

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

RATLARDA N-ASETİL SİSTEİN VE L-KARNİTİN'İN KARBON
TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT KARACİĞER HASARI
ÜZERİNE ETKİLERİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bülent KANTARÇEKEN

Uz. Dr. Ali ÇETİNKAYA
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ
2009

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Wistar-Albino cinsi ratlarda CCl_4 ile akut karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Ratlar kontrol, CCl_4 , NAC, LKAR ve NAC + LKAR olmak üzere beş gruba ayrılmış ve 10 günlük tedavi sonrası sakrifiye edilmişlerdir. Deneyin sonunda, karaciğer dokusunda; MDA, SOD, CAT, GSH, MPO düzeyleri, serumda ALT, AST, ALP, GGT düzeyleri; karaciğer dokusundaki histopatolojik değişikliklerle N-asetil-sistein (NAC) ve L-karnitin (LKAR)'nin, CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerindeki etkileri karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Uzmanlık eğitimim sırasında, her türlü desteğini yanımda hissettiğim ve engin deneyimlerimden yararlandığım çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bülent KANTARÇEKEN'e, tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Ertan Bülbüloğlu, Sayın Doç.Dr. Harun ÇIRALIK ve Sayın Doç.Dr. Ergül Belge KURUTAŞ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Uzmanlık Eğitimim sırasında her konuda desteğini gördüğüm, Sayın Doç.Dr. Mehmet SAYARLIOĞLU, Sayın Doç.Dr. Ekrem DOĞAN, Doç.Dr.Hayriye SAYARLIOĞLU, Sayın Yrd.Doç.Dr. Mesut ÖZKAYA'ya ve tüm Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmamda yardımcı olan Biyokimya AD'dan Uz. Dr. Yalçın ATLI, Deneysel Araştırma Laboratuvarı çalışanlarından Abdullah YILMAZ'a, endoskopi laboratuvarı çalışanlarından Adem NAR'a ve Dahiliye bölümünde çalışan hemşire ve personellere teşekkür ederim.

Her konuda desteğini hep yanımda hissettiğim değerli eşim Aylin Çetinkaya'ya teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER	Sayfa No:
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	I
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMA LİSTESİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Karaciğer	
2.1.1. Anatomi ve Genel prensipler	3
2.1.2. Histoloji	3
2.1.3. Karaciğerin fonksiyonları	4
2.1.3.1. Protein Sentezi	4
2.1.3.2. Safra salgılanması	4
2.1.3.3. Metabolik fonksiyonlar	4
2.1.3.4. Detoksifikasyon ve inaktivasyon	5
2.1.4. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları	5
2.1.4.1. Mekanizma	5
2.1.4.2. Histolojik paternler	5
2.1.4.2.1. Yağlı değişiklik (Steatozis)	6
2.2. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler	
2.2.1. Giriş	6
2.2.2. Serbest radikallerin biyomoleküler ve doku komponentleri üzerine etkileri	8
2.2.2.1. Lipidler üzerine etkileri	9
2.2.2.1.2. Malondialdehit (MDA) ve Lipid Peroksidasyonu	9
2.2.2.2. Proteinler üzerine etkileri	10
2.2.2.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri	10
2.2.2.4. DNA üzerine etkileri	10

	Sayfa No:
2.2.2.5. Diğerleri	10
2.2.2.6. Serbest radikallerin rol oynadığı hastalıklar	10
2.2.2.6.1. Karbon tetraklorür (CCl ₄)	12
2.2.2.6.1.2. CCl ₄ 'ün karaciğerde hasar oluşturma mekanizması	12
2.2.3. Antioksidan savunma sistemleri	13
2.2.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması	13
2.2.3.1.1. L-Karnitin (LKAR)	16
2.2.3.1.2. N-Asetil Sistein (NAC)	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Deney Hayvanları	19
3.2. Deney Grupları ve Tedavi protokolü	19
3.3. Karaciğer testlerinin değerlendirilmesi	19
3.4. Karaciğer dokusunda oksidan ve antioksidan belirteçlerin ölçülmesi	19
3.4.1. Karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin ölçülmesi	20
3.4.2. Karaciğer dokusunda MPO aktivitesinin ölçülmesi	20
3.4.3. Karaciğer dokusunda SOD düzeylerinin ölçülmesi	20
3.4.4. Karaciğer dokusunda GSH düzeylerinin ölçülmesi	21
3.4.5. Karaciğer dokusunda CAT düzeylerinin ölçülmesi	21
3.5. Karaciğer dokularının histopatolojik incelenmesi	21
3.6. İstatistik Değerlendirmeler	21
4. BULGULAR	
4.1. Kan Biyokimyası Sonuçları	21
4.2. Karaciğer Doku Biyokimyası Sonuçları	23
4.2.1. MDA ve MPO Sonuçları	23
4.2.2. Doku Antioksidan Düzeyi Sonuçları	24
4.3. Histopatoloji Sonuçları	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	26
6. KAYNAKLAR	31
7. EKLER	40

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No:
Tablo 1. Oksidatif Stresin Etkileri	8
Tablo 2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri ve İlişkili Hastalıklar	11
Tablo 3. Endojen antioksidanlar	14
Tablo 4. Eksojen Antioksidanlar	15
Tablo 5. LKAR ve NAC in karaciğer enzim düzeylerine olan etkileri	22

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No:
Şekil 1. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer MDA düzeyleri üzerine etkisi	23
Şekil 2. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer MPO düzeyleri üzerine etkisi	24
Şekil 3. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer GSH düzeyleri üzerine etkisi	24
Şekil 4. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer CAT düzeyleri üzerine etkisi	25

KISALTMA LİSTESİ

ALT	:	Alanin aminotransferaz
ALP	:	Alkaleen fosfataz
AST	:	Aspartat aminotransferaz
CAT	:	Katalaz
CCl ₃	:	Triklorometil
CCl ₄	:	Karbon tetraklorür
CHCl ₂	:	Dikloroetan
DMSO	:	Dimetil Sülfoksit
DMTU	:	Dimetil-tiyüre
GGT	:	Gama glutamil transpeptidaz
GSH	:	İndirgenmiş Glutasyon
GSH-P _x	:	Glutasyon peroksidaz
HE	:	Hematoksilen eozin
HO	:	Hidroksi radikali
HOCL	:	Hipokloroz asit
İP	:	İntraperitoneal
KoA	:	Koenzim A
LKAR	:	L-karnitin
LOOH	:	Lipid-hidroksi radikali
MDA	:	Malondialdehit
MPO	:	Myeloperoksidaz
NAC	:	N-asetilsistein
O [•]	:	Oksi radikali
PEG	:	Polietilen glikol
SOD	:	Superoksid dismutaz
SOR	:	Serbest oksijen radikalleri
TCA	:	Trikarboksilik asit

ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında, karbon tetraklorürle oluşturulan deneysel akut karaciğer hasarına karşı L-karnitin ve N-asetilsistein'nin koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya beş grupta toplam 40 adet rat alındı. 1. grup kontrol grubu olarak belirlendi. 2. gruba sadece karbon tetraklorür (CCl₄) (2 ml/kg) verilirken, 3. gruba CCl₄ + N-asetilsistein(NAC) (150 mg/kg), 4. gruba CCl₄ + L-karnitin (LKAR) (100 mg/kg), 5. gruba ise CCl₄ + NAC + LKAR uygulandı. CCl₄ ve tedaviler intraperitoneal yolla 10 gün süre ile verildi. 10. gün sonunda ratlar genel anestezi eşliğinde sakrifiye edildi. Ratların kanları alındı ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kanda karaciğer enzimleri, karaciğer dokularında ise indirgenmiş glutatyon (GSH), malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) çalışıldı. Ayrıca karaciğer dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Karaciğer enzimlerinin değerlendirilmesinde; sadece CCl₄ verilen grupta ALT ve AST düzeyleri anlamlı derecede artarken tedavi gruplarının hepsinde belirgin düşme olduğu izlendi ancak yalnızca NAC+LKAR grubunda istatistiksel anlamlılık saptandı. Karaciğer doku MDA ve MPO düzeyleri 2. grupta anlamlı derecede artarken tedavi gruplarının hepsinde MDA ve MPO düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Doku antioksidan düzeyleri değerlendirildiğinde; GSH ve CAT'ın 2. grupta belirgin olarak azalıp, NAC ve LKAR tedavisi ile arttığı saptandı. SOD aktivitelerinin ise gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği izlendi. 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 gözlemlendi.

Sonuç: Sonuç olarak; LKAR ve NAC'in, CCl₄ ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine yararlı etkileri olduğu sonucuna varıldı. Fakat elde edilen histopatolojik bulgularla, yeterli yanıt elde edilememesi nedeni ile daha uzun süreli toksisite modelleri ve farklı dozlarda tedavi seçeneklerini araştıran çalışmaların yararlı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Karbontetraklorür, oksidatif stres, karaciğer hasarı, L-karnitin

SUMMARY

Objective : To investigate the protective effects of L-carnitine and N-acetyl cystein against the experimental acute liver damage formed by the administration of carbon tetrachloride (CCl₄).

Material and Methods : A total of 40 rats in 5 groups were included in the study. The first group was the control group. Group 2 received only CCl₄ (2 ml/kg). However, group 3 was given CCl₄ + N-acetyl cystein (NAC) (150 mg/kg). On the other hand, the rats in group 4 were administered CCl₄ + L-carnitin (LCAR) (100 mg/kg), and the rats in group 5 were given CCl₄ + NAC + LCAR. Both CCl₄ and the treatment protocols were administered via intraperitoneal route for 10 days. All rats were killed under general anesthesia at the end of the 10th day. The blood samples of all rats were obtained and liver tissues were resected. Liver enzymes were measured in the blood. Reduced Glutathionine (GSH), malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were investigated in the liver tissues. In addition, liver tissues were evaluated histopathologically.

Results: In the evaluation of liver enzymes, ALT and AST levels increased significantly in only CCl₄ receiving group. The levels of ALT and AST decreased markedly in all treatment groups however, the decrease was significant statistically in only NAC+LCAR group. While MDA and MPO levels in the liver tissue samples increased significantly in the 2nd group, those levels were determined to be decreased significantly in all treatment groups. When the tissue antioxidant levels were evaluated; GSH and CAT decreased markedly in the 2nd group, but increased following the treatment with NAC and LCAR. The activities of SOD were observed not to differ significantly among the groups. In the histopathologic evaluation of liver tissues, on the other hand, diffuse hepatosteatosis was observed in all groups except group 1 (control) and there was no significant difference among the groups from the point of steatosis.

Conclusion : LCAR and NAC were concluded to have beneficial effects on the acute liver damage induced by CCl₄ administration. Since sufficient response was not obtained in histopathologic specimens, studies investigating toxicity models with longer exposure time and treatment options with different doses of chemicals would be of benefit in further research.

Key words: Carbontetrachloride, oxidative stress, hepatic damage, L-carnitine

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, çeşitli toksinler, kimyasal ve mikrobik ajanlarla sürekli olarak karşılaşan, bunları detoksifiye eden veya onların oluşturduğu hasara rejenerasyon yeteneğiyle karşılık veren bir organdır. Fulminan karaciğer yetmezliği, hepatitler, kanserler ve ilaçlar gibi bir çok etken karaciğerde hasar oluşturmaktadır. Bunlar ve diğer çeşitli nedenlerle oluşan karaciğer hasarlarında karaciğer koruyucu ajanların kullanımı, morbidite ve mortaliteyi önemli oranda azaltabilir ve sağkalım oranlarını yükseltebilir.

Karaciğer hasarının değişik şekilleri oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluşmaktadır (1-3). Toksik oksidatif ve hidroksi radikallerin, lipid peroksidasyonu veya diğer yollarla hepatositlerin hücre membranlarını hasara uğrattıkları ve serbest radikallerin hem in vivo hem de in vitro ortamlarda proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA'yı hasara uğrattıkları gösterilmiştir (2-5).

