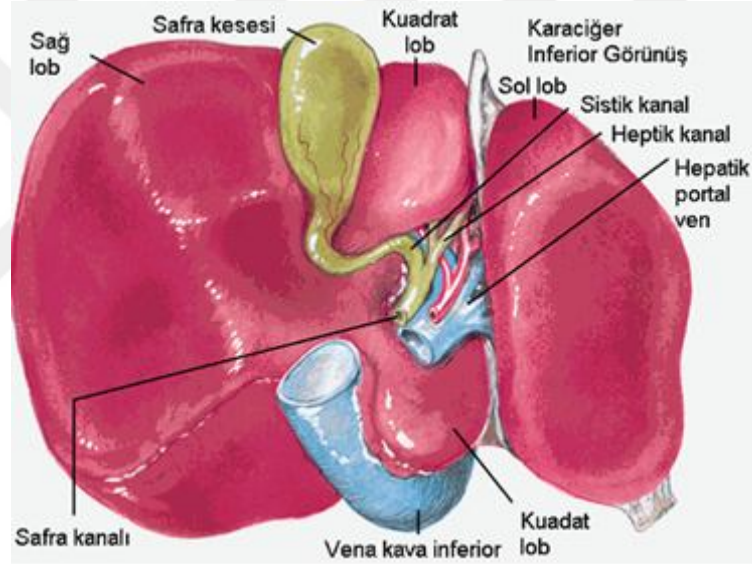
#### **2.1.1. Karaciğerin anatomisi ve histolojisi**

Karnın sağ üst kadranında yer alan karaciğer, yaklaşık olarak ortalama vücut ağırlığının %2 ila %3'ünü oluşturan en büyük organdır (12). Karaciğer, erkeklerde 1400-1800 gram, kadınlarda 1200-1400 gram ağırlığındadır (22). Karaciğer sağ ve sol lob olmak üzere iki lobtan oluşmaktadır (12). Sağ lob, sol lobun yaklaşık 6 katı büyüklüğündedir. Karaciğerin ön, arka ve alt olmak üzere üç yüzden meydana gelir. Karaciğer inferiorunda duodenum, sağ sürrenal bez, transvers kolon, sağ böbrek ile komşudur, medialde mide ve özafagus ile komşudur.

Glisson kapsülü ince bir bağ doku olup karaciğerin bütün yüzeyini kaplamaktadır. Glisson kapsülü; damar ve sinir kollarıyla karaciğer parankimi için destekleyici bir yapı oluşturmakta ve parankimi ikiye ayırmaktadır (13). Glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diafragmaya yapışır. Yapışma yerleri arasında kalan kısım karaciğerin peritonsuz kısmı olup, 'anterior ve posterior koronar ligamentler' olarak isimlendirilir. Bu ligamanlar önde birleşerek falsiform ligamanı, sağda ve solda 'triangular' ligamanları meydana getirir (12). Falsiform ligament karaciğeri karın ön duvarına asar. Karaciğerin en alt kısmında oblitere olan sol umblikal venin meydana getirdiği ligamentum teres hepatis vardır. Karaciğeri yüzeysel olarak sağ ve sol iki loba falsiform ve ligamentum teres hepatis ayırır (12). Hepatoduodenal ligamentin içinde ise portal ven, hepatik arter, ve koledok bulunur. Karaciğerin transvers portal fissürü ile bu oluşumlar birleşerek bu fissürün arkasında kaudat lobu önünde ise kuadrat lobu oluşturur (23, 24, 25, 26).



Şekil 1. Karaciğerin önden görünüşü(Kaynak 27)



Şekil 2. Karaciğerin inferiordan görünüşü ve anatomik yapıları(Kaynak 27).

### 2.1.2. Karaciğerin arterial ve venöz drenajı

Karaciğer ile ilişkili damarlar hepatik arter, hepatik ve portal vendir (22). Karaciğer aynı anda hem arteriyel hem de venöz kanla beslenmesi sebebiyle diğer organlardan ayrılmaktadır. Karaciğerin afferent kan akımını hepatik arter ve portal ven oluşturur. Karaciğere gelen kanın ise yaklaşık %25'ini hepatik arter tarafından sağlanır (28).

Arteria hepatica propria, truncus coeliacus'dan çıkan a.hepaticus communisin dallarından biridir. Omentum minus'un iki yaprağı arasında porta hepatis'e gelip vena

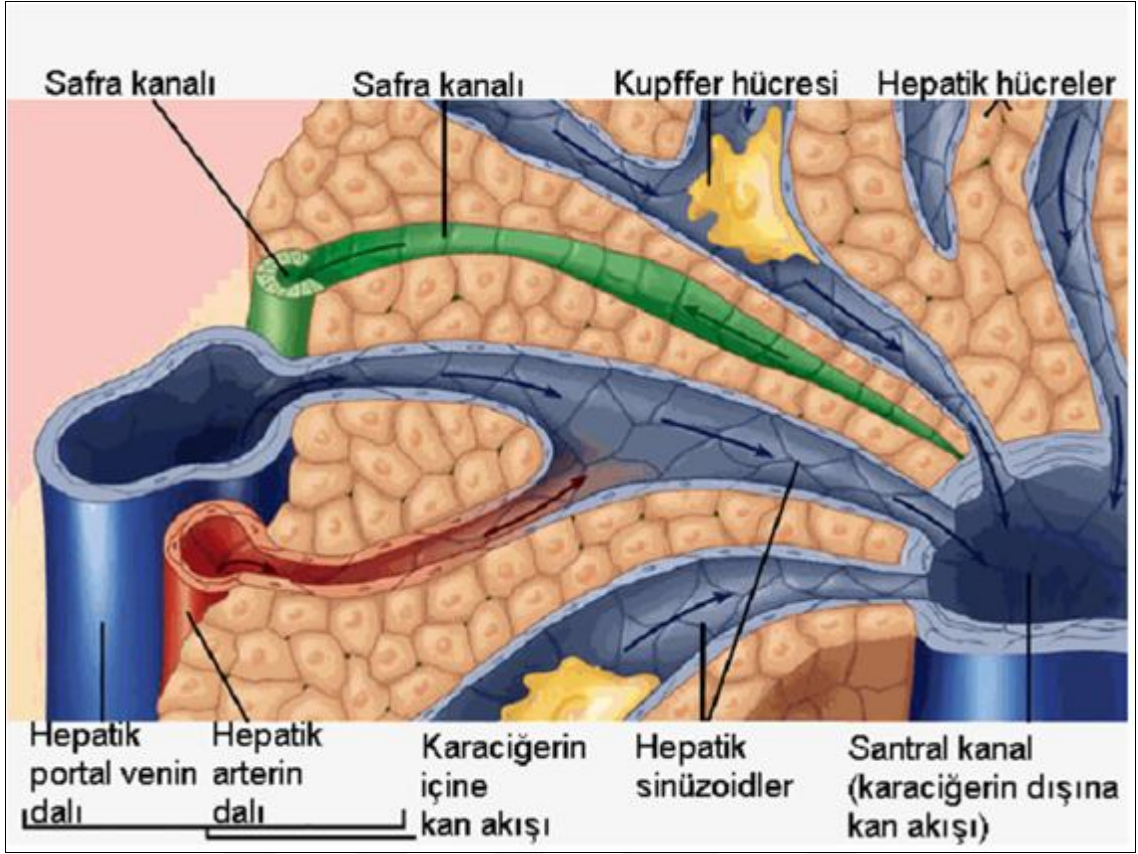
porta hepatis'in dalları ile birlikte karaciğere dağılmaktadır. A.hepatica propria'nın dalları arasında anastomoz yoktur (29).

Karaciğerin vena portae hepatis ve v. hepaticae olmak üzere iki grup veni mevcuttur. V. mesenterica superior ve v. lienalis'in birleşerek v. portae hepatisi meydana getirir. Karaciğerde a. hepatica propria'nın dalları ile birlikte uzanarak v. centralis'e açılır. V.centralis'ler birleşerek v. hepatica'ları oluşturur. V. hepatica'lar vena cava inferior'a açılır (29). Portal ven dalak, pankreas, sindirim kanalı ve safra kesesinden gelen kanı karaciğere getirir. Portal venede oksijen saturasyonu yaklaşık %85 olup, karaciğerin oksijen ihtiyacının %50 'sini hepatik arter sağlar.

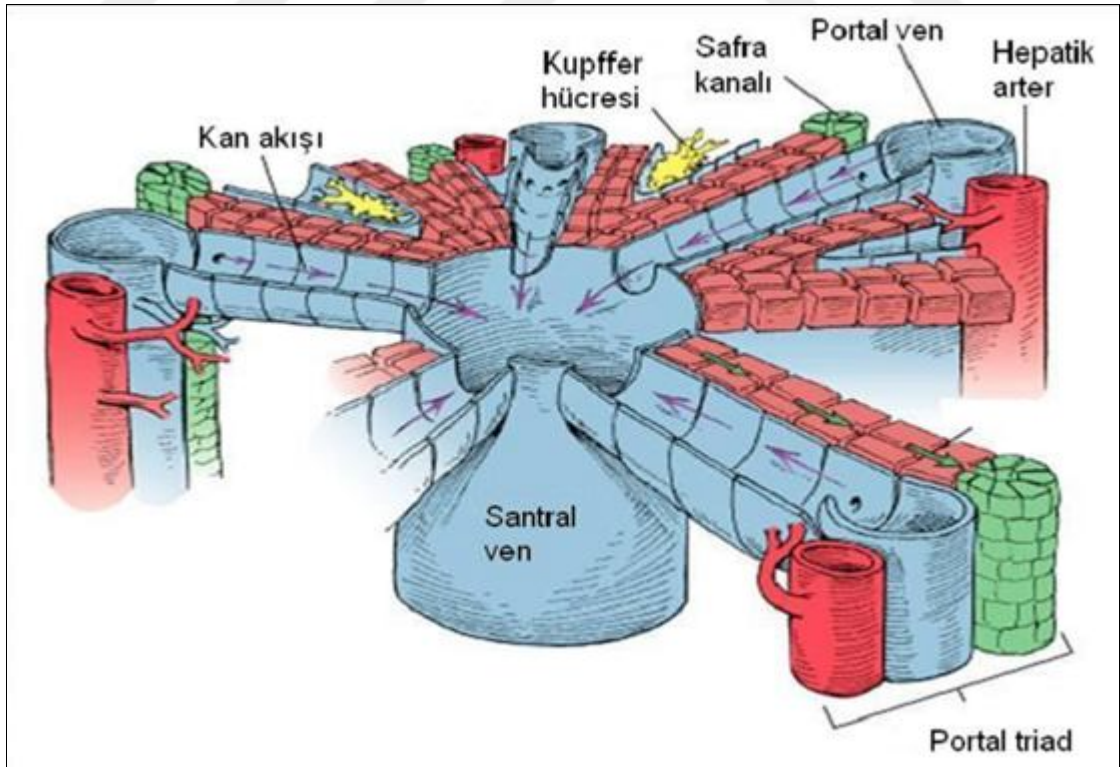
### **2.1.3. Mikroskopik anatomi**

Karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi lobül olup lobülün asıl yapısını hepatositler meydana getirir. Hepatositler karaciğer lobülü içinde kordonlar oluşturup portal alandan santral vene doğru uzanırlar. Bu kordonlar (Remarc kordonları) arasındaki mesafe sinüzoid olarak tanımlanmakta olup kan akımı burada portal alandan santral vene doğru uzanmaktadır.

Sinüzoidler ile hepatositlerin bazolaterali arasındaki potansiyel boşluk ise disse aralığını oluşturmaktadır. Bu yapı besinlerin, proteinlerin ve diğer moleküllerin aktif ve pasif olarak hücreye alınmasını görev yapmaktadır. Hepatositlerin apikal bölgesindeki kanikuler membrandan safra komponentlerinin sekresyonu yapılmaktadır (30-32). Karaciğerde ayrıca hepatositler dışında stellat hücreler (ito= yağ depolayan hücreler), kupfer hücreleri, endotelyal hücreler, safra kanal hücreleri ve destek hücreleride bulunmaktadır.

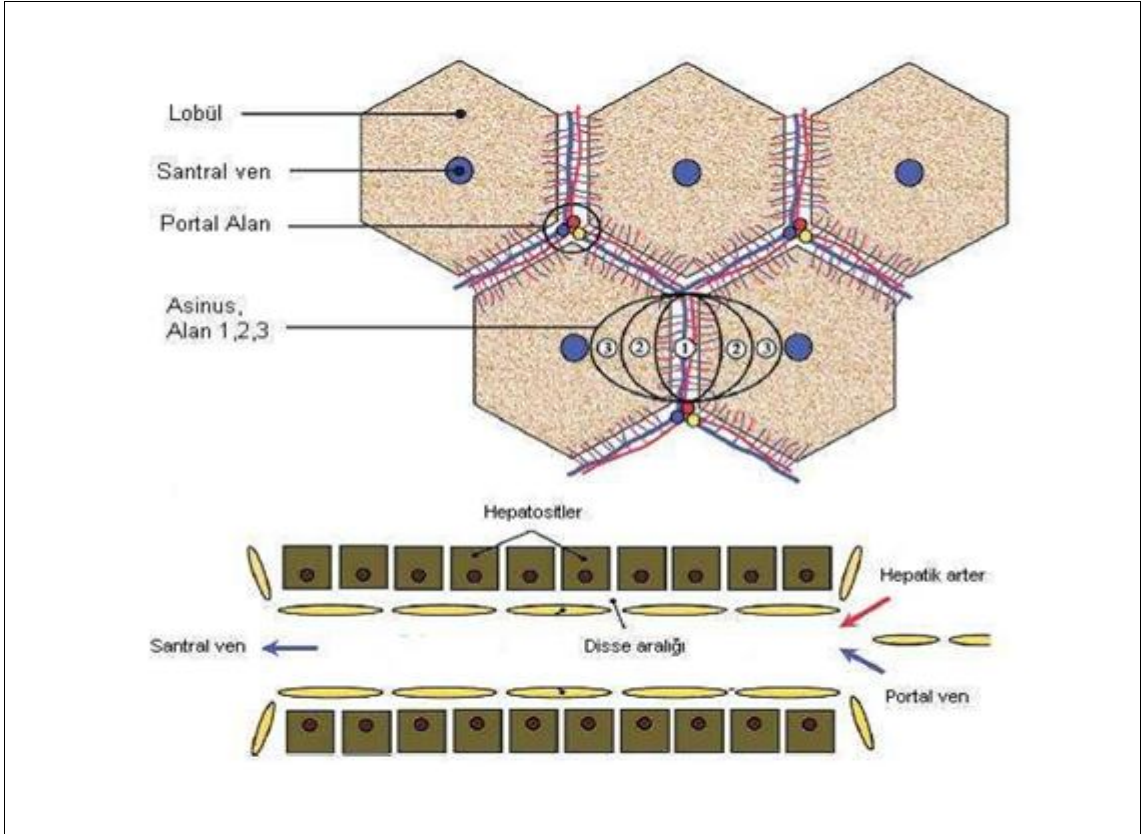


Şekil 3. Karaciğerdeki kan ve safra akış yönlerini göstermektedir (Kaynak 33).



Şekil 4. Karaciğerdeki kan ve safra akış yönlerini göstermektedir (Kaynak 33).

Portal alan; venül, arteriol, safra kanalı sisteminin bir parçası, lenfatik ve bu yapıları destekleyen bağ dokudan meydana gelir. Asinus ise portal alan ile komşu santral ven arasında kalan üçgen şeklinde bir birimdir. Hepatik asinüs modeli hepatositlerin, bol oksijenli kandan yararlanma derecelerine göre üç zona ayrır. Periportal alan "alan 1" en iyi kanlanan alan olup, en az kanlanan perivenüler alan "alan 3", ikisi arasında kalan alan ise "alan 2" olarak isimlendirilmekte olup iskemiden en çok üçüncü alan etkilenmektedir (Şekil 5).



**Şekil 5.** Karaciğer lobül zonlarının şematik görünümü (Kaynak 34).

Karaciğer sinir pleksusu T7-10 sempatik gangliyonlar, sağ-sol vagus ve sağ frenik sinirden gelen dalların çölyak pleksus ile birleşmesinden meydana gelir.



#### **2.1.4. Karaciğerin fonksiyonları**

Metabolizma ile ilgili fonksiyonları: Karbonhidat metabolizması ile ilgili fonksiyonları glikojenin depo edilmesi glikojenoliz, glukoneogenez, ve glukozun pentoz fosfat yolunda yıkımı, glukozun diğer monosakkaritlere ve yağa dönüştürülmesinden sorumludur (35, 36). Lipidler üzerinde, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, fosfolipid, keton cisimleri, lipoprotein, safra asitleri ve kolesterol sentezinden sorumludur.

Aminoasit metabolizması ile ilgili olarak da deaminasyon, transaminasyon, , endojen aminoasitlerin ve plazma proteinlerinin sentezi, üre, kreatinin safra asidi ve porfirin sentezinden sorumludur (37).

Bilirubin metabolizması ile ilgili fonksiyonları: Bilirubin oluşturulması, hücreye alınması, konjugasyonu ve atılması.

Demir metabolizması: Vücuttaki hemoglobinin hem molekülünde bulunan demirin haricindeki geriye kalan demirin büyük bir kısmı karaciğerde ferritin olarak depo edilmektedir. Karaciğer hücrelerinde bulunan ve demir ile birleşebilen apoferritin adlı protein kan demirinin tampon görevini yürütür (36, 38).

Vitamin metabolizması: A, D, E, K ve B 12 vitaminlerinin ana deposu karaciğerdir (38, 39).

Ekskresyon ve detoksifikasyon fonksiyonu: Çoğu ilaçlar karaciğerde p450 enzim sistemi tarafından metabolize edilmektedir. İlaçların ve de kolesterol, aldosteron, östrojen, tiroksin gibi hormonların fazlasının detoksifikasyonunu veya safra ile atılmasını sağlar. Karaciğer harabiyetinde, bu hormonlardan birinin ya da birçoğunun vücutta birikip aşırı faaliyetine neden olabilmektedir (40). Steroid hormonlar karaciğerde metabolize edilirler.

Depolama fonksiyonu: Glikojen, demir ve bakır, vitamin B12 ve vitamin D'nin depolanmasını sağlamaktadır (37).

Hematolojik ve İmmunolojik fonksiyonu: Karaciğer kan pıhtılaşmasında rol oynayan proteinlerin ve de fibrinojen, protrombin ve faktör V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII. sentezinde görev yapar. Karaciğerde ayrıca embriyolojik yaşamda hematopoetik sistemin temel hücreleri olan megakaryositlerin, miyelositlerin, eritroblastların, eritrositin üretitimi yapılır. Doğumdan sonra duran bu fonksiyon, kemik iliğinin görevini yapamadığı durumlarda tekrar aktif hale dönebilmektedir (39, 41).

**Safra üretimi ve salınımı:** Safra, bilirubin başta olmak üzere, safra tuzları, kolesterol, fosfolipitler, su, inorganik elektrolitler ve birçok metabolitin karışımından oluşundan bir çözeltilidir. Safranın hemen tamamı, başlıca distal ileumda olmak üzere, ince bağırsaklarda geri emilerek enterohepatik dolaşıma girmektedir. Safra tuzlarının oluşumu ve salgılanmasındaki bozukluklarda yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E, K vitaminleri) emilimi bozulur (32). Günlük 500-1500 ml civarında safra salgılanmakta olup osmolalitesi 300 mOsm/kg'dır.

Karaciğerde sentezlenen safra, kanaliküller aracılığı ile intrahepatik safra kanalcıklarına, buradan da sağ ve sol karaciğer safra kanallarına doğru akar. Sağ ve sol safra kanalları porta hepatis'e birleşerek ortak safra kanalını (duktus hepaticus communis) oluşturur. Karaciğerden çıkan duktus hepaticus communis safra kesesinden gelen sistik kanalla birleşerek duktus koledokusu oluşturur oradan da duodenuma boşalır (24, 35).

