

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA D-GALAKTOZAMİN İLE OLUŞTURULAN
HEPATİTTE TRİMETAZİDİN'İN KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Muharrem KESKİN

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet İŞLER**

2009 – ISPARTA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA D-GALAKTOZAMİN İLE OLUŞTURULAN
HEPATİTTE TRİMETAZİDİN'İN KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Muharrem KESKİN

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet İŞLER**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından 1784-TU-09 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2009 – ISPARTA

KABUL ve ONAY

**Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı**
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Adı: Sıçanlarda D-Galaktozamin İle Oluşturulan Hepatitte Trimetazidin'in
Koruyucu Etkisi

Tez Yazarı: Dr. Muharrem KESKİN

Uzmanlık Tez Savunma Tarihi: 24.09.2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mehmet İŞLER, SDÜ

Üye : Prof. Dr. Mehmet Numan TAMER, SDÜ

Üye : Prof. Dr. Mehmet Tuğrul SEZER, SDÜ

Üye : Doç. Dr. Şevket Ercan TUNÇ, SDÜ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emine Güçhan ALANOĞLU, SDÜ

ONAY: Bu uzmanlık tezi, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Tıp Fakültesi Dekanı
Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince verdiği yakın destek ve değerli katkılarından dolayı tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Mehmet İŞLER başta olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Numan TAMER, Prof. Dr. Mehmet Tuğrul SEZER, Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR, Prof. Dr. Ülkü SARITAŞ, Doç. Dr. Şevket Ercan TUNÇ, Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN, Doç. Dr. Muhammet Cem KOÇKAR, Doç. Dr. Hasan Şenol COŞKUN, Yrd. Doç. Dr. Emine Güçhan ALANOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Banu KALE KÖROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Altuğ ŞENOL, Yrd. Doç. Dr. Zeynep Dilek AYDIN, Uzm. Dr. Murat KOÇER, Uzm. Dr. Murat DEMİR, Uzm. Dr. İbrahim GÖREN'e ve birlikte çalıştığımız tüm Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma saygı ile teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışması sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve desteklerinden dolayı tüm Biyokimya A.D. ve Patoloji A.D. çalışanlarına, özellikle Doç. Dr. Recep SÜTCÜ ve Yrd. Doç. Dr. Metin ÇİRİŞ hocalarıma saygıyla teşekkür ederim.

Çalışma süresince verdikleri destekten dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve çalışanlarına saygıyla teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tez hazırlama dönemimdeki tüm sıkıntı ve mutlulukları benimle paylaşan değerli eşim Berna'ya, benim her şeyimde emeği olan değerli insanlar anneme ve babama sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimle...

Dr. Muharrem KESKİN

2009 – ISPARTA

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Akut Karaciğer Yetmezliği	2
2.1.1. Akut Karaciğer Yetmezliği Nedenleri	2
2.1.2 Akut Karaciğer Yetmezliğinin Patogenezi.....	4
2.2. D-Galaktozamin Hepatiti	5
2.3. Serbest Radikaller	8
2.3.1. Süperoksit Radikali (O ₂ ·-)	8
2.3.2. Hidrojen Peroksit	9
2.3.3. Hidroksil Radikali.....	9
2.3.4. Singlet Oksijen	9
2.3.5. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler	10
2.3.6. Serbest Radikallerin Etkileri:	10
2.3.6.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri:	10
2.3.6.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri:	11
2.3.6.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri:	12
2.3.6.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri:	12
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	12
2.4.1. Endojen Antioksidanlar.....	12
2.4.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	13
2.4.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	13
2.4.1.1.2. Glutatyon Redüktaz (GSH-Redüktaz).....	13

2.4.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	13
2.4.1.1.4. Katalaz	14
2.4.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar	14
2.4.1.3. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar	15
2.4.2. Eksojen Antioksidanlar	15
2.5. Total Antioksidan Kapasite (TAC)	15
2.6. Trimetazidin	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Gereç	21
3.1.1. Deney Hayvanları	21
3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler	21
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması	22
3.2.2. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması	22
3.2.3. Örneklerin Muhafazası ve Hazırlanması	23
3.2.4. Biyokimyasal Analizler	23
3.2.5. Histopatolojik Analiz Yöntemleri	24
3.2.6. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	26
4.1. Karaciğer Fonksiyon Testleri	26
4.1.1. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 6. Saatteki Değerleri	26
4.1.2. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 12. Saatteki Değerleri	27
4.1.3. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 18. Saatteki Değerleri	27
4.1.4. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 24. Saatteki Değerleri	28
4.2. Protrombin Zamanı (PT) ve INR Ölçümleri	31
4.2.1. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 6. Saatteki Değerleri	31
4.2.2. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 12. Saatteki Değerleri	32
4.2.3. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 18. Saatteki Değerleri	32
4.2.4. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 24. Saatteki Değerleri	33
4.3. Serum MDA ve TAC Düzeyleri	35

4.3.1. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 6. Saatteki Değerleri	35
4.3.2. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 12. Saatteki Değerleri	36
4.3.3. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 18. Saatteki Değerleri	37
4.3.4. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 24. Saatteki Değerleri	38
4.4. Histolojik Değerlendirme	40
4.4.1. Histolojik Değerlendirmenin 6. Saatteki Bulguları	40
4.4.2. Histolojik Değerlendirmenin 12. Saatteki Bulguları	40
4.4.3. Histolojik Değerlendirmenin 18. Saatteki Bulguları	41
4.4.4. Histolojik Değerlendirmenin 24. Saatteki Bulguları	42
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
ÖZET	54
SUMMARY	55
KAYNAKLAR	56
EKLER	66
ÖZGEÇMİŞ	80

SİMGELER ve KISALTMALAR

AKY	Akut Karaciğer Yetmezliği
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
Ca⁺²	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CRP	C-Reaktif Protein
CYPs	Sitokrom P-450
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GAL	D-Galaktozamin
GSH	Redükte Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutasyon
H&E	Hematoksilen ve Eozin
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C Virüsü
HE	Hepatik Ensefalopati
INR	International Normalized Ratio
I.p.	Intraperitoneally (periton içi)
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LOOH	Lipid Hidroperoksitler
LPO	Lipid Peroksidasyonu

LPS	Lipopolisakkarid
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
PT	Prothrombin Time (Protrombin Zamani)
PUFA	Doymamış Yağ Asitleri
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAC	Total Antioksidan Kapasite
TMZ	Trimetazidin
TNF	Tümör Nekroz Faktör
UDP	Uridin-5-difosfat
UTP	Uridin Trifosfat

ŞEKİLLER

Şekil 1. Trimetazidin ve türevlerinin moleküler yapıları.....	18
Şekil 2. Grupların AST aktivitelerinin saatlere göre dağılımları	29
Şekil 3. Grupların ALT aktivitelerinin saatlere göre dağılımları	30
Şekil 4. Grupların LDH aktivitelerinin saatlere göre dağılımları.....	30
Şekil 5. Grupların PT sürelerinin saatlere göre dağılımları	34
Şekil 6. Grupların INR ölçümlerinin saatlere göre dağılımları.....	35
Şekil 7. Grupların serum MDA düzeylerinin saatlere göre dağılımları.....	39
Şekil 8. Grupların serum TAC düzeylerinin saatlere göre dağılımları.....	39
Şekil 9. GAL ve TMZ+GAL gruplarının saatlere göre Ishak skorları	43
Şekil 10. Kontrol Grubu karaciğer histolojisi (H&E X200)	43
Şekil 11. TMZ Grubu karaciğer histolojisi (H&E X200).....	44
Şekil 12. GAL Grubu 18. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)	44
Şekil 13. GAL Grubu 24. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)	45
Şekil 14. TMZ+GAL Grubu 18. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)	45
Şekil 15. TMZ+GAL Grubu 24. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)	46

TABLÖLAR

Tablo 1. Reaktif oksijen ürünleri	8
Tablo 2. Total antioksidan kapasiteyi oluşturan moleküller.....	17
Tablo 3. Kullanılan malzeme ve aletler.....	21
Tablo 4. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 6. saatteki aktiviteleri.....	26
Tablo 5. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 12. saatteki aktiviteleri.....	27
Tablo 6. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 18. saatteki aktiviteleri.....	28
Tablo 7. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 24. saatteki aktiviteleri.....	29
Tablo 8. Plazma PT ve INR 6. saatteki değerleri.....	31
Tablo 9. Plazma PT ve INR 12. saatteki değerleri.....	32
Tablo 10. Plazma PT ve INR 18. saatteki değerleri.....	33
Tablo 11. Plazma PT ve INR 24. saatteki değerleri.....	34
Tablo 12. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 6. saatteki ölçümleri	36
Tablo 13. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 12. saatteki ölçümleri	37
Tablo 14. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 18. saatteki ölçümleri	38
Tablo 15. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 24. saatteki ölçümleri	38
Tablo 16. Sıçanların 6. saatteki Ishak skorları.....	40
Tablo 17. Sıçanların 12. saatteki Ishak skorları.....	41
Tablo 18. Sıçanların 18. saatteki Ishak skorları.....	41
Tablo 19. Sıçanların 24. saatteki Ishak skorları.....	42

1. GİRİŞ

Akut hepatit viruslar, toksik ajanlar, ilaçlar, alkol, çeşitli metabolik ve otoimmün hastalıklar gibi değişik nedenlere bağlı olarak meydana gelebilir ve bazen fulminan gidiş göstererek ölümlere neden olabilir. Hepatit B (HBV) ve C (HCV) virusları en önemli viral hepatit etkenleri olup tüm dünyada yaygın bir sağlık sorunudur.

Selektif bir hepatotoksin olan D-Galaktozamin (GAL) karaciğerde galaktoz yolunda metabolize olan bir amino şekerdir. Hücre içinde GAL, üridin tüketimine yol açarak hepatositlerin Ribonükleik Asit (RNA) metabolizmasını bozar ve sonuçta hepatosit nekrozuna yol açar (1, 2). D-Galaktozamin'in sitotoksik etkisinde, endojen lipidlerin peroksidasyonunun major faktör olduğu gösterilmiştir (3). D-Galaktozamin ile yapılan deneysel hepatit, morfolojik ve fonksiyonel olarak insanlarda görülen viral hepatitlere çok benzerdir (1).

Trimetazidin (TMZ) özellikle koroner arter hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. 1970 yılından beri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılan bu ilacın, koroner kan akımı ve sistemik hemodinamiyi etkilemeksizin sitoprotektif etki gösteren antiiskemik bir madde olduğu dikkati çekmiştir. Antianjinal etkileri nedeniyle TMZ ile ilgili deneysel çalışmalar büyük ölçüde miyokard hücresi üzerinde yoğunlaşmış, daha sonraki dönemlerde otolaringoloji alanında iskemik menşeli hastalıkların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır. Normoksi durumunda belirgin bir etkisi görülmemiştir (4, 5). Hasar sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin oluşumuna engel olur. Böylece serbest oksijen radikallerinin hücre membranına zarar vermesi engellenmiş olur (5). Yapılan çalışmalarda TMZ'nin yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan ve pek çok istenmeyen etkileri bulunan nonlipidik maddelerin yıkımına yardımcı olduğu gösterilmiştir (6-8).

Akut hepatitin sorunsuz olarak atlatılabilmesi için arayışlar sürmektedir. Bu çalışmada, TMZ'in antioksidan özellikleri, antiiskemik özelliği ve apoptozu modüle etmesi nedeniyle başarılı olabileceğini düşünerek GAL ile oluşturulan deneysel hepatit modelinde TMZ'nin koruyucu etkinliğini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Karaciğer Yetmezliği

Akut karaciğer yetmezliği (AKY) daha önce belirgin bir karaciğer hastalığı olmayanlarda ortaya çıkan bir klinik sendromdur. Akut karaciğer yetmezliği semptomlar ortaya çıktıktan sonra 4 hafta içerisinde gelişen hepatik ensefalopati (HE) ve hepatik sentez fonksiyonunda azalma ile karakterizedir (9). Akut karaciğer yetmezliğinin tipik laboratuvar bulguları arasında bilirubin yüksekliği, uzamış protrombin zamanı (koagülopati), hipoglisemi ve bazen böbrek yetmezliği yer alır. Amerika Birleşik Devletleri'nde AKY'nin en sık nedenleri toksisite (%39), idiyosenkratik ilaç reaksiyonları (%13), hepatit A ve hepatit B enfeksiyonları (%12) olarak tespit edilmiştir. Olguların %17'sinde etyoloji tespit edilememiştir (10). Akut karaciğer yetmezliğinin mortalitesi çok yüksektir, özellikle organ nakli yapılmayanlarda değişik kaynaklara göre %80-97 arasında değişmektedir (11, 12).

Akut karaciğer yetmezliğinin sınıflamasında birkaç değişik model kullanılmaktadır. O'Grady'nin yaptığı sınıflamaya göre ilk 7 gün içinde, 8-28 günler arasında ve 28. günden sonra ensefalopatinin ortaya çıkış zamanına göre sırasıyla hiperakut, akut ve subakut karaciğer yetmezliği şeklinde tanımlanır (9).

2.1.1. Akut Karaciğer Yetmezliği Nedenleri

Akut karaciğer yetmezliği nedenleri yaşanan coğrafyaya göre önemli oranda değişkenlik gösterir. Akut karaciğer yetmezliğinin pek çoğundan virüsler ve ilaçlar sorumludur. Bununla birlikte anlamlı sayıda hastada ise etyolojik bir neden bulunamaz. Amerika ve İngiltere'de en sık AKY nedeni parasetamol toksisitesidir (13).

Akut karaciğer yetmezliği viral hepatitlerin sık olmayan bir komplikasyonudur, etyolojiye bağlı olarak %0,2-4 oranında görülür (14). Diğer virüslere göre hepatit A'da AKY riski en azdır, ancak hepatit A enfeksiyonunun ortaya çıkış yaşı arttıkça risk artmaktadır. Akut hepatit B enfeksiyonunda ve kronik HBV enfeksiyonunun alevlenme durumlarında AKY açısından risk en fazladır. Delta

virüsüne bağlı AKY insidansı hızla azalmaktadır. Akut karaciğer yetmezliğinin nedeni olarak hepatit C enfeksiyonu nadiren saptanır. Hepatit E Asya ve Afrika'da daha sık görülür ve gebelikte özellikle 3. trimesterde %20'ye ulaşan oranlarda AKY'ne neden olur. Nadir AKY nedenleri arasında herpes simpleks 1 ve 2, herpes virüs-6, varisella zoster, Epstein Barr virüs ve sitomegalovirüs yer alır.

Her ne kadar çok az kanıt olsa da viral nedenli olduğu düşünülen seronegatif hepatit (sebebi bilinmeyen AKY) bazı batı toplumlarından bildirilmiştir. Sıklıkla orta yaşlı kadınlarda görülür ve sporadiktir. Tanı diğer sebeplerin ekarte edilmesi ile konur (14).

Aşırı doz parasetamol kullanımı İngiltere'de görülen AKY'lerin yaklaşık %40'ından sorumludur. Bu vakaların çoğunda suicidal amaçlı parasetamol kullanımı vardır; %8-30'u tedavi amacı ile (nonsuicidal) parasetamol kullanmışlardır. Düzenli alkol kullanımı, antiepileptik tedavi (enzim indüksiyonu yolu ile) ve malnütrisyon parasetamol toksisitesine duyarlılığı artıran faktörlerdir. Aşırı doz (>150 mg/kg) parasetamol kullanan hastaların sadece %2-5'inde AKY gelişir. Mortalite, kullanılan parasetamol dozu ile ilişkilidir. En yüksek mortalite suicidal amaçlı ile kullanılan 48 gramın üzerindeki parasetamol dozlarında ortaya çıkar (14).

İdiosenkratik ilaç reaksiyonu genellikle ilacın ilk defa kullanımı sırasında ortaya çıkar. Tanı genellikle ilaç maruziyeti ile karaciğer hasarı arasındaki ilişkiye dayanarak konulur. İdiosenkratik reaksiyon sonrası AKY gelişme riski nonsteroidal ilaçlarla %0,001 iken izoniazid/rifampisin kombinasyonu ile %1 civarındadır (14).

Wilson hastalığı AKY ile prezente olabilir. Genellikle hayatın 2. dekadında ortaya çıkar ve klinik olarak Coomb's negatif hemolitik anemi ve pek çok vakada Kayser-Fleischer halkasının varlığı ile karakterizedir. Amanita phalloides (mantar) zehirlenmesi en sık orta Avrupa, güney Afrika ve Amerika'nın batı sahillerinde görülür. Mantarın yenmesinden yaklaşık 5 saat sonra kusma ile birlikte ciddi diare başlar. Yaklaşık 4-5 gün sonra da karaciğer yetmezliği ortaya çıkar. Otoimmün kronik hepatit AKY ile ortaya çıkabilir (14).

Budd-Chiari sendromu AKY ile ortaya çıkabilir. Hepatomegalinin varlığı ile tanıdan şüphelenilir ve hepatic ven trombozunun gösterilmesi ile tanı doğrulanır. Özellikle lenfoma olmak üzere malign infiltrasyonlar da tipik olarak hepatomegali ile

birliktedir. Özellikle yaşlı hastalarda iskemik hepatit, AKY'nin giderek artan bir nedenidir (14).

2.1.2 Akut Karaciğer Yetmezliğinin Patogenezi

Viral hepatitlerin neden olduğu karaciğer hasarının patogenezi net olarak anlaşılamamıştır. Akut ve kronik viral hepatit süresince en azından replikasyonunun olduğu dönemlerde viral hepatit etkenleri direk sitopatik etkili değildirler. Viral hepatitlerdeki karaciğer hasarının ortaya çıkış zamanı ve histolojik görünümüne göre karaciğer hasarının major nedeni karaciğer hücre membranından salınan viral antijenlere karşı etki gösteren, özellikle sitotoksik T-hücreleri olmak üzere immün cevaptır. Doğal öldürücü hücre aktivitesi ve antikor bağımlı hücre sel sitotoksikite ve proinflatuar sitokinler, akut viral hepatitlerde hücre hasarı ve inflamasyon oluşmasına katkıda bulunurlar (15).

Pek çok ilaç lipofilik olduklarından bağırsak fırçamsı kenarlarından emilirler. Biyotransformasyon işlemi, lipofilik terapötik ajanların karaciğer tarafından daha hidrofilik hale getirilmesidir. Böylece bu ürünler idrara ve safraya atılabilir hale gelirler. Pek çok örnekte biyotransformasyon, nonpolar bileşikler değişik aşamalarla polar bileşikler haline getirir. Bu işlemlerin başlangıcında sitokrom P-450 (CYPs)'nin aracılık ettiği oksidatif yollar yer alır (ör: hidroksilasyon). Bir sonraki aşama hidroksil gruplarına yüksek derecede polar grupların eklenmesi ile sonuçlanan sülfatları ve glukuronidleri oluşturmak üzere tipik esterleştirme işlemidir. Bu iki enzimatik aşama faz 1 (CYP oksidasyonu) ve faz 2 (esterleştirme) olarak bilinir. Glutatyon-S-transferaz, asetilleyici enzimler ve alkol dehidrogenaz diğer önemli metabolik yollardır. Ancak pek çok farmakolojik ajan için primer metabolik yol CYPs ve takiben esterleştirmedir (15). Genel olarak biyotransformasyon ile detoksifikasyon arasındaki denge bozulduğu zaman, biriken toksik metabolitler immünolojik ve/veya non-immünolojik mekanizmalarla hepatobiliyer patolojilere neden olurlar (16).

2.2. D-Galaktozamin Hepatiti

Kimyasal ajanlar ile oluşturulan karaciğer hücre hasarı, hücrelerde ölümle sonuçlanabilecek ardışık kompleks olayların meydana gelmesine yol açabilir (17, 18). Karaciğer hasarı GAL (19), tiyoasetamid (20), ksantin ve ksantinoksidaz (21), aktinomisin-D ve 1-β-D-arabinofuranosilsitozin (22), Fas ligand (23), tümör nekroz faktör (TNF) (24, 25), sikloheksimid (26, 27), lipopolisakkarid (LPS) (28) gibi kimyasal ajanlar kullanılarak oluşturulabilir. Çeşitli karaciğer hastalıklarının patogenezi taklit edebilen bu tür kimyasal ajanlar kullanılarak, hastalıklarla ilgili mekanizmalara ışık tutulmaya çalışılmaktadır. D-Galaktozamin ile oluşan hasarın, çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneziinde ortaya çıkan birçok özelliği taklit ettiği bildirilmiştir (29).