Karbon tetraklorür (CCl₄), akut etkisini hepatosit endoplazmik retikulumunda morfolojik değişikliklerle oluşturmaktadır (6). CCl₄'ün karaciğer üzerindeki toksik etkisi, serbest radikallerle oluşan biotransformasyon ve lipid peroksidasyonu ile açıklanabilir (7,8). Serbest oksijen radikalleri oluştuğunda hücre membran lipidlerinin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girip hücre membranını hasarlandırarak toksisite oluşturmaktadırlar. Mitokondriya fonksiyonları ve plazma membranı bozulmaktadır. Lipid peroksidasyonu tarafından oluşan parçalanma ürünleri çeşitli enzimlerin sülfhidril grupları ve diğer proteinler tarafından elimine edilirler. Lipid peroksidasyonu aynı zamanda lizozom membranının parçalanmasına ve bu yüzden desktrüktif enzimlerin sitoplazma içerisine boşalmasına neden olmaktadır. Diğer yandan CCl₄ aynı zamanda hidropik dejenerasyona ve hepatosellüler zone 3 nekrozuna neden olmaktadır (9,10).

L-karnitin (L-KAR) (4-trimethylamino 3-hydroxybutyrate), memelilerin dokularının uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyonunda ve mitokondriyal membran transportunda önemli bir rol oynamaktadır. L-KAR'nin metabolik etkileri iskelet kaslarında sıkça çalışılmıştır (11,12.). L-KAR uygulanması ile yağ asitlerinin beta oksidasyonunu stimüle etmekte ve trigliserid esterifikasyonunu azaltmaktadır (13). Bir çalışmada hiperbarik oksijen ve etanol tarafından oluşturulan karaciğer hasarında L-KAR'nin lipid peroksidasyonu ve lipid infiltrasyonu azalttığı ortaya konmuştur (14).

N-asetilsistein (NAC), L-sistein ve GSH'ın asetillenmiş prekürsörüdür. NAC, klinik olarak kronik respiratuvar hastalıklarda mukolitik olarak ve asetaminofen intoksikasyonunda antidot olarak kullanılmaktadır (15). Diğer yandan NAC,

günümüzde oksidatif stresin araştırıldığı çeşitli deneysel çalışmalarda antioksidan olarak kullanılmıştır (16-19). Ayrıca NAC'nin, akut ve kronik karaciğer hasarlarında da yararlı etkileri gösterilmiştir. (20,21).

Biz de bu tez çalışmasında CCl₄ ile oluşturulmuş deneysel akut karaciğer hasarında NAC ve LKAR'nin olası yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Karaciğer

2.1.1. Anatomi ve genel prensipler

Karaciğer, sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer bölümleri tarafından kullanılması için depolandığı bir organdır. Karaciğer, deri dışında, vücudun en büyük organı ve bezidir. Ağırlığı yaklaşık olarak 1500 gr olan organ, diyaframın altında karın boşluğunda yerleşmiştir. Karaciğere gelen kanın %70-80 nini portal ven, %10-20 sini hepatik arter karşılar. İnce barsaklardan emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşır, sadece kompleks lipidler lenfatik yolla taşınır. Karaciğer, metabolitlerin işlenmesi, toksik maddelerin nötralizasyonu ve atılması açısından önemli role sahiptir. Bu nötralizasyon ve atılım safra ile gerçekleşir. Ayrıca karaciğerin başta albumin olmak üzere bir çok proteinin sentezlenmesinde önemli bir işlevi vardır (22).

2.1.2. Histoloji

Karaciğer, hilus tarafında kalınlığı artan Glisson kapsülü adı verilen ince bir bağ dokusu ile örtülüdür. Karaciğer hilusundan portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanal ve lenfatikler çıkar. Bu vasküler yapılar ve kanallar, karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları portal alanlara kadar bağ dokusu ile çevrelenmiştir.

Karaciğerin temel yapı taşı karaciğer hücresi (hepatosit)'dir. Bu epitelyal hücreler, birbirleriyle bağlantılı kolonlar şeklinde gruplaşmıştır. Bu gruplaşmış hücreler lobülleri oluşturur. Karaciğer lobülü, 0,7x 2mm boyutlarında poligonal bir dokudur. Lobüllerin sınırları, bazı bölümlerde safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ doku ile çizilmiştir. Bu bölgelere portal alan adı verilmektedir. Karaciğer lobülü ortalama 3-6 portal alan içerir ve her bir portal alanda; bir venül, bir arteriyol, safra kanalı ve lenfatik damarlar bulunur.

Hepatositler, lobül içinde ışınal olarak dizilmişlerdir. Bu hücre kolonları lobülün periferinden merkezine doğru yönelmişlerdir. Hepatositlerin oluşturduğu hücre kolonları arası boşlukta sinüzoidler adı verilen kapillerler bulunur. Sinüzoidal kapillerler, yalnızca , kesintili ve pencereci bir endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş vasküler yapılardır.

Endotel hücreleri hepatositlerden bir bazal membran ve Disse aralığı adı verilen subendotelyal bir boşlukla ayrılmıştır. Bu aralıkta mikrovilluslar bulunur ve böylece kan sıvısı endotel duvarında kolayca geçip hepatosit yüzeyi ile temas etmektedir. Bu sayede

sinüzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında makromolekül alışverişi kolayca sağlanır.

Endotel hücrelerine ek olarak sinüzoidler, Kupffer hücreleri adı verilen makrofajları da içermektedir. Bu hücreler endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzde bulunur ve başlıca görevleri; yaşlı eritrositleri temizlemek, hemoglobini sindirmek, immün sistemde görev yapan bazı proteinleri salgılamak ve kalın barsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmaktır. Kupffer hücreleri karaciğer hücrelerinin %15 ini oluştururlar. Bu hücrelerin çoğu fagositozda aktif oldukları periportal lobül bölümlerinde yer almışlardır. Ayrıca disse aralığında ito hücreleri olarak da bilinen yağ depolayıcı hücreler bulunmaktadır.

2.1.3. Karaciğerin fonksiyonları

Karaciğer hücresi vücudun çok yönlü bir hücresidir. Hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonu olan bu hücreler, bazı maddelerin sentezini yapar ve depolar, bazılarını detoksifiye eder ve bazılarını da taşır.

2.1.3.1. Protein Sentezi

Karaciğer hücresi, yapısal proteinlerin sentezine ek olarak, çeşitli plazma proteinlerinin de (albumin, fibrinojen, protrombin ve lipoproteinler vb.) sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüllü endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer glanduler hücrelerde gözlenenlerin aksine hepatositler proteinleri sekonder granüller halinde sitoplazmasında depolamaz ve sürekli olarak dolaşıma verir. Karaciğer tarafından salgılanan proteinin yaklaşık %5'i Kupffer hücreleri, %95'i hepatositlerde sentez edilir.

2.1.3.2. Safra salgılanması

Safra üretimi, kan bileşenlerinin alınıp, dönüştürülüp safra kanalikülleri içine salgılanması nedeni ile bir anlamda ekzokrin fonksiyondur. Safra; su ve elektrolitlere ek olarak birkaç esansiyel komponente de sahiptir. Bunlar, safra asitleri, fosfolipitler, kolesterol ve bilirubindir. Safra asitleri, lipazla sindirimi ve daha sonraki absorpsiyonu kolaylaştırmak için sindirim sistemindeki lipidleri emülsiyon haline getirmede önemli bir fonksiyona sahiptir. Safra fosfolipidleri ile birlikte safra asitleri, kolesterolü çözülebilir hale getirir ve vücuttan atılmasını kolaylaştırır.

2.1.3.3. Metabolik fonksiyonlar

Lipidler ve karbonhidratlar, trigliserid ve glikojen halinde depolanır. Metabolitleri depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemlidir. Karaciğer vitaminler için büyük bir depo görevi yapmaktadır.

Hepatosit; lipidleri ve aminoasitleri glukoneogenezis adı verilen kompleks enzimatik bir olayla glikoz haline dönüştürür. Ürenin meydana gelmesiyle sonuçlanan aminoasit deaminasyonun da asıl yeridir. Bu bileşik kan yoluyla böbreklere taşınır ve bu organ yoluyla vücut dışına atılır.

2.1.3.4. Detoksifikasyon ve inaktivasyon

Çeşitli ilaçlar ve maddeler, oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla metabolize edilebilir. Bu işleme katılan enzimler başlıca granülsüz endoplazmik retikulumda bulunur. Glukuronik asidi bilirubine bağlayıcı bir enzim olan glukuronil transferaz, steroidler, barbitüratlar, antihistaminikler ve antikonvülzanlar gibi çok sayıda ilacın da konjugasyonunu sağlar.

2.1.4. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları

Karaciğer ilaç ve toksinlerin biyotransformasyonunda önemli bir rol oynar. Bu nedenle ilaçlarla oluşan hasarların ana hedefidir. Karaciğer hastalığının bu tipini tanımak zor olmasına rağmen klinisyenler ve patologlar açısından önem taşır. Karaciğer hasarına yol açan ve hemen hemen her tür karaciğer hastalığı tablosuyla sonuçlanabilen 600'den fazla farklı ilaç vardır. Gerçek nedeni belirlemek tedavi açısından çok önemlidir. Uygulanan tedavi ortadan kaldırıldığında ilaç reaksiyonlarına bağlı hasarın çoğu iyileşir. Eğer tedaviye devam edilirse hasar genellikle daha da ilerler ve şiddetlenir.

İlaçla oluşan karaciğer hasarı nadir bir durum olmayıp hastaneye yatan ikterli hastaların %2'sinde, fulminan hepatit ve karaciğer yetersizliği olanların %25'inde ve patoloji laboratuvarına gönderilen tüm karaciğer biyopsilerinin %5-10'unda ilaçların rolü olduğu belirlenmiştir (23-25).

2.1.4.1. Mekanizma

İlaçla oluşan karaciğer hasarının mekanizması konusunda bilgiler sınırlıdır. Geleneksel olarak, tahmin edilebilen ve idiosenkratik olmak üzere iki patogenetik grup tanımlanmıştır (26). Tahmin edilebilen hasar doza, ilacın intrensek toksisitesine veya onun metabolitlerinden birine bağlıdır. Serbest radikaller ve elektrofillerden oluşan bu metabolitler, özellikle sitokrom P-450 sistemi tarafından yapılırlar. İdiosenkratik hasar önceden tahmin edilemez, doza bağlı değildir ve hayvan modellerine uygulanamaz. Döküntü, ateş, artralji ve eozinofili gibi bulgular sıklıkla birlikte görüldüğünden patogenezde hipersensitivite sıklıkla düşünülmüştür (27).

2.1.4.2. Histolojik paternler

İlaçla oluşan karaciğer hasarları geniş bir morfolojik spektrumu kapsar ve karaciğer hastalığının hemen hemen tüm histolojik paternleri görülebilir. Bu paternler:

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, sinuzodal dilatasyon, venookluziv hastalık), ve neoplazmlardır (hepatosellüler adenom, hepatosellüler karsinom, kolanjiokarsinom, anjiosarkom) (28,29).

2.1.4.2.1. Yağlı değişiklik (Steatozis)

Yağ damlalarının büyüklüğüne bağlı olarak steatozis, mikroveziküler ve makroveziküler olmak üzere iki histolojik gruba ayrılabilir. Makroveziküler yağlı değişiklikte tek büyük lipid globülü sitoplazmayı tamamen doldurur ve nükleusu periferite iter. Bu tablonun nedenleri başta alkol olmak üzere; kortikosteroidler, metotreksat, L-asparajinaz, total parenteral beslenme, karbontetraklorür ve fosforlardır. Mikroveziküler yağlı değişiklikte, multiple küçük yağ damlacıkları hepatositi doldurur fakar nükleus santralde yer alır. Hafif kanaliküler kolestazla birlikte olabilir ve nadiren parankimal nekroz veya inflamasyonla komplike olabilir. Bu tabloya yol açan nedenler arasında, valproik asit, yüksek dozlarda parenteral tetrasiklin, şiddetli salisilat intoksikasyonu sayılabilir (30-32).