### **2.1.5. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları**

Hastaneye yatan ikterli hastaların %2'sinde, fulminan hepatit ve karaciğer yetersizliği olanların %25'inde ve tüm karaciğer biyopsilerinin %5-10'unda ilaçların rol oynadığı gösterilmiştir (42-44).

**Tablo 1.** İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları ve histolojik tipleri (Kaynak 45, 46).

<b>Hasar</b>	<b>Tipleri</b>
Hepatit	Akut, Kronik
Konfluent nekroz	Zonal, Multilobüler
Kolestaz	Akut, Kronik
Yağlı değişiklik	Makroveziküler, Mikroveziküler
Granülomlar	
Fibrozis	
Siroz	
Vasküler bozukluklar	Budd-Chiari sendromu, Hepatoportal skleroz, Peliosis hepatit, Sinüzoidal dilatasyon, Venooklüziv hastalık
Neoplazmlar	Hepatosellüler adenom, Hepatosellüler karsinom, Kolanjiokarsinom, Anjiosarkom

İlaçla oluşan karaciğer hasarları geniş bir morfolojik spektruma sahip olup karaciğer hastalığının hemen hemen tüm histolojik paternleri izlenebilmektedir (45, 46).

#### Yağlı değişiklik (Steatozis):

Steatozis yağ damlalarının büyüklüğüne bağlı, mikroveziküler ve makroveziküler olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Makroveziküler yağlı değişiklikte lipid globülü sitoplazmayı tamamen doldurup nükleusu periferite iter. Bunu oluşturan sebepler ise başta alkol olmak üzere; kortikosteroidler, metotreksat, L-asparajinaz, fosfor, karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ve total parenteral beslenmedir.

Mikroveziküler yağlı değişiklikte, multiple küçük yağ damlacıkları hepatositi doldurur, fakat nükleus santralde yer alır. Bunu oluşturan sebepler arasında ise; valproik asit, yüksek dozlarda parenteral tetrasiklin, şiddetli salisilat intoksikasyonu sayılabilir (47, 48).

#### Hidropik dejenerasyon (Hücre sel şişme):

Zedelenen hücrelerin hemen hemen hepsinde meydana gelen ilk belirtidir. Mikroskopik olarak, sitoplazmada küçük berrak vakuoller görülebilir; bunlar endoplazmik retikulumun şişen parçalarını gösterir. Bu tip öldürücü olmayan irreversible zedelenme hidropik dejenerasyon (vakuoler dejenerasyon) olarak bilinir ve toksik veya immunolojik olarak meydana oluşur (49).

#### Konjesyon:

Venöz kanın dokudan uzaklaşmasında yetersizliğe bağlı gelişen pasif bir olaydır (49).

## **2.2. Metotreksat (MTX)**

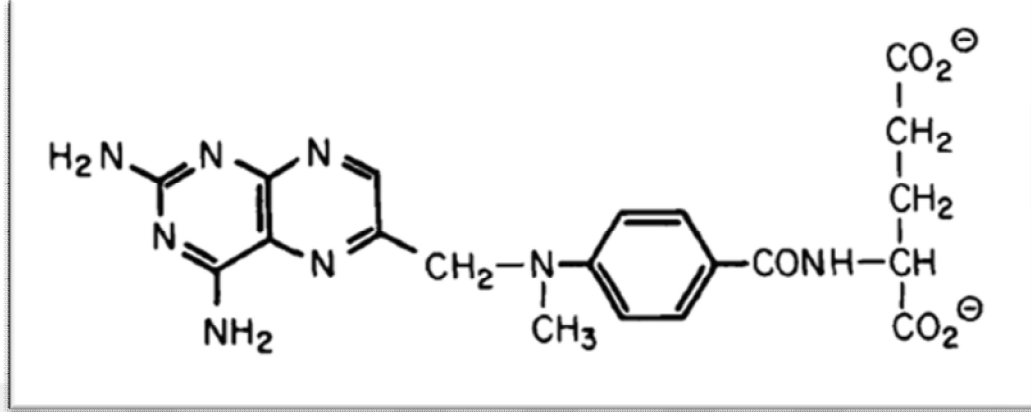
MTX, lösemi, çeşitli solid tümörler, psöriazis, romatoid artrit ve diğer bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde 40 yıldan daha uzun süredir yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda sarkoidoz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve vaskülitlerde de kullanılmaktadır (3, 4).

### **2.2.1. Etki mekanizması**

Tek karbon fragmanlarının transferini içeren reaksiyonlarda folik aside bağlı enzimler kullanılır. DNA ve RNA sentezi için gerekli olan pürin ve pirimidin nükleotidlerinin sentezinin önemli bir komponenti olan timidilatın üretiminde THF rol



oynamaktadır (50). DHF'nin Tetrahidrofolat'a (THF) 'a dönüşümü için dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimine ve Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat'a (NADPH) ihtiyaç vardır. MTX, S fazındaki hücreleri etkileyen folat antagonisti antimetabolittir. Kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir:



Şekil 6. Metotreksatın kimyasal yapısı (Kaynak 51).

Dihidrofolat analogu olan bu ilaç, hücre replikasyonunda görevli önemli bir enzim olan dihidrofolat redüktaz'a bağlanıp pürin ve pirimidin yapımı için gerekli olan tetrahidrofolat sentezini inhibe etmektedir. Bu nedenle MTX tetrahidrofolat sentezini inhibe ederek pürin, pirimidin metabolizması ve DNA sentezini içeren pek çok metabolik yolu etkileyip, apoptozisle sonuçlanan DNA defektlerine sebep olur (3, 4, 52). MTX'in ayrıca kaspaz aktivasyonuna yoluyla apoptozise sebep olduğu gösterilmiştir (53).

MTX'in yapısında birden fazla metil olup DHF'deki hidroksil (OH) grubu yerine NH<sub>2</sub> bulunur. MTX, DHF'yi THF'ye çeviren DHFR enzimini inhibe eder (54). MTX folilpoliglutamil sentetaz ile 1-4 glutamat gruplarının eklenmesiyle poliglutamat forma dönüştürülen bir ilaçtır. Poliglutamat yapı muhtemelen tüm hücrelerde bulunur. Poliglutamat formun ölçümleri eritrosit, karaciğer, fibroblastlar ve kemik iliği myeloid serisinde yapılmıştır. MTX poliglutamatları hücre içinde tutulur ve DHFR enzimine bağlanarak DHF ile yer değiştirir (55, 56). Timidilat sentazın ve pürinin sentezinde rol oynayan transformilaz enzimlerinin inhibisyonu, MTX'in iki poliglutamat metaboliti tarafından meydana gelir (58). MTX'in hücrelerdeki toksik etkileri dışarıdan ilaç olarak verilen folinik asit (N5-formiltetrahidrofolat) tarafından antagonize edilir; folik asidin kendisi ise bu durumda THF'ye dönüşemediğinden antidot olarak etkinlik oluşturamaz.

### **2.2.2. Farmakolojik özellikler**

MTX 25 mg/ kg dozdan daha az miktarlarda oral olarak kullanıldığında gastrointestinal sistemden tama yakın oranda absorbe olmasına rağmen, artan dozlarda bu oran azalacağından IV yol tercih edilmektedir. İlaç plazmadan 3 fazlı şekilde temizlenir. Hızlı distribüsyon fazını, renal klerensi gösteren ikinci faz izler (2-3 saatlik yarı ömür). Üçüncü fazdaki yarılanma ömrü ise yaklaşık olarak 8- 10 saat sürer (58). Eliminasyonun bu son döneminde, böbrek hasarı yüzünden meydana gelecek uzama, ilacın kemik iliği, gastrointestinal epitel ve cilt üzerindeki toksik etkilerinin artmasına sebep olur. MTX' in plevral ya da peritoneal kavite gibi vücut boşluklarına dağılımı ise yavaş olmaktadır. Ancak, asit ya da plevral efüzyon gibi nedenlerle meydana gelecek genişlemelerde, bu bölgeler ilaç deposu gibi davranıp ilacın yavaş salınımına sebep olup plazma konsantrasyonundaki artışı devam ettirip v daha ciddi toksisite bulgularına yola açabilir.

MTX'in yaklaşık olarak %50'si plazma proteinlerine bağlanır ve sulfonamid, salisilat, tetrasiklin gibi ilaçlarla birlikte kullanıldığında ise plazma düzeyi artar. Probenesid MTX'in tübüler sekresyonunu inhibe ettiği için kontrendikedir (59). Verilen dozun %90'a kadar olan kısmı, en çok da ilk 8-12 saat içinde olmak üzere 48 saat içinde değişmeden idrarla atılır. MTX'in böbreklerden atılımı, glomerüler filtrasyon ve aktif tübüler sekresyon yolu ile olur. Bu nedenle, renal kan akımını azaltan, nefrotoksik ya da zayıf organik asit yapısındaki ilaçlarla birlikte kullanımı, renal atılımı azaltarak daha ciddi myelosupresyona sebep olabilir. MTX'in santral sinir sistemine, sistemik dolaşımdaki dozunun yaklaşık %3'ü kadarı geçiş göstermektedir (60).

#### **Metotreksat'ın hepatotoksitesisi:**

MTX'in hepatotoksik etkisinin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır (61). MTX karaciğerde enzimatik bir sistem aracılığıyla major ekstrasellüler metaboliti olan 7 hidrosimetotreksata dönüşür (62). MTX hücre içinde poliglutamata formunda tutulur. MTX kullanımı ile hücre içindeki poliglutamata formunun miktarı artar ve folik asit seviyeleri düşerek hepatosit nekrozuna neden olur (5). Poliglutamata formunun seviyesinin artması intrasellüler alanda ilacın miktarını arttırmaktadır. Bu mekanizmanın MTX'in hepatotoksik etkisinin sebebi olduğu düşünülmektedir (6). Lösemi, psöriazis ve romatoid artrit MTX ile tedavisi sırasında gelişen hepatotoksisite

gözlenebilmektedir. Non spesifik yağlı değişiklikler, nükleer polimorfizm, hepatosit nekrozu, kronik portal inflamasyon, fibrozis ve siroz gibi patolojik lezyonlar izlenebilir (63).

Düşük doz uzun dönem MTX tedavisi alan psöriasisli hastalarındaki siroz gelişme riski %7'dir. Takip edilen hastaların yaklaşık %8'de transaminazların normalin üç katı kadar yükseldiği gösterilmiştir (4). MTX'in neden olduğu toksisitenin, tedavinin süresi, doz miktarları, hastalığın tipi, risk faktörleri ile genetik ve moleküler apoptotik faktörler gibi birçok faktörün etkileşimiyle oluştuğu düşünülmektedir (61).

Ayrıca MTX piruvat dehidrojenaz, 2- oksogluterat dehidrojenaz, ve sitosolik nikotinamid adenozin difosfat (NADP) bağımlı dehidrojenazı inhibe eder. Nikotinamid adenozin difosfat, reaktif oksijen radikallerine karşı koruyucu bir antioksidan olup, redukte glutatyonun üretilmesinde kullanılır (61, 64). MTX kullanımına bağlı olarak düşen NADP seviyeleri, hepatositleri reaktif oksijen radikallerine karşı duyarlılaştıran glutatyon seviyelerinin düşmesine ve bu da hepatosit hasarına neden olur (4, 61).

#### Metotreksat toksisitesi ve oksidatif stres:

Antikanser ilaçlarla yapılan toksisite çalışmalarında oksidatif stresin önemi belirtilmiştir. Karaciğer, böbrek, ince barsak ve merkezi sinir sistemindeki MTX'in yan etki mekanizması olarak oksidatif stres sorumlu gösterilmiştir (2,7-9).

Serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunun, hücre membran hasarı ile MTX aracılı doku hasarında önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir. Çeşitli kimyasal maddeler tarafından oluşturulan doku hasarında, serbest oksijen radikallerine bağlı mikrovasküler bozukluklar üzerinde durulmaktadır (10). Serbest radikallerin dokuya doğrudan zarar verici etkileri yanı sıra; dokuda karmaşık bir şekilde lökosit birikimini tetikledikleri de gösterilmiştir. Aktifleşen nötrofillerin myeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz gibi enzimleri sentezledikleri ve serbest radikalleri ortaya çıkardıkları izlenmiştir (11). Bu sebeple MTX 'a bağlı oksidatif organ hasarında karaciğer ve böbrek dokularında artan MPO seviyeleri, nötrofil birikimi de katkı sağlamaktadır.

HeLa hücresi mitokondrisinde 2-okzogluterat dehidrojenaz, piruvat dehidrojenaz ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) bağımlı enzimler ile sitozolik NADP bağımlı dehidrojenazın MTX tarafından inhibisyona uğratıldığı izlenmiştir. Babiak ve ark. heLa hücrelerinde MTX'in glutatyon seviyelerini azalttığını göstermişlerdir (64). Devrim ve

ark. oksidatif stresin MTX'a bağlı nefrotoksisitede önemli bir yeri olduğunu göstermişlerir (9). Jahovic ve ark. MTX uygulanan ratların kan, karaciğer, böbrek ve ince barsak dokularında glutasyon seviyelerinde azalma, inflamatuvar yanıtın göstergesi olan MPO aktivitesinde artma ve MDA seviyelerinde ise belirgin artış olduğunu göstermişlerdir (8).

### 2.3. Serbest Radikaller

Elektronlar orbital denem bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron ihtiva eder. Serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur (66, 67).

Vücutta, çeşitli serbest radikaller türleri normalde belirli fonksiyonları gerçekleştirmek için üretilir. Süperoksit ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve nitrik oksit (NO), normal fizyoloji için gerekli olan, fakat yaşlanma sürecini hızlandırdığına ve hastalık durumlarında selüler dejenerasyona aracılık ettiğine inanılan reaktif oksijen türünde üç serbest radikaldir. Bu ajanlar birlikte proteinler, lipidler ve DNA ya hasar veren, yüksek ölçüde aktif singlet oksijen, hidroksil radikalleri ve peroksi nitritleri üretir (68, 69).

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif hasar meydana getirirler. Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmalarında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhine bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (69).

Ateroskleroz, kanser, inme, iskemi reperfüzyon hasarı, Parkinson hastalığı, katarakt, kronik böbrek hastalığı, diabetes mellitus, hepatit, siroz, pankreatit, amfizem, preeklampsi gibi birçok hastalıkta oksidatif hasarın rol oynadığı bildirilmektedir (70).

### 2.3.1.Reaktif oksijen türleri

Literatürde oksijen radikallerini ve ilgili radikal olmayan türleri tanımlamada pek çok farklı terim kullanılmıştır. Reaktif oksijen radikalleri (ROS), radikal olmayan oksijenden derive bazı birleşikleri ve oksijen radikallerini kapsar (tablo 2). Pek çok biyolojik molekül nonradikaldir. Serbest radikaller, nonradikallerle reaksiyona girdiğinde, yeni radikaller oluşur ve zincir reaksiyonları meydana gelebilir (71).

**Tablo 2.** Bazı reaktif oksijen türleri( Kaynak 71).

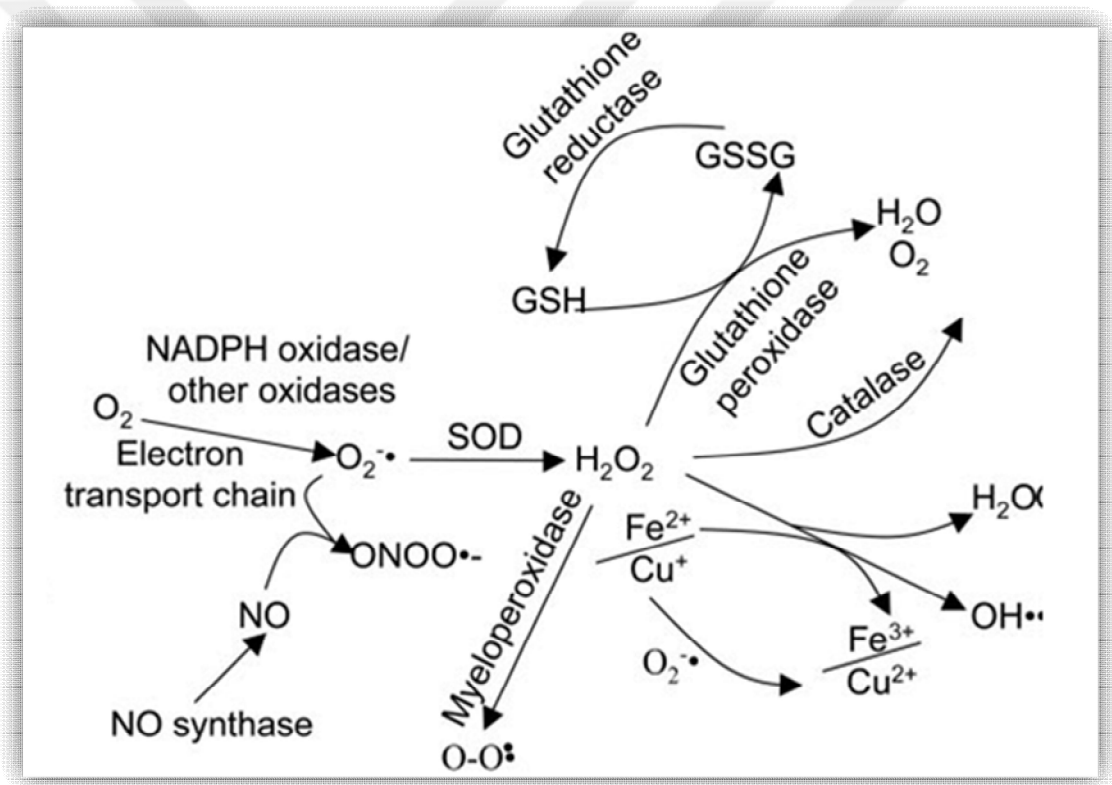
Serbest Radikaller	Nonradikaller
<b>ROS</b>	<b>ROS</b>
Süperoksit, $O_2^*$	$H_2O_2$
Hidroksil, $OH^*$	Hipobromik asit, HOBr
Hidroksiperoksil, $HO_2^*$	Hipokloröz asit, HOCl
Karbonat, $CO_3^*$	Ozon, $O_3$
Peroksil, $RO_2^*$	Singlet oksijen, $O_2^1\Delta g$
Karbon dioksit radikal, $CO_2^{*-}$	<i>Organik peroksit, ROOH</i>
Singlet $O_2^1\Sigma g^+$	Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup> Peroksinitrat, $O_2NOO^-$ Peroksinitröz asit, ONOOH Peroksimonokarbonat, $HOOCO_2^-$
Reaktif klorin türleri Atomik klorin, $Cl^*$	Reaktif klorin türleri Nitril klorit, $NO_2Cl$ Kloramin Klorin dioksit, $ClO_2$
Reaktif bromin türleri Atomik bromin, $Br^*$	Reaktif bromin türleri Bromin klorit, BrCl
Reaktif nitrojen türleri Nitrik oksit, $NO^*$ Nitrojen dioksit, $NO_2^*$ Nitrat radikali, $NO_3^*$	Reaktif nitrojen türleri Nitröz asit, HNO Nitroksil anyon, $NO^-$ Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>

#### 2.3.1.1. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )

$O_2^-$ , okside nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) için, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotidin (NADH) oksidasyonu sırasında mitokondrial elektron transfer zinciri tarafından ve oksidazlar gibi bazı enzimlerin yan ürünü olarak oluşur. Elektronların yaklaşık % 4'ü, solunum zincirine  $O_2^-$  formunda katılır.  $O_2^-$ , vasküler fonksiyonun regülasyonu, hücre bölünmesi, enflamasyon, apoptoz, ve nötrofilin

bakteriyel aktivitesi üzerine faydalı etkileri vardır.  $O_2^{\cdot-}$ 'in azaldığında, bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılıkta artışa neden olur (68).