D-Galaktozamin, karaciğer hasarı için uygun deneysel bir modeldir (29, 30) ve tek başına uygulandığında hasar oluşturulabildiği gibi, hepatik hasarı şiddetlendirici LPS (28, 31), endotoksin (32) veya TNF-α (33) gibi kimyasallarla beraber de kullanılabilir. D-Galaktozamin hepatositlerde protein sentezini azaltan, RNA sentezinde inhibisyona (34) neden olan bir hepatotoksik ajandır ve hem in vivo (19, 30, 32, 35) hem de in vitro (34, 36, 37) hepatosit ölümünü teşvik eder. D-Galaktozamin'in karaciğerde histopatolojik değişikliklere neden olduğu belirtilmektedir (34, 36). Yüksek dozlarda ve uzun süre GAL uygulanması histolojik olarak tanımlanabilen karaciğer hasarını şiddetlendirebilir ve transaminazlar gibi hücre içi maddelerin serbest kalmasını ve kan dolaşımına geçmelerini teşvik edebilir.

D-Galaktozamin ile oluşturulan hücre ölümüne yol açan başlıca etken sadece karaciğerde protein tüketimi değil, aynı zamanda hücre enerji yükündeki tüketimdir (19). Hücre ölümünün temel mekanizmasında esas olarak kalsiyum (Ca^{+2}) ve adenosin trifosfat (ATP) seviyeleri rol almaktadır. Geçirgenlikteki değişime bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} düzeyindeki artış endonükleaz aktivasyonuna yol açar ve bu durumun sonucu olarak, DNA'da kırıklar meydana gelir. Kalsiyum artışı ATP tüketiminin ve Ca^{+2} pompasındaki yetersizliğin bir sonucudur. Hücre ATP miktarı hasarın şiddetini ve nekroz veya apoptoz gibi hasarın tipini belirler (38). Genel olarak nekroz, membran seçiciliğinde ve iyon pompa aktivitesinde azalma gibi özelliklerle tanımlanmaktadır. Plazma membranındaki hasara ilaveten, nekroz

durumunda mitokondri ve diğ er organel membranlarında da hasar oluş maktadır. Membranlardaki bozulma aynı zamanda sitozolde Ca^{+2} artışı ile aktive edilen endojen fosfolipazların aktivasyonu ile de ilgilidir (19). D-Galaktozamin'in in vivo ve in vitro'da karaciğ erin parankimal hücrelerinde onkotik nekrozu teş vik ettiğ i bilinmektedir (30). Ancak son araş tırmalar GAL'in hepatositlerde apoptoza da neden olduğ unu göstermektedir (36). D-Galaktozamin hepatositlerde uridin-5-difosfat (UDP)-heksozaminlere ve UDP-N-asetilheksozaminlere metabolize edilir. Bu durumda, parankimal hücrelerde uridin trifosfat (UTP) tüketimi meydana gelir ve bu tüketim protein sentezinde ve transkripsiyonda geç ici bir engellemeye neden olur (30, 32, 34). Sonuç ta, D-Galaktozamin'in önemli membran proteinlerinin sentezini önlemesinin de, karaciğ erde parankimal hücre onkozunun bir nedeni olduğ u düşünölmektedir.

D-Galaktozamin panloböler fokal hepatositonekroza, polimorfnökleer hücrelerin infiltrasyonuna ve ilaca bağı lı hepatitte olduğ u gibi makrofajların artmasına yol açar (1, 39). Son yıllarda GAL'in hangi mekanizma ile karaciğ er hasarına neden olduğ u araş tırma konusudur. İlk yapılan biyokimyasal ç alış malar GAL'in hepatositlerde üridin havuzunu azaltarak bunun sonucunda mRNA'yı ve protein sentezini inhibe etmek suretiyle karaciğ er hasarına neden olduğ unu göstermiş tir (40-42).

Tümör nekroz faktör α üretiminin pek çok modelde hepatositlerde apoptozu uyardığ ı gösterilmiş tir (43, 44). Sıç anlarda GAL toksisitesi ile ilgili bir diğ er nokta da, GAL'in doğ rudan mast hücrelerini aktive etmesidir. Aktive olan mast hücreleri histamin salgılar ve sonuç ta bağı rsak geç irgenliğ inde artış a neden olur (45). Bağı rsaktan salınan bakteriyel ürünler Kuppfer hücrelerini aktive eder ve neticede TNF- α gibi sitokinler salınır (30). D-Galaktozamin hepatositlerde mRNA ve protein sentezini, bu hücrelerin TNF- α aracılı olaylara hassasiyetini artırarak inhibe eder ve ayrıca hücre ö lümüne yol aç an sinyal yollarını da aktive eder. Hücreler ilk olarak apoptoz yolu ile ö lmeye baş lar. Bu olayı takiben inflamatuvar hücreler karaciğ er parankima dokusuna girer ve daha sonra nekrotik alanlar geliş ir (46).

D-Galaktozamin nötrofillerin karaciğ ere toplanmasına neden olur. Bu durum GAL etkisi ile salınmış olan TNF- α ile olmaktadır (30). Tümör nekroz faktör α baş lıca makrofajlar, monositler ve karaciğ erdeki Kuppfer hücreleri tarafından

üretileen bir proinflatuvar sitokindir. Tümör nekroz faktör α bölgesel olarak parakrin tarzda veya hormonların tarzında uzak mesafelerde de etkili olabilir. Tümör nekroz faktör α 'nın hücre büyümesinin düzenlenmesi ve araşidonik asit sekresyonunun uyarılması gibi pek çok çeşitli biyolojik etkileri vardır (47). Tümör nekroz faktör α 'nın hepatic ekspresyonu birçok akut ve kronik karaciğer hastalığında olabildiği gibi, GAL (30), karbontetraklorür (48) veya etanol gibi hepatotoksik ajanlara maruz kalmayı takiben de olabilir. Ayrıca TNF- α 'nın intraperitoneal enjeksiyonunun farelerde apoptozu teşvik ettiği doğrulanmıştır. Tümör nekroz faktör α 'nın O₂-•, H₂O₂ ve diğer toksik metabolitleri üretmek için nötrofilleri uyardığı bilinmektedir (49, 50).

Önceki çalışmalarda GAL verilen farelere az miktarda endotoksin verilmesinin apoptoz ve nekroza yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca bu etkiler TNF- α antiserumu ile bloke edilmiştir (51). Ek olarak GAL, aktinomisin D veya amanitin ile RNA ve protein sentezinin inhibe edilmesinin hepatositleri in vivo ve in vitro olarak TNF- α 'nın toksik etkilerine karşı duyarlılaştırdığı gösterilmiştir (52). Buna göre Kupffer hücreleri GAL hepatotoksisitesine katkıda bulunduğu ve aktive Kupffer hücreleri TNF- α 'nın karaciğerdeki major kaynağı olduğu için (53), TNF- α 'nın sıçanlardaki GAL hepatotoksisitesinde rolü olduğu düşünülmektedir. Stachlewitz ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlarda TNF- α antiserumu ile GAL hepatotoksisitesini azaltarak bu fikri doğrulamışlardır (46). Ek olarak GAL'in sitotoksik etkisinde, endojen lipidlerin peroksidasyonunun major faktör olduğu gösterilmiştir (40).

D-Galaktozamin'in toksik ajan olarak kullanıldığı ve gerek karaciğer gerekse diğer dokularla yapılmış olan çalışmalarda, apoptoz ve antioksidan etki mekanizması ile ilgili çalışmaların sınırlı olduğu ve bu çalışmalarda antioksidan verilmeksizin sadece mevcut antioksidan düzeylerinin ölçülmüş olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak GAL ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine antioksidan ve antiiskemik uygulamasının hücre ve doku düzeyindeki etkileri, histolojik ve biyokimyasal parametrelerle incelenmiştir.

Sonuç olarak GAL ile yapılan deneysel hepatitin, morfolojik ve fonksiyonel olarak insanda görülen viral hepatitlere benzerliği dile getirilmiştir (39).

2.3. Serbest Radikaller

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörüngede çiftler halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. İşte diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere radikal, serbest radikal veya oksidan moleküller denilir. Tek olan bu elektron yapıları genellikle üst kısma yazılan bir nokta (O^{\cdot}) veya çizgi (O^{\cdot}) ile gösterilir (54, 55).

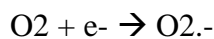
Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşurlardır. Moleküler oksijenin (O_2), iki tane eşlenmemiş elektronu bulunduğundan dolayı kendisi aynı zamanda bir radikaldir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Serbest radikal olmayan maddelerle daha yavaş reaksiyona girer. Organizmada oksijenin kısmi redüksiyonuyla, çok sayıda ve yüksek derecede reaktif ürünler (ROS) oluşur. Oksijen, hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan sonra en son H_2O 'ya indirgenir (Çizelge 2.3.1.) (54, 56, 57).

Tablo 1. Reaktif oksijen ürünleri (57)

Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Hidroksil	(HO^{\cdot})	Hidrojen peroksit	(H_2O_2)
Alkoksil	(RO^{\cdot})	Singlet oksijen	(1O_2)
Peroksil	(ROO^{\cdot})	Ozon	(O_3)
Süperoksit	($O_2^{\cdot-}$)	Hipoklorid asit	($HOCl$)
Nitrik oksit	(NO^{\cdot})	Lipid hidroperoksit	($LOOH$)
Azot dioksit	(NO_2^{\cdot})	Peroksinitrit	($ONOO^{\cdot}$)

2.3.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

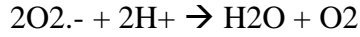
Süperoksit radikali; tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (54, 58, 59).



Süperoksit, serbest radikal olmakla beraber kendisi çok zararlı değildir. Asıl önemi H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (60).

2.3.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, O₂'nin enzimatik olarak iki elektron alması ya da O₂'lerin enzimatik/nonenzimatik dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur (54, 61).



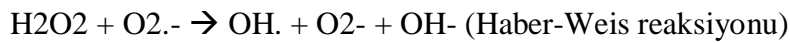
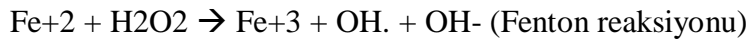
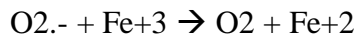
Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir (54).

2.3.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali (OH⁻) hemen bütün biyomoleküllerle reaksiyona girebilen serbest radikaller içinde en kuvvetli oksidan olan radikaldir. Suyun iyonize radyasyona maruz kalması ile oluşur (54, 61, 62).



Hidroksi radikalleri, fenton reaksiyonu ile H₂O₂'nin Fe⁺² ve diğer geçiş elementleri varlığında (Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Mo) indirgenmesiyle, H₂O₂'nin O₂⁻ radikali ile reaksiyona girmesiyle de (Haber-Weis reaksiyonu) oluşmaktadır. Haber-Weis reaksiyonu katalizör varlığında ya da katalizörsüz gerçekleşebilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerlemektedir (62-64).



2.3.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen (1O₂), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Doymuş yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini (ROO⁻) meydana getirir ve lipid peroksidasyonu (LPO)'nu başlatabilir (62).

2.3.5. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler

Serbest radikal artırıcı faktörler eksojen ve endojen olmak üzere iki grupta toplanabilir (65). Bunlar aşağıdaki şekildeki gibi sıralanabilir;

Eksojen faktörler

Diyetsel faktörler: Doymamış yağ asitlerince beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obezite), hayvansal proteinlerden zengin beslenme, az sebze ve meyve yenmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması

Çevresel faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon

İlaçlar: Kemoterapotik ilaçlar (adriamisin), glutatyon tüketen ilaçlar

Endojen faktörler

Yoğun egzersiz, sedanter yaşam

Stres

Doku hasarı ve kronik hastalıklar

Diyetsel antioksidan alımını etkileyen koşullar (malabsorbsiyon, kolestaz) olarak belirlenebilir.

2.3.6. Serbest Radikallerin Etkileri:

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerini etkilerler (66).

2.3.6.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri:

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesinin aşacak oranlarda oluştuğu zaman organizmanın çeşitli yapılarında bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerden en hassas olanı lipidlerdir (67).

Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin oksidan maddeler etkisiyle alkol, aldehit, hidroksi asit, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasını kapsayan reaksiyonlar dizisidir. Peroksidasyon ROS'in PUFA'nin yan zincirdeki metilenik karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atak ile başlar. Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bırakarak karbon merkezli radikal oluşumuna yol açar. Bu radikal

moleküler düzenleme ile konjuge dien şekline çevrildikten sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek ROO[·] radikali oluşur. Bu ROO[·] radikali diğer ROO[·] radikali ile birleşebilir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. En önemlisi ROO[·] radikalının membrandaki diğer yağ asitlerinden hidrojen atomlarını çıkarması ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece her defasında lipid hidroperoksitler (LOOH) ve yeni bir ROO[·] radikali oluşacaktır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra yayılabilmekte, yüzlerce yağ asiti zincirleri LOOH'lere çevrilebilmektedir. Bu şekilde yağ asitlerinin kaybı membran hasarına yol açmaktadır (67).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanır. Malondialdehit LPO'nun derecesinin saptanmasında kullanılan bir belirteçtir. Lipid LOOH ve lipid ROO[·] radikalleri hücrenin birçok komponenti ile reaksiyona girerek toksik etkilerini gösterirler (68, 69).

Malondialdehit membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olarak iç membranın bazı özelliklerini değiştirir. Ayrıca diffüze olabildiğinden deoksiribonükleik asit (DNA)'nın nitrojen bağları ile reaksiyona girebilir. Malondialdehit bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (70).

Membrandaki PUFA ve protein içeriğinin fazla olması peroksidasyonun yayılmasını artıran faktörlerdir. Bunun yanında kolesterolün varlığı peroksidasyonu baskılamaktadır. Demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatlar (Fe⁺²-ADP) hem, Hb ve miyoglobini de içeren bazı demir proteinleri lipid LOOH'ın yapısını bozarak peroksidasyonu sonlandırılmaktadır. Ayrıca C ve E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını durduran, kıran antioksidanların varlığı da peroksidasyonun sonlandırılmasında önemlidirler (71).

2.3.6.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri:

Proteinler serbest radikal etkisine PUFA'nden daha az hassastırlar ve başlayan zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin ROS ile reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitlere sahip proteinler

serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucu proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanma ve agregasyon oluşur (61, 72).

2.3.6.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri:

Glikoz ve mannoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂, peroksitler ve okzalaldehyitler oluşabilir. Okzalaldehyitler DNA, ribonükleik asit (13) ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (61, 65).

2.3.6.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri:

Serbest oksijen radikallerinin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisiyle, DNA zincirinde kopmalar, bazlarda ve deoksiribozlarda kırılmalar ve hasar oluşur. Sonuçta sitotoksiste, mutasyon ve malign değişim potansiyeli oluşabilir.

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Sağlıklı bireylerde oluşan ROS ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin bozulması oksidatif stresle sonuçlanmaktadır.

Antioksidanlar genel olarak endojen ve eksojen olmak üzere iki grupta incelenir.

2.4.1. Endojen Antioksidanlar

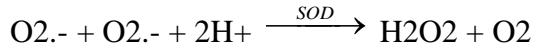
a- Enzimatik antioksidanlar (mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi, SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S transferaz, glutatyon redüktaz).

b- Enzimatik olmayan antioksidanlar (vitamin E, β karoten, vitamin C, melatonin, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyoglobulin, albumin, bilirubin ve glutatyon).

2.4.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.4.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

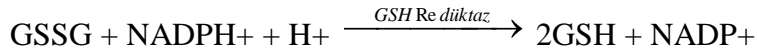
Süperoksit genel olarak, zincirleme radikalik tepkimeleri başlatır ve tepkimeler boyunca hidroksil radikali, $1O_2$ ve organik radikallerin oluşumuna neden olur. Radikalik zincir tepkimelerinin başlaması ve tepkimeler boyunca $O_2\cdot^-$ 'den çok daha reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. SOD, CAT ve GSH-Px'den farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır.



Süperoksit dismutaz ile katalizlenen tepkimenin ürünü olan H_2O_2 ise CAT ile H_2O 'ya indirgenmektedir.

2.4.1.1.2. Glutasyon Redüktaz (GSH-Redüktaz)

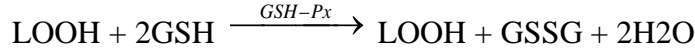
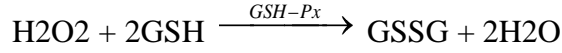
Redükte glutasyon (GSH)'un yüksek konsantrasyonları ve okside glutasyonun (GSSG) düşük düzeyleri organizmanın yaşamı için gereklidir. Redükte glutasyon, protein sülfhidrillerinin oksidasyonunu geriye çevirir. Yüksek GSSG düzeyleri protein sülfhidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık GSH-protein sülfhidrilleri oluşturur. Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş GSH'ın tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) varlığında indirgenme reaksiyonunu katalizler.



NADPH/NADP⁺ ve GSH/GSSG oranlarındaki değişiklikler akut prooksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidir.

2.4.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

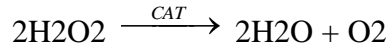
Hidrojen peroksidin detoksifikasyonundan esas olarak GSH-Px enzimi sorumludur. Glutasyon peroksidaz, lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özellikte olan bir enzimdir (72).



Glutatyon peroksidazın fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Eritrositlerde de oksidan sisteme karşı en etkili antioksidandır.

2.4.1.1.4. Katalaz

Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan hem enzimdir. Hidrojen peroksidin O₂ ve H₂O indirgenmesini katalizler (62).



2.4.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

1. C vitamini (Askorbik Asit): Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup, O₂-, peroksit ve OH- radikalleri ile reaksiyona girerek bir ara ürün semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidro askorbik asiti oluşturur. Membran içindeki ve ekstraselüler dokulardaki LPO'nu önler.

2. E vitamini (α -tokoferol): Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicisidir. Aynı zamanda 1O₂'nin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca OH-radikali, peroksi radikali ve O₂- ile direk olarak reaksiyona girebilir (66).

3. β karoten: A vitamini ön maddesi olan β karoten etkili bir 1O₂ ve radikal tutucu antioksidandır.

4. Melatonin: Pineal bezden salgılanan vücutta birçok etkisine ek olarak direk radikal temizleyici, indirek olarak da antioksidan enzim düzeylerini artıran ve nitrik oksit (NO) sentetaz gibi prooksidatif enzimleri baskılayarak antioksidan etki gösteren bir hormondur (73).

5. Glutatyon (GSH): Antioksidan olarak önemli bir yer tutan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasardan korur. Glutatyon, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupların oksidasyona karşı korunmasını sağlar. Glutatyon eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif hasara karşı korumada hayati önem taşır.

2.4.1.3. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar

Bazı durumlarda ürik asit, sistin, albumin, bilirubin, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, kreatinin ve östrojenler de serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar (62).

2.4.2. Eksojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol)

NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler)

Kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, nifedipin)

Non-steroid antiinflatuar ilaçlar (ibuprofen)

Demir tutucuları (desferroksamin, EDTA)

Rekombinant SOD (r-SOD)

Besinlerdeki doğal antioksidanlar. A, C, E vitamini ve β karoten

Nötrofil adezyon inhibitörleri

Asetil sistein, mannitol

Melatonin

2.5. Total Antioksidan Kapasite (TAC)

Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemli rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar.

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Proteinler plazmanın ana antioksidan bileşenini oluştururlar. Proteinlerin serbest sülfhidril grupları onların antioksidan cevabından sorumludur. Plazmanın serbest sülfhidril grupları proteinlere aittir çünkü aynı şekilde sülfhidril gruplarına sahip olan linoleik asitin serum total serbest sülfhidril seviyesine etkisi önemsizdir. Proteinlerin sağlıklı bireylerde güçlü serbest radikal

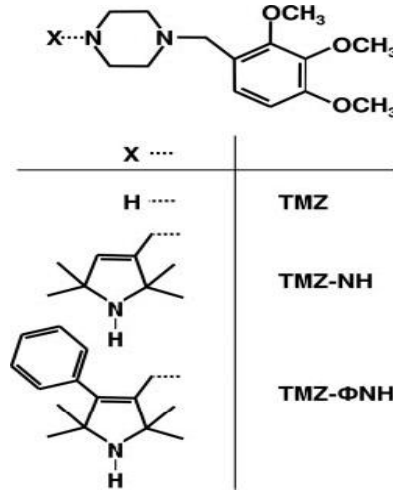
reaksiyonlarına karşı serum TAC'nin %49'unu oluşturduğu bulunmuştur. Aynı zamanda TAC seviyesi ile serum total -SH içeriği arasında ilişki bulunmuştur. Vitamin C'nin güçlü serbest radikal tepkimelerini ertelediği ve bastırıldığı gösterilmiştir. Sağlıklı bireylerde güçlü serbest radikal tepkimelerine karşı ölçülen serum TAC'nin %5'ini Vitamin C oluşturulmaktadır. Son çalışmalar bilirubinin ateroskleroz, koroner arter hastalığı ve inflamasyona karşı önemli bir koruma sağlayabilen güçlü bir fizyolojik antioksidan olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda bilirubinin yeni doğanı oksidatif zarardan korumakta önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Yeni doğan sarılığı olan infantların yetişkin sağlıklı bireylere göre daha yüksek serum TAC düzeyine sahip oldukları bulunmuştur. Plazmanın toplam bilirubin miktarı sağlıklı bireylerde ölçülen serum TAC değerinin %1,69'unu oluşturur. Albumin, ürik asit ve askorbik asit ise insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, GSH, flavonoidler, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan durumun komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolu yeniden aktifleştirmesini sağlaması verilebilir. Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini TAC yansıtır. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlar yerine bunların toplam antioksidan değerini veren TAC ölçümü yaygınlaşmaktadır (74, 75). Plazmadaki TAC'nin önemli miktarını oluşturan moleküller Tablo 2.'de gösterildi (75).