2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler

2.2.1. Giriş

Uzun zamandan beri, yüksek konsantrasyondaki oksijenin hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar üzerinde şiddetli fizyolojik ve hatta ölümcül etkilere neden olabildiği biliniyordu. 1950'lerin başında Gilbert, serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin bir çok patolojik durumun etkeni olduğunu gösterdi (33). Bu konu, bu yıllara kadar sadece yüksek enerji fizikçileri ve radyasyon biyologlarının ilgi alanındaydı ve normal metabolizmayla ilişkisi üzerinde durulmuyordu (34).

Serbest radikal mekanizmaları in vivo olarak hem yararlı, hem de zararlı etkilere sahiptir. Son 20 yılda serbest radikaller üzerindeki yoğun bilimsel ilgi, bu maddelerin rollerini daha iyi anlamamıza yardım etmiş ve serbest radikallerin neden olduğu doku hasarını sınırlandıran intrensek defans sistemlerinin (antioksidanlar) yararlarının anlaşılmasında önemli ölçüde yol alınmasını sağlamıştır.

Stabil moleküllerin çoğunun dış yörüngesinde biri diğerine zıt yönde dönen elektron çiftleri vardır. Bu elektron çiftleri molekülü sabitleştirir. SOR veya serbest radikaller dış orbitallerinde paylaşılmamış tek bir elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü

moleküllerdir. Normal hücresel metabolizma ürünleri olarak üretilebildiği gibi ısı, ışık, radyasyon, enfeksiyon, inflamasyon, ilaçlar ve daha bir çok dış kaynakların etkisi ile de oluşabilirler (35-37).

Radikaller başlıca 3 yolla oluşur; 1. Kovalent bağların parçalanması, 2. Normal moleküllerin bir elektron kaybetmesi, 3. Normal moleküllere bir elektron eklenmesi (38).

SOR'un kaynakları, endojen ve eksojen kaynaklar olmak üzere iki başlık altında toplanır. Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma ve iyonize edici radyasyon, sigara toksinleri, doksorubisin, karbontetraklorür gibi ilaç oksidanları eksojen kaynakları oluştururlar (37,39,40). Mitokondriyal elektron taşıma sistemi, endoplazmik retikulum ve nükleer membranda elektron transport sistemi, peroksizomlar, plazma membranları, oksidan enzimler, araşidonik asit yolu, otooksidan reaksiyonları ve fagositik hücrelerdeki hasarlar ise, SOR'nin endojen kaynağını oluştururlar.

Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilir. Serbest radikallerin ömürleri çok kısa olmasına rağmen; protein lipid ve nükleik asit gibi makro moleküllerle etkileşmeleri sonucu, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar ve normal şartlar altında organizma kendini antioksidan mekanizmalarla korur. Eğer bu denge bozulursa hücre ve organizmayı etkileyen patolojik süreç başlar. Oksidan-antioksidan dengenin oksidan lehine bozulmasına oksidatif stres denir. Homoestazın sürdürülebilmesi, antioksidan kapasitede sürekli yenilenmeyi gerektirmektedir ve bu koşullar sağlanmadığında oksidatif yıkım artarak önemli patofizyolojik sonuçlar oluşmaktadır. Günümüzde yaşlanma, inflamasyon, karsinogenez, ilaç etkisi ve ilaç toksisitesi gibi bir çok patolojik durumda karşımıza serbest radikaller çıkmaktadır (35, 37-39).

Akciğerlerden giren oksijen; lipid ve akciğer dokularının sıvı fazlarında çözüldükten sonra, alveolar membranlardan kapilerlere difüzyon yoluyla geçer. Kanda eritrositler içinde hemoglobinle bağlanarak veya kanda çözünerek dokulara dağılır. Normal şartlarda oksijen, dokuda çeşitli biyokimyasal süreçlerde kullanılır. Bu süreçler sonunda farklı son ürünler gözlenir. Moleküler oksijenin çoğu son ürün olarak su oluşturmak üzere mitokondriyal sitokrom tarafından $4e^-$ (4 elektron) ile redükte edilir. Bunun yanı sıra $2e^-$ redüksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve $1e^-$ redüksiyonu ile süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali; tiyoller, hemoglobin ve epinefrin gibi

hücrel komponentlerin otooksidasyonu sonucu ve fagositik hücreler tarafından bir bakterisidal ajan olarak oluşabilir.

Hücreleri hasara uğratabildiği bilinen serbest radikal türleri (35,37) ;

1. Oksijen merkezli ajanlar,
 - a. Moleküler oksijen
 - b. Süperoksid radikali
 - c. Hidroksil radikali
 - d. Alkoksil radikali
 - e. Peroksil radikali
2. Oksijen merkezli olmayan ajanlar
 - a. Karbon merkezli olanlar (Lipid radikalleri, aloksi radikalleri)
 - b. Kükürt merkezli olanlar (Thiyl)
 - c. Hidrojen merkezli olanlar (Hidrojen atomu)
 - d. Demir merkezli olanlar (Perferri radikali)
3. Reaktif oksijen metabolitleri (ROM)
 - a. Ozon
 - b. Hidrojen peroksid
 - c. Lipid peroksid
 - d. Hipokloroz Asit (HOCl)
 - e. Kloraminler

2.2.2. Serbest radikallerin biyomoleküler ve doku komponentleri üzerine etkileri

Tablo 1. Oksidatif Stresin Etkileri (37-39,41,42)

-
- Hücre organelleri ve membranlarındaki lipid ve protein yapısını bozarlar
 - Hücre içi yararlı enzimleri etkisiz hale getirirler
 - DNA'yı tahrip ederler
 - Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar
 - Litik enzimleri (Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz)
 - Hücrenin potasyum kaybını artırır
 - Trombosit agregasyonunu artırır
 - Dokulara fagosit toplanmasını artırır
 - Hücre dışındaki kollajen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar
 - Mikro ve makromolekülleri etkileyerek kapiller permeabiliteyi bozarlar.
-

Serbest radikal mekanzimalarının mitokondriyal oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu ve sitokrom P450 aktivitesi gibi birçok fizyolojik reaksiyonlarda temel rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca prostoglandinlerin sentezi sırasında açığa çıkan bir serbest radikal ara ürünü, negatif feed-back halkası üzerinden prostoglandinlerin akışını ve dolayısıyla inflamatuvar süreci modüle etmektedir.

2.2.2.1. Lipidler üzerine etkileri

Poliansatüre yağ asitleri serbest radikal hasarına özellikle hassastır ve bu oksidatif hasara “lipid peroksidasyonu” denir. Sonuçta membran akışkanlığında azalma ve permeabilite artışı meydana gelir (43).

2.2.2.1.2. Malondialdehit (MDA) ve Lipid Peroksidasyonu

Malondialdehit (MDA), non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İki den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen sıklık endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır (44). MDA miktarının ölçümü, lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır (4).

Lipid peroksidasyonunun; hücre zarının lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile hücre zarı işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Her üç olayın da eşit derecede etkili olduğu veya birlikte ya da birbirlerinin ardınca etkili oldukları ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, aldehit yapılı bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun hedef organlardaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşündürmektedir (45). Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden güçlü bir savunma sistemine sahiptir. Radikallerle oldukça hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (46).

Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkabilmektedir (47).

2.2.2.2. Proteinler üzerine etkileri

Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu ve in vitro olarak llembilen otofluoresan indüksiyonu olmaktadır. Yine bu nedenlere bağlı olarak bazı enzimler inaktive, bazı enzimler ise uygun inhibitörün inaktivasyonu ile aktive olurlar (43). Fazla miktarda disülfit bağı içeren ekstrasellüler proteinler (IgG, albumin) hidroksil ve peroksil radikal saldırısına daha hassastırlar.

2.2.2.3. Karbonhidratlar zerine etkileri

Fizyolojik pH ve ısıda, glukoz gibi monosakkaridlerin otooksidasyonu ile H₂O₂, peroksitler ve okzalaldehidler oluşabilir. Karbonhidratların proteinlere bağlanması ise, proteinlerin serbest radikal saldırısına duyarlılığını artırır.

2.2.2.4. DNA zerine etkileri

Serbest radikal (zellikle hidroksil) saldırısı sonrası DNA'da sarmal ayrılması, DNA yıkımı sonrasında baz ve deoksiriboz fragmentasyonu oluşur. Bunun sonucu, sitotoksisite, mutasyon ve malign transformasyon potansiyeli gelir.

2.2.2.5. Diğerleri

Özellikle membran yapısında bulunan moleklerle serbest radikallerin reaksiyona girmeleri sonucunda lipid peroksidasyonu ve hücrelerde parçalanma nedeni ile ölüm oluşmaktadır. Kapiller ve venüllerin endotelial tabakalarında oluşan bu hasarlar, permeabilite artışına ve plazmanın, hatta eritrositlerin damar dışına çıkmasına yol açar. Serbest radikaller, insan plazmasında in vitro olarak kemotaktik faktör oluşturur veya aktive ederler. İn vitro olarak, serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidazların oluşumundan dolayı, indirekt olarak araşidonik asit metabolizmasını uyararak protoglandin, tromboksan ve lökotrien konsantrasyonlarını artırır. Bunun sonucu, permeabilite değişimleri ile mikro ve makro dolaşım bozuklukları gözlenir (48).

2.2.2.6. Serbest radikallerin rol oynadığı hastalıklar

Tablo 2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri ve İlişkili Hastalıklar (35,37,39,42,49-51)

A.Fizyolojik Etkileri

- ATP üretimi için hidrokarbonların oksidasyonu
- Mikroorganizmaların fagositozla öldürülmesi
- Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu

B.Patofizyolojik Etkileri

Eksojen Kimyasal Ajanlarla Oluşan Toksik Etkiler

- Adriyaminin kardiyotoksitesitesi
- Bleomisin ile gelişen pulmoner fibrozis
- Karbon tetraklorür'e bağlı karaciğer hasarı
- Parakuat'a bağlı pulmoner toksisite
- Sigaraya bağlı akut ve kronik hasarlar
- Alkol hepatotoksitesitesi
- Hava kirliliğine bağlı bronşiyal hasar
- Benzopirin ve sigaraya bağlı akciğer kanseri

Aşırı Oksijen Sendromları

- Akciğerin hiperbarik oksijen hasarı
- Bronkopulmoner displazi
- Retrolental fibroplazi

İskemi Reperfüzyon Sendromları

- Neonatal Nekrotizan Enterokolit
- Hemorajik gastrit
- İskemik pankreatit
- İskemik hepatit
- Miyokardiyal iskemi
- Santral sinir sistemi iskemisi

İnflamatuvar Durumlar

- ARDS
- Artritler
- İnflamatuvar barsak hastalıkları
- Bağı dokusu hastalıkları
- İmmün yetmezlik sendromları

Çeşitli Hastalıklar

- Kanser
 - Otoimmün hastalıklar
 - Yaşlanma
 - Diyabet
 - Ateroskleroz
 - Hipovolemik şok
 - Alzheimer hastalığı
-

2.2.2.6.1. Karbon tetraklorür (CCl₄)

CCl₄, temizlik maddelerinin ve solventlerinin yapımında, tahılların ilaçlanmasında ve kloroflorokarbonların sentezinde ara ürün olarak yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen toksisitesinin keşfedilmesi ve florokarbon kullanımının azalmasıyla üretimi 1974'ten bu yana azalmıştır.