$O_2^{\cdot-}$ 'in selüler seviyeleri, sıkı regülasyon altındadır. Aşırı artmış  $O_2^{\cdot-}$  düzeyleri,  $O_2^{\cdot-}$  i  $H_2O_2$  ve oksijene çeviren SOD enzim ailesinin aktivitesi ile kaldırılır.  $O_2^{\cdot-}$  aşırı derecede oluşumu, bozulmuş hücrel metabolizma sahip komplikasyona eğilimli dokularda meydana gelir. ATP sentaz inhibe olur ve elektron transfer yavaşlar. Bu, iki yolla, süperoksitin aşırı üretimine neden olur. Birincisi, yüksek reaktif kuinon ara maddelerinin yarı ömrü uzar, moleküler oksijen ve süperoksit formlarını birleştirmek için elektronların serbest kalımı artar. İkincisi, elektron transfer zinciri artık NAD'ı yeniden üretmediğinde, NADH oksidaz enzimi aktive edilir ve bir yan ürün olarak süperoksit üretir (68).



**Şekil 7.** Oksijenin yüklü durumları ve hücre içindeki oksijen radikallerinin oluşumu, detoksifikasyonu. Hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlara katılan moleküler oksijen gibi, elektronlarda moleküller arasında hareket eder ve yüksek oranda reaktif ara ürünler üretilir. Bunlar, daha sonra spesifik enzim aktiviteleri ile kaldırılır. Bu reaksiyonlar yukarıdaki şemada özetlenmiştir (68).

### **2.3.1.2. Hidrojen peroksit radikali (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

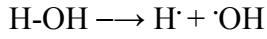
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksitin spontan olarak veya SOD'ın katalizlediği dismutasyon sonrası üretilir. Üretildiği yerde kalan süperoksitin aksine, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sitozol boyunca ve membranlar arasından yayılabilir. Bu ROS, bakterilere karşı olan lökosit aracılı savunmanın bir birleşenidir. Çünkü H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, güçlü oksidan bir ajandır. Hücreler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya çevirmek için çok miktarda katalaz, glutatyon ve tioredoksin ekprese eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, serbest Fe<sup>2+</sup> ile reaksiyona girdiğinde, demir oksitlenir ve hidroksil radikalleri üretilir. Hidroksil radikalleri üretiminin, doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açan vazodilatasyonun kaybolması içeren pek çok ciddi sonuçları vardır (68).

### **2.3.1.3. Nitrik oksit (NO)**

NO, NO sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik enzim aktivitesi yoluyla üretilir. NOS'un kalsiyum bağımlı izoformları, enflamasyon ve hücre aktivasyonu ile ilişkili indüklenbilir izoformları mevcuttur. NO, iyon kanallarını kontrol eden guanilat siklazı aktive ederek vasküler tonusun düzenlenmesinde major rol oynar. Ek olarak, NO oksijen-bağlanma bölgelerine yarışmalı olarak bağlanarak, sitokrom oksidazın direkt inhibisyonu yoluyla hücresel solunumu düzenler. NO'in ayrıca nörotransmitter olarak rol oynadığına inanılmaktadır. Daha önemli olarak, NO bazı ortamlarda antioksidan olarak davranır ve lipid peroksidasyonunu engeller. Fakat süperoksit arttığında, NO süperoksit ile peroksinitrit oluşturmak üzere reaksiyona girer ve prooksidan hale gelir (68).

### **2.3.1.4. Hidroksil radikali**

Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H<sup>+</sup>'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (66, 72).



### **2.3.2. Serbest radikallerin etkileri**

#### **2.3.2.1. Lipid peroksidasyonu**

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (66, 73, 74).

Lipid peroksidler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler (66, 74). Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (66, 73).

#### **2.3.2.2. Proteinlere etkisi**

Proteinlerin oksidatif olarak, spesifik aminoasitlerin oksidatif modifikasyonu, serbest radikal aracılı peptid ayrılma ve lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyon nedeniyle protein çapraz bağlarının oluşumu şeklinde üç yolla modifiye olur. Serbest radikal aracılı protein modifikasyonu, enzim proteolizine yatkınlığı artırır. Protein ürünlerindeki oksidatif hasar, enzim, reseptör ve membran transportu aktivitesini etkileyebilir. Oksidatif olarak hasarlanan protein ürünleri, membran ve pek çok selüler fonksiyon hasarına neden olabilen çok reaktif grupları içerebilir. Peroksil radikali, genellikle proteinlerin oksidasyonuna neden olan serbest radikal türü olarak kabul edilir. ROS, proteinlere hasar verir ve aminoasitlerde modifikasyona neden olur, karboniller üretir. Protein oksidasyonu, yaşlanmaya neden olan sinyal iletim mekanizması, enzim aktivitesi, ısı stabilitesi ve proteolizis duyarlılığını etkiler (74).



### **2.3.2.3. DNA üzerine etkisi**

DNA ve RNA, oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Özellikle yaşlanma ve kanserde, DNA'nın major hedef olduğu gösterilmiştir. Oksidatif nükleotidlerin, UV ışınları altında oluşan DNA'nın oksidatif hasarı veya serbest radikal hasarı nedeniyle arttıkları bulunmuştur. Kanserde içeren pek çok hastalıkta rol oynayan mitokondrial DNA'nın oksidatif hasara duyarlı olduğu gösterilmiştir (74).

### **2.4. Antioksidan Sistemler**

Antioksidan, serbest radikallere elektron veren ve onları nötralize eden yeteri kadar stabil bir moleküldür. Böylece serbest radikallerin hasar verme kapasitesini azaltır. Bu antioksidanlar, serbest radikalleri temizleme özelliği sayesinde hücrel hasarı geciktirir ya da inhibe eder (74, 75). Düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar, serbest radikaller ile reaksiyona girer ve vital moleküller hasarlanmadan önce zincir reaksiyonunu sonlandırırlar. Bu antioksidanlardan glutatyon, ubikinol ve ürik asitinde dahil olduğu bazıları, vücudun normal metabolizaması sırasında üretilir (74, 76).

Diğer daha hafif antioksidanlar diyetin içerisinde bulunur. Vücutta serbest radikalleri ortadan kaldıran çok sayıda enzim sistemi olmasına rağmen, esas mikrobesein(vitaminler) şeklindeki antioksidanlar vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), C vitamini (askorbik asit) ve B karotendir (74, 77). Vücudun üretmediği bu mikrobeseinlerin, bu nedenle diyet ile alınması gerekmektedir.

#### **2.4.1. Antioksidan koruma sistemi**

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler;

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.
2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.
3. Onarma etkisi; hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

İntraselüler ve ekstraselüler ortamdaki enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar, ROS detoksifiye ederler.

### **2.4.2. Enzimatik antioksidan sistemler**

Hücreler, antioksidan enzimlerin birbirleriyle etkileşen bir ağla oksidatif strese karşı korunur (74, 78). Burada, oksidatif fosforilasyon gibi süreçler tarafından oluşturulan süperoksit, ilk olarak hidrojen peroksit, daha sonra su oluşturacak şekilde indirgenir. Bu detoksifikasyon yolu, ilk basamakta süperoksit dismutazın katalizlediği, daha sonra katalaz ve hidrojen peroksiti çıkaran çeşitli peroksidazla birlikte multiple enzimlerin sonucudur (74, 79).

#### **2.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz, süperoksiti daha az reaktif olan hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler:



SOD, en efektif intraselüler enzimatik antioksidandır. Süperoksit dismutaz, dokularda üç formda bulunur, her biri spesifik subselüler lokalizasyon ve farklı doku dağılımı göstermektedir (74, 80). Ayrıca farklı aktif metal merkez, aminoasit yapısı, ko-faktörlere sahiptirler (69).

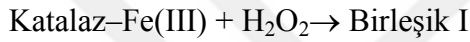
1. Bakır-Çinko Süperoksit dismutaz (CuZnSOD): CuZnSOD, sitoplazmada ve hemen hemen tüm memeli hücrelerinde organelde bulunur (80). Spesifik olarak süperoksit anyonunun, oksijen ve suya dismutasyonunu katalizler (69). İki protein subuniti vardır ve her biri katalitik olarak aktif bakır ve çinko atomu içerir.

2. Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD): Hemen hemen tüm hücrelerde mitokondride bulunur. Dört protein subunitesi içerir ve her biri muhtemelen tek manganez atomu içerir (80). MnSOD, anti-tümöral aktiviteye sahip çok etkili antioksidan bir enzimdir (74).

3. Ekstraselüler süperoksit dismutaz (ECSOD): EC-SOD, endotel hücreleri ve fibrablastları içeren sadece birkaç hücre tipi tarafından sentezlenir. Hücre yüzeyine eksprese edilir ve heparan sülfata bağlanır. EC-SOD, ekstraselüler sıvıda saptanabilen major SOD'dır. Heparin enjeksiyonu sonrası vasküler endotelial yüzeyden dolaşıma salınır. EC-SOD, vasküler tonusun sağlanmasında rol oynuyor olabilir, çünkü endotelden derivate gevşetme faktörü (nitrik oksit veya yakından ilişki bir birleşik) süperoksit tarafından plazmada nötralize edilmektedir (80).

#### **2.4.2.2. Katalaz**

İki basamaklı bir reaksiyon ile hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalizler (80).

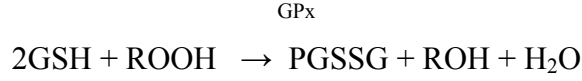
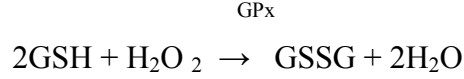


Katalaz, her birinde bir hem grubu ve NADPH molekülü içeren dört protein subünitesinden oluşur. Katalaz reaksiyonu için Michaelis sabit oranı oldukça yüksektir (72, 80). Katalaz, büyük ölçüde, hidrojen peroksitte üretme kabiliyetine sahip enzimleride içeren hücre içindeki peroksizomda yer almaktadır (80). Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğunudur fakat tüm dokularda bulunur (66, 80).

#### **2.4.2.3. Glutatyon peroksidaz**

Glutatyon peroksidaz enziminin, selenyum-bağımsız (glutatyon-S-transferaz) ve selenyum-bağımlı (Se-bağımlı, GPx) iki formu vardır. Bu iki enzimin subunitlerinin sayısı, aktif merkezde selenyum bağlama özelliği ve katalitik mekanizmaları farklıdır. Glutatyon metabolizması, antioksidan savunma mekanizmalarının en önemlisidir.

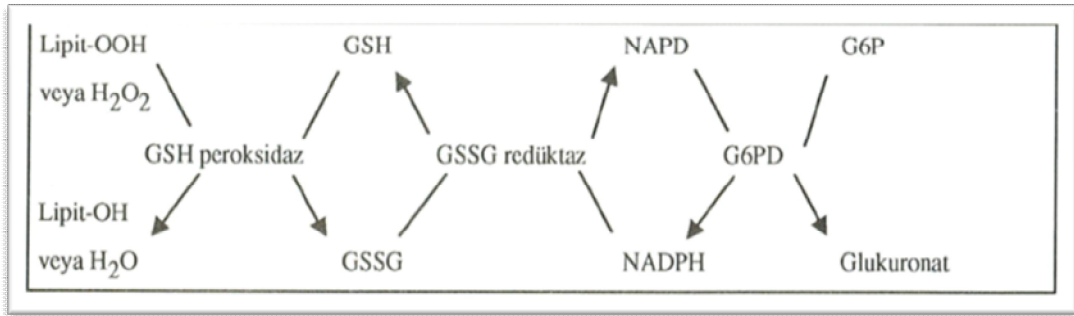
İnsanlarda, Se-bağımlı glutatyon peroksidazın dört farklı tipi vardır. Bu selenoenzimlerin antioksidan özellikleri, Fenton reaksiyonu için potansiyel substrat olan peroksidazların kaldırılmasını sağlamaktır. GPx, hücre içinde yüksek konsantrasyonlarda olan tripeptid glutatyon ile birlikte hareket eder. GPx'in katalitik reaksiyonu için substratlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> veya organik peroksit ROOH'dır. GPx, peroksidazı, GSH ile beraber suya (veya alkol) dönüştürür (66, 74).



Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (81). Glutatyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksi ( $\text{OH}$ ) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir (82).

#### **2.4.2.4. Glutatyon redüktaz**

Redükte Glutatyon (GSH), oksidazlar tarafından protein sülfidrillerine tercih edilen bir substrat olup protein sülfidril oksidasyonunu önler. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir. Yüksek GSH ve düşük okside glutatyon (GSSG) düzeyleri önemlidir, çünkü yüksek GSSG düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık glutatyon-protein sülfidrilleri oluşturur. Gerekli GSH-GSSG oranları glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimleri tarafından devam ettirilir. NADPH'ın G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gerekli biyosentetik süreçlerde önemli olabilir (Şekil 8) (72).



**Şekil 8.** Glutatyon metabolizması.

### **2.4.3. Non-enzimatik antioksidan sistemler**

#### **2.4.3.1. Vitaminler**

#### **2.4.3.4. Tiyol bileşikleri**

##### **Glutatyon**

Glutatyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Okside olmuş hali glutatyon disülfittir (GSSG). Hücrede; sitozol, çekirdek ve mitokondride bulunur. Organizmada hücre içinde depolanır ve GSH/GSSG oranı hücredeki oksidatif stress miktarını yansıtır (83).

Glutatyon ve indirgenmiş formunda, oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreyi koruyan bol miktarda tiyol grubu vardır. Dokularda açığa çıkan lipid peroksitler, hidrojen peroksit, askorbik asit, serbest radikalleri indirger (84). Oksidatif strese karşı detoksifikasyon görevindeki glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz gibi enzimlere kofaktör olarak reaksiyonlara katılır (85). Eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (86).

##### **Sistein**

Tiyol içeren aminoasitlerden biri olan sistein GSH sentezinde önemli rol oynar. GSH sentezi için hız belirleyici bir enzimi onarır. Dolayısıyla sistein, GSH sentezi için hız belirleyici bir aminoasit olarak kabul edilebilir. Sistein, protein sentezi için kritik bir substrat, GSH ve taurin sentezi için hız belirleyici bir belirteçtir; aynı zamanda, hücre dışı indirgeyici ajan olarak önemli rol oynar (87). Serbest radikal ve hipoklorid toplayıcısıdır (86).

##### **N-Asetilsistein (NAC)**

Sisteinin türevi olan N-asetilsistein, sistenin GSH'ye çevrilmesinde bir ara üründür. Endojen olarak yapılabilen ve besinlerde bulunan NAC, serbest radikalleri temizleyebilen sülfidril gruplarına sahiptir. Ayrıca, hücresel GSH konsantrasyonunu artırarak doğal antioksidan savunmayı güçlendirir (88).

NAC serbest radikalleri tutarak intraselüler glutatyonun normal seviyede kalmasını sağlar. Ayrıca kalp ve akciğer hastalıklarında, parasetamol, paraquat, ağır metal zehirlenmelerinde kullanılır (89). NAC, glutatyon sentezinde prekürsör olarak

görev alırken glutasyon seviyesini rejenere eden enzimlerin stimülasyonunu sağlar. Bu etkisiyle endojen bir antioksidan olan glutasyon seviyesi korunur.

### Metionin

Metionin, toksik olan asetaldehidin düzeyini düşürerek alkolün zararlı etkilerini azaltabilir (87). Metionin indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarına bağlı olarak katalitik etki yaratır ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur (90).

### Taurin

Yarı esansiyel bir aminoasittir. Lipid peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek antioksidan etkili olduğu gösterilmiştir. Taurin ratlarda MTX'in yol açtığı doku hasarını önlemiştir. Ksenobiotiklere bağlanma yeteneği vardır. Hipoklorit ile de reaksiyona girerek etkisini azaltır (91).

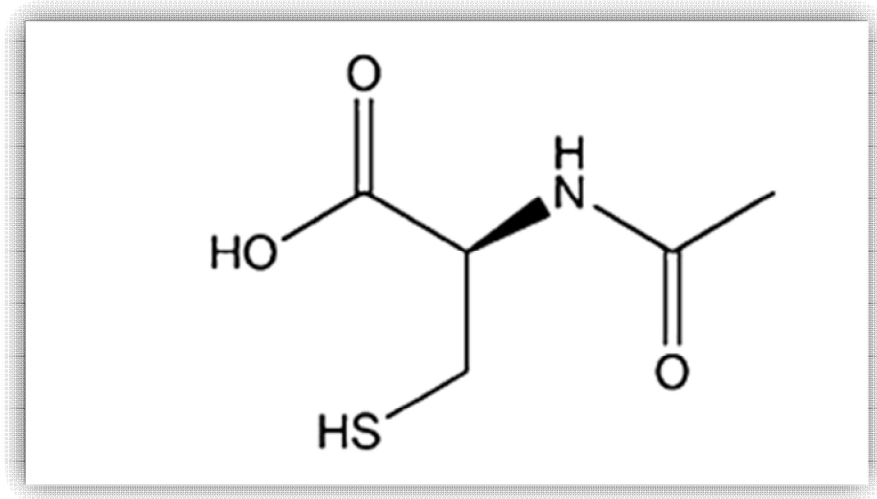
### **2.4.3.5. Flavonlar**

Flavonlar antioksidatif etkilerini; ksantin oksidaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek, süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak gösterirler (92).

## **2.5. N-Asetil Sistein**

### **2.5.1. Yapısı ve farmakokinetiği**

NAC, kimyasal formülü  $C_5H_9NO_3S$  ve moleküler ağırlığı 163.2 olan, bir thiol (sülfidril içeren) birleşigidir. Oral olarak alımı sonrası hızlıca emilir, ancak, karaciğer ve ince bağırsak hücrelerinde uzamış ilk geçiş metabolizması, protein peptit zincirlerinin NAC'a dahil edilmesi ve NAC'ın farklı metabolitlerinin oluşumu ile sonuçlanır. İntakt NAC'ın sadece küçük bir yüzdesi plazma ve sonrasında dokuya ulaşır (93).



**Şekil 9.** N-asetilsisteinin moleküler yapısı (Kaynak 94).

NAC'ın pik konsantrasyonu, oral alımı takiben bir saatten kısa sürede plazmada saptanır. Serbest NAC'ın plazma yarı ömrü yaklaşık, 2.15 saat olduğu tahmin edilmektedir ve uygulama sonrası 10-12 saatte neredeyse hiç NAC saptanamaz.

NAC'ın metabolik aktivitesinden büyük ölçüde sülfidril (SH) grubu sorumlu iken asetil yerine geçen amino grupları oksidasyona karşı molekülü daha stabil yapar. Araştırmacılar, intakt NAC molekülünün oral biyoyararlanımının % 4 ve %10 arasında olduğunu tahmin etmektedir. Bununla birlikte, intestinal mukoza ve lümende NAC'ın deasetilasyonu ve proteinlere disülfid bağlanması, NAC'ın oral biyoyararlanımının düşük olmasında muhtemelen en büyük faktördür. Oral alımı takiben, NAC'ın major bir kısmı, başka birleşiklere metabolize olduktan sonra, serbest ve total NAC'a ek olarak, plazmada beraberinde non-protein, protein SH grupları ve düşük moleküler ağırlıklı protein bağlı thiollerin artışı görülür.

İnvivo hayvan çalışmaları, NAC uygulanması sonrası redükte ve oksidize olmuş NAC'ın her ikisinin küçük miktarlarını hepatik ve portal vende göstermektedir. Fakat, karaciğere gelen major NAC metaboliti, sistein ve inorganik sülfid olarak görünmektedir. Glutatyon da, çok az derecede portal vende akkümüle olur. NAC'ın bu metabolitlerinin dönüşümü, NAC'ın etkinliğinin ve protektif etkilerinin büyük kısmını oluşturur (93).

### **2.5.2. Etki mekanizması**

NAC, kimyasal olarak sisteine benzer. Sistein ile karşılaştırıldığında, NAC daha az toksik, oksidasyona (ve dimerizasyona) daha az duyarlı ve suda daha fazla çözünür. Bu da NAC'ı, sisteinin kendisinin parenteral uygulanmasından, daha iyi bir sistein kaynağı yapar (14).