Tablo 2. Total antioksidan kapasiteyi oluşturan moleküller (75)

Antioksidanlar	Relativ aktivite	Konsantrasyon (μ M)	Miktar (mmol Trolox eq/L)	Miktar (%)
Total -SH	1.82	303 - 525	0.753	48.89
Vitamin C	1.36	28 - 85	0.077	5.00
Ürik asit	0.19	50 - 470	0.059	3.83
Vitamin E	1.00	12 - 45	0.029	1.88
Biluribin	2.64	3 - 17	0.026	1.69
Diğer	-	-	0.596	38.71
Total			1.540	100

2.6. Trimetazidin

Trimetazidin (1-[2,3,4-trimethoxy-benzyl] piperazine HCL) (TMZ) özellikle koroner arter hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Şekil I'de TMZ'nin ve türevlerinin kimyasal yapısı gösterilmiştir (76). Nötr TMZ, lipofilik ve zayıf bazdır ($pK_{a1} = 4.45 \pm 0.02$ ve $pK_{a2} = 9.14 \pm 0.02$) (77). 1970 yılından beri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılan bu ilacın, koroner kan akımı ve sistemik hemodinamiyi etkilemeksizin sitoprotektif etki gösteren antiiskemik bir madde olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle diğer antianjinal ilaçlarla birlikte veya tek başına arteriosklerotik kalp hastalıklarının tedavi ve profilaksisinde kullanılmıştır. Antianjinal etkileri nedeniyle TMZ ile ilgili deneysel çalışmalar büyük ölçüde miyokard hücresi üzerinde yoğunlaşmış, daha sonraki dönemlerde otolaringoloji alanında iskemik menşeli hastalıkların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır.



Şekil 1. Trimetazidin ve türevlerinin moleküler yapıları (76)

Trimetazidin'in etki mekanizmasını açığa çıkarmak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Bugün için etki mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte metabolik etkilerinin mevcut olduğu gözlenmiştir. Trimetazidin selektif olarak yağ asit oksidasyon yolunun son basamak enzimi olan uzun zincirli 3-ketoaçil-koenzim A- tiolaz enzimini inhibe eder (78). Normoksi durumunda belirgin bir etkisi görülmemiştir (4, 5). Hipoksi ve iskemi esnasında;

- Selüler ATP düzeyinin azalmasına engel olur
- İntraselüler inorganik fosfat birikimini azaltır
- İntraselüler asidozu azaltır
- Mitokondrilerde oksidatif stresi azaltır ve iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etki gösterir

— Hasar sonucunda serbest oksijen radikallerinin oluşumuna engel olur. Böylece serbest oksijen radikallerinin hücre membranına zarar vermesi engellenmiş olur (5).

- Hasar gören bölgeye nötrofil infiltrasyonunu engeller

Yapılan çalışmalar TMZ'nin intraselüler Ca^{2+} ve Na^{+} 'ın birikimine engel olduğunu göstermiştir. Kiyouse ve ark. yaptıkları çalışmalarda TMZ'nin Ca^{2+} 'ın pik amplitüdünü azalttığını ve intraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunu düşürdüğünü gösterdiler (6). Son dönemlerde yapılan çalışmalarda ise TMZ'nin trombosit ve eritrositlerde dış membran geçirgenliğini değiştirdiği, bu maddenin membrandan çeşitli iyonların spontan geçişini dahi etkilediği belirtilmektedir (7, 8). Hidrojen iyonunun intraselüler birikimine engel olmak suretiyle intraselüler asidozu azalttığı

da gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda dokuda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini azaltarak etkili olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda kobayda Na⁺-K⁺-ATP ase enzimini bloke etmek suretiyle etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca intraselüler ATP kaybına engel olmak suretiyle de etkili olur (4-6).

Trimetazidin hipoksi esnasında laktat dehidrogenazın iritatan etkisine karşı sitoprotektif etki gösterir ve trimetazidin bu etkisi enerji kaybının azalmasına bağlı değildir. Keza, Adenin Dinükleotid ile yapılan çalışmalarda, hem normoksik hem de hipoksik ortamlarda belirgin bir ATP kaybının olmadığı gösterilmiştir (5).

İzole kardiyak mitokondriler üzerinde yapılan çalışmalar TMZ'nin palmitoylcarnitine oksidasyonunun hızlı ve potent bir inhibitörü olduğunu gösterdi. Bu durum respirasyon esnasında ilacın direkt etkisinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda TMZ'nin yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan ve pek çok istenmeyen etkileri bulunan nonlipidik maddelerin yıkımına yardımcı olduğu gösterilmiştir (6-8).

Hipoksi durumundaki kültür ortamındaki kalp hücresinde, membran bütünlüğünde önemli bir değişiklik olmaksızın laktat dehidrogenaz düzeyi % 50'den fazla artış gösterir. Ancak hipoksi, glikozlu ortamda ortaya çıktığında laktat dehidrogenaz artışı oluşmaz. Kültür hücrelerinde nekroz düzeyine varmadan ortaya çıkan hipoksiye bağımlı laktat dehidrogenaz artışı, bu metabolik değişime katkıda bulunan bir adaptasyon fenomeni olarak değerlendirilebilir. Bu hipoteze göre; TMZ'e bağımlı laktat dehidrogenaz düzeyindeki azalma bu ilacın mitokondrilerdeki metabolik etkileriyle ilişkili olabilir (8, 79).

Trimetazidin'in mitokondriler üzerindeki etkisini izah edebilecek iki hipotez üzerinde durulmaktadır (7);

1-Mitokondri aktivitesini kontrol eden mekanizmalar

2-İlacın mitokondri içindeki enzimatik sistemlere yönelik etkisi: Bu etkilerden biri mitokondrilerde ATP düzeyinin korunmasını sağlar.

Doksorubisinin yaptığı miyokard toksisitesinin serbest radikaller üzerinden olduğunu düşünen Perletti ve ark., TMZ ile tedavi edilen sıçanlarda erken kardiyotoksik bulgularda önemli azalma olduğunu göstermişlerdir (80). Catroux ve ark., sıçanda postiskemik akut renal yetmezlikte TMZ'nin antilipoperoksidan etkisini saptamışlardır (81). Bir başka araştırmada TMZ verilen sağlıklı gönüllülerden

toplanan eritrositlerde, süperoksit anyonları ve diğer serbest oksijen radikallerinin hücre membranına etkilerinin hafiflediği ve lipid peroksidasyonu göstergelerinin azaldığı gösterilmiştir (5). İşler ve ark. sıçanlarda etanolle geliştirdikleri eroziv gastritte, TMZ ön tedavisinin mide mukoza lezyonlarını anlamlı ölçüde azalttığını göstermişler ve TMZ'nin bu etkisinin serbest oksijen radikalleri ile ilişkili olabileceğini speküle etmişlerdir (82). Pudil ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise TMZ tedavisi alan grupta C-Reaktif Protein (CRP) düzeyi tedavi almayan gruba oranla düşük saptanmıştır (83). Sıçanlarda tek veya 14 günlük TMZ uygulamasıyla beyin dokusunda radyoaktif glikoz alımında artış saptanmıştır (84). Diyabetik sıçanlarda kısa süreli TMZ uygulanmasıyla açlık kan şekeri düşme olmuştur (85). Tritto ve ark., TMZ tedavisiyle nötrofillerin aktivasyonunun önlenmesiyle postiskemik kalplerin korunduğunu göstermişler (86). Bir diğer sıçan çalışmasında ise alkali özefagus yanıklarında TMZ uygulamasıyla histopatolojik hasarda sınırlanma ve fibrozis derecesinde azalma olmuştur (87).

Trimetazidin esas olarak kardiyoloji alanında kullanılmasına karşın, antiiskemik ve antioksidan özellikleri nedeniyle farklı birçok alanda çalışmalar yapılan bir ajandır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi, Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınarak etik kurul kurallarına uygun olarak yapıldı.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada; SDÜ Deney Hayvanları Üretim Merkezinden alınan 80 adet Wistar-Albino cinsi, 8–12 haftalık, ağırlıkları 160–246 g arasında olan dişi sıçan kullanıldı. Çalışmadaki sıçanların hepsi deney süresince %50-60 nemli ortamda, 12 saat aydınlık ve 22–24 °C oda ısısı koşullarında bulunduruldu. Sıçanlar 5'erli gruplar halinde ayrı kafeslere konarak yeterli miktarda içme suyu ve standart sıçan yemi verildi. Deneyden 10 gün önce alınan sıçanlar, 10 günlük uyum dönemi geçirdiler.

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler

Tablo 3. Kullanılan malzeme ve aletler

1	Soğutmalı santrifüj	Eppendorf MR 5415, Almanya
2	Derin dondurucu	Facis, Fransa
3	Hassas terazi	Scaltec, İsviçre
4	Vorteks (karıştırıcı)	Nüve NM 100, Türkiye
5	Otomatik pipetler	(Gilson, Fransa), (Eppendorf MR 5415, Almanya)
6	UV spektrofotometre	Shimadzu UV 1601, Japonya
7	MDA	Northwest Malondialdehyde Assay, Product NWK-MDA01, USA
8	TNF- α	Assay Pro, Rat TNF α ELISA Kit, Catalog Number ERT2010-1, Lot#0667826, USA
9	Total Antioksidan Kapasite	Cayman Antioxidant Assay Kit, Cat No. 709001, Lot No. 0411209, USA
10	Trimetazidin	Sigma Chemicals. Co., St Louis, MO, USA
11	D-Galaktozamin	Sigma Chemicals. Co., St Louis, MO, USA

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması

Toplam 80 sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol, n=20): Sıçanlara intraperitoneal 5 ml/kg serum fizyolojik uygulandıktan sonra 6'şar saatlik aralıklarla (6., 12., 18. ve 24. saatlerde) sıçanlardan 5'erli gruplar halinde karaciğer dokuları ve kan örnekleri alındı.

Grup II (Trimetazidin, n=20): Sıçanlara intraperitoneal TMZ 5 mg/kg uygulandıktan 1 saat geçtikten sonra 6'şar saatlik aralıklarla (6., 12., 18. ve 24. saatlerde) sıçanlardan 5'erli gruplar halinde karaciğer dokuları ve kan örnekleri alındı.

Grup III (D-Galaktozamin, n=20): Sıçanlara intraperitoneal GAL 500 mg/kg uygulandıktan sonra 6'şar saatlik aralıklarla (6., 12., 18. ve 24. saatlerde) sıçanlardan 5'erli gruplar halinde karaciğer dokuları ve kan örnekleri alındı.

Grup IV (Trimetazidin + D-Galaktozamin, n=20): Sıçanlara intraperitoneal TMZ 5 mg/kg uygulandıktan 1 saat sonra GAL 500 mg/kg intraperitoneal uygulandı ve 6'şar saatlik aralıklarla (6., 12., 18. ve 24. saatlerde) sıçanlardan 5'erli gruplar halinde karaciğer dokuları ve kan örnekleri alındı.

İlaç ve serum fizyolojik uygulamaları sabah saat 09:00–10:00 arasında yapıldı. Deney başlangıcında sıçanların ağırlıkları tartıldı. İlaç uygulamaları sıçanların ağırlıklarına göre yapıldı. D-Galaktozamin %0,9'luk serum fizyolojik ile 100 mg/ml konsantrasyonunda çözüldü (28, 88, 89). Trimetazidin %0,9'luk serum fizyolojik ile 1 mg/ml konsantrasyonunda çözüldü (86, 90, 91). Serum fizyolojik 5 ml/kg uygulandı. Tüm grupların injeksiyonuna intraperitoneal yoldan aynı gün başlandı. İnjesiyonlardan sonra tüm gruplar 6'şar saat arayla toplam 24 saatlik süre içinde, 5'erli sıçan grupları halinde intraperitoneal Ketamin 80 mg/kg + Xylazine 10 mg/kg ile anesteziye edilerek dekapite edildi.

3.2.2. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması

Intraperitoneal Ketamin (Ketalar, Pfizer) 80 mg/kg ve Xylazine (Alfamin, Alfasan IBV) 10 mg/kg ile anestezi sağlanarak orta hat insizyonu ile sıçanların batınları açıldı. Inferior vena cava'dan kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden 2

ml'lik kısım PT-INR bakılması için sitratlı numune tüpüne ve geri kalan kan örnekleri de biyokimya numune tüpüne alındı. Ayrılan serum örneklerinden aynı gün serum aspartat amino transferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve plazmada PT-INR ölçümleri Abbott Aeroset cihazı ile bakıldı. Uygun ticari kitler ile serumda TNF- α , MDA ve TAC düzeyleri çalışıldı. Histolojik incelemeler için karaciğer sağ lobları alındı.

3.2.3. Örneklerin Muhafazası ve Hazırlanması

Biyokimya numune tüpüne alınan kan örnekleri aynı gün 1000Xg'de 20 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar porsiyonlara ayrılarak -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Her test parametresi için yeni numune çözülerek MDA, TNF- α ve Total Antioksidan Kapasite düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik inceleme için karaciğerin sağ lobu %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.

3.2.4. Biyokimyasal Analizler

Serum TNF- α düzeyleri ELISA yöntemiyle "Assay Pro Rat TNF" kiti kullanılarak çalışıldı. Çalışmada TNF- α kiti ile standart absorbans değerleri elde edilemediğinden sıçanların TNF- α düzeyleri belirlenemedi.

Serum MDA düzeyinin tayini için spektrofotometrik yöntemle "Northwest Malondialdehyde Assay" kiti kullanılarak çalışıldı. MDA, tiyobarbiturik asit reaktifi metoduna göre ölçüldü. Tiyobarbiturik asit ile reaksiyona giren MDA, maksimum absorbansı 532 nm olan bir renk kompleksi oluşturmaktadır.

Serum TAC düzeyi, otomotize kolorometrik bir ölçüm metodu kullanılarak yapıldı (74). TAC düzeyi için "Cayman Antioxidant Assay Kit" kullanıldı. En güçlü biyolojik radikal olan HO \cdot radikali bu metotta Fenton reaksiyonunda oluşur ve reaksiyon renksiz bir molekül olan O-dianisidine'nin sarımsı kahverengi renkte olan dianisyl radikaline dönüşümünü sağlar. Bu reaksiyon ortamına plazma örneğinin eklenmesiyle 37 C $^{\circ}$ 'de reaksiyon karışımındaki oksidan hidroksil radikali plazmadaki antioksidanlar ile baskılanarak renk değişimi engellenir. Bu şekilde plazmanın TAC'sinin etkin ölçümü sağlanmış olur. Test ölçüm sonuçları mmol Trolox eq/L olarak belirlenir ve bu testin doğruluğu mükemmeldir (92).

3.2.5. Histopatolojik Analiz Yöntemleri

Sakrifiye edilen sıçanlardan alınan karaciğer örnekleri %10'luk formaldehit kullanılarak fikse edildi. Parafin bloklar oluşturuldu. Oluşturulan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksin ve eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda (x100, x200 ve x400 büyütmede) incelendi.

Hepatosellüler hasar derecesi Ishak ve arkadaşlarının (93) tanımladığı skorlama sistemi kullanılarak yapıldı. Bu skorlama sistemine göre hepatosellüler hasar aşağıda verilen çizelgeye göre derecelendirilip toplam skor elde edildi.

Periportal veya periseptal interface hepatit	Skor
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alan, <%50)	1
Hafif/Orta (fokal, çoğu portal alan, >%50)	2
Orta (septa veya alanların çevresinin %50'sinden azında devamlı)	3
Ciddi (septa veya alanların çevresinin %50'sinden fazlasında devamlı)	4

Birleşen nekroz	Skor
Yok	0
Fokal birleşen nekroz	1
Bazı alanlarda zon 3 nekrozu (lobüllerin %50'sinden azında)	2
Bazı alanlarda zon 3 nekrozu (lobüllerin %50'sinden fazlasında)	3
Zon 3 nekrozu + nadir portal santral köprüleşme (≤ 2)	4
Zon 3 nekrozu + çok sayıda portal santral köprüleşme (>2)	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6

Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Skor
Yok	0
Onluk büyütme alanında ≤ 1 odak	1
Onluk büyütme alanında 2-4 odak	2
Onluk büyütme alanında 5-10 odak	3
Onluk büyütme alanında >10 odak	4

Portal inflamasyon	Skor
Yok	0
Portal alanların tümünde veya bazılarında hafif	1
Portal alanların tümünde veya bazılarında orta	2
Portal alanların tümünde orta/belirgin	3
Portal alanların tümünde belirgin	4

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın analizi bilgisayar ortamında SPSS 15.0 istatistik programında yapıldı. Analizde; ölçüm verileri aritmetik ortalama \pm standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası farklılaşmanın öneminin tespiti için ANOVA ve Post Hoc Tukey analizleri kullanıldı.

Deney grupları arasındaki histopatolojik skorların farklılığını değerlendirmek için Kruskal–Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi önemli farklılaşma gösterirse, hangi grubun diğerinden farklı olduğu Mann-Whitney u testi ile araştırıldı. Önemlilik düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Karaciğer Fonksiyon Testleri

Karaciğer fonksiyon testlerinin 6., 12., 18. ve 24. saatlerdeki değerleri incelendi.

4.1.1. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 6. Saatteki Değerleri

Serum AST aktivitesi, sadece GAL+TMZ grubunda Kontrol gurubundan anlamlı derecede yüksek saptandı. Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubu ile GAL grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Serum ALT aktivitesi, gruplar arası farklılık karşılaştırmasında ANOVA analizinde anlamlı farklılık ($p=0,027$) göstermesine karşın Post Hoc Tukey analizinde anlamlı farklılık saptanmadı. Serum ALT aktivitesi, TMZ+GAL grubu ile GAL grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Serum LDH aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 4. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 6. saatteki aktiviteleri

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)
1. Kontrol	122 ± 9,0	50,0 ± 4,9	1166 ± 215
2. TMZ	127,6 ± 20,0	52,2 ± 6,6	980 ± 178
3. GAL	226,0 ± 30,7	135,8 ± 27,5	1305 ± 220
4. TMZ+GAL	265,2 ± 58,1	177,8 ± 56,8	1155 ± 178
P (ANOVA)	0,022	0,027	0,727 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-4: 0,045		

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.1.2. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 12. Saatteki Değerleri

Serum AST aktivitesi, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,035$ ve $p=0,028$). Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubu ve GAL grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Serum ALT aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Serum LDH aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 5. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 12. saatteki aktiviteleri

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)
1. Kontrol	131,4 ± 6,6	61,2 ± 4,3	873 ± 171
2. TMZ	120,0 ± 5,6	53,8 ± 3,6	980 ± 204
3. GAL	433,0 ± 137,1	369,6 ± 168,5	975 ± 170
4. TMZ+GAL	177,0 ± 25,7	99,4 ± 14,3	936 ± 145
P (ANOVA)	0,019	0,054 (NS)	0,970 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: 0,035 2-3: 0,028		

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.1.3. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 18. Saatteki Değerleri

Serum AST aktivitesi, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,004$ ve $p=0,004$). Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,010$ ve $p=0,010$). Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı farklılık göstermedi.

Serum ALT aktivitesi, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,005$ ve $p=0,005$). Serum ALT aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,012$ ve $p=0,010$). Serum ALT aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı farklılık göstermedi.