CCl₄'ün havadaki miktarı genellikle çok az olmasına rağmen bazı şehirlerde nispeten yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Yiyeceklerde sıklıkla tolere edilebilir seviyede, içme sularında ise düşük seviyede saptanmıştır. CCl₄'den en fazla etkilenen organlar karaciğer ve böbreklerdir (52).

2.2.2.6.1.2. CCl₄'ün karaciğerde hasar oluşturma mekanizması

CCl₄'ün hepatotoksik etkisi, kısa yaşam süreli reaktif ara ürünlerinin metabolik aktivasyonu ile yakından ilişkilidir. CCl₄ ile oluşan hücre hasarı lipid peroksidasyonundaki artışa bağlıdır. Bu artış reaktif ara ürünlerin hücresel komponentlere kovalent bağlanmasına veya doymamış yağ asitlerinin de artmasına neden olan, serbest radikal ara ürünlerin oksijenle birleşmesi sonucunda oluşur. Lipid peroksidasyonundaki artış sonarsız lipid hasarı (özellikle doymamış fosfolipidler) gelişir. Bunun sonucunda da intrasellüler membranlarda ve plazma membranında hasar gözlenir. Parçalanma ürünleri (en çok reaktif aldehitler), hücrede birikerek hasarın daha da ağırlaşmasına neden olurlar.

CCl₄ ile oluşan hepatotoksitenin seyri bir dereceye kadar dokulardaki parsiyel oksijen basıncıyla ilişkilidir. Düşük basınçta kovalent metabolit bağlanması ile triklorometil (CCl₃) ve dikloroetan (CHCl₂) radikalleri meydana gelir. Bunun sonucunda sıklıkla lipid metabolizması etkilenir (sentezde artış, hepatosit dışına transportta azalma) ve steatozis (yağlı karaciğer) gelişir. Oksijen basıncında ise CCl₃-OO radikali oluşur, bu da hücrede steatozdan apoptoza kadar olan değişikliklere neden olur.

CCl₄ radikalleri hücresel lipidler ve proteinlerin her ikisine de bağlanabilir. Bu lipoprotein sekresyonunun durdurulmasındaki ilk adım gibi görünmektedir. CCl₄ ile oluşan karaciğer hasarının gelişim basamakları şöyledir: redüktif dehalojenasyon, radikallerin kovalent bağlanması, protein sentezinin (özellikle de apolipoproteinlerin) inhibisyonu, yağ birikimi, kalsiyum sekestrasyonunda kayıp, apoptozis, fibrozis. Daha ciddi hasarlar, yalnızca indüklenmiş sitokrom P450 oksijenaz sisteminin varlığında meydana gelir ki bu CCl₄'ün biyoaktivasyonuna bağlıdır. İndüksiyon ne kadar güçlü olursa hasar o kadar fazla olur. Radikaller bu olayda ana rolü oynamaktadırlar (53).

2.2.3. Antioksidan savunma sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin seviyelerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlara antioksidan savunma sistemleri veya antioksidanlar denir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Açığa çıkan radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücrel komponentlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile oluşan zararın önlenmesi yine antioksidanların görevidir (35-37,39,40).

Antioksidan etki tipleri dört başlık altında toplanabilir (40).

1. Toplayıcı etki (scavenging)
2. Baskılayıcı etki (quencher)
3. Zincir kırıcı etki (chain breaking)
4. Onarıcı etki (repairing)

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki”, serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme işlemine “baskılayıcı etki”, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı etki” ve tamir fonksiyonuna da “onarıcı etki” denir.

2.2.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olarak başlıca iki ana grupta sınıflandırılır. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar primer savunma sistemleri, lipolitik enzimler, proteolitik enzimler ve DNA tamir edici enzimler ise sekonder savunma sistemleri olarak adlandırılır (39). Genel olarak enzimatik savunma sistemleri suda çözünerek? sitoplazmadaki zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar.

Endojen ve eksojen antioksidanlar, Tablo 3 ve 4’de verilmiştir.

Tablo 3. Endojen antioksidanlar (35-37,39,40,54-56).

Antioksidan	Etki Mekanizması
Enzimatik antioksidanlar	
Sitokrom oksidaz sistemi	Hücre O ₂ 'nin %95-99'unun detoksifikasyonu
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit anyonlarının detoksifikasyonu
Katalaz	Hidrojen peroksit detoksifikasyonu
Glutasyon peroksidaz	Hidrojen peroksit detoksifikasyonu
Enzimatik olmayan antioksidanlar	
Lipid fazda bulunanlar	
α - tokoferol	Oksi (O ₂ [·]) ve hidroksi (OH [·]) toplayıcı etki
β - karoten	O ₂ [·] ve OH [·] toplayıcı etki
Sıvı fazda (hücre sitoplazmasında veya kan plazmasında) bulunanlar	
Askorbik asit	Lipid-hidroksi (LOOH) ve HOCL toplayıcı etki
Ürat	O ₂ [·] ve OH [·] toplayıcı etki
Sistein	SOD benzeri aktivite
Albümin	LOOH ve HOCL toplayıcı etki
Bilirubin	O ₂ [·] ve OH [·] toplayıcı etki
Seruloplazmin	Kan dolaşımındaki demirin bağlanması
Transferin	Dolaşımdaki serbest demirin bağlanması
Laktoferrin	Dolaşımdaki serbest demirin bağlanması
Ferritin	Doku demirinin bağlanması
Glutasyon	Glutasyon peroksidaz (GSHP _x) aktivitesini destekleyerek O ₂ [·] ve OH [·] ile direkt reaksiyona girerek
Melatonin	SOD ve GSH-P _x aktivitesini artırarak

Tablo 4. Eksojen Antioksidanlar (35-37,39,40,54-56)

Antioksidan	Etki Mekanizması
Ksantin Oksidaz İnhibitörleri	Ksantin oksidazla süperoksid üretiminin inhibisyonu
Allopurinol	
Oksipurinol	
Folik asit	
Pterin aldehid	
Tungsten	
NADPH oksidaz inhibitörleri	Nötrofil ve makrofajlarda NADPH ile süperoksid üretiminin inhibisyonu
Adenozin	
Lokal anestezikler	
Kalsiyum kanal blokerleri	
Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar	
Cetidil	
NADPH oksidaz monoklonal antikör	
Süperoksid dismutaz (SOD)	$O_2 + 2H \longrightarrow H_2O_2$ reaksiyonun katalizlenmesi
Nativ SOD	
IgA'ya bağlı SOD	
Polietilen glikol SOD (PEG-SOD)	
Lipozom kapsüllü SOD	
Katalaz	$2H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O_2$ reaksiyonun katalizlenmesi
Nativ katalaz	
Polietilen glikol katalaz (PEG-katalaz)	
Lipozom kapsüllü katalaz	
Nonenzimatik Serbest Radikal Toplayıcılar	
Mannitol	OH \cdot toplayıcı etki
Albümin	LOOH, HOCL toplayıcı etki
DMSO (Dimetil Sülfoksit)	OH \cdot toplayıcı etki
DMTU (Dimetil-tiyöüre)	OH \cdot HOCL, H $_2$ O $_2$ toplayıcı etki
17- Aminosteroidler (Lazoroidler)	LOOH ve O $_2$ toplayıcı etki
Glutasyon	OH \cdot , O $_2$ \cdot toplayıcı etki
Ürat	OH \cdot , O $_2$ \cdot toplayıcı etki
Bilirubin	Süperoksid ve hidroksil radikali tutucusu
Demir Redoks Döngüsünün İnhibitörleri	
Desferroksamin	Serbest demir bağlama
Serüloplazmin	SOD'a benzer mekanizma ile etki
Glutasyon peroksidaz aktivitesini artıranlar	Glutasyon peroksidaz aktivitesini artırarak
Glutasyon	
N-asetil sistein	
Melatonin	

2.2.3.1.1. L-Karnitin (LKAR)

Karnitin, memeli metabolizması için önemli suda eriyebilen küçük bir moleküldür (57). Fazla organik asitlerin detoksifikasyonu ve enerji üretimini sağlayan β oksidasyon için, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri membranından transportunda gerekli esansiyel bir taşıyıcıdır (58).

İnsan vücudunda diyetel alım ve biyosentezle oluşan karnitin olarak iki şekilde bulunur. Hayvan dokularında total karnitin bitkilere göre daha yüksek miktarlarda bulunur. Karnitinden zengin besinler sığır eti, sığır kalbi ve domuz etidir. Esansiyel bir besin değildir, vücutta sentez edilebilir (59). Lizin ve metiyonin aminoasitlerinden karaciğer, böbrek ve beyinde sentez edilir (60). Biyosentezde görevli bir enzim olan γ -butirobetain hidroksilaz sadece karaciğer, böbrek ve beyinde bulunur. Doğumda erişkinlere göre toplam karnitin düzeyi düşüktür. Prematüre doğumlarda bu düşüklük daha fazladır. Bunun nedeni de biyosentezinde görevli γ -butirobetain hidroksilaz aktivitesinin erişkindekinlerin %12'si civarında olmasıdır (61).

Karnitin'in çeşitli kimyasal tipleri bulunmaktadır, ancak bunlardan sadece LKAR, biyolojik olarak aktiftir. Karnitin'in ince barsak mukozasından absorpsiyonu iki mekanizma ile olur; 1000 μmol 'ün altındaki konsantrasyonlarda aktif transport ve 1000 μmol 'ün üstündeki konsantrasyonlarda pasif difüzyon. Karnitin'in aktif transportu, enerji ve sodyum gerektirirken, D-karnitin ve L-asetil karnitin'le inhibe olur. Pasif difüzyon, ince barsak yanında kolondan da olur. Karnitin barsak mukozasından absorbe olduktan sonra portal dolaşım ile karaciğere taşınır ve sonra oradan sistemik dolaşıma salınır. İskelet kasında depolanır, plazmaya göre 70-80 kat yüksek konsantrasyona sahiptir. İntravenöz yolla LKAR verilen 6 yetişkin insanda kinetik kompartmantal analiz tekniği ile vücutta dağılım oranına bakılmış; %95 iskelet kası ve kalp kasında, %1 ekstrasellüler sıvılarda, %4 diğer dokularda bulunmuştur. Öncelikle karaciğer ve böbrek olmak üzere tüm vücutta karnitin turnover zamanı 66 gündür (57,62).

LKAR, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine transportunda ve intramitokondrial açıl KoA (Koenzim A)/KoA oranının düzenlenmesinde çok önemli bir role sahiptir. KoA'lara karşı geçirgen olmayan mitokondri membranından uzun zincirli yağ asitlerinin transportunu aktive eder ve sonrasında β oksidasyon ile hücrel enerji sağlanır (57).

Hücrel KoA'ların çoğu mitokondri içinde bulunur ve pek çok metabolik yolla kullanılırlar, bununla birlikte spesifik açıl-KoA'ların mitokondri içindeki birikimi başta sitrat döngüsündeki enzimler olmak üzere pek çok enzimi inhibe edebilir, bu nedenle

açil-KoA/KoA oranı çok önemlidir. Karnitin, mitokondri içindeki açil KoA/KoA oranını artırır ve fazla asetil gruplarını tamponlayarak trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde KoA'ların yeniden kullanılmasını sağlar (57).

Mitojenik sitümlasyondan sonra hem insan hem de kemirgenlerde lenfositlerin proliferatif yanıtını artırır, polimorfonükleer lökositlerin kemotaksisini artırır, lipidlerin neden olduğu immüsupresyonu nötralize eder ve agregasyon proteinleri veya fibrinojen ile oluşan eritrosit agregasyonunu inhibe eder (57).