SH gruplarının kaynağı olan NAC, redükte glutatyon sentezini stimüle eder, glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırır, detoksifikasyonu uyarır ve reaktif oksidan radikalleri direkt olarak etkileyip, temizlerler (12, 13). İn vivo ve invitro çalışmalar, NAC'ın intraselüler GSH biyosentezini arttırabildiğini göstermektedir. Hücre kültürü deneylerinde, NAC, selüler GSH biyosentezi için, kültür ortamından sistin alımını uyarmaktadır. İn vivo, NAC, eritrositlerde, karaciğer ve akciğerde intraselüler GSH seviyesini artırır ve deneysel olarak azaltılan GSH depolarını doldurmaktadır. Deneysel çalışmalar NAC'ın, GSH prekürsörü gibi davrandığını ve GSH'ın intraselüler konsantrasyonlarını arttırarak, paraquat kaynaklı sitotoksositeye karşı protektif (koruyucu) etki gösterdiğini bildirmektedir (93).

NAC, ayrıca, asetaminofen doz aşımaları için antidot olarak görülmektedir. Çünkü intraselüler GSH prekürsörü gibi hareket edebilmektedir. Asetaminofenin yüksek dozlarda alımı, glutatyon düzeyini belirgin şekilde azaltır ve sitosolik glutatyon transferaz aktivitesini inhibe eder. NAC, glutatyon konsantrasyondaki azalmayı düzeltir ve safra kanalı tıkalı ratlarda glutatyon peroksidazın farklı formları, mitokondrial süperoksit dismutaz, katalaz aktivitesi ve membran akışkanlığının korunmasına yol açar (93).

NAC, asetaminofen metabolizması sırasında olduğu gibi GSH talebinin belirginleştiği durumlarda, GSH'ın sentezini destekler. Fakat glutatyon havuzunda, artan bir talep olmadığında, NAC, plazma GSH üstünde etkili olmayabilir. Sağlıklı gönüllülerde NAC'ın (30 mg/kg) uygulanması sonrasında, plazmada, serbest ve total glutatyon, total sisteinde artış izlenmemiştir. Buna karşın, 2 gram NAC ve 2 gram asetaminofenin birlikte uygulanmasını takiben, sirkülasyondaki sistein ve GSH konsantrasyonlarında artış izlenmiştir (93).



- Antioksidan
- Detoksifikasyonu uyarır
- Nitrogliserinin etkilerini arttırır
- Glutasyon sentezini uyarır
- Hepatoprotektan
- Lipoprotein(a) seviyelerini düşürür
- Homosistein seviyelerini düşürür
- Mukolitik

**Şekil 10.** NAC'ın etki mekanizması (kaynak 93).

NAC ile yapılan *invivo* tedavi, bazı direkt etkili mutajenlerin, karaciğer ve akciğer dokusu tarafından detoksifikasyonunu arttırabilir. NAC'ın, GSH sentezi-metabolizmasını uyararak ve mutajenik/karsinojenik maddelerin daha toksik birleşiklere biyotransformasyonunu kısıtlayarak protektif (koruyucu) etkilerini meydana getirdiği izlenmiştir.

NAC, hepatik ve pulmoner mikrozomlardaki sitokrom P-450'nin konsantasyonlarını etkilemiyor görülmüş, NADP redüksiyonu (glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz), glutasyon redüksiyonu (GSSG-redüktaz) ve ksenobiyotiklerin redüktif detoksifikasyonuna katılan sitozolik enzim aktivitelerini sitimüle eder. Aynı zamanda NAC'ın, bazı deneysel koşullar altında, siklik guanosin monofosfat konsantrasyonunu arttırabildiği görülmüştür (93).

NAC (ve GSH), direkt olarak serbest radikalleri temizlemesine rağmen, reaktif oksijen türleriyle reaksiyonlarında hız sabiti, süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerden daha düşüktür (14). SH grupları reaktif oksijen gruplarına karşı savunmada çok önemlidir. NAC, hipokloröz asitin güçlü bir şelatörüdür, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksiti azaltabilir. Hayvan çalışmalarında, %100 oksijenin uzun süre verilmesi sonucu akciğerde oluşan oksijen toksisitesine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.

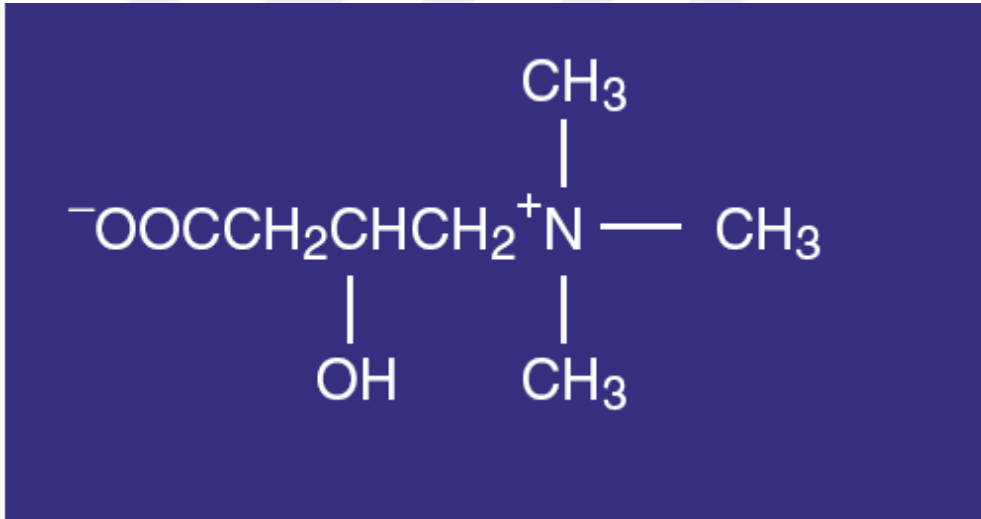
NAC, bir radioprotektif ajan olarak başarı ile kullanılmaktadır ve sitokin konsantrasyonlarının düzenlenmesinde kısmen bu etki uygulanır. İnterlökin-1, tümör nekroz faktör alfa ve gamma-interferon endojen olarak, radyasyona karşı hematopoetik

sistemin korunmasını sağlar. NAC, in vitro, düşük konsantrasyonlarda (0.6 ve 6mmol/l), interlökin-2, interlökin alfa ve betanın konsantrasyonlarını önemli oranda arttırırken, yüksek konsantrasyonlarda (12-24 mmol/l) bu sitokin konsantrasyonlarını azaltır (93).

## **2.6. L-Karnitin**

### **2.6.1.Yapısı ve farmakokinetiği**

Kolinin yapısı ile hemen hemen aynı, trimetilize bir amino asit olan L-karnitin, hücresel enerji üretimi için mitokondriyel matrikse transportu gereken serbest uzun zincirli yağ asitlerinin açilkarnitinelere transformasyonu için gerekli bir kofaktördür (20). L-CAR(3-hidroksi-4-N-trimetilamanyum büturat- şekil 11) tüm memeli türlerinde, doğal olarak meydana gelen, küçük, polar bir birleşiktir (95).



**Şekil 11.** L-karnitinin kimyasal yapısı (Kaynak: 14).

L-karnitinin ana diet kaynağı, özellikle kırmızı ette olmak üzere etler ve süt ürünleridir, meyve ve sebzelerde önemsiz miktarda bulunur. Ortalama bir yetişkin, omnivor diyetle günlük 2-12 mmol/kg/day veya 23-135 mg almaktadır. Diyetle alınan karnitin, idrarla ve feçesle atılmaktadır. Bağırsaktan sature olan spesifik bir transporturla alınmaktadır bu nedenle, L-karnitinin, destek olarak diyetle veya oral dozlarda alınmında biyoyararlanımı, %5-18, hatta daha düşük olabilir.

İnsanlarda, çeşitli dokular trimetil-lizini  $\gamma$ -butyrobetain haline çevirir, fakat L-CAR sentezinin tamamlanması, butyrobetainin hidroksilasyonunu kapsar. Böbrek ve

beyin de, L-CAR sentezi yapar, fakat kalp ve iskelet kası L-CAR sentez yeteneğine sahip değildir. Bunun yerine, kandan taşıyıcı bağımlı olarak L-CAR uptakei yaparak yüksek kas seviyelerini korur (95).

L-CAR, bağırsakta aktif transport ve pasif difüzyonun kombinasyonu ile absorbe edilir. Çalışmalarda, oral alımı takiben biyoyararlanımı, %16-18 gibi düşük değerlerde ve %54-87 gibi yüksek değerlerde bulunarak, büyük ölçüde farklılık göstermiştir. 2 gr ve daha büyük bireysel dozlarda, oral L-CAR desteği, avantaj sağlamamaktadır, çünkü yaklaşık 2 gr dozda karnitin mukozal absorpsiyonu sature olmaktadır. Oral alımı takiben, maksimum kan konsantrasyonuna yaklaşık 3.5 saat sonra ulaşmaktadır ve yaklaşık 15 saat yarı ömrü mevcut olup yavaşça azalır. Karnitin atılması, öncelikle böbrekler yoluyla gerçekleşir (20).

### **2.6.2. Etki mekanizması**

L-karnitin, açıl-CoA thioesterlerden gelen, kısa, orta ve uzun zincirli açıl gruplarının kabulünü sağlar. Reversible transferaz reaksiyonları katalize eden, karnitin açıltransferaz enzimidir. Açıl-karnitinler, daha sonra spesifik translokaz enzimi aracılığıyla iç mitokondrial membran boyunca taşınır ve mitokondrideki transesterifikasyon, daha sonra intra-mitokondrial  $\beta$ -oksidasyon için kullanılabilir olan, CoA thioesterini oluşturur. Çünkü, açıl-CoA thioesterlerinin kendisi ve değişmemiş yağ asitleri iç mitokondrial membranın içine ve dışına hareket edemez, L-CAR varlığı, yağ asidi oksidasyonu için zorunludur. Bu birleşimin (karnitin havuzunu), plazma ve doku düzeyleri nispeten dar sınırlar içinde muhafaza edilmektedir. Bu homeostaza katılan prosesler, endojen sentez, besinlerden absorpsiyon, büyük ölçüde yapılan ancak sature olabilen renal tubuler reabsorpsiyon ve özellikle hücresel enerji kaynağı olarak yağ asidi metabolizmasına dayanan dokular için yüksek doku-plazma konsantrasyon oranını sağlayan taşıyıcı aracılı distirübisyon prosesleridir (95).

Karnitin, benzer şekilde, peroksizomal yağ oksidasyonunda da rol oynamaktadır (96). Normal şartlarda mitokondri içerisindeki total CoA miktarı sabit kalmalıdır. Serbest CoA, birçok enzimatik reaksiyonda gerekli bir maddedir. Karnitin, CoA karnitin açıl transferaz enziminin etkisiyle mitokondriyal açıl-CoA miktarını azaltarak serbest CoA miktarının artmasına neden olur (açıl-CoA + karnitin  $\rightarrow$  açıl-karnitin + CoA). Serbest CoA miktarının artması, alfa-ketoglutarat dehidrogenaz aktivitesini artırarak

krebs siklusunu hızlandırır. Bu şekilde mitokondrideki CoA/asetil-CoA oranının korunması sağlanır (97).

Karnitin, açıl gruplarını temizleme sistemi olarak da görev yapmaktadır. Bu yönüyle detoksifiye edici bir ajandır. Mitokondride biriktikleri takdirde birçok enzimi inhibe eden ve yıkıcı etkileri bulunan açıl gruplarının mitokondri dışına taşınmalarını sağlar. Uzun zincirli açiller, düşük konsantrasyonlarda adenilat translokaz enzimini inhibe ederler. Bu enzimin inhibisyonu durumunda ise ATP'nin mitokondri dışına taşınması durur. Daha yüksek miktarlarda ise deterjan etkilerinden dolayı intraselüler membranlarda geri dönüşümsüz hasar oluştururlar. Karnitin, uzun zincirli açıl CoA miktarını azaltarak bu istenmeyen etkileri engeller (96).

Karnitin, organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen veya ekzojen organik asitlerin konjugasyonunda da görev yapmaktadır. Örneğin, artan glutamin ve amonyağın beyindeki düzeylerini azaltarak amonyak toksisitesinden beyni koruma görevini de üstlenir (97). İskemik dokularda karnitin rezervi hızla tükenir ve uzun zincirli yağ asitleri okside edilemez, trigliserit sentezi artar, bunun sonucunda da uzun zincirli açıl-CoA ve uzun zincirli açıl karnitin esterleri birikir. Çeşitli deneysel iskemi modellerinde, karnitin ile mitokondrilerin metabolik hızı arttırılarak oksijen kullanımının arttığı gösterilmiştir. Doku karnitin seviyesinin normale yükseltilmesiyle uzun zincirli açıl-CoA'dan açıl grupları ayrılarak intramitokondriyal açıl-CoA miktarı normale düşürülür ve yüksek açıl-CoA seviyelerinin getirdiği olumsuz etkiler geri çevrilir. Ayrıca aerobik piruvat metabolizması uyarılarak piruvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır. Bu şekilde hücre içi laktik asit birikimi de önlenir. Bunlara ek olarak karnitin serbest radikal üretimini durdurur ve sonuçta hücre hasar azaltılmış olur (21).

Ayrıca L-karnitin makrofajın litik enzim aktivitesini arttırdığı ve nötrofillerin süperoksit anyon üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (98, 99, 100). L-karnitin, glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksik dismutaz antioksidan enzimlerin aktivitesini reaktif oksijen gruplarını katalize eden metal iyonları (ör. demir) şelatlarını artırır (101, 102).

### **2.6.3. Endikasyonları**

Ekzojen L-CAR, klinikte karnitin eksikliğine bağlı hastalıklarda (95) ve aşağıda belirtilen diğer bazı durumlarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

- Anoreksia
- Anjina, iskemi, kardiyojenik şok, kardiomyopati, periferel vasküler hastalıklarda, myokard infaktı ve hiperlipidemi gibi kardiovasküler hastalıklarda
- Diabetik hastalarda ve insülün direncine yönelik
- Kanserle ilişkili yorgunluk ve kronik yorgunluk sendromunda
- Yağlı karaciğer, hepatit, siroza bağlı hepatik ensefalopati gibi karaciğer hastalıklarında
- HIV
- Hipertiroridizm
- Erkeklerde infertilitede
- Böbrek yetmezliği ve Diyaliz hastalarında
- Prematürlerde Respiratuar Distress Sendromunda

Ayrıca atletik performans amacıyla, ortalama kalp hızı ve oksijen tüketimini azalttığı, koşu hızını iyileştirdiği için kullanılmaktadır (20).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Deney Hayvanları:**

Bu deneysel çalışma Eylül 2015-Nisan 2016 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma ile ilgili olarak etik kurulundan (25.02.2015 Tarihli Etik Kurul Oturum No: 2015/2–Karar No:03) onay alındı. Deneysel çalışmada kullanılacak ratlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Barınağı'ndan temin edildi. 28–32 haftalık, 300-350 gram arasında ağırlıkları değişen 40 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat çalışmada kullanıldı. Oda koşullarında ( $22 \pm 2$  °C) barındırılan ratlar, standart pellet rat yemi ile beslendiler.

#### **3.2. Deney grupları ve deney protokolü**

Ratlar her grupta 8'er rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

I. Grup (Kontrol Grubu): Ratlara 5 gün boyunca intraperitoneal (ip) olarak 2cc/gün serum fizyolojik verildi.

II. Grup (Methotrexate grubu): Ratlara ip olarak tek doz 20 mg/kg methotrexate verildikten 1 saat sonra 2 cc serum fizyolojik verildi ve geri kalan 4 gün boyunca da serum fizyolojik 2 cc/gün olarak verildi.

III. Grup (MTX+NAC grubu): Ratlara ip olarak 500 mg/kg dozunda N-asetilsistein ve 1 saat sonrasında ardından da tek doz 20 mg/kg MTX verildi ve kalan 4 gün boyunca da 500 mg/kg dozunda N-asetilsistein verildi.

IV. Grup (MTX+L-CAR): Ratlara ip olarak 150 mg/kg dozunda karnitin ve 1 saat sonrasında ardından da tek doz 20 mg/kg MTX verildi ve kalan 4 gün boyunca da 150mg/kg dozunda karnitin verildi.

V.Grup(MTX+NAC+L-CAR): Ratlara ip olarak 150 mg/kg dozunda karnitin ve 500 mg/kg dozunda N-asetilsistein verildi ve 1 saat sonrasında ardından da tek doz 20 mg/kg MTX verildi. Kalan 4 gün boyunca da 150mg/kg dozunda karnitin ve 500 mg/kg dozunda n-asetilsistein verildi.

Deneyin başlangıcında ve 6. Günde ratların ağırlıkları tartılıp ilaç uygulamaları ratların ağırlıklarına göre uygulandı. Tüm grupların enjeksiyonu ip yoldan aynı gün başlatılarak 5 gün boyunca uygulandı ve aynı gün sonlandırıldı. Deneyin sonunda III. gruptan 1, V.gruptan 1 tane olmak üzere toplam 2 rat kaybedildi. Geriye kalan ratlar 6. gün genel anestezi altında sakrifiye edilmeden hemen önce biyokimyasal tetkikler için intrakardiyak kan alındı. Ratlar sakrifiye edildikten sonra histopatolojik inceleme ve doku biyokimyası için karaciğer doku örnekleri alındı. Alınan kanlar 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra serum kısmı ependorf tüplere ayrılarak analiz dönemine kadar -80 °C’de derecede saklandı. Alınan karaciğer dokuları ise histopatolojik çalışma için %10 formolde, biyokimyasal çalışmalar için ise -80 °C de saklandı.

### **3.3. Karaciğer Testlerinin Değerlendirilmesi:**

Ratlar deneyin sonunda genel anestezi altında sakrifiye edildikten sonra intrakardiyak olarak kanları alındı ve serumları ayrıldı. Serumda ALT, AST, ALP ve total bilirubin düzeyleri, Abbott Park, USA kiti kullanılarak selectra otoanalizöründe REL ASSAY diyagnostik laboratuvarında değerlendirildi.

### **3.4. Karaciğer Dokusunda Oksidan ve Antioksidan Belirteçlerin Ölçülmesi:**

Karaciğer doku örnekleri, buz içinde 0.25 M sükröz ile 14000 rpm hızda santrifüje edilerek homojenize edildi. Üstte biriken supernatanlar, doku biyokimyası çalışması için ayrıldı.

#### **3.4.1. Karaciğer Dokusunda MDA Düzeylerinin Ölçülmesi ( Lipid Peroksidasyonu Değerlendirilmesi) :**

Karaciğerde, lipid peroksidasyonu gösteren MDA düzeyleri, MDA’nın asidik PH ve sıcak ortamda tiyobarbitürik asitle (TBA) oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının yöntemi kullanılarak ölçüldü. Yöntemin uygulamasında ise; 0,1 ml homojenat üzerine 0,2 ml %8,1’lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml %20’lik asetik asit, 1,5 ml %0,8’lik TBA ve 0,7 ml saf su konularak 95 °C’de 30

1 dakika su banyosunda kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:14 oranında) eklendi ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okunarak standart eğriden değerlendirildi. Sonuçlar nmol/mg protein olarak tanımlandı.

#### **3.4.2. Karaciğer Dokusunda MPO Aktivitesinin Ölçülmesi:**

MPO aktivitesi Lowry'nin yöntemi ile tespit edilmiştir. Deney karışımı, 1 cm yol uzunluğunda bir küvet içinde, 0.3 mL 0.1 M fosfat tamponu (pH 6.0), 0.3 mL 0.01 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, deiyonize su içinde taze hazırlanmış 0.5 mL 0.02M o-dianisidin ve 10 µL serum ilave edilerek son serumda 3 ml'lik bir nihai hacim elde edilerek gerçekleştirildi. Serum en sonunda ilave edilerek 460 nm absorbans değişikliği, 10 dakika boyunca takip edilmiştir. Tüm ölçümler iki kez yapıldı. MPO'nun 1 ünitesi dakikada 0.001 absorbans artışı olarak tanımlandı. Miligram protein başına düşen MPO aktivitesi hesaplanarak sonuçlar spesifik aktivite olarak değerlendirildi. Enzim aktivite sonuçları U/mikrogr protein olarak verildi.