Serum LDH aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 6. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 18. saatteki aktiviteleri

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)
1. Kontrol	123,0 ± 3,2	66,0 ± 5,7	693 ± 160
2. TMZ	116,6 ± 14,5	54,0 ± 4,3	910 ± 311
3. GAL	719,4 ± 158,5	703,0 ± 177,2	1262 ± 203
4. TMZ+GAL	649,4 ± 127,6	640,6 ± 140,4	839 ± 155
P (ANOVA)	0,001	0,001	0,328 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: 0,004 1-4: 0,010 2-3: 0,004 2-4: 0,010	1-3: 0,005 1-4: 0,012 2-3: 0,005 2-4: 0,010	

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.1.4. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 24. Saatteki Değerleri

Serum AST aktivitesi, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,007$). Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,002$). Serum AST aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı farklılık göstermedi.

Serum ALT aktivitesi, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,027$ ve $p=0,028$). Serum ALT aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,032$ ve $p=0,034$). Serum ALT aktivitesi, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı farklılık göstermedi.

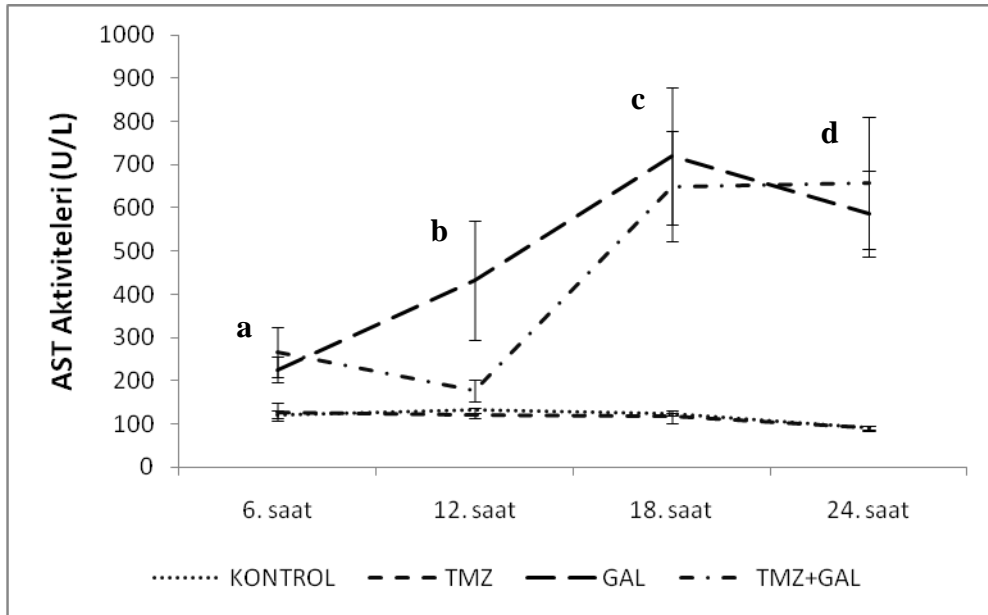
Serum LDH aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 7. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin 24. saatteki aktiviteleri

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)
1. Kontrol	90,8 ± 4,1	44,2 ± 3,1	849 ± 86
2. TMZ	90,4 ± 5,8	49,8 ± 2,1	772 ± 134
3. GAL	587,0 ± 100,4	662,2 ± 116,6	942 ± 241
4. TMZ+GAL	657,6 ± 153,9	645,0 ± 248,9	694 ± 65
P (ANOVA)	<0,001	0,004	0,680 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: 0,007 1-4: 0,002 2-3: 0,007 2-4: 0,002	1-3: 0,027 1-4: 0,032 2-3: 0,028 2-4: 0,034	

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Şekil 2, Şekil 3. ve Şekil 4.'de grupların karaciğer fonksiyon testlerinin saatlere göre dağılımları grafik şeklinde gösterilmiştir.



Şekil 2. Grupların AST aktivitelerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

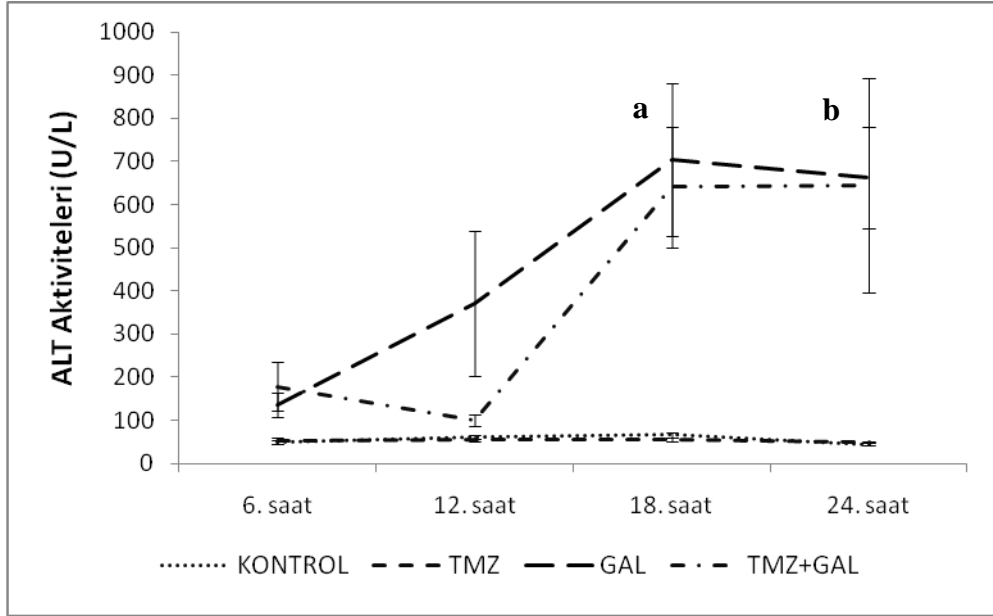
Kontrol:1, TMZ:2, GAL:3, TMZ+GAL:4

a: 1-4: p=0,045

b: 1-3: p=0,035; 2-3: p=0,028

c: 1-3: p=0,004; 1-4: p=0,010; 2-3: p=0,004; 2-4: p=0,010

d: 1-3: p=0,007; 1-4: p=0,002; 2-3: p=0,007; 2-4: p=0,002



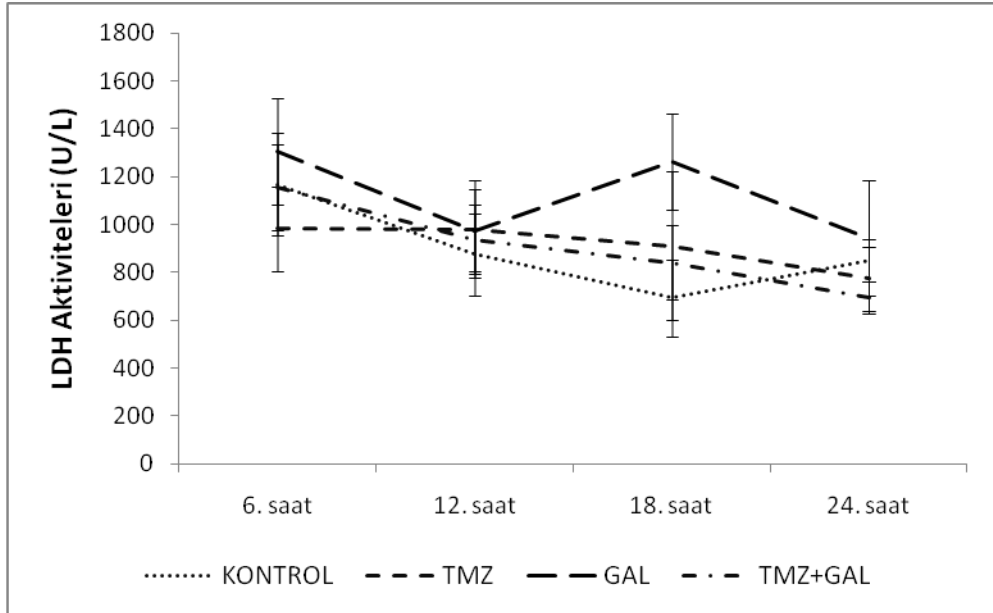
Şekil 3. Grupların ALT aktivitelerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

Kontrol:1, TMZ:2, GAL:3, TMZ+GAL:4

a: 1-3: p=0,005; 1-4: p=0,012; 2-3: p=0,005; 2-4: p=0,010

b: 1-3: p=0,027; 1-4: p=0,032; 2-3: p=0,028; 2-4: p=0,034



Şekil 4. Grupların LDH aktivitelerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

4.2. Protrombin Zamanı (PT) ve INR Ölçümleri

Gruplar 6 saatlik aralıklarla değerlendirildiğinden, PT ve INR ölçümleri 6., 12., 18. ve 24. saatlerdeki ölçümler halinde incelendi.

4.2.1. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 6. Saatteki Değerleri

Protrombin Zamanı, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Protrombin Zamanı, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Protrombin Zamanı, TMZ+GAL grubunda GAL grubuna göre anlamlı derecede uzamış saptandı ($p=0,025$).

INR, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). INR, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). INR, TMZ+GAL grubunda GAL grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,002$).

Tablo 8. Plazma PT ve INR 6. saatteki değerleri

Gruplar	PT (s)	INR
1. Kontrol	10,2 ± 0,18	0,86 ± 0,02
2. TMZ	10,4 ± 0,33	0,88 ± 0,03
3. GAL	13,7 ± 0,5	1,1 ± 0,04
4. TMZ+GAL	15,4 ± 0,42	1,3 ± 0,03
P (ANOVA)	<0,001	<0,001
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: <0,001 2-3: <0,001 2-4: <0,001 3-4: 0,025	1-3: <0,001 1-4: <0,001 2-3: <0,001 2-4: <0,001 3-4: 0,002

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.2.2. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 12. Saatteki Değerleri

Protrombin Zamanı, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Protrombin Zamanı, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p=0,010$ ve $p=0,010$). TMZ+GAL grubundaki PT, GAL grubundakinden farklı değildi.

INR, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). INR, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,016$ ve $p=0,019$). TMZ+GAL grubundaki INR, GAL grubundakinden farklı değildi.

Tablo 9. Plazma PT ve INR 12. saatteki değerleri

Gruplar	PT (s)	INR
1. Kontrol	10,1 ± 0,13	0,86 ± 0,02
2. TMZ	10,1 ± 0,12	0,88 ± 0,02
3. GAL	26,2 ± 2,95	2,36 ± 0,29
4. TMZ+GAL	20,6 ± 2,74	1,82 ± 0,25
P (ANOVA)	<0,001	<0,001
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: 0,010 2-3: <0,001 2-4: 0,010	1-3: <0,001 1-4: 0,016 2-3: <0,001 2-4: 0,019

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.2.3. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 18. Saatteki Değerleri

Protrombin Zamanı, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Protrombin Zamanı, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). TMZ+GAL grubundaki PT, GAL grubundakinden farklı değildi.

INR, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). INR, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). TMZ+GAL grubundaki INR, GAL grubundakinden farklı değildi.

Tablo 10. Plazma PT ve INR 18. saatteki değerleri

Gruplar	PT (s)	INR
1. Kontrol	10,0 ± 0,28	0,84 ± 0,02
2. TMZ	10,1 ± 0,62	0,86 ± 0,05
3. GAL	25,1 ± 2,14	2,24 ± 0,21
4. TMZ+GAL	22,9 ± 1,31	2,06 ± 0,12
P (ANOVA)	<0,001	<0,001
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: <0,001 2-3: <0,001 2-4: <0,001	1-3: <0,001 1-4: <0,001 2-3: <0,001 2-4: <0,001

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.2.4. Protrombin Zamanı ve INR Ölçümlerinin 24. Saatteki Değerleri

Protrombin Zamanı, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Protrombin Zamanı, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede uzamış saptandı (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,004$). TMZ+GAL grubundaki PT, GAL grubundakinden anlamlı derecede kısalmış saptandı ($p=0,036$).

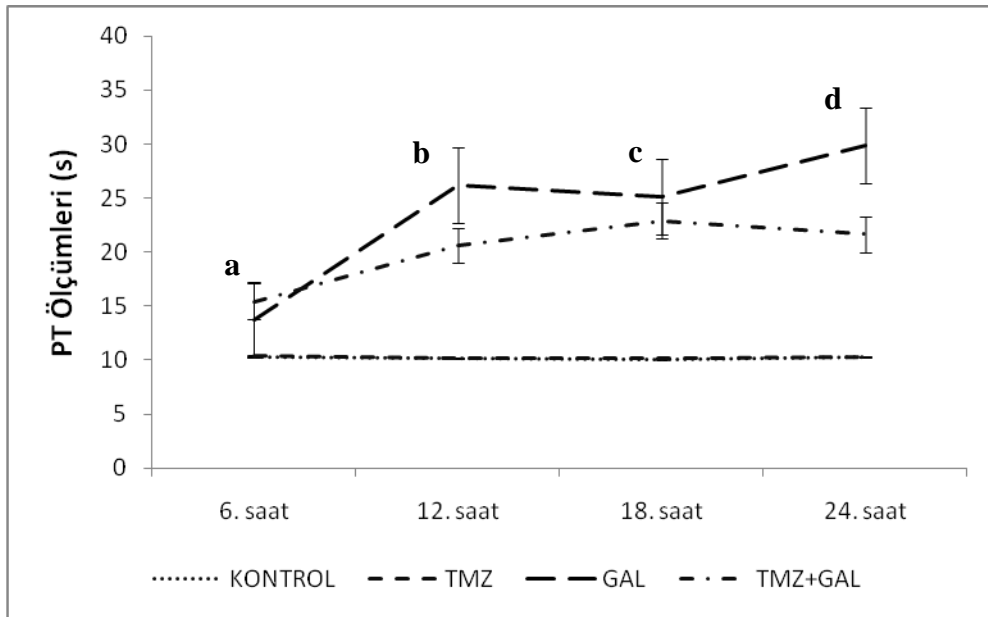
INR, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). INR, TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,004$). TMZ+GAL grubundaki INR, GAL grubundakinden anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0,039$).

Tablo 11. Plazma PT ve INR 24. saatteki değerleri

Gruplar	PT (s)	INR
1. Kontrol	10,2 ± 0,23	0,86 ± 0,02
2. TMZ	10,3 ± 0,22	0,88 ± 0,02
3. GAL	29,9 ± 2,38	2,70 ± 0,23
4. TMZ+GAL	21,6 ± 2,98	1,94 ± 0,27
P (ANOVA)	<0,001	<0,001
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: 0,003 2-3: <0,001 2-4: 0,004 3-4: 0,036	1-3: <0,001 1-4: 0,003 2-3: <0,001 2-4: 0,004 3-4: 0,039

Veriler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Şekil 5. ve Şekil 6.'da grupların PT ve INR ölçümlerinin saatlere göre dağılımları grafik şeklinde gösterilmiştir.



Şekil 5. Grupların PT sürelerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

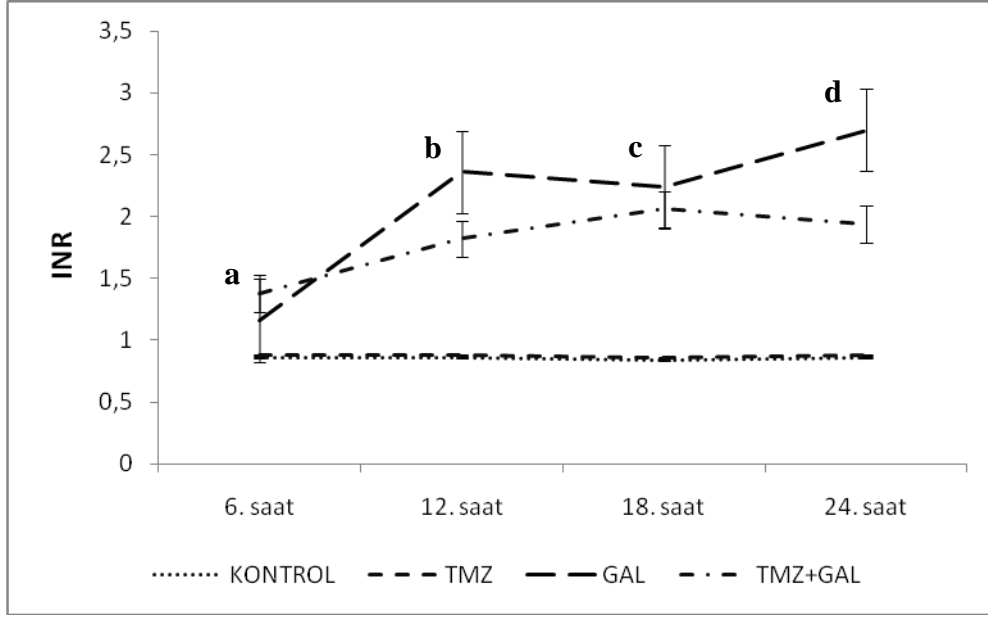
Kontrol:1, TMZ:2, GAL:3, TMZ+GAL:4

a: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p<0,001; 3-4: p=0,025

b: 1-3: p<0,001; 1-4: p=0,010; 2-3: p<0,001; 2-4: p=0,010

c: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p<0,001

d: 1-3: p<0,001; 1-4: p=0,003; 2-3: p<0,001; 2-4: p=0,004; 3-4: p=0,036



Şekil 6. Grupların INR ölçümlerinin saatlere göre dağılımları
Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

Kontrol:1, TMZ:2, GAL:3, TMZ+GAL:4

a: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p<0,001; 3-4: p=0,002

b: 1-3: p<0,001; 1-4: p=0,016; 2-3: p<0,001; 2-4: p=0,019

c: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p<0,001

d: 1-3: p<0,001; 1-4: p=0,003; 2-3: p<0,001; 2-4: p=0,004; 3-4: p=0,039

4.3. Serum MDA ve TAC Düzeyleri

Gruplar 6 saatlik aralıklarla değerlendirildiğinden, serum MDA ve TAC düzeyleri 6., 12., 18. ve 24. saatlerdeki ölçümler halinde incelendi. Serum TAC düzeyleri 2 kez çalışıldı.

4.3.1. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 6. Saatteki Değerleri

Serum MDA düzeyleri, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla p<0,001 ve p<0,001). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla p<0,001 ve p<0,001). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı derecede farklı değildi.

Serum TAC düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 12. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 6. saatteki ölçümleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	TAC ($\mu\text{mol/L}$)
1. Kontrol	0,990 \pm 0,084	0,977 \pm 0,004
2. TMZ	0,853 \pm 0,080	0,962 \pm 0,015
3. GAL	2,704 \pm 0,238	0,964 \pm 0,024
4. TMZ+GAL	2,162 \pm 0,072	0,948 \pm 0,004
P (ANOVA)	<0,001	0,603 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: <0,001 2-3: <0,001 2-4: <0,001	

Veriler, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

4.3.2. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 12. Saatteki Değerleri

Serum MDA düzeyleri, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p < 0,001$). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,046$). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0,001$).

Serum TAC düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 13. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 12. saatteki ölçümleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	TAC ($\mu\text{mol/L}$)
1. Kontrol	1,057 \pm 0,102	0,941 \pm 0,011
2. TMZ	1,459 \pm 0,122	0,949 \pm 0,014
3. GAL	3,137 \pm 0,211	0,888 \pm 0,023
4. TMZ+GAL	2,077 \pm 0,141	0,939 \pm 0,016
P (ANOVA)	<0,001	0,088 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 1-4: 0,001 2-3: <0,001 2-4: 0,046 3-4: 0,001	

Veriler, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

4.3.3. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 18. Saatteki Değerleri

Serum MDA düzeyleri, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,002$). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede farklı değildi. Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p = 0,002$).

Serum TAC düzeyleri bakımından sadece TMZ grubunda Kontrol grubuna oranla anlamlı yükseklik saptandı.

Tablo 14. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 18. saatteki ölçümleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	TAC ($\mu\text{mol/L}$)
1. Kontrol	0,973 \pm 0,151	0,917 \pm 0,019
2. TMZ	1,375 \pm 0,255	0,977 \pm 0,015
3. GAL	2,527 \pm 0,149	0,963 \pm 0,012
4. TMZ+GAL	1,389 \pm 0,154	0,959 \pm 0,008
P (ANOVA)	<0,001	0,050
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 2-3: 0,002 3-4: 0,002	1-2: 0,042

Veriler, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

4.3.4. Serum MDA ve TAC Düzeylerinin 24. Saatteki Değerleri

Serum MDA düzeyleri, GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,002$). Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede farklı değildi. Serum MDA düzeyleri, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0,001$).