Karnitinin etki mekanizması ile ilgili iki hipotez vardır:

Metabolik hipotez; mitokondrial enerji üretiminde mitokondri membranında uzun zincirli yağ asitlerinin β oksidasyon için membrandan karşı tarafa transferinde en çok karaciğer ve kasta bulunan esansiyel taşıyıcıdır, bunun yanında fazla organik asitlerin detoksifikasyonunu sağlar (59).

Serbest radikal hipotezi; L ve D propiyonil karnitin fenton sisteminde hidroksil radikal üretimini durdurur (63). Miyokardiyum, eritrositler ve endoteli peroksidatif hasarlanmadan korur ve aynı zamanda hasarlanmış hücre membranını stabilize eder. Diyabet ile bozulmuş eritrosit membran fosfolipid yağ asit turnoverini düzeltebilmektedir (64), invitro çalışmalarda MDA oluşumunu azaltır (65).

2.2.3.1.2. N-Asetil Sistein (NAC)

Glutasyon (GSH), vücutta her yerde bulunan esansiyel bir tripeptiddir. Hücreleri oksidanlara karşı korumasını sağlayan bir sülfidril grubu içerir. GSH, intrasellüler non-protein thiollerin yaklaşık %90'ını oluşturur. Anahtar bir intrasellüler indirgeyici ajandır ve immün modülasyona ve inflamatuvar durumlarda görev yapmaktadır (66). Sülfidril içeren bileşiklerin uygulanması O_2 tarafından indüklenen oksidatif stresi GSH seviyelerini yükselterek sınırlayabilir. NAC, bir sistein donörü bileşiktir. GSH'ın hücrel prekürsörü olarak hareket eder, oral alınmasını takiben bağırsaklarda sisteine deasetile olur (67). Ek olarak NAC uygulamasının, lipid peroksidasyonunda azalma ve GSH depolarının ikamesi ile sonuçlanması, bu ajanın oksidatif strese karşı etkin rolü olabileceğini düşündürmektedir. NAC'ın koruyucu etkisi, en az üç farklı mekanizma ile açıklanabilir:

- intrasellüler sülfidril havuzunun onarımı;
- toksik metabolitlere karşı detoksifiye edici mekanizmanın olmazsa olmazı olan intrasellüler GSH konsantrasyonunun idamesi; ve

- NAC'ın kendi potansiyel antioksidan etkisi (68).

NAC'ın karaciğer hastalıklarında antioksidan ve antitoksik özellikler göstererek faydalı olduğu ortaya konmuştur. Bu etkilerini, karaciğer kan akımını arttırarak, GSH seviyelerini yükselterek ve serbest oksijen radikallerini temizleyerek gerçekleştirmektedir (69,70). Asetaminofen ve alkole bağlı toksik durumlarda, 10-18 saat içinde verildiğinde karaciğer hasarını ve mortaliteyi azaltmaktadır (71). İlaça bağlı akut karaciğer nekrozu olgularında tedavi için destekleyici önlemler yanında karaciğer hücrelerinde glutatyon ve sistein düzeyini yükselten sülfidril grubu donörü (glutatyon prekürsörü) ilaçlar (NAC, L-metionin ve sisteamin gibi) uygulanır. NAC apoptozu önleyebilmektedir ve çeşitli proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücre ömrünü uzatmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanları

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmada kullanılacak ratlar, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Barınağı'ndan temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 160-180 gr olan toplam 40 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Oda koşullarında (22 ± 2 °C) barındırılan ratlar, standart pellet rat yemi ile beslendiler.

3.2. Deneysel Grupları ve Tedavi protokolü

Ratlar, her grupta 8'er rat olmak üzere 5 gruba ayrıldı.

I. Grup (Kontrol Grubu): Çalışma boyunca (10 gün) ratlara sadece intraperitoneal (İP) olarak 0.2 ml zeytinyağı uygulandı.

II. Grup (CCl₄ Grubu): Ratlara 10 gün süre ile İP olarak 1:1 oranında zeytinyağı ile karıştırılmış 2 ml/kg CCl₄ uygulandı.

III. Grup (CCl₄ + LKAR grubu): Ratlara 10 gün süre ile İP yolla 1:1 oranında zeytinyağı ile karıştırılmış 2 ml/kg CCl₄ ve İP yolla 100 mg/kg LKAR uygulandı.

IV. Grup (CCl₄ + NAC grubu): Ratlara 10 gün süre ile İP yolla 1:1 oranında zeytinyağı ile karıştırılmış 2 ml/kg CCl₄ ve İP yolla 150 mg/kg NAC uygulandı.

V. Grup (CCl₄ + NAC + LKAR grubu): Ratlara 10 gün süre ile İP yolla 1:1 oranında zeytinyağı ile karıştırılmış 2 ml/kg CCl₄, ile birlikte İP yolla 100 mg/kg LKAR ve 150 mg/kg NAC uygulandı.

Deneyin sonunda II. gruptan 3, IV. gruptan 1 rat olmak üzere toplam 4 rat kaybedildi. Geriye kalan ratlar genel anestezi altında sakrifiye edildi. Ratlar sakrifiye edilmeden hemen önce genel anestezi altında biyokimyasal tetkikler için intrakardiyak kan alındı. Ratlar sakrifiye edildikten sonra histopatolojik inceleme ve doku biyokimyası için karaciğer dokuları alındı. Alınan kanların serumları ayrılarak daha sonra çalışılmak üzere -80 °C de saklandı. Alınan karaciğer dokuları, histopatolojik çalışma için 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 GGT düzeyleri, İmmulite 2000 otomatik biyokimya cihazında çalışıldı.

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 Malondialdehid (MDA) düzeylerinin ölçülmesi

Karaciğer dokusu MDA düzeyleri Okawa'dan modifiye edilerek spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür (72). Bu yöntemin esası TBA (tiyobarbitürik asit) ile MDA'nın asidik pH ve sıcak ortamda tepkimesi sonucu oluşan pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. MDA'nın kendisi stabil olmadığından, standart olarak test sırasında MDA'ya hidroliz olan 1,1,4,4-tetramethoksiopropan kullanılmıştır. Tayin edilen MDA'nın çoğu testin asit ortamdaki ısıtma fazı sırasında nonvolatil lipid peroksidasyon ürünlerinin yıkımı sonucu oluşmaktadır. Yöntem uygulama prosedürüne göre; 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 tiyobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95°C'de 30 dakika su banyosunda kaynatılır. Tüpler soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:14 oranında) ilave edilir ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonraki üstteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okunur ve değerler standart eğriden değerlendirildi

3.4.2. Karaciğer dokusunda Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçülmesi

MPO enzim aktivitesi tayini enzimatik yöntemle kinetik olarak Shimadzu UV 1601 (Japan) spektrofotometre ile ölçüldü ve O-dianisidin metodu kullanıldı (73). Bir ünite MPO aktivitesi, bir dakikada 1 µmol peroksidi indirgeyen enzim aktivitesi olarak tanımlandı. Reaksiyon karışımı 0,3 ml fosfat tamponu (pH 6.0), 0,3 ml hidrojen peroksit, 0,5 ml O-dianisidin ve 10µl örnek'ten oluşmaktaydı. Absorbans değişimi 460nm'de 10 dakika süreyle izlendi. Enzim aktivite sonuçları U/mg protein olarak verildi.

3.4.3. Karaciğer dokusunda Süperoksitdismutaz (SOD) düzeylerinin ölçülmesi

SOD aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır (74). SOD aktivite tayini için, hemolizat 1:20 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edildi, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve INT (p-iyodonitrotetrazolium viyole) içeren miks substrat ve 125 µl 80 Ü/L ksantin oksidazdan oluşur. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Tepkime, 37°C' de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç

absorbansları (A_1) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A_2) tekrar okunur ve değerler standart eğriden değerlendirildi

3.4.4. Karaciğer dokusunda Glutatyon (GSH) düzeylerinin ölçülmesi

GSH düzeyi hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır (75). Reaksiyon karışımı 10 ml'lik total volümde 2,0 ml filtrat, 8 ml fosfat tampon ve 1,0 ml DTNB (5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit)'den oluşmaktadır. Kör 1,2 ml presipite edici solüsyon, 0,8 ml saf su, 8 ml fosfat tampon ve 1 ml DTNB 'den hazırlanmaktadır. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda DTNB öncesi ve DTNB sonrası absorbanslar okunarak değerler standart eğriden değerlendirilmiştir.

3.4.5. Karaciğer dokusunda Katalaz (CAT) düzeylerinin ölçülmesi

CAT aktivitesi hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır (75). Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 50 µl 1 M Tris-HCl pH 8,0 tampon, 900 µl 10 mM H_2O_2 ve 30 µl saf su ve 20 µl hemolizattan oluşur. Tepkime, ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 37°C' de 230 nm dalga boyunda 5 dakika süreyle her 2,5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir.

3.5. Karaciğer Dokularının Histopatolojik İncelenmesi

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

3.6. İstatistik Değerlendirmeler

Çalışma gruplarına ait veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde gösterildi ve istatistiksel yöntem olarak Kruskal-Wallis testi uygulandı. Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Kan Biyokimyası Sonuçları

AST ve ALT düzeylerinin CCl_4 verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ve gerek NAC gerek LKAR eklenmesi ile AST ve ALT düzeylerinin düştüğü izlendi. Bununla birlikte ALT ve AST düşüşünün tedavi grubundan sadece NAC + LKAR grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (Tablo 5). Diğer yandan ALP ve GGT düzeylerinin gruplar arasında önemli fark teşkil etmediği gözlemlendi (Tablo 5).

Tablo 5. LKAR ve NAC' in karaciğer enzim düzeylerine olan etkileri

	Kontrol Grubu (n=8)	CCl ₄ Grubu (n=5)	NAC Grubu (n=8)	LKAR Grubu (n=7)	NAC + LKAR Grubu (n=8)
AST (U/L)	445.5 ± 100.83	1615.8 ± 1058.61	706.25 ± 225.69*	783.71 ± 170.19	701.75 ± 178.48*
ALT (U/L)	670.5 ± 50.39	1527.4 ± 822.61	850 ± 211.69	899.85 ± 142.09	817.5 ± 156.17*
ALP (IU/L)	405.12 ± 197.73	393.6 ± 267.79	430.5 ± 200	404.14 ± 173.11	295.25 ± 109.52
GGT (IU/L)	104.5 ± 48.54	135.2 ± 33.97	123.62 ± 60.26	114.57 ± 14.88	228.87 ± 363.1

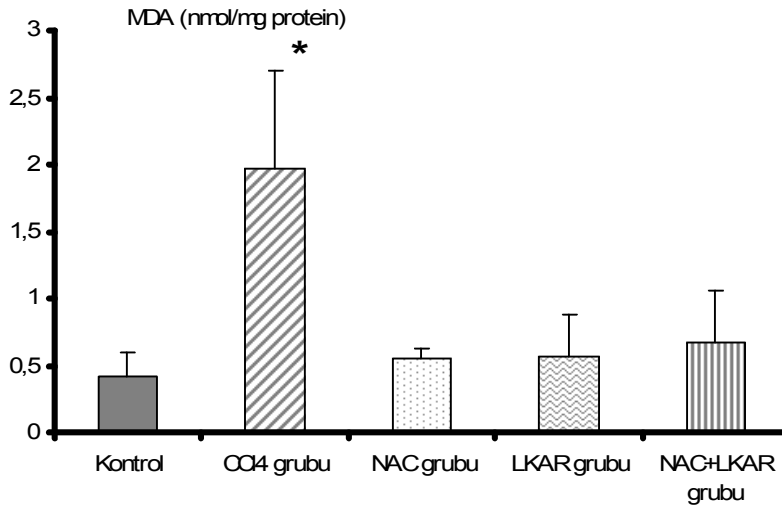
Not. Veriler, ortalama ± SD olarak verildi.