#### **3.4.3. Karaciğer Dokusunda SOD Aktivitesinin Ölçülmesi:**

SOD aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle belirlenmiştir. Bunun için hemolizat 1:20 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edilerek, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve INT (p-iyodonitrotetrazolium viyolet) içeren miks substrat ve 125 µl 80 U/L ksantin oksidaz içermektedir. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Ksantin oksidazın etkisiyle ksantin oluşturduğu süperoksit radikali; (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium (INT) boyası ile kırmızı renk meydana getirir. SOD, süperoksit radikalini hidrojen peroksit'e dönüştürür. SOD'un bu reaksiyonu inhibe etme derecesine bağlı SOD aktivitesi belirlenmiştir. SOD aktivitesi ile renk miktarı arasında ters ilişki vardır. Tepkimede, 37 °C'de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları standart eğriden değerlendirildi. Enzim aktivite sonuçları U/mikrogr protein olarak verildi.



#### **3.4.4. Karaciğer Dokusunda NO Aktivitesinin Ölçülmesi:**

Serum NO düzeyleri Griess reaktifi kullanılarak ölçüldü. 5 ul nitrat redüktaz ve 2 mmol / l NADH'a 10 ul numune ilave edildi ve nitriti tüm nitrata dönüştürmek için 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örnekler deproteinize edildi, ve sonra Griess reaktifi (sülfanilamid ve N-1-Naphthylethylendiamine dihidroklorür) ilave edildi. Oda sıcaklığında, renk gelişimi sonrası absorbans değerleri, 540 nm'lik bir dalga boyunda ölçüldü. Her bir numune, iki kopya halinde test edildi. Serum nitriti, potasyum nitratın nitrite enzimatik dönüşümü ile elde edilen standart bir eğri ile hesaplandı. Sonuçlar litre başına mikromol/mg protein olarak NO olarak rapor edildi.

#### **3.4.5. Karaciğer Dokusunda GPx Düzeyinin Ölçülmesi:**

GPx aktivite ölçümü için Beutler metodu kullanılmıştır. GPx, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vasıtasıyla redükte glutatyon (GSH)'nun okside glutatyon (GSSG)'a oksidasyonunu katalize eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> t-bütil hidroperoksitin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GPx aktivitesi NADPH'ın NADP'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla tayin edilir. Enzim aktivite sonuçları U/mikrogr protein olarak verildi.

#### **3.5. Serum ve Karaciğer Dokusunda TNF-α ve Lökotrien Düzeylerinin Ölçülmesi:**

Serum ve doku IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α değerleri ELİSA metoduyla ticari bir kit ile (Boster Biyolojik Teknoloji Ltd) ve otomatik ELİSA mikroparka okuyucuyla (Thermo Scientific, Finlandiya) çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak değerlendirildi.

#### **3.6. Karaciğer Dokularının Histopatolojik İncelenmesi:**

Deney sonunda postmortem karaciğer eksizyonu uygulandı. Karaciğer dokularından 0.5 cm kalınlığında kesitler alınarak %10'luk formalinde fiske edilen doku parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitler histopatolojik inceleme için Hematoksilen-Eosin (HE) ile boyandı ve ışık

mikroskobunda değerlendirildi. Karaciğer dokusundaki mikroskobik değişiklikler “Roeningk skorlaması” na göre 0–3 değerleri arasında derecelendirildi.

**Tablo 3:** Karaciğer dokusundaki mikroskobik bulguların skorlanması:

Yağlanma		Nükleer polimorfizm		Fibrozis		Portal inflamasyon	
Yok	0	Yok	0	Yok	0	Yok	0
Hafif	1	Hafif	1	Hafif(Asinüs içine uzanan fibrozis)	1	Hafif	1
Orta	2	Orta	2	Orta/Ciddi	2	Orta	2
Ciddi	3	Ciddi	3	Ciddi	3	Ciddi	3

### 3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistik değerlendirme; bilgisayar ortamında, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 21.0 version) programında yapıldı. Gruplara ait veriler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde gösterildi. Grupların biyokimyasal parametreleri ve histolojik karşılaştırılması için One Way Anova ve Tukey testi kullanıldı. Her iki test içinde  $p<0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kan Biyokimyası Sonuçları Serum ALT, AST, Total Bilirubin, ALP düzeyleri değerlendirildiğinde;

	Kontrol Grubu (n:8)	MTX Grubu (n:8)	MTX+NAC Grubu (n:7)	MTX+LCAR Grubu (n:8)	MTX+NAC+LCAR Grubu (n:7)
AST (IU/L)	131±13,2	124±65	157±55	104±25	207±108
ALT (U/L)	45±9	26±11	34±7	34±12	39±8
TBİL (mg/dl)	0,1±0,05	0,1±0,05	0,09±0,05	0,1±0,05	0,2±0,04
ALP (U)	96±29	35±14	54±38	68±49	58±38

**Tablo 4.** Kan Biyokimyası Sonuçları

Not. Veriler, ortalama ± SD olarak verildi.

ALT düzeyinde biyokimyasal ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. AST düzeyi değerlendirildiğinde ise MTX'a L-CAR tek başına eklenmesiyle AST düzeyinde belirgin düşme saptanırken istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Total bilirubin ve ALP düzeylerinde de gruplar arası anlamlı fark görülmedi.

### 4.2. Karaciğer Dokusundaki Antioksidan Parametrelerin Sonuçları:

GPx düzeyleri değerlendirildiğinde; MTX grubunda kontrole göre arttığı gözlemlendi. MTX'a L-CAR ve NAC eklenmesiyle GPx düzeylerinde artış görülmekle beraber, MTX+NAC grubunda bu artışın daha belirgin olduğu görüldü. MTX+NAC+LCAR grubuna bakıldığında ise GPx aktivitesinin düştüğü görüldü. İstatistiksel olarak ise gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

SOD düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; MTX grubunda kontrole göre artış olduğu görüldü. MTX uygulanan ratlara NAC eklendiğinde ise SOD düzeyinin arttığı fakat L-CAR eklenmesiyle azaldığı saptandı. MTX+NAC+L-CAR grubundaysa SOD’da düşme görüldü. Ancak istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

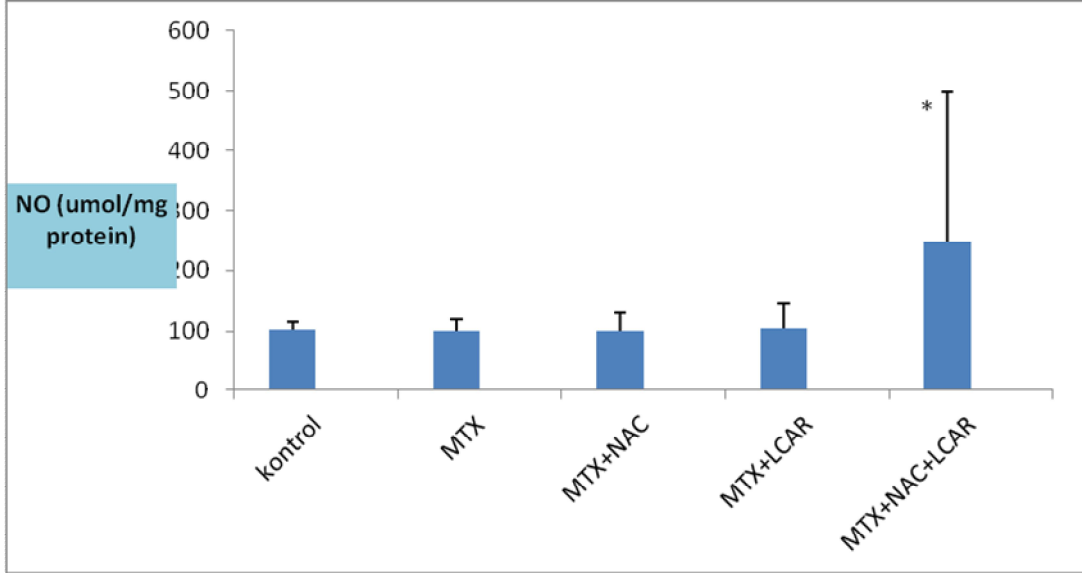
#### 4.3. Karaciğer Dokusundaki Oksidatif Stres Parametrelerinin Sonuçları:

**Tablo 5.** Methotrexata bağlı akut karaciğer hasarındaki oksidatif ve antioksidan parametreler

	Kontrol grubu (n=8)	MTX grubu (n=8)	MTX+NAC grubu (n=7)	MTX+LCAR grubu (n=8)	MTX+NAC LCAR grubu (n=7)
<b>MDA (nmol/ mg protein)</b>	6,6± 3,4	9,4 ± 6,6	6,6±2,9	7,6± 6,4	7,1± 3,8
<b>MPO (U/ mg protein)</b>	39,0± 11,7	47,2 ±26,2	39,5 ±22,0	45,3 ± 36,4	50,9 ± 25,1
<b>SOD (U/mg protein)</b>	555,7±87,6	820,8± 357,4	1092,2± 476,5	704,8 ± 327,3	432,2± 157,6
<b>GPx U/ mg protein)</b>	373,1±215,5	457,0 ±246,6	573,0 ± 407,7	535,9 ± 241,0	366,9± 187,7
<b>NO (mikromol/mg protein)</b>	6,1 ± 2,9	7,3± 2,4	6,9 ±3,2	7,6 ± 2,3	3,3±0,8

Not. Veriler, ortalama ± SD olarak verildi.

NO düzeyi açısından değerlendirildiğinde; sadece MTX grubunda kontrole göre NO düzeyinin artmış olduğu görüldü. MTX’a NAC eklenmesiyle NO düzeyinin azalmışken, MTX+NAC+L-CAR verilen grupta kontrol grubuna göre bu düşüşün daha belirgin olduğu görüldü. Ancak MTX’a L-CAR eklenen grupta ise NO düzeyinde artış saptandı. İstatistiksel olarak MTX+L-CAR ile MTX+NAC+LCAR grubu arasında(p<0,01) ve de MTX ile MTX+NAC+LCAR arasında anlamlı fark saptandı(p<0,02).



**Şekil 12.** NAC ve LCAR'nin MTX'a bağlı toksisitede NO düzeyleri üzerine etkileri .

\*  $p < 0.05$ , kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı fark izlendi.

MDA düzeyini değerlendirildiğinde; MTX grubunda kontrole göre arttığı gözlenirken, MTX+NAC grubunda MDA değerlerinin düştüğü ve kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği görüldü. Hem MTX+L-CAR grubunda hemde MTX+NAC+L-CAR grubunda MDA düzeyi, sadece MTX alan gruba göre azalmış olmakla beraber kontrol grubuyla benzer olduğu görüldü.

MPO düzeyi değerlendirildiğinde ise sadece MTX alan gruba hem de MTX+NAC+L-CAR grubunda MPO düzeyinin kontrole göre arttığı görüldü. MTX'a NAC eklenmesiyle MPO düzeyinin azaldığı, ancak diğer tedavi gruplarında belirgin değişmediği saptandı. Ancak bu düşüşün istatistiksel olarak bakıldığında ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

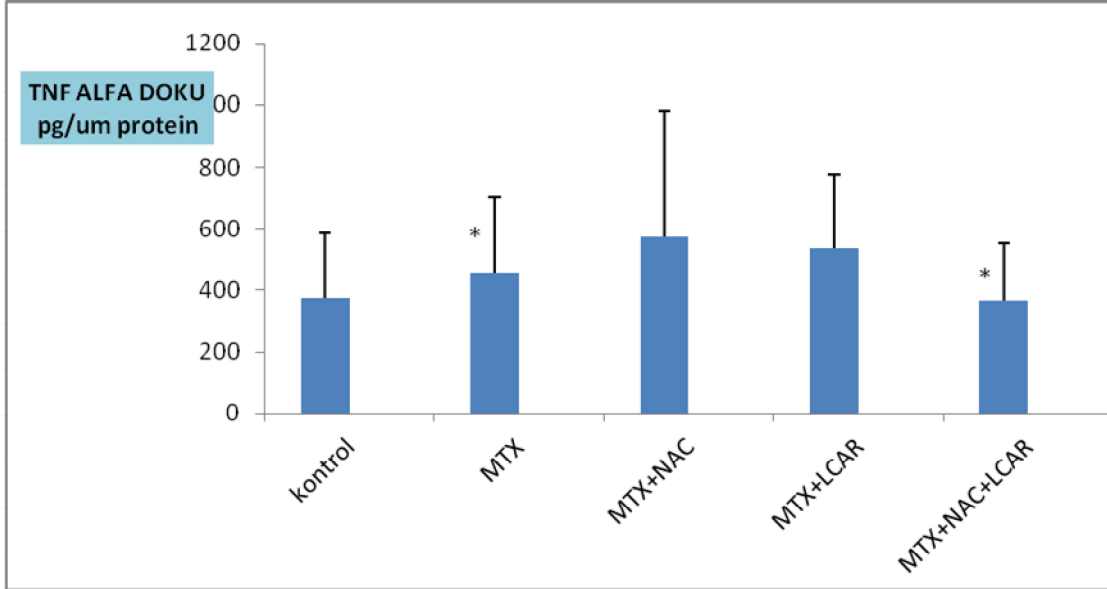
#### 4.4. Kan Lökotrien ve TNF- $\alpha$ Düzeyinin Sonuçları:

Kan lökotrien ve TNF- $\alpha$  düzeyi değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

#### 4.5. Karaciğer Dokusunda Lökotrien ve TNF- $\alpha$ Düzeyinin Sonuçları:

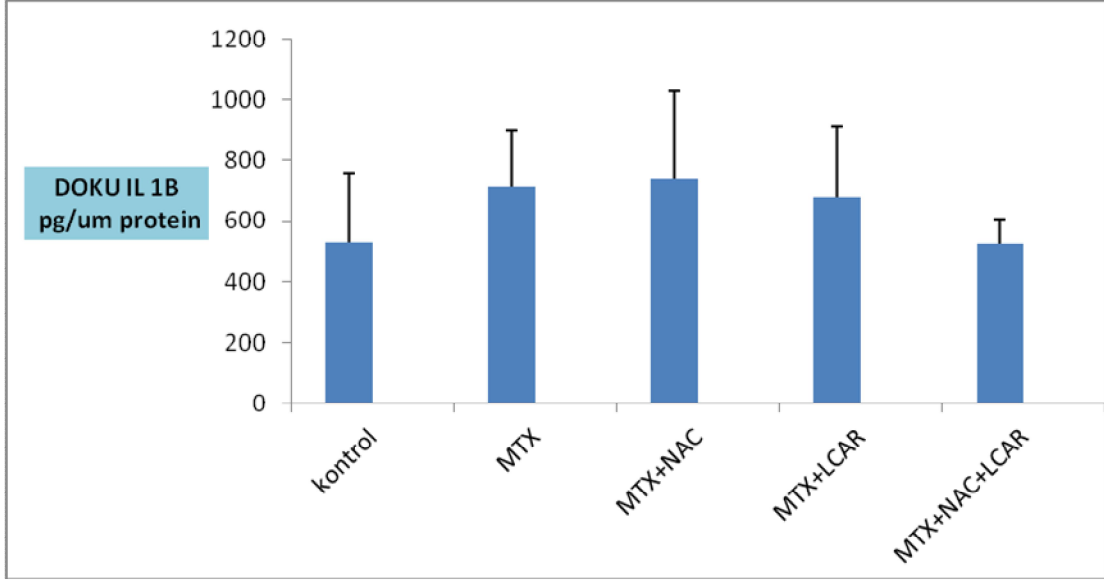
Karaciğer doku TNF- $\alpha$  düzeyi değerlendirildiğinde ise; sadece MTX verilen grupta kontrole göre arttığı saptandı. MTX'a NAC eklenmesiyle TNF- $\alpha$  da azalma

görülürken, bu azalmanın L-CAR eklenen grubunda daha belirgin olduğu görüldü. En belirgin azalmanın ise MTX+NAC+L-CAR grubunda olduğu görüldü. İstatiksel olarak MTX grubuyla, MTX+NAC+L-CAR grubu arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0,009$ ).



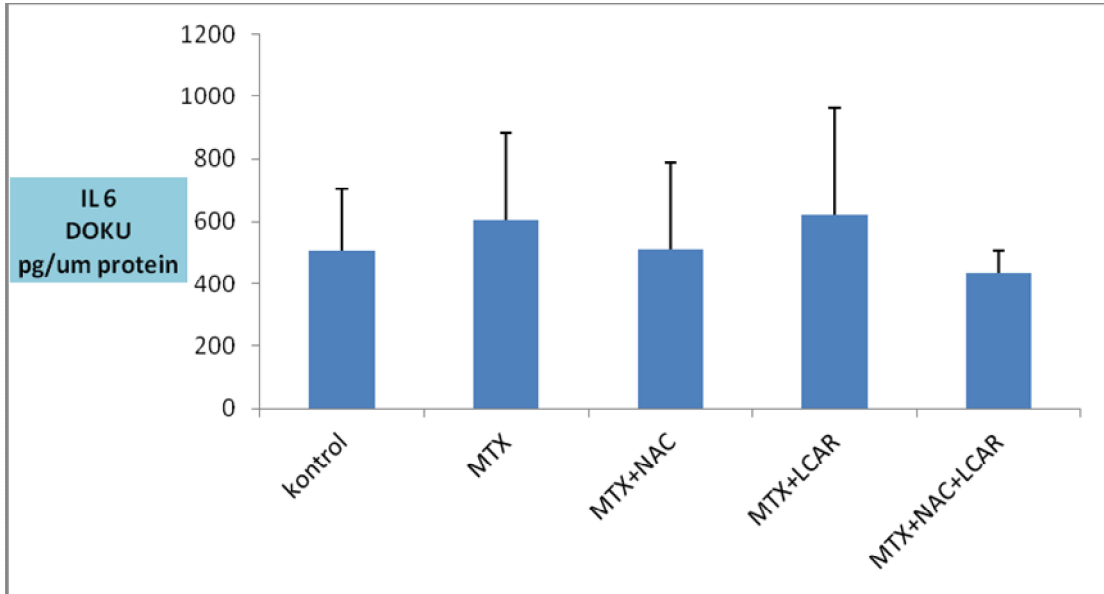
**Şekil 13.** NAC ve LCAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku TNF- $\alpha$  düzeyleri üzerine etkileri. \*  $p<0.05$ , kontrol ve tedavi gruplarında anlamlı fark izlendi.

IL-1 doku düzeyi değerlendirildiğinde; sadece MTX verilen grupta düzeyinin kontrole göre belirgin arttığı görüldü. MTX'a NAC eklenmesiyle de IL-1 düzeyinde artış, L-CAR eklenmesiyle hafif düşme görülürken L-CAR grubunda kontrole göre de yüksek değerlerde olduğu saptandı. MTX+NAC+L-CAR grubunda, MTX ve kontrol grubuna göre düşme saptandı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.