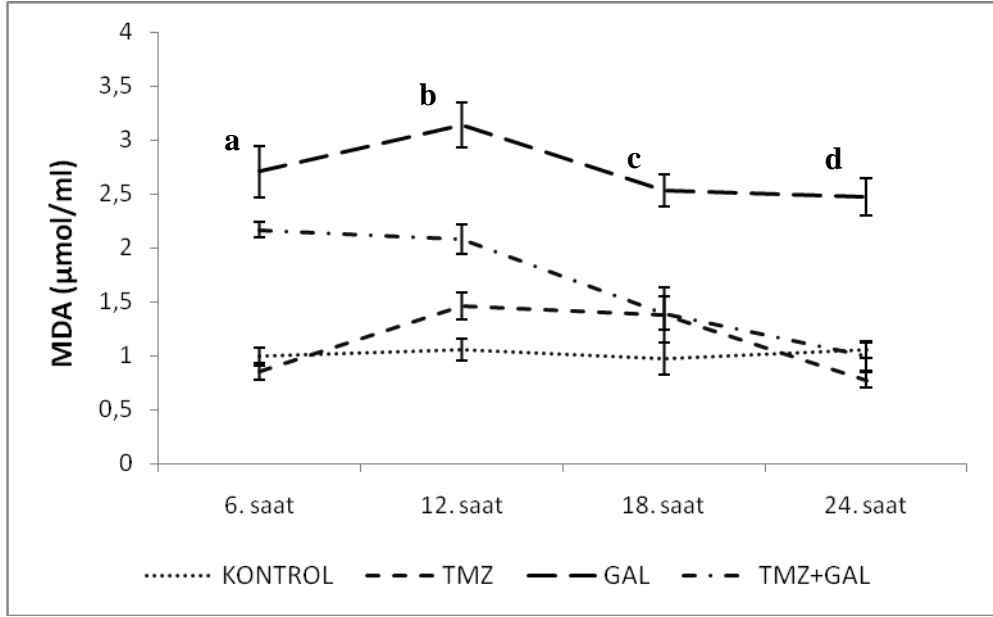
Serum TAC düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 15. Serum MDA ve TAC düzeylerinin 24. saatteki ölçümleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	TAC ($\mu\text{mol/L}$)
1. Kontrol	1,049 \pm 0,075	0,923 \pm 0,025
2. TMZ	0,770 \pm 0,073	0,959 \pm 0,010
3. GAL	2,474 \pm 0,171	0,970 \pm 0,019
4. TMZ+GAL	0,994 \pm 0,140	0,970 \pm 0,019
P (ANOVA)	<0,001	0,325 (NS)
P (Post Hoc Tukey test)	1-3: <0,001 2-3: <0,001 3-4: <0,001	

Veriler, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Şekil 7., Şekil 8. ve Şekil 9’da grupların MDA ve TAC düzeylerinin saatlere göre dağılımları grafik şeklinde gösterilmiştir.



Şekil 7. Grupların serum MDA düzeylerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

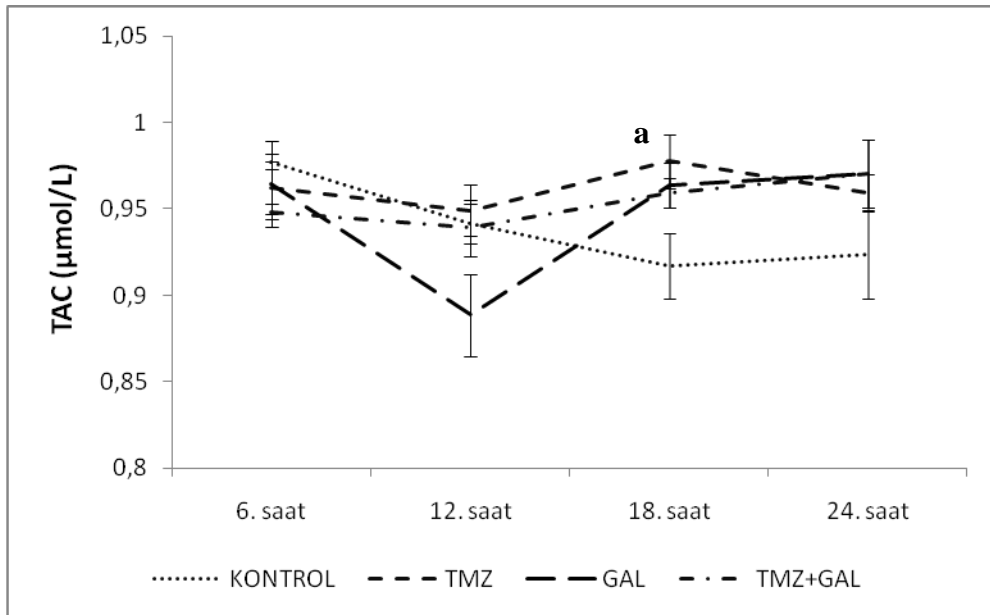
Kontrol:1, TMZ:2, GAL:3, TMZ+GAL:4

a: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p<0,001

b: 1-3: p<0,001; 1-4: p<0,001; 2-3: p<0,001; 2-4: p=0,046; 3-4: p<0,001

c: 1-3: p<0,001; 2-3: p=0,002; 3-4: p=0,002

d: 1-3: p<0,001; 2-3: p=0,002; 3-4: p<0,001



Şekil 8. Grupların serum TAC düzeylerinin saatlere göre dağılımları

Çubuklar standart hataları temsil etmektedir.

a: 1-2: p=0,042

4.4. Histolojik Değerlendirme

Gruplar 6 saatlik aralıklarla değerlendirildiğinden, histolojik değerlendirme 6., 12., 18. ve 24. saatlerdeki bulgular halinde incelendi.

4.4.1. Histolojik Değerlendirmenin 6. Saatteki Bulguları

Ishak skoru GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,016$ ve $p=0,008$). TMZ+GAL grubunda Ishak skoru, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede farklı değildi. TMZ+GAL grubundaki Ishak skoru GAL grubundakinden anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0,016$).

Tablo 16. Sıçanların 6. saatteki Ishak skorları

Gruplar	Karaciğer histolojisi Median (min-max)
1. Kontrol	0 (0-1)
2. TMZ	0 (0-0)
3. GAL	1 (1-3)
4. TMZ+GAL	0 (0-1)
P (Kruskall-Wallis test)	0,004
P (Mann-Whitney u test)	1-3: 0,016 2-3: 0,008 3-4: 0,016

Veriler, median (min-max) olarak verilmiştir.

4.4.2. Histolojik Değerlendirmenin 12. Saatteki Bulguları

Ishak skoru GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,008$ ve $p=0,008$). TMZ+GAL grubunda Ishak skoru, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,032$ ve $p=0,032$). TMZ+GAL grubundaki Ishak skoru GAL grubundakinden anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0,008$).

Tablo 17. Sıçanların 12. saatteki Ishak skorları

Gruplar	Karaciğer histolojisi Median (min-max)
1. Kontrol	0 (0-0)
2. TMZ	0 (0-0)
3. GAL	7 (4-10)
4. TMZ+GAL	1 (0-3)
P (Kruskall-Wallis test)	<0,001
P (Mann-Whitney u test)	1-3: 0,008 1-4: 0,032 2-3: 0,008 2-4: 0,032 3-4: 0,008

Veriler, median (min-max) olarak verilmiştir.

4.4.3. Histolojik Değerlendirmenin 18. Saatteki Bulguları

Ishak skoru GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (p=0,008 ve p=0,008). TMZ+GAL grubunda Ishak skoru, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı (p=0,008 ve p=0,008). TMZ+GAL grubundaki Ishak skoru GAL grubundakinden anlamlı derecede düşük saptandı (p=0,032). GAL grubundaki bir sıçanda Zon III nekrozu saptandı.

Tablo 18. Sıçanların 18. saatteki Ishak skorları

Gruplar	Karaciğer histolojisi Median (min-max)
1. Kontrol	0 (0-0)
2. TMZ	0 (0-0)
3. GAL	10 (6-14)
4. TMZ+GAL	5 (2-8)
P (Kruskall-Wallis test)	<0,001
P (Mann-Whitney u test)	1-3: 0,008 1-4: 0,008 2-3: 0,008 2-4: 0,008 3-4: 0,032

Veriler, median (min-max) olarak verilmiştir.

4.4.4. Histolojik Değerlendirmenin 24. Saatteki Bulguları

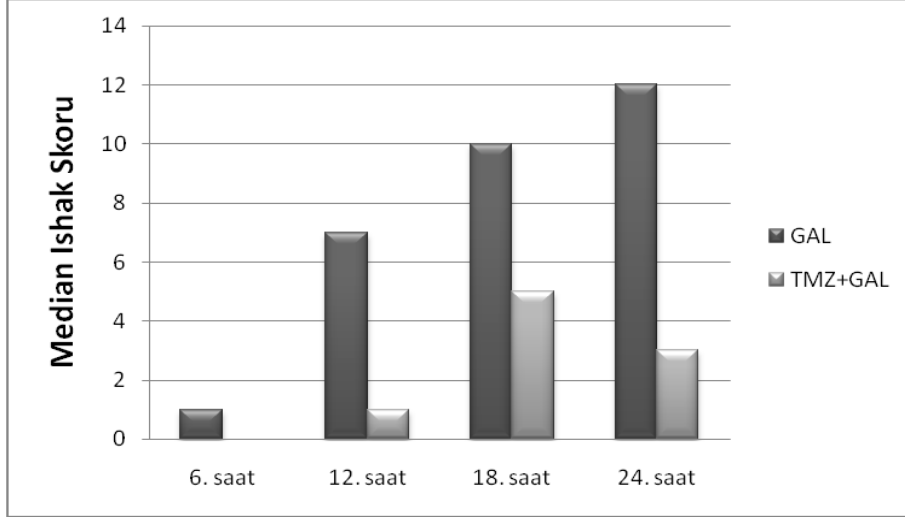
Ishak skoru GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,008$ ve $p=0,008$). TMZ+GAL grubunda Ishak skoru, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,008$ ve $p=0,008$). TMZ+GAL grubundaki Ishak skoru GAL grubundakinden anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0,008$). GAL grubundaki bir sıçanda Zon III nekrozu saptandı.

Tablo 19. Sıçanların 24. saatteki Ishak skorları

Gruplar	Karaciğer histolojisi Median (min-max)
1. Kontrol	0 (0-2)
2. TMZ	0 (0-0)
3. GAL	12 (6-12)
4. TMZ+GAL	3 (2-4)
P (Kruskall-Wallis test)	<0,001
P (Mann-Whitney u test)	1-3: 0,008 1-4: 0,008 2-3: 0,008 2-4: 0,008 3-4: 0,008

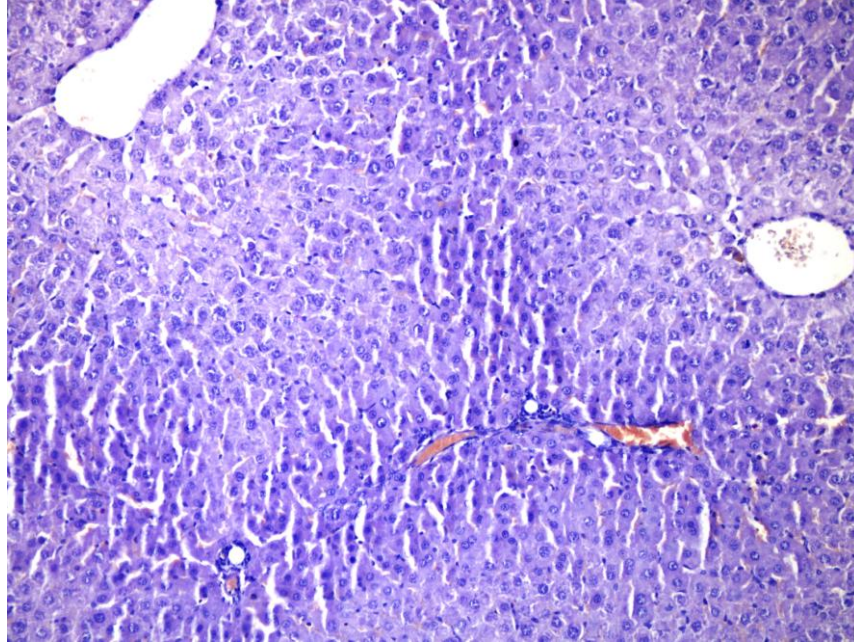
Veriler, median (min-max) olarak verilmiştir.

Kontrol ve TMZ gruplarında histolojik lezyon saptanmadı. GAL ve TMZ+GAL gruplarının Ishak skorları Şekil 9.'da sunulmuştur.



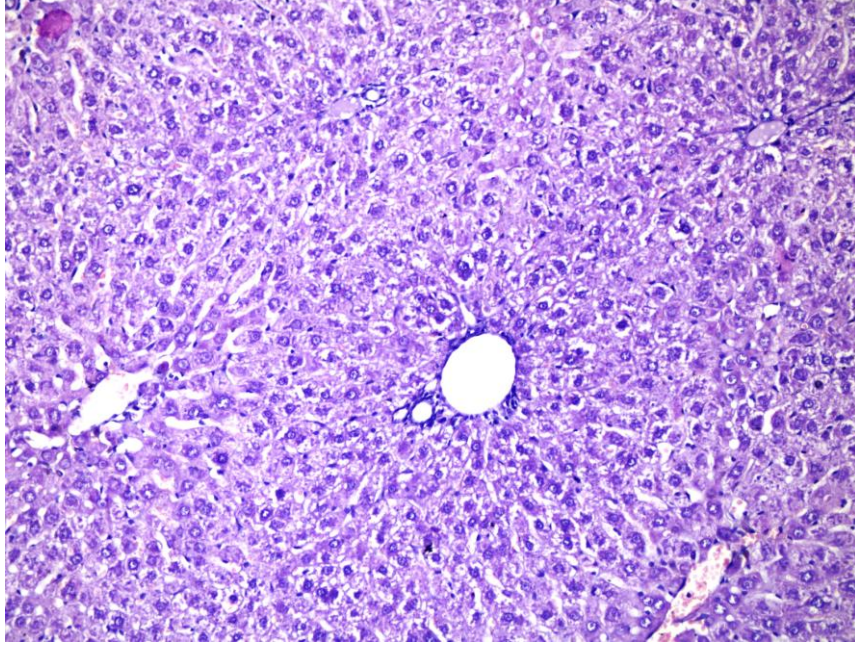
Şekil 9. GAL ve TMZ+GAL gruplarının saatlere göre Ishak skorları

Şekil 10., Şekil 11., Şekil 12., Şekil 13., Şekil 14. ve Şekil 15.'de grupların karaciğer histolojileri fotoğraf halinde gösterilmiştir.

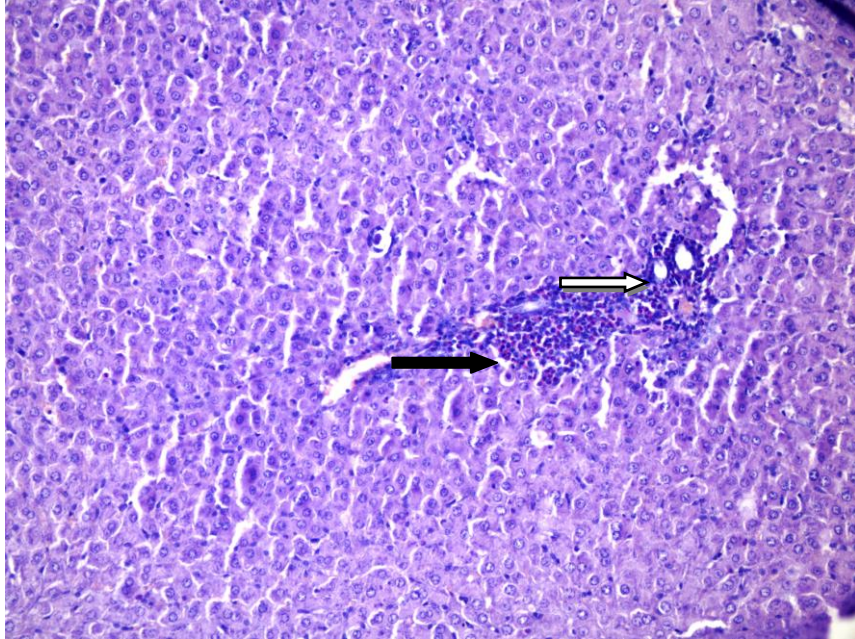


Şekil 10. Kontrol Grubu karaciğer histolojisi (H&E X200)

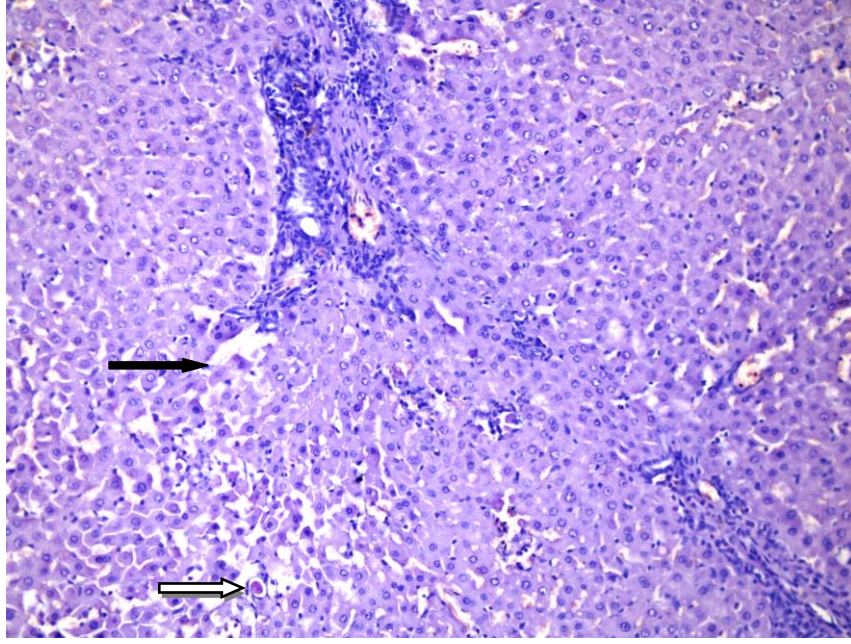
Interface hepatit, nekroz, apoptoz ve portal inflamasyon bulguları saptanmayan normal karaciğer dokusu görünümü.



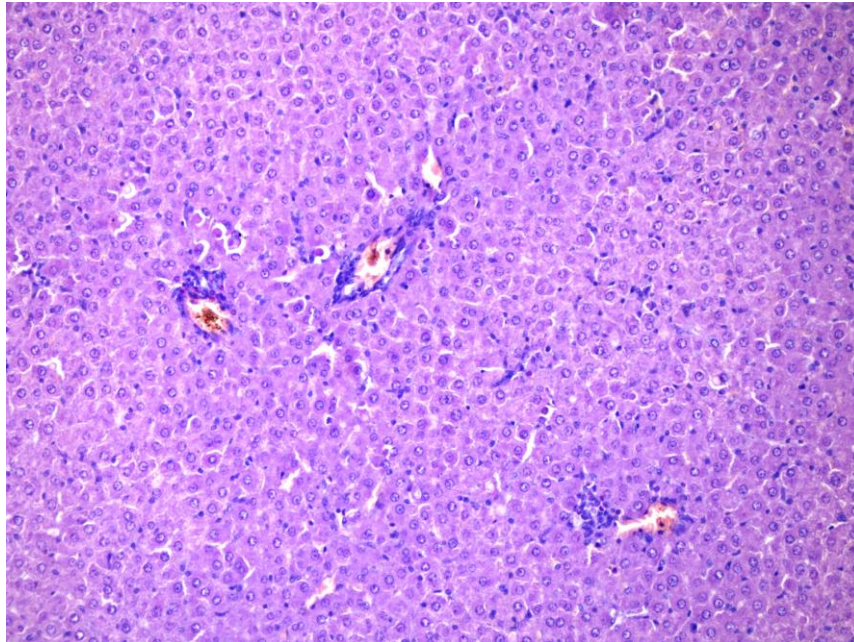
Şekil 11. TMZ Grubu karaciğer histolojisi (H&E X200)
Interface hepatit, nekroz, apoptoz ve portal inflamasyon bulguları saptanmayan normal karaciğer dokusu görünümü.