* $P < 0.05$, CCl₄ grubundan anlamlı olarak farklı saptandı.

4.2. Karaciğer Doku Biyokimyası Sonuçları

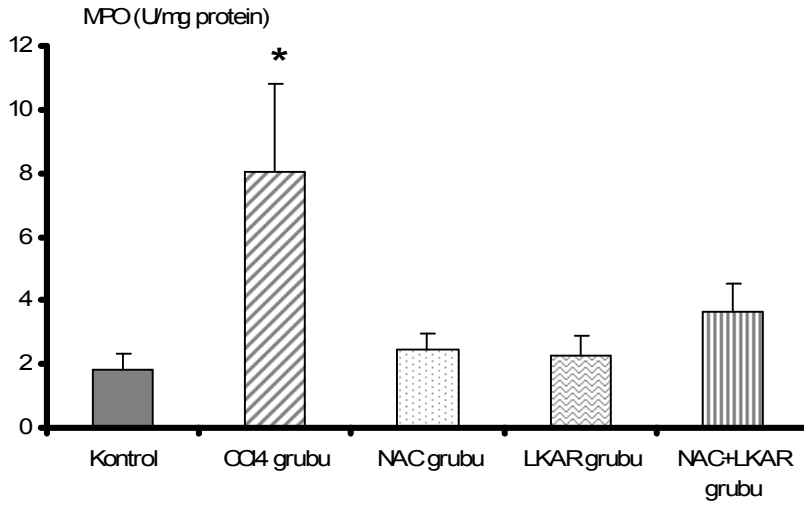
4.2.1. MDA ve MPO Sonuçları

Lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; MDA düzeylerinin CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve tedavi gruplarının hepsinde anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Bununla birlikte MDA düzeyleri açısından tedavi grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 1).



Şekil 1. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer MDA düzeyleri üzerine etkisi
* p< 0.05 , kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı derecede farklı bulunmuştur

MPO düzeyleri açısından değerlendirildiğinde ise; MPO düzeylerinin CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve tedavi verilen gruplarda anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (Şekil 2).

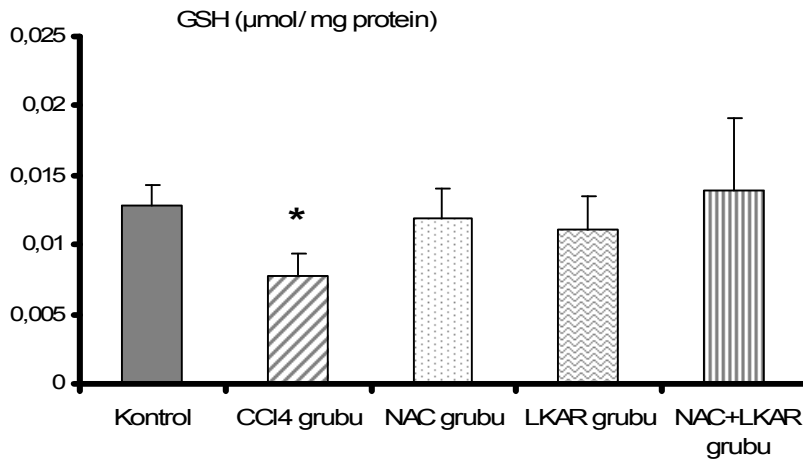


Şekil 2. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer MPO düzeyleri üzerine etkisi
* $p < 0.05$, kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

4.2.2. Doku antioksidan düzeyi Sonuçları

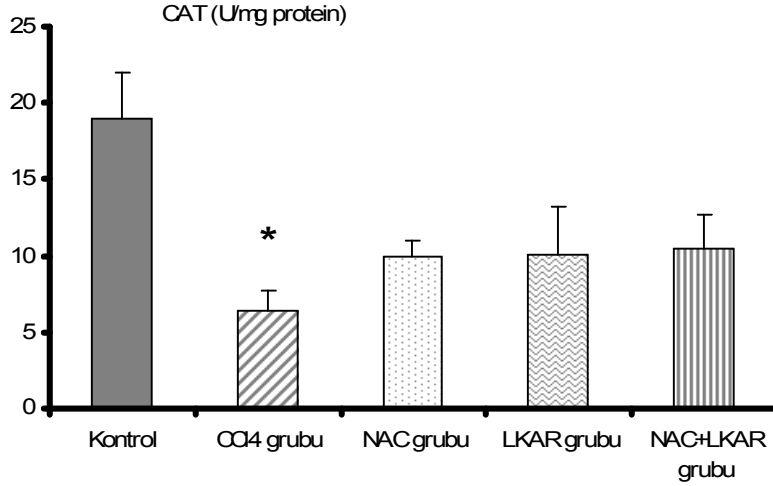
Karaciğer dokusunda antioksidan belirteç olarak; GSH, SOD ve CAT düzeyleri değerlendirildi.

Karaciğer doku GSH düzeyleri değerlendirildiğinde; GSH düzeylerinin CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğü ve NAC ve LKAR tedavisi ile GSH düzeylerinin kontrol grubu değerlerine çok yaklaştığı tespit edildi (Şekil 3)



Şekil 3. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer GSH düzeyleri üzerine etkisi
* $p < 0.05$, kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Karaciğer CAT düzeylerinde de GSH düzeylerindeki değişikliklere benzer şekilde, CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğü ve NAC ve LKAR tedavilerinin düşen CAT düzeylerini CCl₄ grubuna göre anlamlı derecede artırdığı tespit edildi (Şekil 4).



Şekil 4. NAC ve LKAR tedavilerinin karaciğer CAT düzeyleri üzerine etkisi
* p<0.05, kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Diğer yandan SOD düzeyleri değerlendirildiğinde ise; SOD düzeylerinin CCl₄ grubu ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre hafif derecede artmış olmasına rağmen gruplar arasında istatistiki fark saptanmadı.

4.3. Histopatoloji Sonuçları

Histopatolojik değerlendirmede, kontrol grubu dışında bütün gruplarda (Grup II,III,IV ve V) karaciğerde diffüz yağlanma olduğu gözlemlendi. Yağlanma dışında başka bir patoloji izlenmedi. Yağlanma derecesi açısından gruplar arasında belirgin fark saptanmadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Karaciğer, değişik toksinler, ilaçlar ve kimyasal ajanlarla sürekli karşılaşan ve onları detoksifiye eden veya oluşan hasara rejenerasyon yeteneği ile karşılık veren bir organdır.

Karaciğer hasarının en önemli mekanizmalardan birisini de serbest radikaller oluşturmaktadır. Serbest radikaller dış yörüngelerinde çiftleşmemiş tek bir elektron bulunan kimyasal türevlerdir. Serbest radikaller son derece değişken olup, çeşitli organik ve inorganik kimyasal maddelerle reaksiyona girerler. Hücrelerde özellikle nükleik asitler ve yanı sıra çeşitli membran molekülleriyle etkileşerek onları parçalarlar. Serbest radikaller ayrıca, otokatalitik reaksiyonları başlatırlar. Serbest radikallerle gelişen hücre zedelenmesinde özellikle üç reaksiyon önemlidir. Membranların lipid peroksidasyonu, DNA'ya bağlanarak DNA hasarı, proteinlere ve karbonhidratlara bağlanarak bunların yapılarındaki bozulmalar olarak sayılabilir (76-78).

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 (79). Sirozlu olgularda karaciğer dokusundaki L-karnitin düzeyinin düştüğü gösterilmiştir (80). Diğer yandan L-karnitinin etanole bağlı karaciğer hasarında; lipid peroksidasyonu, yağlanma ve nekroza karşı koruyucu etkileri ortaya konmuştur (81). Bunun yanında NAC'in oksidatif stresin rol oynadığı çeşitli durumlarda antioksidan etkileri çeşitli deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (16-19,82).

Ayrıca NAC'nin, akut ve kronik karaciğer hasarlarında yararlı etkileri gösterilmiştir. Galicia-Moreno M ve ark. Yaptığı çalışmada NAC'in CCl₄ ile oluşturulan deneysel karaciğer sirozunda oksidatif stres ve profibrinogenik etki üzerinden yararlı etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır (20). Başka bir çalışmada ise CCl₄ ile oluşturulmuş deneysel akut karaciğer hasarında NAC desferroksamin ile birlikte yararlı etkileri gösterilmiştir (21). LKAR ve NAC'in tek başlarına akut karaciğer hasarında etkileri araştırılmıştır ancak at iki antioksidan ajanın birlikte araştırıldığı bir çalışmaya rastlanamamıştır. Biz de bu tez çalışmasında NAC ve LKAR'nin birlikte CCl₄ ile oluşturulmuş akut karaciğer hasarında oksidatif stres belirteçlerini belirgin azalttığı ve karaciğer enzim düzeylerini belirgin olarak düşürdüğünü tespit ettik.

Deneysel çalışmalarda karaciğer hasarı oluşturmak için, en sık kullanılan maddelerden birisi olan CCl₄'ün, enzimatik metabolizması sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri, CCl₄'e bağlı hücre hasarının temel nedenidir. CCl₄'e bağlı hücre hasarı ya hücre komponentlere radikallerin kovalent bağlanmasıyla ya da artmış lipid peroksidasyonu ile meydana gelir (52,53).

CCl₄ ün metabolizmasında endoplazmik retikulumun monooksijenaz sistemi rol oynamaktadır. Stabil olmayan triklorometil peroksit kompleksi sitokrom p-450 izoenzimi tarafından yapılandırılır ve oksijen tarafından triklorometil peroksit'e dönüştürülmektedir (83). CCl₄'ün hepatotoksitesinde erken değişiklik karaciğerde lipid depolanması ve lipoprotein sekresyonunda blokaj olarak ortaya çıkmaktadır (84). CCl₄ ile hasar oluştuktan sonra lipid peroksidasyon etkin olmaktadır. CCl₄ radikallerinin endoplazmik retikulumda lipid değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir. Karaciğer mikrozomal lipidlerinden kaynaklanan sitotoksik ürünler diffüz hücre hasarına neden olmaktadır (85). Yağlı ve infiltratif karaciğer hastalıklarının patogenezinin diğer nedenler kadar serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir.

LKAR nin genel olarak kas ve beyin dokusunda biriktiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bununla birlikte LKAR nin karaciğer dokusunda da biriktiği gösterilmiştir. Parenteral olarak verildiğinde LKAR nin böbrek dışı atılımının artmış olduğu rapor edilmiştir. Böbrek dışı atılımın başlıcası hepatobilier sistemdir. Buna ek olarak LKAR nin bilier sistemde resirkülasyona uğradığı gösterilmiştir (86). Diğer yandan NAC, emildikten sonra büyük oranda karaciğer dokusuna geçer ve karaciğerde etkisini göstereceği metabolitlerine ayrışmaktadır. Çalışmalarda NAC tarafından yapımı indüklenen glutatyonun portal vende önemli miktarda biriktiği gösterilmiştir (87,88).

Son zamanlarda serbest oksijen metabolitlerinin, çeşitli maddelerin ve ilaçların karaciğer üzerine olan toksisitesinde temel bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (89-91). Oksidatif stresin, CCl₄ un karaciğer üzerinde toksisitesi üzerinde önemli bir oynadığı ve bu negatif etkisinin çeşitli antioksidan maddelerle azaltıldığı bazı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (92-95).