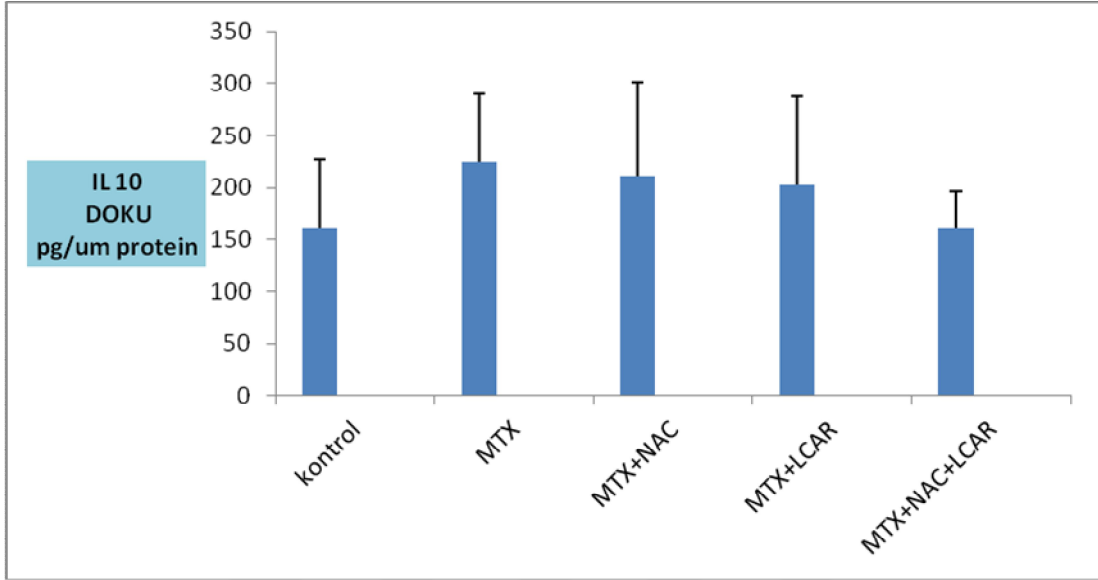
**Şekil 14.** NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-1B düzeyleri üzerine etkileri.

IL-6 doku düzeyi incelendiğinde; MTX grubunda kontrole göre düzeyinin belirgin arttığı izlendi. MTX'a NAC eklenen grupta IL-6 düzeyinin düştüğü ancak kontrol grubuna göre de yüksek olduğu görülürken, L-CAR eklenen gruptaysa IL-6 düzeyinin yükseldiği saptandı. Kombine grupta ise yalnız MTX grubuna göre ve kontrol grubuna göre düşme saptandı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.



**Şekil 15.** NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-6 düzeyleri üzerine etkileri

IL-10 doku düzeyi MTX grubunda kontrole göre arttığı görüldü. Hem MTX+NAC hem MTX+L-CAR grubunda hem de MTX+NAC+L-CAR grubunda IL-10 düzeyi azalmışken en belirgin azalma MTX+NAC+L-CAR grubunda görüldü. Bununla beraber istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.



**Şekil 16.** NAC ve L-CAR'nin MTX'a bağlı toksisitede doku IL-10 düzeyleri üzerine etkileri

#### **.4.6. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları:**

Histopatolojik değerlendirmede rat grupları arasında karaciğerde anlamlı bir fark izlenmedi.



## 5. TARTIŞMA

MTX lösemi, çeşitli solid tümörler, psöriazis, romatoid artrit ve diğer bazı otoimmün hastalıkların ve de sarkoidoz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve vaskülitlerin tedavisinde kullanılmaktadır. MTX, S fazındaki hücreleri etkileyen folat antagonisti antimetabolittir. Dihidrofolat analogu olan ilaç, hücre replikasyonunda anahtar enzim dihidrofolat redüktaz'a bağlanarak pürin ve primidin yapımı için gerekli tetrahidrofolat sentezini inhibe eder. Pürin ve primidin sentez inhibisyonu apoptozisle sonuçlanan DNA defektlerine yol açar (3, 4). Ayrıca MTX piruvat dehidrojenaz, 2-oksoglutarat dehidrojenaz, ve sitosolik nikotinamid adenozin difosfat (NADP) bağımlı dehidrojenazı inhibe eder. Nikotinamid adenozin difosfat, reaktif oksijen radikallerine karşı koruyucu bir antioksidan olup, redükte glutatyonun üretilmesinde kullanılır (61, 64). MTX kullanımına bağlı olarak düşen NADP seviyeleri, hepatositleri reaktif oksijen radikallerine karşı duyarlılaştıran glutatyon seviyelerinin düşmesine ve bu da hepatosit hasarına neden olur (4, 61).

MTX'in önemli klinik problemlere neden olan, öngörülemeyen ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Hastaların ve klinisyenlerin toksisitesi hakkındaki endişeleri metotreksat kullanımını sınırlandırmaktadır. Karaciğer sirozu, kemik iliği fibrozisi ve pulmoner hastalıklar ciddi yan etkileridir ve ölümcül olabilir (104). Ancak yan etkilerinin mekanizması net değildir (3, 4).

Karaciğer, toksik kimyasal maddelerin atılımı ve detoksifikasyonunda önemli rolü olan bir organdır. MTX ve metabolitlerinin vücuttan atılımında hepatobiliyer sistem ve böbrekler birlikte çalışmaktadır. MTX böbreklerden sonra en fazla karaciğerde biriktiğinden dolayı, yüksek doz uygulanması hepatotoksisiteye neden olabilir (1, 2). MTX'in indüklediği hepatotoksisitede altta yatan mekanizma tam olarak aydınlatılmamışken bu durumun etkileri bilinmektedir. En çok çalışılan iki etkisi ise özellikle karaciğeri içeren çeşitli dokularda serbest radikallere bağlı oksidatif strese ve lipid peroksidasyonunda artmadır. Karaciğerde meydana gelen oksidatif olaylara bağlı alerjik, sitotoksik, ya da immunolojik yan etkiler gelişebilmektedir (65). MTX'in malign hücrelere karşı spesifitesindeki eksiklik nedeniyle hızlı proliferasyona uğrayan normal dokularda toksisiteye neden olabilmektedir (3, 105).

Oksidatif doku hasarı MTX'in hem nötrofil hem lökositlerde toksik etkileriyle yakından ilişkili görülmekte, bu durum artan apoptozis oranı ve nötrofillerin hasarlanmış oksidatif öldürücü fonksiyonlarında artma ile ilişkilendirilmektedir.

Ratlarda yapılan önceki çalışmalar NAC ve L-CAR gibi pek çok antioksidan ajanın profilaktik kullanımının mtX'in indüklediği hepatotoksisiteyi önleyebildiğini göstermiştir (106). Örneğin, Tunalı-Akbay ve ark.(107) ve Dalaklioglu ark.(108) resveratrolun ratlarda potent bir antioksidan olduğu ancak insanlarda bilinmeyen etkiyle, hepatic MDA doku düzeyinin azaltıp ve GSH seviyesini arttırarak MTX ile uyarılan karaciğer hasarına karşı koruduğunu göstermiştir. Ali ve ark.(109) MTX ile uyarılan karaciğer hasarına karşı chrysin'in koruyucu etkisini göstermiştir. Demiryılmaz ark.(110) sıçanlara tiamin fosfat uygulamasının, oksidan parametrelerde (yani MDA ve MPO) anlamlı azalmaya ve karaciğer dokusunda antioksidan parametrelerde (yani GSH ve SOD) ise artışa yol açtığını göstermiştir. Uraz ve ark.(4) rat model sistemini kullanarak MTX ile uyarılan hepatotoksisiteye karşı Ursodeoxycholic asit koruma sağladığını gösterdi. Vardi ve ark.(103), insan beslenmesinde A vitaminin önemli bir kaynağı olan ve antioksidan özelliklere sahip beta karoten alımının, ratlarda MTX'in indüklediği karaciğer hasarında hepatic MDA aktivitedesinde azalmaya karaciğer SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde ise artmaya yol açtığını bildirmiştir. Son olarak, Çetin ve ark.(111) antioksidan potansiyeli olan biyoaktif reçine propolisin (balırsı Apis mellifera L.tarafından üretilen) MTX'a bağlı karaciğer hasarında MDA, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde daha önce yapılan modellerle aynı etkilere yol açtığını bildirdi.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, kanser ve inflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalıkta yaygın olarak kullanılmakta olan bir antimetabolit olan MTX'in, meydana getirdiği oksidatif hasar üzerinde NAC, L-CAR ve bunların kombine kullanımının oksidan-antioksidan sistem üzerindeki etkilerini ve karaciğer histolojisi üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Metotreksata bağlı gelişen gastrointestinal yan etkilerin santral sinir sistemine bağlı yan etkiler olduğu ve bunun hücre içindeki folat düzeyindeki azalma sonucu ortaya çıktığı belirtilmektedir. Ayrıca folat eksikliğinin MTX toksisitesi gelişmesinde bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir. MTX tedavisine kısa süreli ara verilmesi, doz azaltımı ya da folik asidin tedaviye eklenmesi ile gastrointestinal ve hematolojik sistem üzerindeki yan etkilerde genellikle düzelme izlendiği bildirilmiştir. Ancak, folik asidin eklenmesi ile metotreksatın etkinliğinin azalacağına dair görüşler de vardır (112). 1 mg/gün folik asit veya 5 mg/hafta'dan daha az folinik asitin etki kaybı yapmaksızın stomatit, alopesi, bulantı ve diyareyi azalttığı düşüncesiyle MTX alan tüm hastalara ACR (American College of Rheumatology) tarafından folik veya folinik asit verilmesi önerilmiştir (113).

NAC'ın insanlarda meydana getirdiği antioksidan fonksiyonlar ve mekanizmalar iyi bilinmektedir. NAC, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunun inhibisyonuna ek olarak, NAC da GSH sentez yolağına sistein yönlendirilmesi ve dolayısıyla hücre içi GSH içeriğinin artması ile oksidatif stresden hücreleri korur (114). NAC akut respiratuar ditres sendromunda, kronik bronşitte, kolon kanserinde, protein enerji malnutrisyonunda, diyabette faydaları gösterilmiştir (14-17). NAC, asetaminofen zehirlenmesi, kontrastın indüklediği nefropatide renal protektan, atrial fibrilasyon için koruyucu bir ajandır (18, 19). Homoisteinin yüksek seviyelerini azaltarak kardioprotektan etki yaptığı olduğu düşünülmektedir (115). NAC, ayrıca vazodiltasyon, nötrofil aktivasyonunda önemli rol oynamaktadır, redoks sinyallerini etkiler. NAC, matriks metalloproteinaz, hiyalüronidaz, ekstraselüler matriksi azaltan enzimlerinin ortak inhibitörü olduğu bulunmuştur (115). Hoffer ve ark. ratlarda parakuatin akciğer üzerindeki sitotoksik etkisinin NAC'ın GSH prekürsörü gibi davranarak ve intraselüler GSH miktarını arttırarak koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir (116). Ayhan ve ark. ratlarda yaptığı çalışmada asetaminofenin uygulaması sonrası gelişen karaciğer hasarı sonrası kanda yükselen AST, ALT, protombin zamanı, INR ve total oksidan miktarının artan değerlerinin NAC ile azaldığı, asetaminofen uygulaması sonrası azalan total antioksidan kapasitesi ve glutasyon miktarında NAC uygulanması sonrası artış izlemişlerdir. Ayrıca histopatolojik bulgularda iyileşme gözlemlemişlerdir(117). Mohamed ve arkadaşları malationun ratlarda meydana getirdiği hepatotoksisite, inflamasyon sonrası NAC verilmesinin sonuçlarını incelemiş ve NAC uygulaması sonrası artmış olan lökositoz, T hücreleri, IL-1 $\beta$ , IL-6, INF- $\gamma$  MPO ekspresyonunu ve karaciğer enzim düzeylerini azalttığını saptamışlardır. Ayrıca NAC, azalmış olan SOD, GPx ve GST değerlerinde artış sağlamıştır (118). Eswaran ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada karbamezapin(CBZ) bağımlı karaciğer hasarından korunmada NAC'ın etkinliğini göstermiş. CBZ tedavisinin SGOT, SGPT, billürübin ve hepotoksisite markırlarında anlamlı bir yükselmeye ve albümin ve total proteinde ise anlamlı bir düşmeye neden olduğu, NAC ile desteklenmesi durumunda lipid peroksidasyonu engellenerek antioksidanların etkinliğini arttırdığı ve hepatoksisite markırlarında ise belirgin düşüş olduğu görülmüş. 50 ve 100 mg/kg NAC desteği sonucu intralobüler fibrozis ve sinüzoidal konjesyon görülmüş. Ancak 200 mg/kg NAC ile uygulamada normal karaciğer dokusunun korunduğu bulmuşlar (119). Çetinkaya ve ark. MTX'ın indüklediği hepatotoksisitede NAC tedavisinde MDA aktivitesinde azalma ( $p<0.001$ ).ve katalaz aktivitelerinde artma olduğunu, SOD değerinde ise belirgin fark olmadığı görülmüştür. Ayrıca MPO

aktivitesinin MTX grubunda arttığı, NAC eklenmesiyle azaldığı görülmüş. GSH aktivitesinin MTX grubunda azaldığı ( $p<0.001$ ), NAC eklenmesiyle azalmayı önlediği görülmüş ( $p<0.05$ ) (61).

Akbulut ve ark. (amfostinin kendisi) MTX'in indüklediği hepatotoksistide amifostin, NAC ve askorbik asitin sitoprotektif etkilerini araştırmış ve sonucunda MTX grubunda kontrole karşılaştırıldığında MDA aktivitesinin belirgin yüksek, GSH ve ksantin oksidaz aktivitesinin belirgin düşük ( $p<0.05$ ) olduğunu göstermiştir (106). Ancak MTX maruziyetinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi olmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). Antioksidan tedavilerin hiçbirinde MTX ile uyarılmış MDA aktivitesi veya MTX azaltılmış ksantin oksidaz aktivitesi önemli bir değişiklik (tümü,  $p>0.05$ ) görülmemiş iken MTX'a NAC eklenmesiyle azaltılmış GSH aktivitesinde ( $p<0.05$ ) ve hem de SOD aktivitesinde ( $p>0.01$ ) belirgin artış görülmüştür.

L-karnitin, yağ asitlerinin beta oksidasyonunu stimüle etmektedir. L-karnitin eksikliği geliştiğinde ise mitokondrial yağ asit oksidasyonu bozulmakta ve karaciğer hücre sitoplazmasında yağ birikimi oluşmaktadır. Oluşan bu yağ birikimi de karaciğer fonksiyonlarını bozmaktadır (2). Hem klinik hem de deneysel çalışmalar zararlı doku olaylarının makrofaj ve monositler tarafından algılanarak TNF- $\alpha$ , IL-1 gibi sitokinlerin sekresyonuna neden olduğunu göstermiştir (120, 121, 122). L-karnitin, lipolisakkaridlerle stimule olan insan primer monositler tarafından salınan TNF- $\alpha$  ve IL-12'yi baskıladığını göstermiştir. Etanolün indüklediği kupfer hücrelerinden izole salınan TNF- $\alpha$  salınımı L-CAR tedavisiyle belirgin azalmış olduğu daha önceden gösterilmişti (123). Bu MTX'ın indüklediği oksidatif hasarın, makrofaj ve lökositler tarafından üretilen proinflatuar sitokinlerin karnitin tarafından supresyonuyla iyileştirilmiş olduğunu göstermektedir.

G. Şener ve ark. MTX'e bağlı oksidatif hasarda L-CAR'in etkilerini araştırmış, MTX alımının MDA ve MPO aktivitesini ve kolajen içeriğini arttırdığını, GSH değerini azaldığını karaciğer, böbrek ve ileumda göstermiş, bu durumun L-CAR tedavisiyle tersine döndüğü görülmüştür (98). MTX tedavisini takiben serum TNF- $\alpha$  yükselmişken L-CAR tedavisi sonrası baskılandığı görülmüştür. Sepand Mr. ve ark. ratlarda arsenikle oluşturulan karaciğer, akciğer, beyin ve böbrekte oluşan hasarda L-CAR'in koruyucu etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda arsenikle LDH, AST, ALT, total billuribin değerinde artma, GST, katalaz, SOD değerinde azalma olurken bu etkilerin L-CAR ile

tersine döndüğü görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Oluşan oksidatif hasarın L-CAR'le önlendiği, histopatolojik bulgularında biyokimyasal parametrelerle örtüştüğü bulunmuş (124).

İbrahim AB. ve ark. tamoksifenin indüklediği toksisitede ve antitümör aktivitede L-CAR'in koruyucu etkilerini incelemiştir. Tamoksifenin karaciğer enzimlerini bilirubin ve serum lipid değerlerini, lipid peroksidaz ve NO değerini belirgin arttırdığı, uterusda GSH değerini azaltıp, karaciğer ve uterusda SOD değerini azalttığı saptamışlardır. L-CAR eklenince karaciğer enzim ve serum lipidleri azalmış iken, SOD aktivitesinin karaciğer ve uterusda artmış olduğunu, uterusda yüksek olan NO ve LPO değerinin ise düştüğünü izlenmişlerdir (125). Çetinkaya ve ark. karbontetraklorür ile ratlarda oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerinde L-CAR ve NAC'ın etkilerini incelemiştir. Karaciğer enzimlerinin değerlendirilmesinde; sadece CCl<sub>4</sub> verilen grupta ALT ve AST düzeyleri anlamlı derecede artış varken tedavi gruplarının hepsinde belirgin düşme olduğunu izlenmişlerdir. Ancak yalnızca NAC+L-CAR grubunda istatistiksel anlamlılık saptamışlardır. Karaciğer doku MDA ve MPO düzeyleri mtz grubunda anlamlı derecede yüksekken tedavi gruplarının hepsinde MDA ve MPO düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü tespit etmişlerdir. Doku antioksidan düzeyleri değerlendirdiklerinde; GSH ve katalazın MTX grubunda belirgin olarak azalıp, NAC ve L-CAR tedavisi ile arttığı saptanmışlardır. SOD aktivitelerinin ise gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği izlenmiştir. Diğer yandan karaciğer dokularının histopatolojik incelenmesinde 1. grup (kontrol) hariç diğer grupların hepsinde diffüz yağlanma tespit edildiği ve gruplar arasında yağlanma derecesi açısından fark olmadığı gözlenmiştir(126).

Ayrıca L-karnitin asetaminofen toksitesine karşı hepatoprotektif etkileri olduğunu (127), fruktozun indüklediği insülin direncinde karaciğer inflamasyonunu (128),ve nonalkolik yağlı karaciğerde yağ asit oksidasyonunu arttıran mitokondrial fonksiyonu düzelttiğini (129), hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonunu arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (130).

L-karnitin, literatürde 500 mg/kg (127), 300 mg/kg (131, 132), 100 ve 200 mg/kg (130), 125 ve 250 mg/kg (129), 200 mg/kg (133), ve 50 mg/kg(134, 135) gibi farklı dozlarda uygulanmıştır. NAC klinik çalışmalarda farklı dozlarda kullanılmıştır. Bunlara örnek verecek olursak Wong ve ark.(136), 150, 300 and 600 mg/kg dozlarda NAC kullanmış ve en etkin dozun en yüksek doz NAC ile olduğunu saptamışlardır. NAC'ın ayrıca 250 mg/kg (137), 1,5 g/kg dozunda (138), 20 mg/kg oral doz 28 gün (139), 50 mg/kg (106), NAC 50, 100, 200 mg/kg 45 gün (119) uygulandığı çalışmalar mevcuttur.

Bizim çalışmamızda serum ALT, total billuribin, ALP değerlerinde anlamlı fark izlenmemekle birlikte, AST düzeyi değerlendirildiğinde MTX'a L-CAR'nin tek başına eklenmesiyle AST düzeyinde belirgin düşme olduğu izlenmiş, ancak bunun da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Akbulut ve ark.'nın yaptığı çalışmada antioksidanların (NAC, askorbik asit, aminofistin) ALT değerini etkilemediği, AST değerini sadece amifostinin düşürdüğü görülmüştür(106), total billuribin, ALP değerlerinde bizim çalışmamıza benze şekilde anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

Serbest radikallerin dokularda lökosit akumülasyonunu ve nötrofil sekrete eden enzimleri (MPO, elastaz, proteaz gibi) aktive ettiği çoğu serbest radikallerin daha fazla arttırdığı görülmüş. Bu nedenle MPO, nötrofil aracılı oksidatif üretiminde önemli rol oynar.

Bizim çalışmamızda MPO düzeyi değerlendirildiğinde, sadece MTX verilen grupta arttığı, MTX'a NAC eklenmesiyle MPO düzeyinin azaldığı, ancak diğer tedavi gruplarında belirgin değişmediği ve istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü.