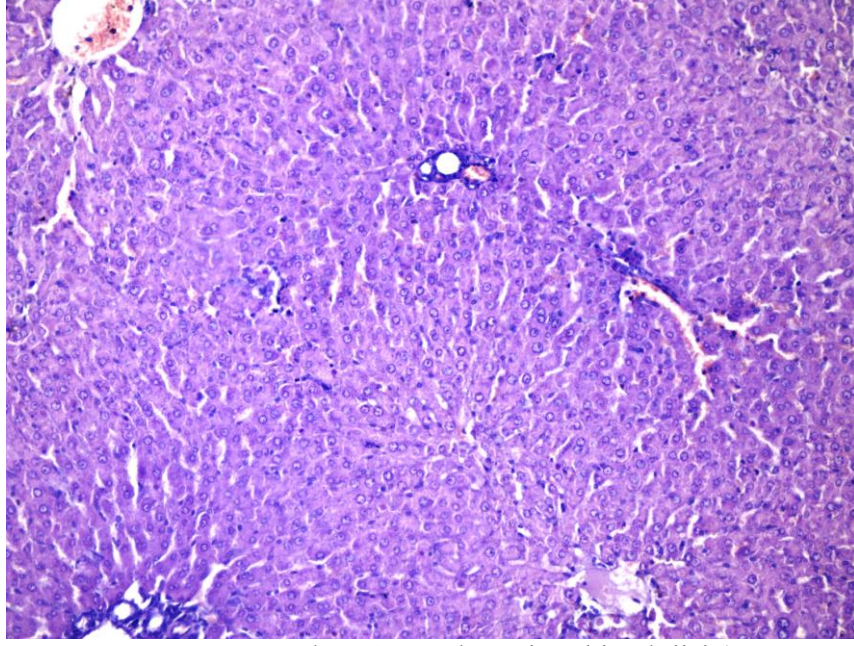
Şekil 12. GAL Grubu 18. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)
Ciddi periportal interface hepatit, fokal nekroz alanları, fokal inflamasyon ve apoptoz bulgularıyla birlikte portal alanlarda yaygın inflamasyon bulguları saptanan karaciğer dokusu görünümü. ⇨ :Portal inflamasyon → : Interface hepatit



Şekil 13. GAL Grubu 24. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)
Orta şiddette interface hepatit, Zon III nekrozu (Lobüllerin %50'sinden fazlasında), ciddi şiddette fokal inflamasyon ve apoptoz bulgularıyla birlikte portal alanlarda orta şiddette inflamasyon bulguları saptanan karaciğer dokusu görünümü **→**: Zon III nekrozu **⇨**: Apoptotik cisimcik (Councilman cisimciği)



Şekil 14. TMZ+GAL Grubu 18. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)
Hafif şiddette interface hepatit, Zon III nekrozu (Lobüllerin %50'sinden azında), hafif şiddette fokal inflamasyon ve apoptoz bulgularıyla birlikte portal alanlarda hafif şiddette inflamasyon bulguları saptanan karaciğer dokusu görünümü.



Şekil 15. TMZ+GAL Grubu 24. saat karaciğer histolojisi (H&E X200)
Hafif şiddette interface hepatit, hafif şiddette fokal inflamasyon ve apoptoz bulgularıyla birlikte portal alanlarda hafif şiddette inflamasyon bulguları saptanan karaciğer dokusu görünümü.

5. TARTIŞMA

Akut hepatit viruslar, toksik ajanlar, ilaçlar, alkol, çeşitli metabolik ve otoimmün hastalıklar gibi değişik nedenlere bağlı olarak meydana gelebilir ve bazen fulminan gidiş göstererek ölümlere neden olabilir. Hepatit B ve C virusları en önemli viral hepatit etkenleri olup tüm dünyada yaygın bir sağlık sorunudur (94). Akut karaciğer yetmezliği daha önce belirgin bir karaciğer hastalığı olmayanlarda ortaya çıkan bir klinik sendromdur. Akut karaciğer yetmezliği semptomlar ortaya çıktıktan sonra 4 hafta içerisinde gelişen hepatic ensefalopati ve hepatic sentez fonksiyonunda azalma ile karakterizedir (9). Akut karaciğer yetmezliğinin pek çoğundan virüsler ve ilaçlar sorumludur. Bununla birlikte anlamlı sayıda hastada ise etyolojik bir neden bulunamaz. Amerika ve İngiltere’de en sık AKY nedeni parasetamol toksisitesidir (13).

Fulminan karaciğer yetmezliği, akut hepatitin ciddi bir komplikasyonudur. Masif karaciğer hücre nekrozu ve ensefalopati ile karakterizedir ve yüksek mortalite oranı ile birliktedir. Fulminan karaciğer yetmezliğinde etkinliği kanıtlanmış tek tedavi yöntemi acil karaciğer transplantasyonudur. İlaç hepatotoksitesi ve viral hepatit gibi çeşitli etyolojilerle meydana gelen akut karaciğer yetmezliğinin patogeneğinde reaktif oksijen radikallerinin artması, glutasyon depleksyonu, proinflamatuvar sitokinlerin artması, nitrik oksit ve NF-KB’nin aktivasyonu suçlanmıştır (95-97). Bugüne kadar akut karaciğer yetmezliğinin tedavisinde deneysel olarak, antioksidan, NF-KB ve iNOS aktivasyonunu inhibe eden, anti-inflamatuvar ve serum endotoksin düzeyini azaltmayı amaçlayan pek çok ilaç denenmiştir (98-101). Fakat medikal tedavilerin etkinliği sınırlı olup yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Selektif bir hepatotoksin olan GAL (48) karaciğerde galaktoz yolunda metabolize olan bir amino şekerdir. Hücre içinde GAL, üridin tüketimine yol açarak hepatositlerin RNA metabolizmasını bozar ve sonuçta hepatosit nekrozuna yol açar (1, 2). Endojen lipidlerin peroksidasyonunun, GAL’in sitotoksik etkisinde major faktör olduğu gösterilmiştir (3). Deneysel GAL hepatiti, morfolojik ve fonksiyonel olarak insanlarda görülen viral hepatitlere çok benzerdir (1).

Karaciğerde GAL ile oluşan hasarın, çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneğinde ortaya çıkan birçok özelliği taklit ettiği bildirilmiştir (29). Histolojik olarak GAL uygulanmasıyla, tanımlanabilen karaciğer hasarı oluşturabilir ve transaminazlar gibi hücre içi maddelerin serbest kalması ve kan dolaşımına geçmeleri teşvik edilebilir. Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak GAL ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine antioksidan ve antiiskemik uygulamasının hücre ve doku düzeyindeki etkileri, histolojik ve biyokimyasal parametrelerle incelenmiştir. Sonuç olarak GAL ile yapılan deneysel hepatitin, morfolojik ve fonksiyonel olarak insanda görülen viral hepatitlere benzerliği dile getirilmiştir (39).

Trimetazidin, özellikle koroner arter hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. 1970 yılından beri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılan bu ilacın, koroner kan akımı ve sistemik hemodinamiyi etkilemeksizin sitoprotektif etki gösteren antiiskemik bir madde olduğu dikkati çekmiştir.

Normoksi durumunda TMZ'nin belirgin bir etkisi görülmemiştir (4, 5). Hasar sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin oluşumuna engel olur. Böylece serbest oksijen radikallerinin hücre membranına zarar vermesi engellenmiş olur (5). Yapılan çalışmalarda TMZ'nin yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan ve pek çok istenmeyen etkileri bulunan nonlipidik maddelerin yıkımına yardımcı olduğu gösterilmiştir (6-8). Hidrojen iyonunun intraselüler birikimine engel olmak suretiyle intraselüler asidozu azalttığı da gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda dokuda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini azaltarak etkili olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda kobayda Na⁺-K⁺-ATP ase enzimini bloke etmek suretiyle etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca intraselüler ATP kaybına engel olmak suretiyle de etkili olur (4-6).

Özellikle kardiyoloji alanında yaygın kullanılan TMZ, antiiskemik ve antioksidan özellikleri nedeniyle farklı birçok alanda çalışmalar yapılan bir ajandır.

Akut hepatitin sorunsuz olarak atlatılabilmesi için arayışlar sürmektedir. Bu çalışmada, GAL ile oluşturulan bir deneysel hepatit modelinde TMZ'nin koruyucu etkinliği araştırıldı. Bu deneysel modelde TMZ'nin, antioksidan özellikleri, antiiskemik özellikleri ve apoptozu modüle etmesi nedeniyle başarılı olabileceği düşünüldü.

Bu çalışmada, sıçanlarda GAL ile uyarılan akut hepatitin, TMZ ön tedavisi ile önlenip önlenemeyeceğini değerlendirmek amacıyla biyokimyasal ve histolojik parametreler incelendi. Karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için, hücre içi enzimleri olan AST ve ALT aktivitelerinin ölçümünün yanı sıra karaciğer sentez fonksiyonunu gösteren PT-INR ölçümleri de yapıldı. Ek olarak TMZ'nin LDH üzerine olan etkisini değerlendirmek için LDH aktivitesi de bakıldı. Hepatit sürecinde meydana gelen oksidatif stres yükünü, inflamatuvar aktiviteyi ve antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için MDA, TNF- α ve TAC gibi parametreler çalışıldı. Buna karşın dokuda meydana gelen değişiklikleri değerlendirmek için de karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi.

Serumda lipid peroksidasyon ürünlerinde ve karaciğer enzimlerinde (AST, ALT) artış olması, tek doz intraperitoneal GAL uygulamasının (500 mg/kg vücut ağırlığı) hepatotoksisite oluşturduğunu gösterir (102). Shin ve ark.'nın yaptıkları çalışmada GAL ile oluşturulan hepatit modelinde serum AST ve ALT düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır (103). Bir başka çalışmada Sugiyama ve ark. benzer bulgular saptamışlardır (104). Benzer GAL modellerinde birçok çalışmada karaciğer fonksiyon testlerinde anlamlı derecede bozukluklar ve artışlar saptanmıştır (105-108). Bizim çalışmamızda da serum AST aktivitesi, Kontrol ve TMZ gruplarına göre 12. saatte sadece GAL grubunda, 18. ve 24. saatlerde hem GAL grubunda hem de TMZ+GAL grubunda anlamlı derecede yüksek saptandı. Benzer biçimde serum ALT aktivitesi de hem GAL grubunda hem de TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre 18. ve 24. saatlerde anlamlı derecede yüksek saptandı. Bu bulgular GAL uygulaması ile biyokimyasal olarak hepatit oluştuğunu göstermektedir. Serum AST ve ALT aktivitelerinde, TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre anlamlı derecede farklılık saptanmadı.

Serum LDH düzeylerinin artmış olması da GAL ile oluşturulan hepatotoksisite varlığını destekler (102). Dolayısıyla hem hepatite eşlik eden serum LDH aktivite artışının hem de bu artışa TMZ'nin olası etkisini değerlendirmek amacıyla LDH aktivitelerine bakıldı. Grupların ortalama değerlerine bakıldığında GAL grubunun ortalama LDH aktivitesinin, özellikle 18. saatte diğer gruplara oranla daha fazla olduğu saptanmasına karşın, bu artış istatistiksel olarak anlamlı farklılık düzeyinde saptanmadı.

Fulminan hepatit sürecinde tepe aminotransferaz aktiviteleri, prognozu yansıtma yetersiz kalıp, hastanın genel durumunun giderek bozulmasıyla birlikte daha düşük seviyelerde seyredebilir (109). Protrombin zamanı, prognozun en iyi belirteçidir; kontrole oranla PT üst sınırdan >4 sn'den fazla uzamışsa veya PT>20 s ise ya da INR>6,5 ise hastada yüksek ölüm riski mevcuttur (109-113). Cihan ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, GAL ile oluşturulan hepatit modelinde GAL grubunda kontrol grubuna göre PT sürelerinde uzama ve anlamlı farklılıklar saptanmıştır (114). Bizim çalışmamızda da plazma PT-INR ölçümleri hem GAL grubunda hem de TMZ+GAL grubunda, Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı. TMZ+GAL grubundaki plazma PT-INR ölçümleri GAL grubundakinden 24. saatte anlamlı derecede düşük saptandı.

Endojen lipidlerin peroksidasyonunun, GAL'in sitotoksik etkisinde major faktör olduğu gösterilmiştir (40). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA üretimi ile sonuçlanır. Malondialdehit LPO'nun derecesinin saptanmasında kullanılan bir belirteçtir. Lipid LOOH ve lipid ROO[·] radikalleri hücrenin birçok komponenti ile reaksiyona girerek toksik etkilerini gösterirler (68, 69). Malondialdehit membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olarak iç membranın bazı özelliklerini değiştirir. Ayrıca diffüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bağları ile reaksiyona girebilir. Malondialdehit bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (70). Hauet ve ark.'nın yaptıkları sıçan böbrek dokusunda reperfüzyon hasarı çalışmasında, izole doku muhafaza sıvısına TMZ uygulaması ile MDA düzeylerinde belirgin azalma saptanmıştır (115). Bir başka çalışmada da Süzer ve ark.'nın yaptıkları sıçanlarda kortikal FeCl₃ injeksiyonu ile oluşan hasar modelinde, i.p. TMZ uygulanan grupta doku MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta düşük saptamışlardır (116). Benzer birçok deneysel model çalışmalarında TMZ'nin MDA düzeylerini düşürdüğü ve lipid peroksidasyonunu azalttığı saptanmıştır (117-120). Bizim çalışmamızda da serum MDA düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı. Serum MDA düzeyi hem GAL grubunda hem de TMZ+GAL grubunda Kontrol ve TMZ gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı. TMZ+GAL grubundaki MDA düzeyi GAL grubundakinden 12., 18. ve 24. saatlerde anlamlı derecede düşük saptandı.

Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini TAC yansıtır. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlar yerine bunların toplam antioksidan değerini veren TAC ölçümü yaygınlaşmaktadır (74, 75). Yapılan birçok çalışmada GAL ile oluşturulan hepatit modellerinde, antioksidan parametreler genelde tek tek bakılmış ve düşük saptanmıştır (121-124). Kusano ve ark. çalışmalarında TAC ile değerlendirmenin daha uygun olduğunu ve daha iyi sonuçlar alındığı belirtmektedirler (125). Biz de çalışmamızda hepatit gelişim sürecinde antioksidan durumu ve TMZ'nin etkisini değerlendirmek için TAC ölçümü ile değerlendirme yaptık. Kontrol grubuna oranla TMZ grubunda 18. saat TAC düzeyi anlamlı yüksek saptanmasına karşın GAL ve TMZ+GAL grupları arasında anlamlı farklılık saptamadık. Dolayısıyla TMZ'nin antioksidan özelliğinin 18. saatte belirginleştiğini ancak bu etkinin koruyuculuk bakımından yeterli düzeyde olmadığını söyleyebiliriz.

Karaciğerde GAL'in, histopatolojik değişikliklere neden olduğu belirtilmektedir (34, 36). Yüksek dozlarda ve uzun süre GAL uygulanması histolojik olarak tanımlanabilen karaciğer hasarını şiddetlendirebilir. Sıçanlarda GAL panlobüler fokal hepatositonekroza, polimorfnükleer hücrelerin infiltrasyonuna ve ilaca bağlı hepatitte olduğu gibi makrofajların artmasına yol açar (1, 39). Cihan ve ark. domuzlarda GAL ile oluşturulan hepatit modelinde, histopatolojik olarak hepatit bulgularını saptamışlardır (114). Wilhelm ve ark. sıçanlarda GAL (500 mg/kg vücut ağırlığı) ile oluşturulan hepatit modelinde histopatolojik olarak masif hemoraji, inflamatuvar hücreler ve nekroz bulguları saptamışlardır (126). Bizim çalışmamızda ise GAL grubunda histopatolojik olarak belirgin hepatit bulguları saptanırken, TMZ+GAL grubunda ise hafif düzeyde hepatit bulguları saptandı. Hepatotoksisiteye bağlı hepatit ve hepatonekroz bulguları, GAL grubunda 6. saatten itibaren başlamasına karşın özellikle 18. (hepatit bulgularının en çok belirginleştiği zaman dilimi) ve 24. saatlerde belirginleşmektedir. Ayrıca GAL grubunda 18. saatte bir sıçanın ve 24. saatte yine bir sıçanın karaciğer dokusunda Zon III nekrozu saptanırken, bu hasarın TMZ+GAL grubunda saptanmaması da TMZ'nin nekrotizan hasarı hafiflettiğini ve koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

D-Galaktozamin ile yapılan hepatit modelinde belirgin oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt ortaya çıkmaktadır. Doza bağımlı olmakla birlikte GAL ile fulminan hepatit ve masif karaciğer nekrozu da yapılabilmektedir. Literatürdeki mevcut çalışmalarda genellikle GAL injeksiyonundan sonraki 24. saatte ya da 48. saatte incelemeler yapılmıştır. Biz çalışmamızda, 500 mg/kg dozunda GAL uygulamasıyla hepatit bulgularının 12. saatte başladığını, 18. saatte şiddetlendiğini ve 24. saatte de aktif devam ettiğini gözledik. Hem karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk oluşması hem de PT-INR değerlerinde uzama saptanması, histolojik hepatit bulgularına eşlik etti. D-Galaktozamin'in uyardığı hepatitte, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt bakımından TMZ uygulamasıyla MDA düzeylerinde anlamlı azalma saptanması nedeniyle koruyucu etki oluştuğu düşünüldü. Histopatolojik olarak da TMZ+GAL grubunda, GAL grubuna göre tüm inceleme süreçlerinde (6., 12., 18. ve 24. saatlerde) daha hafif düzeyde hepatit bulguları saptanmasından dolayı, TMZ uygulamasıyla koruyucu etki oluştuğu düşünüldü.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tek doz 500 mg/kg i.p. uygulanan GAL, sıçanların karaciğer dokusunda biyokimyasal ve histopatolojik olarak hepatosellüler hasara yol açmaktadır. GAL injeksiyonu, LPO'nun son ürünü ve oksidatif stresin iyi bir göstergesi olan MDA düzeylerini yükseltmektedir. Trimetazidin, GAL hepatitindeki MDA ve kısmen PT uzamasını önlemekte ve histolojik olarak koruyucu etki göstermektedir. Klinik uygulamaya yönelik daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

ÖZET

Sıçanlarda D-Galaktozamin İle Oluşturulan Hepatitte Trimetazidin'in Koruyucu Etkisi

Bu çalışmada, sıçanlarda D-Galaktozamin (GAL) ile oluşturulan karaciğer hepatotoksisitesinde Trimetazidin'in (TMZ) koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya toplam 80 dişi Wistar-albino sıçan alındı ve her grupta 20 sıçan olacak şekilde 4 ana gruba ayrıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik i.p. yolla uygulandı. TMZ grubuna i.p. TMZ 5 mg/kg dozunda uygulandı. GAL grubuna i.p. GAL 500 mg/kg dozunda uygulandı. TMZ+GAL grubuna ise TMZ 5 mg/kg i.p. uygulandıktan 1 saat sonra GAL 500 mg/kg i.p. uygulandı. Her gruptan sıçanlara, 5'erli alt gruplar halinde 6'şar saat ara ile laparotomi yapıldı; kanları alındı ve karaciğerleri çıkarıldı. Karaciğer dokuları histolojik olarak değerlendirildi. Serumda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAC) düzeyleri ölçüldü. Ayrıca inferior vena cava'dan alınan kan örneklerinden elde edilen serumda AST, ALT, LDH ve plazmada PT-INR çalışıldı.

Çalışmada 500 mg/kg dozunda i.p. olarak verilen GAL ile tüm sıçanlarda histolojik ve biyokimyasal olarak akut karaciğer hasarı gözlemlendi. Akut karaciğer hasarının biyokimyasal parametreleri, serum MDA düzeyleri GAL grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. MDA düzeyleri TMZ+GAL grubunda GAL grubuna göre anlamlı derecede daha düşük saptandı. PT-INR düzeyleri GAL grubunda TMZ+GAL grubuna göre 24. saatte daha yüksek saptandı. Serum TAC düzeyi sadece 18. saatte, TMZ grubunda Kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Histolojik olarak GAL grubunun hasarlanma skorları, TMZ+GAL grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı.

D-Galaktozamin ile oluşturulan hepatit modelinde, daha önceki çalışmalarda antioksidan ve antiiskemik özellikleri bildirilen TMZ'nin, biyokimyasal parametreleri iyileştirdiği ve histolojik düzeyde de koruyucu etkisinin olduğu görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan, D-Galaktozamin (GAL), Hepatotoksisite, Oksidatif stres, Trimetazidin (TMZ)

SUMMARY

The Protective Effect of Trimetazidine On D-Galactosamine Induced Hepatitis In Rats

The aim of this study was to investigate the protective effect of trimetazidine (TMZ) on D-galactosamine (GAL) induced hepatotoxicity.

Eighty female Wistar rats were randomly divided into four groups. All 4 groups contained 20 rats in each group. Saline was administered to Control group intraperitoneally (i.p.) and TMZ was administered to TMZ group 5 mg/kg i.p. and GAL was administered to GAL group 500 mg/kg i.p. and TMZ was administered to TMZ+GAL group 5 mg/kg i.p. then one hour later GAL was administered to TMZ+GAL group 500 mg/kg i.p.. Laparotomy was performed with 6 hour intervals to all groups by subgroups which have 5 rats in each subgroup and then blood samples and liver samples were taken. Liver tissue samples were histologically evaluated. Malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) levels were measured in serum. AST, ALT and LDH activities were analyzed in serum and PT-INR in plasma which obtained from vena cava inferior.