Bunun yanında lipid peroksidasyonun serbest oksijen radikaller yoluyla hücre membranına olan hasarda temel bir rol oynadığı bilinmektedir. MDA lipid peroksit düzeylerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılmaktadır ve lipid peroksidasyonunun derecesi ile çok iyi korelasyon göstermektedir (96). CCl₄'ün karaciğer üzerine olan toksisitesinde

MDA düzeylerinin arttığı ve bizim çalışmamızda kullanılan LKAR ve NAC gibi antioksidan maddelerle bu artışın azaltıldığı ortaya konmuştur (97,20,21). Serbest radikallerin dokular üzerine direkt hasar yapıcı etkisi yanında doku içine lökositlerin toplanmasını indüklediği ve sayede aktive nötrofiller yoluyla indirekt olarak doku hasarını tetiklediği düşünülmektedir. Aktive olmuş nötrofillerin inflamasyon alanlarına yerleştiği ve ekstrasellüler boşluklara MPO'yu sekrete ettiği ve hidroperoksitleri serbest radikallere çevirdiği ve böylece lipid peroksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir (98). Nötrofillerde yüksek oranda bulunan MPO, inflamasyonun etkili bir sayısal göstergesi olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda MDA düzeyi ve MPO aktivitesinin 2. grup olan CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ve tedavi gruplarında ise CCl₄ grubuna göre anlamlı olarak düşüş izlenmiştir. Bu sonuçlarda gerek NAC gerek LKAR ve kombine tedavide CCl₄ ile oluşmuş lipid peroksidasyon hasarının ve inflamasyon derecesini belirgin olarak geriletildiğini gösterebilir.

Diğer yandan karaciğer enzimlerinin değerlendirilmesi sonucunda; ALT ve AST düzeyleri, CCl₄ grubunda belirgin olarak yükseldiği ve LKAR ve NAC tedavisi ile belirgin azaldığı ortaya kondu. Fakat karaciğer enzimlerindeki bu düşüş sadece NAC + LKAR grubunda istatistiki olarak anlamlı olduğu dikkat çekiyordu. Bu sonuç, NAC ve LKAR'ın kombine kullanılmasının karaciğer enzimlerini düşürmede daha etkili olduğunu göstermektedir.

GSH, bütün memeli canlı hücrelerinde yer alan ve hücreleri serbest radikal ve toksik metabolitlerine karşı koruyan tripeptit yapıda bir tiol bileşiğidir. GSH ve diğer tiol içeren bileşikler, kimyasal maddelerin indüklediği hücre ve doku hasarına karşı hücre canlılığını ve membran stabilitesini sağlamaktadırlar. GSH çeşitli ilaç ve kimyasal maddelerin zehirleştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Başta GSH olmak üzere tiol bileşiklerinin karaciğer üzerine koruyucu rolü çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (99-101). CCl₄ ile karaciğer üzerine toksik etkiler sonucunda GSH düzeylerinin belirgin olarak azaldığı ortaya konmuş ve çeşitli antioksidan maddelerle bu etkinin azaltıldığı gösterilmiştir (102-104).

GSH ve CoA birbiriyle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur (105). CoA dan açıl gruplarının uzaklaştırılmasında karnitinin önemli bir rolü vardır. Açıl gruplarının bu uzaklaştırılması, piruvat ve yağ asit metabolizmasından alfa-ketoglutaratın oksidasyonu için önem arz etmektedir. Açıl-CoA da surfaktan etkisi ile hücre membranı için koruyucu

rol oynamaktadır (106). NAC'inde sülfhidril kaynağı olduğu için glutatyon düzeylerini artırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun yanında de CCl₄ ile azalmış karaciğer doku GSH düzeylerinin NAC ve LKAR tedavisi ile arttığı çeşitli deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (77,20). Yaptığımız bu çalışmada da, sadece CCl₄ verilen grupta, kontrol grubuna göre GSH düzeylerinin belirgin olarak azaldığı ve LKAR ve NAC tedavisi ile GSH düzeylerinin artarak kontrol grubuna yaklaştığı gözlemlendi.

SOD, oksidatif strese karşı korunmak için hayati bir önem taşımaktadır (106). SOD superoksitin hidrojen peroksit'e dönüşümünü hızlandıran ve bu sayede serbest radikallerin oluşumunu önlemede rol oynayan bir metaloproteindir. CAT da SOD un katalizliğinde hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan sorumlu bir enzimdir. Bizim çalışmada SOD aktivitesinin CCl₄ ve tedavi gruplarında belirgin değişikliğe uğramadığı fakat CAT düzeylerinin CCl₄ uygulanması ile belirgin azaldığı ve NAC ve LKAR tedavileri ile CAT düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ortaya kondu. Daha önceden CCl₄ ile yapılan deneysel karaciğer hasarı çalışmalarında genelde SOD ve CAT düzeylerinin azaldığı ve antioksidan tedavilerle bu enzim düzeylerinin arttıkları saptanmıştır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda bizim çalışmamıza paralel olarak SOD düzeylerinin belirgin olarak değişmediği tespit edilmiştir (107,108.)

Yaptığımız bu çalışmada histopatolojik inceleme sonuçlarında CCl₄ ün akut etkilerinden sadece diffüz karaciğer yağlanması tespit edildi. Aynı zamanda CCl₄ ve tedavi grupları arasında yağlanma derecesi açısından anlamlı fark saptanmadı. Bununla birlikte yağlanma dışında diğer çalışmalarda saptanan nekroz, inflamasyon veya fibrozis gibi bulgular da görülmedi. Biyokimyasal sonuçların anlamlı olmasına karşın belirgin histopatolojik yanıt alınamaması, toksisite süresinin kısa süreli olmasına bağlı olabileceği; ve bu açıdan daha uzun süreli toksisite ve farklı dozlarda ilaç tedavilerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç olabileceği düşünüldü.

SONUÇLAR

Sonuç olarak; çalışmamızda elde edilen bulgularla antioksidan etkili LKAR ve NAC, CCl₄ ile oluşturulmuş akut karaciğer hasarına karşı karaciğer koruyucu özellikleri olduğu ifade edilebilir.

Çalışmamızda gerek LKAR gerek NAC in, CCl₄'ün indüklediği oksidatif stres (lipid peroksidasyonu) parametresi olan MDA düzeyi ve inflamatuvar gösterge olan MPO aktivitesini düşürdüğü ve buna karşılık antioksidan düzeylerinden GSH ve CAT seviyelerini artırdığını gözlemledik. Antioksidanlardan SOD düzeyi ise belirgin değişiklik göstermedi.

Diğer yandan karaciğer hasar göstergelerinden transaminaz (ALT, AST) düzeylerinin CCl₄ ile belirgin derecede artarken; özellikle NAC ve LKAR'nin kombine edildiği grupta etkili bir şekilde azaldığı ortaya konmuştur.

Bununla birlikte histopatolojik incelemede, gerek hasar modelinde gerekse tedavi gruplarında diffüz yağlanma dışında ek patoloji tespit edilmedi. Elde edilen bu histopatolojik bulgu açısından da gruplar arasında anlamlı fark görülmedi.

Bu nedenle daha uzun süreli toksisite modelleri ve farklı dozlarda tedavi seçeneklerini araştıran çalışmaların yararlı olabileceği düşünüldü. Bununla birlikte bu çalışma, akut karaciğer yetmezliğinin tedavisinde destek tedavisi olarak yeni ilaçların kullanılması açısından yol gösterebileceği sonucuna varıldı.

6. KAYNAKLAR

1. Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Recknagel RO. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. *J Clin Invest* 1983;71:429-439.
2. Brattin WJ, Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanism in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J Free Rad. Bioli Med.* 1985;1:27-28
3. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* 1985;53:599-623
4. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984;219:1-14
5. Hooper C. Free radicals: research on biochemical bad boys comes of age. *J Natl. Ins. Health Re.* 1989;1:101-106.
6. Cagen SZ, Klaasen CD. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: studies in developing rats and protection by zinc. *Fed. Proc.* 1980; 39: 3124–8
7. Masaki N, Yamada S, Ogata I, Ohta Y, Fujiwara K. Enhancement of carbon tetrachloride–induced liver injury by glucagon and insulin treatment. *Res. Exp. Med.* 1988; 188: 27–33
8. Simeonova PP, Gallucci RM, Hulderman T et al. The role of tumor necrosis factor- α in liver toxicity, inflammation, and fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2001; 177:112–20
9. Poli G, Cottalasso D, Pronzato MA, Chiarpotto E, Marinari UM. Lipid peroxidation and covalent binding in the early functional impairment of golgi apparatus by carbon tetrachloride. *Cell Biochem. Funct.* 1990; 8: 1–10
10. Poli G, Albano E, Dianzani MU. The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem. Phys. Lipids* 1987; 45: 117–42
11. Bieber LL, Fiol CJ. Fatty acid and ketone metabolism. *Circulation* 1985; 72: 9–12.
12. Bremer J. Carnitine-metabolism functions. *Physiol. Rev.* 1983; 63: 1420–80
13. Maebashi GF, Sato M, Kawamura N, Imamura A, Yoshinaga K. Lipid-lowering effect of carnitine in patients with type IV hyperlipoproteinemia. *Lancet* 1978; 14: 805–7

14. Bertelli A, Cerrati A, Giovannini L, Mian M, Spaggiari P, Bertelli AE. Protective action of L-carnitine and coenzyme Q10 against hepatic triglyceride infiltration induced by hyperbaric oxygen and ethanol. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 1993; 2: 65–8
15. De Vries N, De Flora S: N-Acetyl-l-Cysteine. *J. Cell Biochem*, 1993; 17F:270–77
16. Kobrinsky NL, Sjolander DE, Goldenberg JA, Ortmeier TC: Successful treatment of doxorubicin and cisplatin resistant hepatoblastoma in a child with Beckwith-Wiedemann syndrome with high dose acetaminophen and N-acetylcysteine rescue. *Pediatr Blood Cancer*, 2005; 45: 222–25
17. Rodrigues AJ, Evora PR, Schaff HV: Protective effect of N-acetylcysteine against oxygen radical-mediated coronary artery injury. *Braz J Med Biol Res*, 2004; 37: 1215–24
18. Akgun E, Caliskan C, Celik HA et al: Effects of N-acetylcysteine treatment on oxidative stress in acetic acid-induced experimental colitis in rats. *J Int Med Res*, 2005; 33: 196–206
19. Yagci G, Gul H, Simsek A et al: Beneficial effects of N-acetylcysteine on sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats. *J Gastroenterol*, 2004; 39: 268–76
20. Galicia-Moreno M, Rodríguez-Rivera A, Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, Tsutsumi V, Vergara P, Moreno MG, Muriel P. N-acetylcysteine prevents carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis: role of liver transforming growth factor-beta and oxidative stress. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Apr 24. [Epub ahead of print].
21. Ritter C, Reinke A, Andrades M, Martins MR, Rocha J, Menna-Barreto S, Quevedo J, Moreira JC, Dal-Pizzol F. Protective effect of N-acetylcysteine and deferoxamine on carbon tetrachloride-induced acute hepatic failure in rats. *Crit Care Med*. 2004 ;32:2079-2083.
22. Junqueira LC, Cameiro J, Kelly RO: *Basic Histology* 7th Ed. 380-394, Appleton & Lange, İstanbul, 1993.
23. Jick H, Walker AM, Porter J. Drug-induced liver disease. *J Clin Pharmacol* 1981;21:359-364
24. 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.

25. Lee MG, Hanchard B, Williams NP. Drug-induced acute liver disease. *Postgrad Med J* 1989;65:367-370
26. Zimmerman HJ. *Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals in the liver* Appleton-Century-Crofts, New York, 1978.
27. Kaplowitz N, Aw TY, Simon FR. Drug induced hepatotoxicity. *Ann Intern Med* 1986;104:826-839
28. Foulis PR, Sandrof BH, Gottfried M. Drug induced morphologic changes in the liver. *Ann Clin Lab Sci* 1988;18:215-228
29. 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
30. 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.
31. 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.
32. Zimmerman HJ, Ishak KG. Valproate-induced hepatic injury: analyses of 23 fatal cases. *Hepatology.* 198 ;2:591-7.
33. Saltman P. Oxidative stress: a radical view. *Semin Hematol.* 1989 ;26:249-56.
34. Reilly PM, Bulkley GB. Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg.* 1990 ;77:1323-1324.
35. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg.* 1991;161:488-503.
36. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1995 ;35:21-39.
37. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1995 ;35:7-20.
38. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481-493.

39. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 1994 ;74:139-162.
40. Sözmen EY. Radikal kavramı ve oksijen radikalleri. *Temel Biyokimya*. Ed.Onat T. 521-528, 808-809. Saray medikal yayıncılık, İzmir, 1997.
41. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids.* 1987;44:227-253.
42. Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull.* 1993;49:700-718.
43. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med.* 1990 ;43:334-344.
44. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, Bodor G. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization. *Clin Chem.* 1998;44:1198-208.
45. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.* 1996 ;25:57-74.
46. HellerJ, Sogni P, Barriere E, Tazi K., Chauvelot-Moachon L, Guimont MC, Bories PN, Poirel O, Moreau R, Lebrec D. Effect of lipopolysaccharide on TNF-alpha production, hepatic NOS-2 activity, and hepatic toxicity in rats with cirrhosis. *J Hepatol;*2000;33: 376-381.
47. Byung PY. Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiological Reviews* 1994: 74:139-172.
48. Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem Biol Interact.* 1990;76:141-161.
49. Bulkley GB. Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticuloendothelial function. *Lancet.* 1994;344:934-936.
50. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000;109:33-44.

51. Halliwell B, Hoult JR, Blake DR. Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.* 1988;2:2867-2873.
52. Bruckner JV, MacKenzie WF, Muralidhara S, Luthra R, Kyle GM, Acosta D. Oral toxicity of carbon tetrachloride: acute, subacute, and subchronic studies in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1986;6:16-34.
53. Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Z Naturforsch C.* 2001 ;56:649-59.
54. Dormandy TL. An approach to free radicals. *Lancet.* 1983 ;2:1010-1014.
55. Lazaratos S, Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Goto K, Nakahara A. Oxygen radicals mediate the final exacerbation of endothelin-1-induced gastric ulcer in rat. *Eur J Pharmacol.* 2001 Feb 9;413(1):121-9.
56. Urban T, Akerlund B, Jarstrand C, Lindeke B. Neutrophil function and glutathione-peroxidase (GSH-px) activity in healthy individuals after treatment with N-acetyl-L-cysteine. *Biomed Pharmacother.* 1997;51:388-90.
57. Tanphaichitr V, Leelahagul P. Carnitine metabolism and human carnitine deficiency. *Nutrition.* 1993;9:246-54.
58. Shuldiner AR. Transgenic animals. *N Engl J Med.* 1996 ;334:653-655.
59. Jacob C, Belleville F. L-carnitine: metabolism, functions and value in pathology. *Pathol Biol (Paris).* 1992 ;40:910-919.
60. Reddi AS, Jyothirmayi GN, DeAngelis B, Frank O, Baker H. Effect of short- and long-term diabetes on carnitine and myo-inositol in rats. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol.* 1991;98:39-42.
61. Rebouche CJ, Engel AG. Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim Biophys Acta.* 1980 ;630:22-29.
62. Bremer J. Carnitine--metabolism and functions. *Physiol Rev.* 1983 ;63:1420-1480.
63. Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, Tsuchiya M, Khwaja S, Serbinova EA, Packer L. Antiradical effects in L-propionyl carnitine protection of the heart against ischemia-reperfusion injury: the possible role of iron chelation. *Arch Biochem Biophys.* 1992 ;296:394-401.

64. Arduini A, Dottori S, Sciarroni AF, Corsico N, Morabito E, Arrigoni-Martelli E, Calvani M. Effect of propionyl-L-carnitine treatment on membrane phospholipid fatty acid turnover in diabetic rat erythrocytes. *Mol Cell Biochem.* 1995 ;152:31-37.
65. Monti D, Troiano L, Tropea F, Grassilli E, Cossarizza A, Barozzi D, Pelloni MC, Tamassia MG, Bellomo G, Franceschi C. Apoptosis--programmed cell death: a role in the aging process? *Am J Clin Nutr.* 1992 ;55(6 Suppl):1208S-1214S.
66. Meister A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. *Pharmacol Ther.* 1991;51:155-194
67. Olsson B, Johansson M, gabrielson J, Bolme P. Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol.* 1988; 1:77-82.
68. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001;2:130-9
69. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1998; 36:277-85
70. Angulo P, Lindor KD. Treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002; 5: 797-810.
71. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci.* 2003; 60: 6-20
72. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351–358.
73. Worthington Enzyme Manual: Worthington Biochemical Corporation. Freehold, New Jersey, USA, 1972.
74. Fridovich I: Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1983;23:239–257.
75. Beutler E: Red Cell Metabolism. New York, Grune and Stratton,1975.

76. Dündar Y, Aslan YR: Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. 1. baskı, Afyon Kocatepe Üniversitesi yayınları, Afyon, 2000.
77. Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, 1. baskı, Mimoza yayınları, Konya, 1995.
78. Onat T, Emerk K, Sözman E.Y: İnsan Biyokimyası, 1. baskı, Palme yayınları, Ankara, 2002.
79. Lundholm K, Persson H, Wennberg A. Whole body fat oxidation before and after carnitine supplementation in uremic patients on chronic haemodialysis. *Clinical Physiology* 1988; 8: 417–426.
80. Selimoglu MA, Aydogdu S, Yagci RV, Huseyinov A. Plasma and liver carnitine status of children with chronic liver disease and cirrhosis. *Pediatr. Int.* 2001; 43: 391–395.
81. Bahcecioglu IH, Demir A, Ustündag B et al. Protective effect of L-carnitine on alcoholic fatty liver in rats. *Med.Sci. Res.* 1999; 27: 475–478.
82. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB et al. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. *Tohoku J Exp Med* 2005; 206:131–139.
83. Recknagel RO, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* 1989; 43: 139–154.
84. Brattin WJ, Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J. Free Radic. Biol. Med.* 1985; 1: 27–28.
85. Rikans LF, Hornbrook KR, Cai Y. Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats. *Mech. Ageing Dev.* 1994; 20: 89–99.
86. Rizza V, Lorefice R, Rizza N et al. Pharmacokinetics of L-carnitine in human subjects. In: Ferrari R, Daimura S, Sherwood G, eds. *L-Carnitine and its Role in Medicine: From Function to Therapy*. San Diego: Academic Press, 1992; 63–80
87. Cotgreave IA, Berggren M, Jones TW, et al. Gastrointestinal metabolism of N-acetylcysteine in the rat, including an assay for sulfite in biological systems. *Biopharm Drug Dispos* 1987; 8: 377–386.
88. Kelly GS Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev.* 1998 ;3:114-127.

89. Kumar O, Sugendran K, Vijayaraghavan R: Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice. *Toxicol*, 2003; 1: 333–338.
90. Akhgari M, Abdollahi M, Kebryaezadeh A et al: Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Hum Exp Toxicol*, 2003; 22: 205–211.
91. Tafazoli S, Spehar DD, O'Brien PJ: Oxidative stress mediated idiosyncratic drug toxicity. *Drug Metab Rev*, 2005; 37: 311–25.
92. Ye X, Feng Y, Tong Y, Ng KM, Tsao S, Lau GK, Sze C, Zhang Y, Tang J, Shen J, Kobayashi S Hepatoprotective effects of *Coptidis rhizoma* aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats. *J Ethnopharmacol*. 2009 ;124:130-136.
93. Murugesan GS, Sathishkumar M, Jayabalan R, Binupriya AR, Swaminathan K, Yun SE. J Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Microbiol Biotechnol*. 2009;19:397-402.
94. Yadav NP, Pal A, Shanker K, Bawankule DU, Gupta AK, Darokar MP, S Khanuja SP. Synergistic effect of silymarin and standardized extract of *Phyllanthus amarus* against CCl₄-induced hepatotoxicity in *Rattus norvegicus*.. *Phytomedicine*. 2008 ;15:1053-1061.
95. Pramod K, Deval RG, Lakshmayya, Ramachandra SS. Antioxidant and hepatoprotective activity of tubers of *Momordica tuberosa* Cogn. against CCl₄ induced liver injury in rats. *Indian J Exp Biol*. 2008 ;46:510-513.
96. Bruce AF, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and liver injury. *Lab. Invest*. 1982; 47: 412–426.
97. Demirdag K, Bahcecioglu IH, Ozercan IH, Ozden M, Yilmaz S, Kalkan A. Role of L-carnitine in the prevention of acute liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 ;19:333-338.
98. Panasenko OM, Chekanov AV, Arnhold J et al: Generation of Free Radicals during Decomposition of Hydroperoxide in the Presence of Myeloperoxidase or Activated Neutrophils. *Biochemistry (Mosc)*, 2005; 70: 998–1004.

99. Gokce G, Ozsarlak-Sozer G, Oktay G, Kirkali G, Jaruga P, Dizdaroglu M, Kerry Z. Glutathione depletion by buthionine sulfoximine induces oxidative damage to DNA in organs of rabbits in vivo. *Biochemistry*. 2009;48:4980-4987.
100. Khan MR, Ahmed D. Protective effects of *Digera muricata* (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food Chem Toxicol*. 2009 ;47:1393-1399.
101. Liu Y, Zhang H, Zhang L, Zhou Q, Wang X, Long J, Dong T, Zhao W. Antioxidant N-acetylcysteine attenuates the acute liver injury caused by X-ray in mice. *Eur J Pharmacol*. 2007 ;575:142-148.
102. Quan J, Piao L, Xu H, Li T, Yin X. Protective effect of iridoid glucosides from *Boschniakia rossica* on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009;73:849-854.
103. Chen L, Pan DD, Zhou J, Jiang YZ. Protective effect of selenium-enriched *Lactobacillus* on CCl₄-induced liver injury in mice and its possible mechanisms. *World J Gastroenterol*. 2005 ;11:5795-5800.
104. Gui SY, Wei W, Wang H, Wu L, Sun WY, Wu CY. Protective effect of fufanghuangqiduogan against acute liver injury in mice. *World J Gastroenterol*. 2005 ;11:2984-2989.
105. Sies H, Berstenecker G, Surumer KH, Menzel H, Fabe L. Glutathione. In: *Proceedings of the 16th Conference of the German Society of Biological Chemistry*. Stuttgart: George Thieme Publisher, 1974.
106. 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.
107. Mehmetçik G, Ozdemirler G, Koçak-Toker N, Cevikbaş U, Uysal M. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol*. 2008 ;60:475-480.
108. Szymonik-Lesiuk S, Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, Słomka M, Madro A, Celiński K, Wielosz M. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2003;10:309-315.

7. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Formu

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmann Başlığı	Ratlarda N-Asetilsistein ve L-Karnitin'in karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarı Üzerine Etkileri
	Başvuru Tarihi	31.01.2008
	Protokol No	5

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili
	Başvuru Formu	Türkçe
	Literatür	2Adet İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2008/2	Karar No: 3	Tarih:05.02.2008
	Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Ali ÇETİNKAYA sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ETİK KURUL İŞLEYİŞ YÖNERGESİ

ÜYELER						
Ünvanı /Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç.Dr. Yusuf ERGÜN Başkan	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Çye	Genel Cerrahi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Çye	Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fak.	K	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Davut ÖZBAĞ Çye	Anatomi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Alptekin YASIM Çye	Kalp-Damar Cerrahisi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr. Harun ÇIRALIK Çye	Patoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr. Mesut ÖZKAYA Çye	İç Hastalıkları End. ve Met. Hast.	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Adem GÖKKAYA Çye	Diş Hekimi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Erdal Haluk YOLACAN Çye	Avukat	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
ŞERH (VARSA)						

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda bulunma