Artmış MDA, lipid peroksidasyonun serbest oksijen radikaller yoluyla hücre membranına olan hasarda temel bir rol oynadığı bilinmektedir. MDA lipid peroksit düzeylerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. MDA düzeyini değerlendirildiğinde; sadece MTX verilen grupta kontrole göre arttığı gözlenirken, MTX'a ayrı ayrı NAC, L-CAR eklenmesiyle ve de kombine verilmesiyle seviyesinde azalma olduğu ancak bununda anlamlı olmadığı izlendi. G.Şener ve ark. ve Ali ve ark. MDA değerinin MTX grubunda. L-CAR tedavisi ile düzeldiğini görmüşlerdir (98, 126).

SOD, oksidatif strese karşı korunmak için hayati bir önem taşımaktadır (140). SOD superoksitin hidrojen peroksite dönüşümünü hızlandıran ve bu sayede serbest radikallerin oluşumunu önlemede rol oynayan bir metalloproteindir. Bizim çalışmamızda SOD düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; diğer çalışmaların aksine (106), MTX grubunda SOD düzeylerinde artış olduğu, L-CAR eklenmesiyle ve kombine verilmesiyle SOD düzeylerinde azalma olduğu görüldü. Ali ve ark. Yaptığı çalışmada bizim çalışma gibi SOD değerinde değişiklik izlenmemiştir(126).

Suda çözünebilir bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bizim çalışmamızda GPx düzeylerinde, diğer çalışmaların aksine sadece MTX verilen grupta kontrole göre arttığı gözlemlendi. MTX'a L-CAR ve NAC ayrı ayrı

eklenmesiye GPx düzeyinde artış görülmekle beraber, kombine grupta azalma olduğu, istatistiksel olarak ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığı saptandı.

NO bazı ortamlarda antioksidan olarak davranır ve lipid peroksidasyonunu engeller. Fakat süperoksit arttığında, NO süperoksit ile peroksinitrit oluşturmak üzere reaksiyona girer ve prooksidan hale gelir (68). İNOS, inflamtauar durumlarda artan bir yanıt oluşturur. Tunalı-Akbay'ın yaptığı çalışmada İNOS değerinin CCl<sub>4</sub> ile değerinin arttığı saptamış (107). Bazı araştırmacılar ise azalmış NO değerinin lipid peroksidasyonunu sınırladığını düşünmektedirler (141). Diğer çalışmada geniş çapta NO salınımının hepatotoksisiteye bağlı karaciğerde artmış üretimle ilişkili olduğunu göstermiş (142). Yuan ve ark. kronik etanol alımının bir hasar markırı olan İNOS aktivitesini arttırdığını belirlemiş (143). Bizim çalışmamızda da sadece MTX verilen grupta kontrole göre NO düzeyinin artmış olduğu izlendi. MTX'a NAC eklenmesiyle NO düzeyinin azalmışken, MTX+NAC+L-CAR verilen grupta kontrol grubuna göre bu düşüşün daha belirgin olduğu görüldü (p<0.02).

Sitokin, makrofajları aktive etmek, lökositleri güçlendirmek, T ve B hücre farklılaşmasını ve vasküler permeabilite artışına neden olan fonksiyonlara sahiptir (144) Aşırı salınan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve diğer proinflamatuvar sitokinler akut ve kronik karaciğer hasara neden olur. Metotreksat yüksek dozu hepatotoksisiteye neden olan oksidatif strese yol açar (109). Artan oksidatif stres ise doku hasarına neden olan proinflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açar (145). Hepatosit hasarı Kupffer hücre ve stellat hücrelerde sitokin üretimine neden olur. Maruziyetten dakikalar sonra IL-1 $\beta$ , IL-6 and IFN- $\gamma$  salınımı başlar (146). Sitokinler hasarlı hücrelerde apoptozis ve hepatik inflamasyonu içeren nükleer faktör  $\kappa$ B gibi nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna cevap olarak gelişir (147).

TNF- $\alpha$  ve IL-10 gibi proinflamatuvar sitokinlerdeki artış diazinon (148), fenitoin (89), ve malatyonda (149) ratlar üzerinde çalışılmış. Akut somon maruziyetine takiben ratların hipokampus, talamusta proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6'nın yükseldiği görülmüş (150). Sarin gazınının benzer şekilde ratların hipokampus ve kortexinde TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 değerlerini arttırdığı çalışılmış. Sitokin değerlerinin, sarin maruziyetinden 1-2 gün sonra normale döndüğü ancak ikinci bir yükselişin maruziyetten 30 gün sonra tekrar olduğu görülmüş, bu da inflamasyonun başlangıç maruziyetinden uzun zaman sonra da devam edebileceğini göstermiş (151).

Bizim çalışmamızda kanda ölçülen TNF- $\alpha$  ve inflamatuvar sitokinlerde anlamlı değişiklik gözlenmedi. Ancak karaciğer dokusunda bakıldığında, doku TNF- $\alpha$  düzeyi değerlendirildiğinde; sadece MTX verilen grupta kontrole göre artış saptandı. MTX'a ayrı ayrı NAC, L-CAR eklenmesiyle TNF- $\alpha$  da azalma görülürken, kombine eklenmesiyle bu azalmanın daha da belirgin olduğu görüldü. İstatiksel olarak MTX grubuyla, MTX+NAC+L-CAR grubu arasında anlamlı fark izlendi( $p<0,009$ ). G.Şener ve ark. yaptığı çalışmada serum TNF- $\alpha$  değeri kontrol grubuna kıyasla MTX grubunda arttığını ( $p<0.001$ ), tedaviye L-CAR eklenmesiyle TNF- $\alpha$  değerinin düştüğü, nötrofil hasarının düzeldiğini bulmuşlardır.

IL-1ve IL-6 doku düzeyi değerlendirildiğinde; sadece MTX verilen grupta düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin arttığı görüldü. MTX'a NAC, L-CAR eklenmesiyle veya kombine verilmesiyle elde edilen düşüşün anlamlı olmadığı görüldü. IL-10 doku düzeyi bakıldığında MTX grubunda kontrole göre arttığı görüldü. MTX'a ayrı ayrı NAC, L-CAR eklenmesiyle IL-10'da azalma görülürken, kombine eklenmesiyle bu azalmanın daha da belirgin olduğu ancak bununda anlamlı olmadığı izlendi.

MTX'ın karaciğerde indüklediği yapısal hasarı yağlanma, portal inflamasyon, fibrozis ve nükleer pleomorfizm varlığı açısından değerlendirildi. Bizim çalışmamızda ratların karaciğer histopatolojisinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi. Histopatolojik bulgular daha önce ratlarda uygulanan MTX uygulanan in vivo modellerde Dalaklıoğlu ve ark. ratlarda yaptığı çalışmada MTX 7 mg/kg/gün olarak 3 ardışık gün uygulanmıştır. Histolojik değişiklik olarak karaciğer kesitlerinde dejenere hepatosit, sinüzoidlerde vasküler digesyon, sinüzoidlerde dilatasyon ve ek olarak, MTX uygulanan aktif Kupffer hücrelerinde artış gözlemlenmiştir (108). Şener ve ark. yaptığı çalışmada, tek doz 20 mg/kg/i.p metotreksatı ratlara uygulanmış ve çalışma sonunda karaciğer dokuları alınarak histolojik açıdan incelenmiştir. Çalışmada MTX grubunda dejenere hepatositler, sinüzoidlerde dilatasyon, vasküler konjesyon, bulgularının olduğu gözlenmiştir (98).

Bu çalışma MTX'ın indüklediği karaciğerdeki oksidatif strese bağlı yapısal hasarı antioksidan tedavilerle hafifletmeye amaçlanmakla beraber, sadece doku TNF- $\alpha$  ve NO düzeyinde anlamlı fark saptandı.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

MTX'a bağlı oksidatif karaciğer hasarına karşı NAC ve L-CAR kullanılmasıyla histopatolojik değişiklik izlenilmedi. Biyokimyasal değerlerde ve karaciğer dokusu üzerinde bazı parametrelerde sadece TNF- $\alpha$  doku, ve NO düzeyinde anlamlı fark saptandı. Ancak, çoğu parametrelerde önceki çalışmalara paralel beklenen anlamlı farklılık saptanmamıştır. Daha uzun süreli toksisite modelleri ve farklı dozlarda tedavi seçeneklerini araştıran ileri çalışmalarla, daha kapsamlı sonuçlara ulaşılabileceği kanaatine varıldı.



## 7. KAYNAKLAR

1. Öner Süzer, Karaciğer Hastalıklarında İlaç Kullanımı ve Hepatotoksik Etkileri. Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi No: 28, Ocak 2002; s. 37-42
2. Uz E., Öktem F., Yılmaz H.R., et al., The activities of purine-catabolizing enzymes and the level of nitric oxide in rat kidneys subjected to methotrexate: Protective effect of caffeic acid phenethyl ester, *Molecular and Cellular Biochemistry* September 2005, Volume 277, Issue 1, pp 165-170.
3. Chabner B, Wilson W, Supko J. Pharmacology and toxicity of antineoplastic drugs. Editorial: Lichtman MA, Beutler E, Seligsohn U, Kipps TJ, Kaushansky K. In *Williams Hematology*. 7th Edition. Mc Graw Hill Company, United States. 2007 ; 249-5.
4. Uraz S, Tahan V, Aygun C, et al. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1071–77.
5. Kamen BA, Nylen PA, Camitta BM, Bertino JR. Methotrexate accumulation and folate depletion in cell as a possible mechanism of chronic toxicity to the drug. *Br J Haematol*. 1981 Nov;49(3):355-360.
6. Kremer JM, Galivan J, Streckfuss A, Kamen B. Methotrexate metabolism analysis in blood and liver of rheumatoid arthritis patients. Association with hepatic folate deficiency and formation of polyglutamates. *Arthritis Rheum*. 1986 Jul;29(7):832-835.
7. Miketova P, Kaemingk K, Hockenberry M, Pasvogel A, Hutter J, Krull K, Moore IM. Oxidative changes in cerebral spinal fluid phosphatidylcholine during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Biol Res Nurs*. 2005 Jan;6(3):187-195.
8. Jahovic N, Sener G, Cevik H, Ersoy Y, Arbak S, Yegen BC. Amelioration of methotrexate induced enteritis by melatonin in rats. *Cell Biochem Funct*. 2004 May-Jun;22(3):169-178.

9. Devrim E, Cetin R, Kiliçoğlu B, Ergüder BI, Avcı A, Durak I. Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues. *Ren Fail.* 2005;27(6):771-773.
10. Parks DA, Granger DN. Ischemia-reperfusion injury: a radical view. *Hepatology.* 1988; 8: 680–682.
11. Sullivan GW, Sarembock IJ, Linden J. The role of inflammation in vascular diseases. *J Leukoc Biol.* 2000; 67: 591–602.
12. Abdel-Misih R.Z, Bloomston M., *Liver Anatomy, Surg Clin N Am, 2010, Vol. 90, p.643–653.*
13. Aslan Diler, Tietz, "Klinik Kimyada Temel İlkeler". Beşinci Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, 748-60, 2005.
14. Atkuri K.R., Mantovani J.J., Herzenberg L.A. and Herzenberg L.A. (2007). N-Acetyl cysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology* 2007, 7:355–359.
15. Estensen RD, Levy M, Klopp SJ, Galbraith AR, Mandel JS, Blomquist JA, Wattenberg LW: N-Acetylcysteine suppression of the proliferative index in the colon of patients with previous adenomatous colonic polyps. *Cancer Lett* 1999, 147:109-114.
16. Badaloo A, Reid M, Forrester T, Heird WC, Jahoor F: Cysteine supplementation improves the erythrocyte glutathione synthesis rate in children with severe edematous malnutrition. *Am J Clin Nutr* 2002, 76:646-652.
17. De Mattia G, Bravi MC, Laurenti O, Cassone-Faldetta M, Proietti A, De Luca O, Armiento A, Ferri C: Reduction of oxidative stress by oral N-acetyl-L-cysteine treatment decreases plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 concentrations in non-obese, non-dyslipidaemic, normotensive, patients with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetologia* 1998, 41:1392-1396.
18. Deepmala et al. , Clinical trials of N-acetylcysteine in psychiatry and neurology: A systematic review, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 55 (2015) 294–321.
19. K. Sunitha et al., N-Acetylcysteine amide: a derivative to fulfil the promises of N-Acetylcysteine, *Free Radical Research*, May 2013; 47(5): 357–367.

20. Monograph L-karnitin, *Alternative Medicine Review*, Volume 10, Number 1, 2005.
21. Mingorance C, Rodriguez-Rodriguez R, Justo ML, Alvarez de Sotomayor M, Herrera MD. Critical update for the clinical use of L-carnitine analogs in cardiometabolic disorders. *Vasc Health Risk Manag* 2011; 7: 169-176.
22. Gray H, Lewis WH. *Gray's Anatomy of the Human Body*. 20th Ed. New York, NY: Bartleby; 2000.
23. Ökten A. Karaciğerin fonksiyonel anatomisi. Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. *Gastroenterohepatoloji*. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2001; 311-314. 41
24. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology: 7th Ed*, Appleton & Lange, İstanbul 1993; 380-394.
25. Scherlock S, Dooley S. Anatomy and function. In: Scherlock S, Dooley S (eds). *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11th edition, Blackwell Publishing, Milan, İtalya 2002; 1-17.
26. Wanless IR. Anatomy, Histology, Embryology, and Developmental Anomalies of the Liver. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 8th Edition, Saunder Elsevier, Philadelphia, USA 2006; 1543-1585.
27. <http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/notes/APIINotes8%20Digestive%20Anatomy%20II.htm>
28. Vikramjit Mitra, Jane Metcalf, Functional anatomy and blood supply of the liver, *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, Volume 13, Issue 2, February 2012, Pages 52–53
29. Tüzün N., Şimşek H., Özkan H., Şimşek İ., Gören A., *Klinik gastroenteroloji ve hepatoloji kitabı*, 2007, p. 295-300.
30. Tulunay O. Kronik viral hepatit patolojisi: Kılıçturgay K, Badur S editorler. *Viral Hepatit 2001*. İstanbul 2001; 317.
31. Bissell DM, Roll J. Connective tissue metabolism and hepatic fibrosis. Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia: W.B. Saunders. 1990; 454.

32. Sherlock S, Dooley J. Anatomy and Function. In: Sherlock S, Dooley J, editors. Diseases of the Liver and Biliary System 10th edition. Oxford: Blackwell Science Ltd,1997:1-15.
33. <http://www.octc.kctcs.edu/gcaplan/anat2/notes/Notes8%20Digestive%20Anatomy%20II.htm>.
34. Paker Ş. Karaciğer, In: Paker Ş. (ed) Histoloji, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayınları, 1993.
35. Karaöz E. Sindirim Sistemi Histolojisi, In: Karaöz E. (ed) Özel Histoloji, SDÜ Basımevi, Isparta, 2002.
36. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. The liver as an organ. 9. edition, Philedelphia: WB Saunders company, 1996: 883-88.
37. Mitra V, Metcalf J: Metabolic functions of the liver. Anaesthesia and intensive care medicine 2009; 10: 334-5.
38. Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. In: Meyers WC, Chan RS 94 (Eds). Sabiston Textbook of Surgery 16 th. WB Saunders Company, Philadelphia 2001; pp 997–1059.
39. Ratych RE, Smith GW. Anatomy and Physilogy of the Liver. In: Zuidema GD, Orringer MB, Ritchie WB, et al (Eds). Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract (4 th). WB Saunders, Philadelphia 1996; pp. 357-373.
40. Caldwell-Kenel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ.Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. Hepatology 1991; 13: 83-95.
41. Hebel R, Stromberg MW. Anatomy of the Laboratory rat. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 1976.
42. Jick H, Walker AM, Porter J. Drug-induced liver disease. J Clin Pharmacol 1981;21:359-364.
43. Koch HK, Gropp A, Oehlert W. Drug-induced liver injury in liver biopsies of the years 1981 and 1983, their prevalence and type of presentation, Path Res Pract 1985;179: 469-477.

44. Lee MG, Hanchard B, Williams NP. Drug-induced acute liver disease. *Postgrad Med J* 1989; 65: 367-370.
45. Foulis PR, Sandrof BH, Gottfried M. Drug induced morphologic changes in the liver. *Ann Clin Lab Sci* 1988; 18: 215-228. 42
46. Stricker BHC, Blok APR, Desmet VJ. Pathology of drug-induced hepatic injury. In Stricker BHC, ed: *Drug-induced hepatic injury*, ed 2, Elsevier Science Publishers, Amsterdam,1992.
47. Peters RL, Edmondson HA, Mikkelsen WP, Tatter D. Tetracycline-induced fatty liver in nonpregnant patients. A report of six cases. *Am J Surg.* 1967;113:622-632.
48. Starko KM, Mullick FG. Hepatic and cerebral pathology findings in children with fatal salicylate intoxication: further evidence for a causal relation between salicylate and Reye's syndrome. *Lancet* 1983 ;1:326-329.
49. Kumar V, Cotran R, Robbins Basic pathology. Çevikbaş U (Editör) pediatri'de. İstanbul: Nobel kitabevi, 2003: s.24,82.
50. Flores F, Kerdel FA. Other novel immunosuppressants. *Dermatol Clin.* 2000 Jul;18(3):475-483.
51. W. Archieb Leyer, The Clinical Pharmacology Of Methotrexate New Applications of an Old Drug, *Cancer.* 1978 Jan;41(1):36-51.
52. Jolivet J, Cowan KH, Curt GA, Clendeninn NJ, Chabner BA. The pharmacology and clinical use of methotrexate. *N Engl J Med.* 1983 Nov; 3;309(18): 1094-1104.
53. Papaconstantinou HT, Xie C, Zhang W, et al. The role of caspases in Methotrexate-induced gastrointestinal toxicity. *Surgery* 2001; 130: 859–65.
54. Dutz JP, Ho VC. Immunosuppressive agents in dermatology. An update. *Dermatol Clin.* 1998; Apr;16(2): 235-251.
55. Van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, De Abreu RA, van de Putte LB. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Semin Arthritis Rheum.* 1998 Apr;27(5): 277-292.
56. Rubino FM. Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001; Nov 25;764(1-2):217-254.

57. Bram J, Allegra CJ, Fine RL, Chabner BA. Effects of methotrexate on intracellular folate pools in purified myeloid precursor cells from normal bone marrow. *J Clin Invest* 1987; 79: 692-697.
58. Yılmaz O. Probiyotiklerin ratlarda metotreksat toksisitesi üzerine olan etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Isparta, 2008.
59. O'Dell JR. Methotrexate, leflunomide, and combination therapies. In: Harris ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Ruddy S, Sledge CB Kelley's Textbook of Rheumatology. Seventh edition. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005: 900-919.
60. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, Mc Graw- Hill Companies, New-York, 2006.
61. Çetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Kantarceken B. N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats. *Med Sci Monit*. 2006 Aug;12(8):274-278.
62. Chládek J, Martínková J, Sispera L. An in vitro study on methotrexate hydroxylation in rat and human liver. *Physiol Res*. 1997;46(5):371-379.
63. Kevat S, Ahern M, Hall P. Hepatotoxicity of methotrexate in rheumatic diseases. *Med Toxicol Adverse Drug Exp*. 1988 May-Jun; 3(3):197-208.
64. Babiak RM, Campello AP, Carnieri EG, Oliveira MB. Methotrexate: Pentose cycle and oxidative stress. *Cell Biochem Funct*. 1998 Dec;16(4):283-293.
65. Miyazono Y, Gao F, Horie T. Oxidative stress contributes to methotrexate induced small intestinal toxicity in rats. *Scand J Gastroenterol*. 2004 Nov;39(11):1119-1127.
66. Ramazan MEMİŞOĞULLARI, Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-39.
67. Lülüfer Tamer, Gürbüz Polat, Gülçin Eskandari, Bahadır Ercan, Uğur Atik, Serbest Radikaller, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2000;1:52-58.
68. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25: 612-628, 2004.

69. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007;2(2):219-236.
70. Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K, Heward C. Oxidative stress profiling: part II. Theory, technology, and practice. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1055:136-58 )
71. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol* 2006;141(2):312-22.
72. Erdenel ve ark., Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler, *Gazi Tıp Dergisi* 3: 243-250, 1992.
73. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 54:176-186, (2001)
74. V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacogn Rev.* 2010 Jul-Dec; 4(8): 118–126.
75. Halliwell B. How to characterize an antioxidant-An update. *Biochem Soc Symp.* 1995;61:73–101.
76. Shi HL, Noguchi N, Niki N. Comparative study on dynamics of antioxidative action of  $\alpha$ - tocopheryl hydroquinone, ubiquinol and  $\alpha$ - tocopherol, against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:334–46.
77. Levine M, Ramsey SC, Daruwara R. Criteria and recommendation for Vitamin C intake. *JAMA.*1991;281:1415–23.
78. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997;82:291–5.
79. Magnenat JL, Garganoam M, Cao J. The nature of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect.* 1998;106:1219–28.
80. I S Young, J V Woodside, Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol* 2001;54:176–186.
81. Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H. 1991. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53; 194-200.
82. Larson, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* 27(4); 969-978.),1988



83. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007; 39: 44-84.
84. Aydılek N, Aksakal M. Testosteronun tavşanlarda karaciğer antioksidan sistemi üzerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg*. 2003;142: 22-25.
85. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005; 1610: 577-586.
86. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınevi, Konya,1995.
87. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev*. 2002; 7: 22-44.
88. Dekhuijzen PN. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2004; 234: 629-636.
89. Yurumez Y, Cemek M, Yavuz Y, Birdane YO, Buyukokuroglu ME. Beneficial Effect of N-acetylcysteine against Organophosphate Toxicity in Mice. *Pharm Bull*. 2007; 303: 490-494.
90. Wassef R, Haenold R, Hansel A, Brot N, Heinemann SH, Hoshi T. Methionine sulfoxide reductase A and a dietary supplement S-methyl-L-cysteine prevent Parkinson's-like symptoms. *J Neurosci*. 2007; 2747: 12808-12816.
91. Çetiner M, Şener G, Şehirli AO, Ekşioğlu-Demiralp E, Ercan F, Sirvancı S, Gedik N, Akpulat S, Tecimer T, Yeğen BC. Taurine protects against methotrexate-induced toxicity and inhibits leukocyte death. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005; 209: 39-50.
92. Cadenas E, Packer L. *Handbook of antioxidants*. Marcel dekker New York. 1996.
93. Gregory S. Kelly, N.D., *Clinical Applications of N-acetylcysteine*, *Alternative Medicine Review*, Volume 3, Number 2, 1998.
94. E.A.McClure et. al., Potential Role of N-Acetylcysteine in the Management of Substance Use Disorders, *CNS Drugs* (2014) 28:95–106.

95. Allan M. Evans and Gianfranco Fornasini, Pharmacokinetics of L-Carnitine, *Clin Pharmacokinet* 2003; 42 (11): 941-967.
96. Zammit VA, Ramsay RR, Bonomini M, Arduini A. Carnitine, mitochondrial function and therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 1353-1362)
97. Lheureux PE, Penaloza A, Zahir S, Gris M. Science review: carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity - what is the evidence? *Crit Care* 2005; 9: 431-440.)
98. Şener G, Ekşioğlu- Demiralp E, Çetiner M, ve ark. L-Carnitine Ameliorates Methotrexate-Induced Oxidative Organ Injury and Inhibits Leukocyte Death. *Cell Biology and Toxicology*, 2006; 22: 47-60
99. Elliott GR, Lauwen AP, Bonta IL. The effect of acute feeding of carnitine, acetyl carnitine and propionyl carnitine on basal and A23187-stimulated eicosanoid release from rat carrageenan-elicited peritoneal macrophages. *Br J Nutr.* 1990;64:497–503.
100. Thomas S, Fischer FP, Mettang T, Pauli-Magnus C, Weber J, Kuhlmann U. Effects of L-carnitine on leukocyte function and viability in hemodialysis patients: A double-blind randomized trial. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:678–87.
101. Azadeh Moghaddas, Simin Dashti-Khavidaki, Potential protective effects of L-carnitine against neuromuscular ischemia-reperfusion injury: From experimental data to potential clinical applications, *Clinical Nutrition xxx* (2015) 1-8.
102. Gülçin İ. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 78 (2006) 803– 811.
103. Nigar Vardı et. al., Protective Effect of Carotene on Methotrexate-Induced Oxidative Liver Damage, *Toxicologic Pathology*, Vol. 38: 592-597, 2010.
104. R. Conway et al, Risk of liver injury among methotrexate users: A meta-analysis of randomised controlled trials, *Semin Arthritis Rheum.* 2015 Oct;45(2):156-62.
105. Goto E, Tomojiri S, Okamoto I, Tanaka K. Methotrexate poisoning with acute hepatorenal dysfunction. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2001;39:101–4.

106. Akbulut S et al, Cytoprotective effects of amifostine, ascorbic acid and N-acetylcysteine against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats, *World J Gastroenterol* 2014 August 7; Volume 20, Issue 29.
107. Tunali-Akbay T, Sehirli O, Ercan F, Sener G. Resveratrol protects against methotrexate-induced hepatic injury in rats. *J Pharm Pharm Sci* 2010; 13: 303-310.
108. Dalaklioglu S, Genc GE, Aksoy NH, Akcıt F, Gumuslu S. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol* 2013; 32: 662-671.
109. Ali N, Rashid S, Nafees S, Hasan SK, Sultana S. Beneficial effects of Chrysin against Methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2014; 385: 215-223.
110. Demiryilmaz I, Sener E, Cetin N, Altuner D, Suleyman B, Albayrak F, Akcay F, Suleyman H. Biochemically and histopathologically comparative review of thiamine's and thiamine pyrophosphate's oxidative stress effects generated with methotrexate in rat liver. *Med Sci Monit* 2012; 18: 475-481.
111. Cetin A, Kaynar L, Eser B, Karada C, Saraymen B, Öztürk A. Beneficial effects of propolis on methotrexate-induced liver injury in rats. *Acta Oncologica Turcica* 2011; 44: 18-23.
112. Pınarbaşı ve ark. Is Folic Acid Supplementation Necessary for Patients Treated with Methotrexate?, *Turkish Journal of Dermatology* 2008; 2: 39-42.
113. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of Rheumatoid Arthritis 2002 *Arthritis Rheumatol* 2002; 46: 328-46.
114. Nakano H, et all, Amelioration of hepatocellular integrity and inhibition of sinusoidal oxidative stress by Nacetylcysteine pretreatment in cold ischemia reperfusion injury of rat liver. *Eur Surg Res* 1996; 28: 245-255.
115. Elson Asevedo et al., Systematic review of N-acetylcysteine in the treatment of addictions, *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2014;36:168–175.
116. Hoffer E, Baum Y, Tabak A, Taitelman U. Nacetylcysteine increases the glutathione content and protects rat alveolar type II cells against paraquat-induced cytotoxicity. *Toxicol Lett* 1996;84:7-12.

117. Saritas et al., N-Acetyl cysteine and erdosteine treatment in acetaminophen-induced liver damage, *Toxicology and Industrial Health* 2014, Vol. 30(7), 670–678.
118. M.M. Lasram et al., Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats, *Life Sciences* 107 (2014) 50–58.
119. Eswaran et al., Hepatoprotective and antioxidant activity of N-acetyl cysteine in carbamazepine-administered rats, *Indian j Pharmacol*, 2014 Mar-Apr;46(2):211-5.
120. Swantek, J.L.; Tsen, M.F.; Cobb, M.H. and Thomas, J.A. (2000): IL-1 receptor-associated kinase modulates host responsiveness to endotoxin. *J. Immunol.*, 164(8), 4301-4306.
121. Lin, H.I.; Chu, S.J.; Wang, D. and Feng, N.H. (2004): Pharmacological modulation of TNF production in macrophages. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 37(1), 8-15.
122. Alesci et al., L-carnitine: A nutritional modulator of glucocorticoid receptor functions, *FASEB J.*,2003; Aug 17:1553-5.
123. Bykov et al, L-Carnitine alleviates alcohol- induced liver damage in rats: role of tumour necrosis factor-alpha. *Alcohol & Alcoholism* Vol. 38, No. 5, pp. 400–406, 2003.
124. Sepand MR et al., Effect of Acetyl-L-Carnitine on Antioxidant Status, Lipid Peroxidation, and Oxidative Damage of Arsenic in Rat, *Biol Trace Elem Res.* 2016 May;171(1):107-15.
125. İbrahim AB et al, Modulatory effects of L-carnitine on tamoxifen toxicity and oncolytic activity: in vivo study, *Hum Exp Toxicol*, 2014 Sep;33(9):968-79.
126. Çetinkaya A. et al, The effects of L-carnitine and N-acetylcysteine on carbontetrachloride induced acute liver damage in rats, *Bratisl LekListy*,2013;114(12):682-8.
127. K. Yapar et al, Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice, *Exp Toxicol Pathol*, 59 (2007), pp. 121–128.

128. H.M. Ghanem et al, Amelioration of Inducible Nitric Oxide Synthase, Insulin like growth factor-1 gene expression, and insulin receptor substrate-1 in liver tissue of insulin resistant rats treated with L-Carnitine, *Am J Biochem Biotech*, 6 (2010), pp. 195–203.
129. Y. Xia et al, L-Carnitine ameliorated fatty liver in high-calorie diet/STZ-induced type 2 diabetic mice by, improving mitochondrial function, *Diabetol Metab Syndr*, 15 (2011), pp. 3–31.
130. M. Pehlivan et al, Does L-carnitine increase serum TNF- $\alpha$  and IGF-1 during liver regeneration in the rat, *Turk J Med Sci*, 39 (2009), pp. 875–880.
131. P.Rajasekar, P. Viswanathan, C.V. Anuradha, Beneficial impact of L-carnitine in liver: a study in a rat model of syndrome X, August 2008, Volume 35, Issue 2, pp 475–483.
132. H.M. Ghanem, Amelioration of Inducible Nitric Oxide Synthase, Insulin like growth factor-1 gene expression and insulin receptor substrate-1 in liver tissue of insulin resistant rats treated with L-Carnitine, *Am J Biochem Biotech*, 6 (2010), pp. 195–203.
133. Annadurai T et al, Acetyl-L-carnitine prevents carbon tetrachloride-induced oxidative stress in various tissues of Wistar rats *J Physiol Biochem*, 67 (2011), pp. 519–530.
134. Ali S.A. et al, Protective effect of L-carnitine and coenzyme Q10 on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats, *Sci Pharm*, 78 (2010), pp. 881–896.
135. K. Demirdag, I.H. Bahcecioglu, I.H. Ozercan, M. Ozden, S. Yilmaz, A. Kalkan Role of L-carnitine in the prevention of acute liver damage induced by carbon tetrachloride in rats *J Gastroenterol Hepatol*, 19 (2004), pp. 333–338.
136. Wong CK , Ooi VE, Wong CK, Protective effects of N-acetylcysteine against carbon tetrachloride and trichloroethylene-induced poisoning in rats, *Environ Toxicol Pharmacol*, 2003 Sep;14(3):109-16.
137. Özkol H et al, Protective Effects of Selenium, N-Acetylcysteine and Vitamin E Against Acute Ethanol Intoxication in Rats, *Biol Trace Elem Res*, Jun 1, 2016.
138. M. İçer et al, Is montelukast as effective as N-acetylcysteine in hepatic injury, *Exp. Toxicol pathol*, Volume 68, Issue 1, January 2016, Pages 55–59.

139. Ali MH. et al., Protective effect of ursodeoxycholic acid, resveratrol, and N-acetylcysteine on nonalcoholic fatty liver disease in rats, *Pharm Biol*, Volume 54, Issue 7, 2016.
140. Loeper J, Goy J, Rozensztajn L, Bedu O, Moisson P. Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1991;196:119–125.
141. Zhu and Fung, The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury of mice, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 12 (2006), pp. 2375–2381.
142. Ahn et al., Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase and 3-nitrotyrosine in rat liver, tumors induced by N-nitrosodiethylamine, *Carcinogenesis*, 20 (1999), pp. 1337–1344.
143. Yuan et al., Expression and activity of inducible nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase, correlate with ethanol-induced liver injury, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 12 (2006), pp. 2375–2381.
144. Banks and Lein, A review of experimental evidence linking neurotoxic organophosphorus compounds and inflammation, *Neurotoxicology*, 33 (2012), pp. 575–584.
145. D.Andres et al., Depletion of Kupffer cell function by gadolinium chloride attenuates thioacetamide- induced hepatotoxicity. Expression of metallothionein and HSP70, *Biochem Pharmacol*, 66 (2003), pp. 917–926).
146. Luster et al, Immunotoxicology: role of inflammation in chemical-induced hepatotoxicity, *Int J Immunopharmacol*, 22 (2000), pp. 1143–1147.
147. Jaruga et al, IFN- $\gamma$ /STAT1 acts as a proinflammatory signal in T cell-mediated hepatitis via induction, of multiple chemokines and adhesion molecules: a critical role of IRF-1, *Am J Physiol*, 287 (2004), pp. 1044–1052.
148. Hariri et al, Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats, protective effects of crocin and safranal, *Food Chem Toxicol*, 48 (10) (2010), pp. 2803–2808.

149. Ayud et al., Effect of endosulfan and malathion on lipid peroxidation, nitrite and TNF- $\alpha$  release by rat, *International Immunopharmacology*, Volume 3, Issues 13–14, December 2003, Pages 1819–1828.
150. Johnson and Kan, The acute phase response and soman-induced status epilepticus: temporal, regional and cellular changes in rat brain cytokine concentrations, *J Neuroinflammation*, 7 (2010), p. 40.
151. Chapman et al., Seizure duration following sarin exposure affects neuroinflammatory markers in the rat, brain, *Neurotoxicology*, 27 (2006), pp. 277–283.



## ÖZGEÇMİŞ

DR. ELİF İNANÇ

<b>TC Kimlik No / Pasaport No:</b>	45370609194
<b>Doğum Yılı:</b>	1982
<b>Yazışma Adresi :</b>	KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ AVŞAR KAMPÜSÜ 46050 Kahramanmaraş/Türkiye
<b>Telefon :</b>	344-2803434/3651
<b>Faks :</b>	344-2212371
<b>e-posta :</b>	elif.temelli@hotmail.com

## EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ	TIP FAKÜLTESİ	TIP	Tıp Doktoru	2006

## AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
Kahramanmaraş Merkez Önsen Sağlık Ocağı	Türkiye	Kahramanmaraş	Sağlık Ocağı	Pratisyen Hekim	2006-2009
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	Türkiye	Kahramanmaraş	Dahiliye ABD	Arş Gör	2012-



## YAYINLAR

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities):

1. Oguz A, Tuzun D, Sahin M, Bulbul N, Celik A, Guvenc N, Inanc E, Gul K, Should human chorionic gonadotropine treatment increase thyroid volume?, Archives of Endocrinology and Metabolism, Vol.59, no.6 , Dec. 2015.
2. Ayten Oğuz , Dilek Tuzun , Murat Sahin, Elif Inanc, İrem Gokalp, Didem Atay, Hakan Demir, Kamile Gul, Relationship between thrombotic markers, insulin resistance and thyroid volume in women with prolactinoma, *Endocrine Abstracts* (2015) 37 EP1106 DOI:10.1530/endoabs.37.EP1106
3. Dilek Tuzun, Emine Duygu Ersozlu Bozkirli, Ayten Oguz, Murat Sahin, Irem Sahin, Hakan Demir, Elif Inanc, Berivan Ganidagli & Kamile Gul, The diabetic hand: a forgotten complication?, *Endocrine Abstracts* (2015) 37 EP507, DOI:10.1530/endoabs.37.EP507

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitap basılan bildiriler:

1. Murat Şahin,Ayten Oğuz ,Seda Yılmaz, Elif İnanç,Murat Özdemir ,Mehmet Alparşlan Yılmaz, Kamile Gül, Wolfram syndrome with hypergonadotropic hypogonadism case report, 16th European Congress of Endocrinology, Poland, Wrocław, May 2014, 35, P638.

C. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitap basılan bildiriler:

2. Berfin Temelli, Elif İnanç, Nazım Barış Kanat, Meltem Yıldırım, Gürkan Özer, Mehmet Efendi Kararmaz, Kulaktaki Epiteloid Hemanjioendotelyomannın PET-BT ile Değerlendirilmesi: Olgu Sunumu, 28. Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, PS-029, Nuclear Medicine Seminars 2016;2:(Suppl 1):1-116.

3. Berfin Temelli, Elif İnanç, Nazım Barış Kanat, Gürkan Özer, Mehmet Efendi Kararmaz, Meltem Yıldırım, Talasemi Majör Tanılı Hastada PET-BT'nin Karaciğerde Kitle- Ekstramedüller Hematopoez Ayırımı Açısından Katkısı, 28. Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, PS-050, Nuclear Medicine Seminars 2016;2: (Suppl 1):1-116

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. **İnanç Elif**, Akdağ Suna, Demirhan Özçekiç Sabriye, Basir Hasan, Ağaoğlu Burak, Yılmaz Tuğba, Görgel Ahmet Fazıl, Bakarış Sevgi, Sarıca Mehmet Akif, Altunören Orçun, Güngör Özkan, Pres Tablosuyla Gelen Erkek Hastada Yeni Tanı Lupus Nefriti, Olgu sunumu, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, *May 09, 2016*.
2. Orçun Altunören, Özkan Güngör, Selma Güler, Yasemin Coşkun Yavuz, Hanife Bolat, **Elif İnanç**, Suna Kalkan, A Rare Peritonitis Cause in a Peritoneal Dialysis Patient: Brevundimonas diminuta: Case Report, *Türkiye Klinikleri J Nephrol 2015; Vol. 10, Issue 1*.
3. Didem DEMİRCİOĞLU, Merve UYAN, Tuğba YILMAZ, Elif İNANÇ, Betül GÜZEL, Orçun ALTUNÖREN, Özkan Güngör, Kardeş İki Periton Diyaliz Hastasında Eş Zamanlı Mantar Peritonitii, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2016; 25 (Ek / Suppl 1): 145-147*
4. 4 .Orçun ALTUNÖREN, Berivan GANİDAĞLI, Özkan GÜNGÖR, Mehmet Akif SARICA, Murat BAYKARA, Elif İNANÇ, Yasemin COŞKUN YAVUZ, İhsan Yavuz ATMACA, Ferhat KESLER, Sefa GANİDAĞLI, Santral Venöz Kateterizasyon Sonrası Sol Brakiyosefalik Ven Perforasyonu, DOI 10.5262/tndt.2016.28

5. 5.Didem DEMİRCİOĞLU, Merve UYAN, Tuğba YILMAZ, Elif İNANÇ, Betül GÜZEL, Orçun ALTUNÖREN, Özkan GÜNGÖR, Nefrotik Sendromlu Hastada Statin Tedavisine Bağlı Rabdomiyoliz ve Trombositopeni Birlikteliği, 2016; 25 (Ek / Suppl 1): 107-109
6. AHMET FAZIL GÖRGEL , TUĞBA YILMAZ, FERHAT KESLER, GÜLŞAH AYDIN, YASEMİN YAVUZ COŞKUN, DİDEM DEMİRCİOĞLU, ELİF İNANÇ, ORÇUN ALTUNÖREN, ÖZKAN GÜNGÖR, MAHMUT İLKER, HEMODİYALİZ HASTALARININ BÖBREK NAKLİNE BAKIŞ AÇISI, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, doi: 10.5262/tndt.2016.1003.07
7. Gülşah Aydın, Elif İnanç, Betül Güzel, Ferhat Kesler, Suna Akdağ, Didem Demircioğlu, Tuğba Yılmaz, Sevgi Bakarış, Ayşegül Çömez, Can Hüzmeli, Orçun Altunören, Özkan Güngör, 'GÖZ' DEN KAÇABİLECEK BİR BÖBREK YETMEZLİĞİ NEDENİ: TİNU SENDROMU, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, doi: 10.5262/tndt.2016.1003.21