Dose of 500 mg/kg i.p. GAL caused acute hepatic damage histologically and biochemically in all rats. Biochemical parameters of acute hepatic damage, MDA levels of serum were significantly increased in GAL group. MDA levels were found significantly more lower in TMZ+GAL group than GAL group. PT-INR levels were significantly higher in GAL group than TMZ+GAL group at the 24th. hour. TAC levels were higher at the 18th. hour only in the TMZ group than Control group. Histologically, injury scores were significantly higher in GAL group than TMZ+GAL group.

It was shown that an antioxidant and antiischemic agent TMZ has protective effects both according to biochemical markers and histological parameters on GAL induced hepatitis.

Key Words: Antioxidant, D-Galactosamine (GAL), Hepatotoxicity, Oxidative stress, Trimetazidine (TMZ)

KAYNAKLAR

1. Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol*. 1968 Oct;9(2):279-90.
2. Newsome PN, Plevris JN, Nelson LJ, Hayes PC. Animal models of fulminant hepatic failure: a critical evaluation. *Liver Transpl*. 2000 Jan;6(1):21-31.
3. Sakaguchi S, Yokota K. Role of Ca²⁺ on endotoxin-sensitivity by galactosamine challenge: lipid peroxide formation and hepatotoxicity in zymosan-primed mice. *Pharmacol Toxicol*. 1995 Aug;77(2):81-6.
4. Renaud JF. Internal pH, Na⁺, and Ca²⁺ regulation by trimetazidine during cardiac cell acidosis. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1988 Mar;1(6):677-86.
5. Maridonneau-Parini I, Harpey C. Effect of trimetazidine on membrane damage induced by oxygen free radicals in human red cells. *Br J Clin Pharmacol*. 1985 Aug;20(2):148-51.
6. Kiyosue T, Nakamura S, Arita M. Effects of trimetazidine on action potentials and membrane currents of guinea-pig ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 1986 Dec;18(12):1301-11.
7. Demaison L, Fantini E, Sentex E, Grynberg A, Athias P. Trimetazidine: in vitro influence on heart mitochondrial function. *Am J Cardiol*. 1995 Aug 24;76(6):31B-7B.
8. Devynck MA, Le Quan Sang KH, Joulin Y, Mazeaud M. Acute membrane effects of trimetazidine in human platelets. *Eur J Pharmacol*. 1993 Apr 15;245(2):105-10.
9. O'Grady JG, Schalm SW, Williams R. Acute liver failure: redefining the syndromes. *Lancet*. 1993 Jul 31;342(8866):273-5.
10. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med*. 2002 Dec 17;137(12):947-54.
11. Mas A, Rodes J. Fulminant hepatic failure. *Lancet*. 1997 Apr 12;349(9058):1081-5.
12. Rakela J, Lange SM, Ludwig J, Baldus WP. Fulminant hepatitis: Mayo Clinic experience with 34 cases. *Mayo Clin Proc*. 1985 May;60(5):289-92.
13. Bernal W. Changing patterns of causation and the use of transplantation in the United Kingdom. *Semin Liver Dis*. 2003 Aug;23(3):227-37.
14. O'Grady JG. Acute liver failure. *Postgrad Med J*. 2005 Mar;81(953):148-54.

15. Hoofnagle J.H. LKL. Toxic and Drug-induced Liver Disease. 22 nd Edition ed. Lee Goldman DA, editor2004.
16. Nathan M. Bass M, PhD. İlaça Bağlı Karaciğer Hastalığı. Dr. Nur Arslan DBB, editor2007.
17. Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):39-47.
18. Kaplowitz N. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis.* 2002;22(2):137-44.
19. Fortes Aiub CA, Bortolini R, Arrieira Azambuja A, Alves Filho JC, Bordignon Nunes F, Rodrigues de Oliveira J. Alterations in the indexes of apoptosis and necrosis induced by galactosamine in the liver of Wistar rats treated with fructose-1,6-bisphosphate. *Hepatol Res.* 2003 Jan;25(1):83-91.
20. Sun F, Hayami S, Ogiri Y, Haruna S, Tanaka K, Yamada Y, et al. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim Biophys Acta.* 2000 Feb 21;1500(2):181-5.
21. Higuchi M, Honda T, Proske RJ, Yeh ET. Regulation of reactive oxygen species-induced apoptosis and necrosis by caspase 3-like proteases. *Oncogene.* 1998 Nov 26;17(21):2753-60.
22. Ikeda K, Kajiwara K, Tanabe E, Tokumaru S, Kishida E, Masuzawa Y, et al. Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in chemically induced apoptosis of HL-60 cells. *Biochem Pharmacol.* 1999 Jun 15;57(12):1361-5.
23. Okamoto T, Kawasaki T, Hino O. Osthole prevents anti-Fas antibody-induced hepatitis in mice by affecting the caspase-3-mediated apoptotic pathway. *Biochem Pharmacol.* 2003 Feb 15;65(4):677-81.
24. Bradham CA, Qian T, Streetz K, Trautwein C, Brenner DA, Lemasters JJ. The mitochondrial permeability transition is required for tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis and cytochrome c release. *Mol Cell Biol.* 1998 Nov;18(11):6353-64.
25. Jaeschke H, Farhood A, Cai SX, Tseng BY, Bajt ML. Protection against TNF-induced liver parenchymal cell apoptosis during endotoxemia by a novel caspase inhibitor in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000 Nov 15;169(1):77-83.
26. Ledda-Columbano GM, Coni P, Faa G, Manenti G, Columbano A. Rapid induction of apoptosis in rat liver by cycloheximide. *Am J Pathol.* 1992 Mar;140(3):545-9.
27. Higami Y, Tanaka K, Tsuchiya T, Shimokawa I. Intravenous injection of cycloheximide induces apoptosis and up-regulates p53 and Fas receptor expression in the rat liver in vivo. *Mutat Res.* 2000 Dec 20;457(1-2):105-11.

28. Josephs MD, Bahjat FR, Fukuzuka K, Ksontini R, Solorzano CC, Edwards CK, 3rd, et al. Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF-alpha and not by Fas ligand. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000 May;278(5):R1196-201.
29. Sugimoto Y, Tarumi T, Kaneko Y, Isayama S, Kawai N, Sugimoto H, et al. Effect of propolis extract on D-galactosamine-induced hepatic injury in rats. *Biol Pharm Bull*. 1999 Nov;22(11):1237-9.
30. Gujral JS, Farhood A, Jaeschke H. Oncotic necrosis and caspase-dependent apoptosis during galactosamine-induced liver injury in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003 Jul 1;190(1):37-46.
31. Kato O, Fukuda Y, Hayakawa T, Izuta S, Yoshida S. Serum DNA polymerase beta as an indicator for fatal liver injury of rat induced by D-galactosamine hydrochloride and lipopolysaccharide. *Biochim Biophys Acta*. 1998 May 8;1380(3):369-76.
32. Cheng CC, Etoh J, Tanimura T, Egashira Y, Ohta T, Sanada H. Effects of dietary gluten on the hepatotoxic action of galactosamine and/or endotoxin in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1996 Mar;60(3):439-43.
33. Van Molle W, Libert C. Bilirubin release induced by tumor necrosis factor in combination with galactosamine is toxic to mice. *Cytokine*. 2003 Aug 7;23(3):94-100.
34. Tran-Thi TA, Phillips J, Falk H, Decker K. Toxicity of D-galactosamine for rat hepatocytes in monolayer culture. *Exp Mol Pathol*. 1985 Feb;42(1):89-116.
35. Sun F, Hamagawa E, Tsutsui C, Sakaguchi N, Kakuta Y, Tokumaru S, et al. Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by D-galactosamine in rat liver. *Biochem Pharmacol*. 2003 Jan 1;65(1):101-7.
36. Tsutsui S, Hirasawa K, Takeda M, Itagaki S, Kawamura S, Maeda K, et al. Galactosamine-induced apoptosis in the primary mouse hepatocyte cultures. *Exp Toxicol Pathol*. 1997 Aug;49(3-4):301-6.
37. Siendones E, Fouad D, Abou-Elella AM, Quintero A, Barrera P, Muntane J. Role of nitric oxide in D-galactosamine-induced cell death and its protection by PGE1 in cultured hepatocytes. *Nitric Oxide*. 2003 Mar;8(2):133-43.
38. Tsutsui S, Itagaki S, Kawamura S, Harada K, Karaki H, Doi K, et al. D-galactosamine induced hepatocyte apoptosis is inhibited in vivo and in cell culture by a calcium calmodulin antagonist, chlorpromazine, and a calcium channel blocker, verapamil. *Exp Anim*. 2003 Jan;52(1):43-52.
39. Jonker AM, Dijkhuis FW, Kroese FG, Hardonk MJ, Grond J. Immunopathology of acute galactosamine hepatitis in rats. *Hepatology*. 1990 Apr;11(4):622-7.

40. HJ. Z. Hepatotoxicity: The Adverse Effects of Drugs and Other Chemicals on the Liver. Appleton-Century-Crofts; New York 1978.
41. Decker K, Keppler D. Galactosamine hepatitis: key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1974(71):77-106.
42. Decker K, Keppler D. Galactosamine induced liver injury. *Prog Liver Dis.* 1972;4:183-99.
43. Ledda-Columbano GM, Coni P, Curto M, Giacomini L, Faa G, Oliverio S, et al. Induction of two different modes of cell death, apoptosis and necrosis, in rat liver after a single dose of thioacetamide. *Am J Pathol.* 1991 Nov;139(5):1099-109.
44. Pritchard DJ, Butler WH. Apoptosis--the mechanism of cell death in dimethylnitrosamine-induced hepatotoxicity. *J Pathol.* 1989 Jul;158(3):253-60.
45. Kasravi FB, Wang L, Wang XD, Molin G, Bengmark S, Jeppsson B. Bacterial translocation in acute liver injury induced by D-galactosamine. *Hepatology.* 1996 Jan;23(1):97-103.
46. Stachlewitz RF, Seabra V, Bradford B, Bradham CA, Rusyn I, Germolec D, et al. Glycine and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells. *Hepatology.* 1999 Mar;29(3):737-45.
47. Matthews N, Neale ML, Jackson SK, Stark JM. Tumour cell killing by tumour necrosis factor: inhibition by anaerobic conditions, free-radical scavengers and inhibitors of arachidonate metabolism. *Immunology.* 1987 Sep;62(1):153-5.
48. Simeonova PP, Gallucci RM, Hulderman T, Wilson R, Kommineni C, Rao M, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in liver toxicity, inflammation, and fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001 Dec 1;177(2):112-20.
49. Stadler J, Bentz BG, Harbrecht BG, Di Silvio M, Curran RD, Billiar TR, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibits hepatocyte mitochondrial respiration. *Ann Surg.* 1992 Nov;216(5):539-46.
50. Bradham CA, Plumpe J, Manns MP, Brenner DA, Trautwein C. Mechanisms of hepatic toxicity. I. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol.* 1998 Sep;275(3 Pt 1):G387-92.
51. Leist M, Gantner F, Bohlinger I, Tiegs G, Germann PG, Wendel A. Tumor necrosis factor-induced hepatocyte apoptosis precedes liver failure in experimental murine shock models. *Am J Pathol.* 1995 May;146(5):1220-34.
52. Leist M, Gantner F, Naumann H, Bluethmann H, Vogt K, Brigelius-Flohe R, et al. Tumor necrosis factor-induced apoptosis during the poisoning of mice with hepatotoxins. *Gastroenterology.* 1997 Mar;112(3):923-34.

53. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem.* 1990 Sep 11;192(2):245-61.
54. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993 Jul;49(3):481-93.
55. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993 Oct;26(5):351-7.
56. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991 Sep 30;91(3C):14S-22S.
57. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengesini etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim.* 1998;11:336-41.
58. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1987 Jun;79(6):990-7.
59. Williams AT, Burk RF. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. *Semin Liver Dis.* 1990 Nov;10(4):279-84.
60. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm.* 1994 Sep;NS34(9):26-35.
61. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995. p. 3-95.
62. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci.* 1997;60(25):2255-71.
63. Kılınç K. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002;33:110-8.
64. Das DK, Maulik N. Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury. *Methods Enzymol.* 1994;233:601-10.
65. Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischaemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. *J Pharm Pharmacol.* 1994 Jun;46(6):519-20.
66. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 1984 Aug 15;222(1):1-15.
67. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci.* 1991;48(4):301-9.
68. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982 Nov;47(5):412-26.

69. Baydas G, Yilmaz O, Celik S, Yasar A, Gursu MF. Effects of certain micronutrients and melatonin on plasma lipid, lipid peroxidation, and homocysteine levels in rats. *Arch Med Res*. 2002 Nov-Dec;33(6):515-9.
70. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*. 1997 Sep;46 Suppl 2:S14-8.
71. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*. 1998;11:342-46.
72. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi*. 1986;11:59-76.
73. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem*. 2002 Feb;2(2):153-65.
74. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*. 2000 Dec;29(11):1106-14.
75. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004 Feb;37(2):112-9.
76. Kalai T, Khan M, Balog M, Kutala VK, Kuppusamy P, Hideg K. Structure-activity studies on the protection of Trimetazidine derivatives modified with nitroxides and their precursors from myocardial ischemia-reperfusion injury. *Bioorg Med Chem*. 2006 Aug 15;14(16):5510-6.
77. Reymond F, Steyaert G, Carrupt PA, Morin D, Tillement JP, Girault HH, et al. The pH-partition profile of the anti-ischemic drug trimetazidine may explain its reduction of intracellular acidosis. *Pharm Res*. 1999 May;16(5):616-24.
78. Kantor PF, Lucien A, Kozak R, Lopaschuk GD. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res*. 2000 Mar 17;86(5):580-8.
79. Aussedat J, Ray A, Kay L, Verdys M, Harpey C, Rossi A. Improvement of long-term preservation of isolated arrested rat heart: beneficial effect of the antiischemic agent trimetazidine. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1993 Jan;21(1):128-35.
80. Perletti G, Monti E, Paracchini L, Piccinini F. Effect of trimetazidine on early and delayed doxorubicin myocardial toxicity. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1989 Nov-Dec;302:280-9.
81. Catroux P, Cambar J, Benchekroun N, Robert J, Clauser P, Harpey C. Antilipoperoxydant effect of trimetazidine in post ischaemic acute renal failure in the rat. *Adv Exp Med Biol*. 1990;264:383-8.
82. İşler M. Sıçanlarda etanolle geliştirilen mide mukozal lezyonları üzerine trimetazidinin koruyucu etkisi. *T Klin Gastroenterohepatol*. 1995;6:1-4.

83. Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, Gregor J, Tichy M, Andrys C, et al. The effect of trimetazidine on C-reactive protein, cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2001;44(4):135-40.
84. Nowak P, Zagzil T, Konecki J, Szczerbak G, Szkilnik R, Niwinski J, et al. Trimetazidine increases [³H]glucose uptake in rat brain. *Pharmacol Rep*. 2006 Jul-Aug;58(4):559-61.
85. Cano C, Bermudez VJ, Medina MT, Bermudez FA, Ambard MJ, Souki AJ, et al. Trimetazidine diminishes fasting glucose in rats with fasting hyperglycemia: a preliminary study. *Am J Ther*. 2003 Nov-Dec;10(6):444-6.
86. Tritto I, Wang P, Kuppusamy P, Giraldez R, Zweier JL, Ambrosio G. The anti-anginal drug trimetazidine reduces neutrophil-mediated cardiac reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005 Jul;46(1):89-98.
87. Basile DP, Donohoe DL, Roethe K, Mattson DL. Chronic renal hypoxia after acute ischemic injury: effects of L-arginine on hypoxia and secondary damage. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003 Feb;284(2):F338-48.
88. Dabeva MD, Shafritz DA. Activation, proliferation, and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regeneration. *Am J Pathol*. 1993 Dec;143(6):1606-20.
89. Feng B, Wu S, Lv S, Liu F, Chen H, Yan X, et al. Metabolic profiling analysis of a D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced mouse model of fulminant hepatic failure. *J Proteome Res*. 2007 Jun;6(6):2161-7.
90. Elimadi A, Settaf A, Morin D, Sapena R, Lamchouri F, Cherrah Y, et al. Trimetazidine counteracts the hepatic injury associated with ischemia-reperfusion by preserving mitochondrial function. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998 Jul;286(1):23-8.
91. Satyanarayana PS, Chopra K. Oxidative stress-mediated renal dysfunction by cyclosporine A in rats: attenuation by trimetazidine. *Ren Fail*. 2002 May;24(3):259-74.
92. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem*. 1998 Jun;44(6 Pt 1):1309-15.
93. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995 Jun;22(6):696-9.
94. Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut*. 2005 Jul;54(7):1024-33.
95. Slatter JG, Rashed MS, Pearson PG, Han DH, Baillie TA. Biotransformation of methyl isocyanate in the rat. Evidence for glutathione conjugation as a major pathway of metabolism and implications for isocyanate-mediated toxicities. *Chem Res Toxicol*. 1991 Mar-Apr;4(2):157-61.

96. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*. 1987 Dec;1(6):441-5.
97. Mayer MP, Prestwich GD, Dolence JM, Bond PD, Wu HY, Poulter CD. Protein farnesyltransferase: production in *Escherichia coli* and immunoaffinity purification of the heterodimer from *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*. 1993 Sep 30;132(1):41-7.
98. Bruck R, Aeed H, Shirin H, Matas Z, Zaidel L, Avni Y, et al. The hydroxyl radical scavengers dimethylsulfoxide and dimethylthiourea protect rats against thioacetamide-induced fulminant hepatic failure. *J Hepatol*. 1999 Jul;31(1):27-38.
99. Bruck R, Aeed H, Schey R, Matas Z, Reifen R, Zaiger G, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate protects against thioacetamide-induced fulminant hepatic failure in rats. *J Hepatol*. 2002 Mar;36(3):370-7.
100. Bruck R, Aeed H, Avni Y, Shirin H, Matas Z, Shahmurov M, et al. Melatonin inhibits nuclear factor kappa B activation and oxidative stress and protects against thioacetamide induced liver damage in rats. *J Hepatol*. 2004 Jan;40(1):86-93.
101. Shapiro H, Ashkenazi M, Weizman N, Shahmurov M, Aeed H, Bruck R. Curcumin ameliorates acute thioacetamide-induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006 Feb;21(2):358-66.
102. Shanmugarajan TS, Sivaraman D, Somasundaram I, Arunsundar M, Krishnakumar E, Balaji R, et al. Influence of alpha lipoic acid on antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatic injury. *Toxicol Ind Health*. 2008 Nov;24(10):635-42.
103. Shin R, Suzuki M, Mizutani T, Susa N. Improvement of Experimentally Induced Hepatic and Renal Disorders in Rats using Lactic Acid Bacteria-fermented Soybean Extract (Biofermentics™). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2009 Sep;6(3):357-63.
104. Sugiyama K, He P, Wada S, Saeki S. Teas and other beverages suppress D-galactosamine-induced liver injury in rats. *J Nutr*. 1999 Jul;129(7):1361-7.
105. Yokoyama T, Banta S, Berthiaume F, Nagrath D, Tompkins RG, Yarmush ML. Evolution of intrahepatic carbon, nitrogen, and energy metabolism in a D-galactosamine-induced rat liver failure model. *Metab Eng*. 2005 Mar;7(2):88-103.
106. Takenaka A, Kita A, Ikeya M, Arai H, Igarashi K. Galactosamine-induced acute liver injury in rats reduces hepatic alpha-tocopherol transfer protein production. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2007 Aug;53(4):366-71.
107. Ferencikova R, Cervinkova Z, Drahotka Z. Hepatotoxic effect of D-galactosamine and protective role of lipid emulsion. *Physiol Res*. 2003;52(1):73-8.
108. Liu LM, Luo J, Zhang JX, Deng H, Sun SL, Xiong GF. [Role of hepatocellular apoptosis and mechanisms of liver injury in lipopolysaccharide-induced acute liver

failure in D-galactosamine-sensitized rats]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2006 Aug 15;86(30):2122-6.

109. Tygstrup N, Ranek L. Assessment of prognosis in fulminant hepatic failure. *Semin Liver Dis*. 1986 May;6(2):129-37.

110. Dymock IW, Tucker JS, Woolf IL, Poller L, Thomson JM. Coagulation studies as a prognostic index in acute liver failure. *Br J Haematol*. 1975 Mar;29(3):385-95.

111. Horak W, Waldram R, Murray-Lyon IM, Schuster E, Williams R. Kinetics of [14C]cholic acid in fulminant hepatic failure: a prognostic test. *Gastroenterology*. 1976 Nov;71(5):809-13.

112. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*. 1989 Aug;97(2):439-45.

113. Munoz SJ. Prothrombin time in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*. 1991 May;100(5 Pt 1):1480-1.

114. Cihan A, Yilmaz E, Yenidunya S, Ucan BH. Medical haemostasis in acute hepatocyte injury and experimental liver trauma. *ANZ J Surg*. 2005 Apr;75(4):239-43.

115. Hauet T, Bauza G, Goujon JM, Caritez JC, Carretier M, Eugene M, et al. Effects of trimetazidine on lipid peroxidation and phosphorus metabolites during cold storage and reperfusion of isolated perfused rat kidneys. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998 Jun;285(3):1061-7.

116. Suzer T, Coskun E, Demir S, Tahta K. Lipid peroxidation and glutathione levels after cortical injection of ferric chloride in rats: effect of trimetazidine and deferoxamine. *Res Exp Med (Berl)*. 2000 Feb;199(4):223-9.

117. Meng D, Feng L, Chen XJ, Yang D, Zhang JN. Trimetazidine improved Ca²⁺ handling in isoprenaline-mediated myocardial injury of rats. *Exp Physiol*. 2006 May;91(3):591-601.

118. Pekcetin C, Ergur BU, Kiray M, Bagriyanik A, Tugyan K, Erbil G, et al. The protective effects of trimetazidine on testicular ischemia and reperfusion injury in rats. *Pediatr Surg Int*. 2007 Nov;23(11):1113-8.

119. Serarslan Y, Bal R, Altug ME, Kontas T, Keles ON, Unal D, et al. Effects of trimetazidine on crush injury of the sciatic nerve in rats: a biochemical and stereological study. *Brain Res*. 2009 Jan 9;1247:11-20.

120. Lim HK, Kim HS, Choi HS, Oh S, Jang CG, Choi J, et al. Effects of acetylberginin against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmacol Res*. 2000 Nov;42(5):471-4.

121. Manna P, Sinha M, Sil PC. Galactosamine-induced hepatotoxic effect and hepatoprotective role of a protein isolated from the herb *Cajanus indicus* L in vivo. *J Biochem Mol Toxicol*. 2007;21(1):13-23.
122. Sreepriya M, Devaki T, Balakrishna K, Apparathanam T. Effect of *Indigofera tinctoria* Linn on liver antioxidant defense system during D-galactosamine/endotoxin-induced acute hepatitis in rodents. *Indian J Exp Biol*. 2001 Feb;39(2):181-4.
123. Korda MM. [Protective effect of cressacin in D-galactosamine-induced acute experimental hepatitis]. *Ukr Biokhim Zh*. 1998 Jan-Feb;70(1):63-8.
124. El-Beshbishy HA. Aqueous garlic extract attenuates hepatitis and oxidative stress induced by galactosamine/lipopolysaccharide in rats. *Phytother Res*. 2008 Oct;22(10):1372-9.
125. Kusano C, Ferrari B. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of Cell and Molecular Biology*. [Review]. 2008 08 July 2008;7(1):1-15.
126. Wilhelm EA, Jesse CR, Roman SS, Nogueira CW, Savegnago L. Hepatoprotective effect of 3-alkynyl selenophene on acute liver injury induced by D-galactosamine and lipopolysaccharide. *Exp Mol Pathol*. 2009 Aug;87(1):20-6.

EKLER
ÇALIŞMA SONUÇLARI

NO	GRUP	ALTGRUP	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	PT (s)	INR	MDA (µmol/ml)	TAC (µmol/L)	PATOLOJİ Skor
01	Kontrol	Kontrol-6	139	38	1323	10,8	0,9	1,141	0,989	0
02	Kontrol	Kontrol-6	125	38	1435	10,4	0,9	0,682	0,968	0
03	Kontrol	Kontrol-6	117	59	1305	10,3	0,9	1,151	0,973	0
04	Kontrol	Kontrol-6	139	56	1457	9,7	0,8	0,988	0,971	0
05	Kontrol	Kontrol-6	90	59	314	10,1	0,8	0,988	0,986	1
06	Kontrol	Kontrol-12	123	72	376	10,3	0,9	1,111	0,940	0
07	Kontrol	Kontrol-12	142	55	1309	10,0	0,8	0,897	0,911	0
08	Kontrol	Kontrol-12	152	70	1191	9,8	0,8	1,314	0,955	0
09	Kontrol	Kontrol-12	118	60	646	10,6	0,9	0,754	0,926	0
10	Kontrol	Kontrol-12	122	49	846	10,2	0,9	1,213	0,976	0
11	Kontrol	Kontrol-18	114	70	401	10,3	0,9	1,192	0,894	0
12	Kontrol	Kontrol-18	127	50	1312	9,2	0,8	1,406	0,946	0
13	Kontrol	Kontrol-18	133	55	626	9,8	0,8	0,601	0,974	0
14	Kontrol	Kontrol-18	119	78	625	10,1	0,8	0,682	0,904	0
15	Kontrol	Kontrol-18	122	77	502	10,9	0,9	0,988	0,867	0
16	Kontrol	Kontrol-24	98	46	1035	11,1	0,9	1,029	0,933	0
17	Kontrol	Kontrol-24	90	48	726	10,2	0,9	1,080	0,965	0
18	Kontrol	Kontrol-24	91	32	750	10,3	0,9	0,866	0,825	0

NO	GRUP	ALTGRUP	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	PT (s)	INR	MDA (µmol/ml)	TAC (µmol/L)	PATOLOJİ Skor
19	Kontrol	Kontrol-24	76	46	658	9,7	0,8	1,314	0,965	1
20	Kontrol	Kontrol-24	99	49	1077	10,0	0,8	0,958	0,931	2
21	TMZ	TMZ-6	198	73	1432	9,6	0,8	0,927	1,011	0
22	TMZ	TMZ-6	103	46	700	10,6	0,9	1,019	0,948	0
23	TMZ	TMZ-6	83	37	478	10,0	0,8	0,560	0,964	0
24	TMZ	TMZ-6	143	62	990	10,3	0,9	0,815	0,918	0
25	TMZ	TMZ-6	111	43	1304	11,6	1,0	0,948	0,971	0
26	TMZ	TMZ-12	117	61	488	10,4	0,9	1,692	0,937	0
27	TMZ	TMZ-12	129	41	1334	10,3	0,9	1,478	0,954	0
28	TMZ	TMZ-12	119	61	1079	10,2	0,9	1,447	0,942	0
29	TMZ	TMZ-12	101	54	521	10,3	0,9	1,009	0,912	0
30	TMZ	TMZ-12	134	52	1479	9,7	0,8	1,671	1,001	0
31	TMZ	TMZ-18	71	52	314	11,8	1,0	2,089	0,949	0
32	TMZ	TMZ-18	162	44	2035	10,7	0,9	1,039	0,945	0
33	TMZ	TMZ-18	119	57	1120	10,6	0,9	1,049	0,988	0
34	TMZ	TMZ-18	122	69	496	8,1	0,7	1,885	1,030	0
35	TMZ	TMZ-18	109	48	588	9,6	0,8	0,815	0,976	0
36	TMZ	TMZ-24	84	46	598	10,4	0,9	0,825	0,943	0
37	TMZ	TMZ-24	97	46	872	10,3	0,9	0,835	0,987	0
38	TMZ	TMZ-24	75	52	427	11,1	0,9	0,682	0,970	0
39	TMZ	TMZ-24	87	48	745	10,2	0,9	0,540	0,969	0

NO	GRUP	ALTGRUP	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	PT (s)	INR	MDA (µmol/ml)	TAC (µmol/L)	PATOLOJİ Skor
40	TMZ	TMZ-24	109	57	1220	9,7	0,8	0,968	0,926	0
41	GAL	GAL-6	183	107	824	14,5	1,2	2,405	0,993	1
42	GAL	GAL-6	264	189	1986	14,4	1,2	1,936	0,982	2
43	GAL	GAL-6	329	214	1487	14,3	1,2	2,874	1,032	3
44	GAL	GAL-6	168	76	801	13,5	1,2	3,261	0,902	1
45	GAL	GAL-6	186	93	1428	11,8	1,0	3,047	0,912	1
46	GAL	GAL-12	264	117	1442	25,3	2,3	2,905	0,921	6
47	GAL	GAL-12	256	188	537	17,7	1,5	2,680	0,931	7
48	GAL	GAL-12	276	186	1179	23,7	2,1	3,272	0,922	4
49	GAL	GAL-12	972	1030	1087	35,6	3,3	3,893	0,863	10
50	GAL	GAL-12	397	327	630	28,8	2,6	2,935	0,807	8
51	GAL	GAL-18	623	554	966	23,4	2,1	2,181	0,928	11
52	GAL	GAL-18	1155	1252	1991	25,1	2,2	2,895	0,975	6
53	GAL	GAL-18	496	622	975	25,0	2,2	2,874	1,004	10
54	GAL	GAL-18	1013	895	950	32,6	3,0	2,303	0,947	14
55	GAL	GAL-18	310	192	1429	19,4	1,7	2,385	0,964	8
56	GAL	GAL-24	318	308	1882	27,0	2,4	2,935	1,000	10
57	GAL	GAL-24	613	796	881	27,7	2,5	2,110	0,962	12
58	GAL	GAL-24	661	765	743	39,2	3,6	2,313	1,004	12
59	GAL	GAL-24	438	485	553	26,2	2,3	2,181	0,896	6
60	GAL	GAL-24	905	957	653	29,4	2,7	2,833	0,990	12

NO	GRUP	ALTGRUP	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	PT (s)	INR	MDA (µmol/ml)	TAC (µmol/L)	PATOLOJİ Skor
61	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	145	75	869	16,9	1,5	1,926	0,964	0
62	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	224	184	730	14,7	1,3	2,089	0,937	0
63	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	229	110	1279	14,6	1,3	2,201	0,949	0
64	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	488	394	1143	15,2	1,4	2,344	0,951	1
65	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	240	126	1757	15,8	1,4	2,252	0,941	0
66	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	243	115	1354	19,0	1,7	2,528	0,994	3
67	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	198	103	1150	26,8	2,4	1,875	0,904	1
68	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	87	52	534	11,0	0,9	2,191	0,932	0
69	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	191	138	739	24,6	2,2	1,702	0,954	1
70	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	166	89	905	21,7	1,9	2,089	0,911	1
71	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	1086	1062	1352	23,1	2,1	1,671	0,964	6
72	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	756	543	1040	23,6	2,1	1,834	0,940	8
73	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	444	402	672	25,4	2,3	1,131	0,990	5
74	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	370	327	560	24,6	2,2	1,274	0,957	3
75	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	591	869	571	17,9	1,6	1,039	0,946	2
76	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	342	183	526	20,2	1,8	0,550	0,987	3
77	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	753	544	752	17,9	1,6	0,917	1,025	3
78	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	359	253	858	33,4	3,0	1,406	0,988	4
79	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	651	672	553	17,1	1,5	0,958	0,938	3
80	TMZ-GAL	TMZ+GAL-24	1183	1573	785	19,7	1,8	1,141	0,915	2

HİSTOPATOLOJİ SONUÇLARI

NO	GRUP	ALTGRUP	Periportal veya periseptal interface hepatit	Birleşen nekroz	Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Portal inflamasyon	Toplam Skor	Diğer
01	Kontrol	Kontrol-6	0	0	0	0	0	-
02	Kontrol	Kontrol-6	0	0	0	0	0	-
03	Kontrol	Kontrol-6	0	0	0	0	0	-
04	Kontrol	Kontrol-6	0	0	0	0	0	-
05	Kontrol	Kontrol-6	0	0	1	0	1	-
06	Kontrol	Kontrol-12	0	0	0	0	0	-
07	Kontrol	Kontrol-12	0	0	0	0	0	-
08	Kontrol	Kontrol-12	0	0	0	0	0	-
09	Kontrol	Kontrol-12	0	0	0	0	0	-
10	Kontrol	Kontrol-12	0	0	0	0	0	-
11	Kontrol	Kontrol-18	0	0	0	0	0	-
12	Kontrol	Kontrol-18	0	0	0	0	0	-
13	Kontrol	Kontrol-18	0	0	0	0	0	-
14	Kontrol	Kontrol-18	0	0	0	0	0	-
15	Kontrol	Kontrol-18	0	0	0	0	0	-
16	Kontrol	Kontrol-24	0	0	0	0	0	-
17	Kontrol	Kontrol-24	0	0	0	0	0	-
18	Kontrol	Kontrol-24	0	0	0	0	0	-

NO	GRUP	ALTGRUP	Periportal veya periseptal interface hepatit	Birleşen nekroz	Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Portal inflamasyon	Toplam Skor	Diğer
19	Kontrol	Kontrol-24	0	0	0	1	1	-
20	Kontrol	Kontrol-24	0	2	0	0	2	Hafif steatoz
21	TMZ	TMZ-6	0	0	0	0	0	-
22	TMZ	TMZ-6	0	0	0	0	0	-
23	TMZ	TMZ-6	0	0	0	0	0	-
24	TMZ	TMZ-6	0	0	0	0	0	-
25	TMZ	TMZ-6	0	0	0	0	0	-
26	TMZ	TMZ-12	0	0	0	0	0	-
27	TMZ	TMZ-12	0	0	0	0	0	-
28	TMZ	TMZ-12	0	0	0	0	0	-
29	TMZ	TMZ-12	0	0	0	0	0	-
30	TMZ	TMZ-12	0	0	0	0	0	-
31	TMZ	TMZ-18	0	0	0	0	0	-
32	TMZ	TMZ-18	0	0	0	0	0	-
33	TMZ	TMZ-18	0	0	0	0	0	-
34	TMZ	TMZ-18	0	0	0	0	0	-
35	TMZ	TMZ-18	0	0	0	0	0	-
36	TMZ	TMZ-24	0	0	0	0	0	-
37	TMZ	TMZ-24	0	0	0	0	0	-

NO	GRUP	ALTGRUP	Periportal veya periseptal interface hepatit	Birleşen nekroz	Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Portal inflamasyon	Toplam Skor	Diğer
38	TMZ	TMZ-24	0	0	0	0	0	Hafif steatoz (Zon I)
39	TMZ	TMZ-24	0	0	0	0	0	Hafif steatoz (Zon I)
40	TMZ	TMZ-24	0	0	0	0	0	-
41	GAL	GAL-6	0	0	1	0	1	Hafif steatoz (Zon I)
42	GAL	GAL-6	0	0	2	0	2	-
43	GAL	GAL-6	0	0	2	1	3	-
44	GAL	GAL-6	0	0	0	1	1	-
45	GAL	GAL-6	0	0	1	0	1	Hafif steatoz
46	GAL	GAL-12	1	2	3	0	6	-
47	GAL	GAL-12	2	0	3	2	7	-
48	GAL	GAL-12	1	0	2	1	4	-
49	GAL	GAL-12	4	0	3	3	10	-
50	GAL	GAL-12	3	1	2	2	8	-
51	GAL	GAL-18	4	1	3	3	11	-
52	GAL	GAL-18	2	0	2	2	6	-
53	GAL	GAL-18	2	2	4	2	10	-
54	GAL	GAL-18	4	3	4	3	14	Zon III nekrozu
55	GAL	GAL-18	1	2	3	2	8	-
56	GAL	GAL-24	4	0	2	4	10	-

NO	GRUP	ALTGRUP	Periportal veya periseptal interface hepatit	Birleşen nekroz	Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Portal inflamasyon	Toplam Skor	Diğer
57	GAL	GAL-24	3	3	4	2	12	-
58	GAL	GAL-24	4	3	3	2	12	Zon III nekrozu
59	GAL	GAL-24	1	2	2	1	6	-
60	GAL	GAL-24	4	2	4	2	12	-
61	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	0	0	0	0	0	-
62	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	0	0	0	0	0	-
63	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	0	0	0	0	0	-
64	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	0	0	1	0	1	-
65	TMZ+GAL	TMZ+GAL-6	0	0	0	0	0	-
66	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	1	0	1	1	3	-
67	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	0	0	1	0	1	-
68	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	0	0	0	0	0	-
69	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	0	0	1	0	1	-
70	TMZ+GAL	TMZ+GAL-12	0	0	1	0	1	-
71	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	1	2	2	1	6	-
72	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	3	2	2	1	8	-
73	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	2	0	2	1	5	-
74	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	1	0	1	1	3	-
75	TMZ+GAL	TMZ+GAL-18	0	0	1	1	2	-

NO	GRUP	ALTGRUP	Periportal veya periseptal interface hepatit	Birleşen nekroz	Fokal litik lezyon, apoptoz ve fokal inflamasyon	Portal inflamasyon	Toplam Skor	Diğer
76	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	0	2	1	0	3	-
77	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	1	0	1	1	3	-
78	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	1	0	2	1	4	-
79	TMZ+GAL	TMZ+GAL-24	1	0	1	1	3	-
80	TMZ-GAL	TMZ+GAL-24	1	0	0	1	2	Steatoz

TNF- α ÇALIŞMASI ABSORBANS VERİLERİNİN PRINT KOPYALARI

Bio-Tek Instruments

Assay: Quick Read

Date: 13/08/09

Lot: TNF- α

Wavelength: 450

Time: 07:02:17

Operator:

Temp:

Plate ID:

COMMENTS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
CALL			3	11	19	27	35	43	51	59	67	75
CalcOD	0.069	0.074	0.064	0.076	0.065	0.251	0.074	0.065	0.059	0.077	0.072	0.064
Well	SMP1	SMP9	SMP17	SMP25	SMP33	SMP41	SMP49	SMP57	SMP65	SMP73	SMP81	SMP89
RSLT												
B												
CALL			4	12	20	28	36	44	52	60	68	76
CalcOD	0.044	0.042	0.047	0.045	0.067	0.094	0.059	0.044	0.039	0.068	0.040	0.039
Well	SMP2	SMP10	SMP18	SMP26	SMP34	SMP42	SMP50	SMP58	SMP66	SMP74	SMP82	SMP90
RSLT												
C												
CALL			5	13	21	29	37	45	53	61	69	77
CalcOD	0.038	0.043	0.145	0.048	0.048	0.075	0.040	0.055	0.045	0.058	0.048	0.048
Well	SMP3	SMP11	SMP19	SMP27	SMP35	SMP43	SMP51	SMP59	SMP67	SMP75	SMP83	SMP91
RSLT												
D												
CALL			6	14	22	30	38	46	54	62	70	78
CalcOD	0.037	0.048	0.068	0.045	0.041	0.041	0.041	0.055	0.043	0.042	0.196	0.042
Well	SMP4	SMP12	SMP20	SMP28	SMP36	SMP44	SMP52	SMP60	SMP68	SMP76	SMP84	SMP92
RSLT												
E												
CALL			7	15	23	31	39	47	55	63	71	79
CalcOD	0.061	0.045	0.051	0.062	0.042	0.041	0.042	0.086	0.042	0.058	0.039	0.047
Well	SMP5	SMP13	SMP21	SMP29	SMP37	SMP45	SMP53	SMP61	SMP69	SMP77	SMP85	SMP93
RSLT												
F												
CALL			8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
CalcOD	0.038	0.039	0.039	0.039	0.040	0.078	0.040	0.050	0.042	0.041	0.051	0.037
Well	SMP6	SMP14	SMP22	SMP30	SMP38	SMP46	SMP54	SMP62	SMP70	SMP78	SMP86	SMP94
RSLT												
G												
CALL			9	17	25	33	41	49	57	65	73	81
CalcOD	0.061	0.058	0.102	0.067	0.066	0.693	0.080	0.234	0.063	0.063	0.074	0.047
Well	SMP7	SMP15	SMP23	SMP31	SMP39	SMP47	SMP55	SMP63	SMP71	SMP79	SMP87	SMP95
RSLT												
H												
CALL		2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82
CalcOD	0.091	0.085	0.073	0.079	0.080	0.072	0.072	0.077	0.066	0.076	0.075	0.045
Well	SMP8	SMP16	SMP24	SMP32	SMP40	SMP48	SMP56	SMP64	SMP72	SMP80	SMP88	SMP96
RSLT												

Bio-Tek Instruments

Assay: Quick Read
 Wavelength: 450

Date: 13/08/09
 Time: 07:02:17
 Temp:

Lot: _____
 Operator: _____
 Plate ID: _____

COMMENTS

Interpretation of Results

Well ID	BlkdOD	CalcOD	Call	Pred Conc	RSLT	Std Dev	CV%	Notes:
A01 SMP0001	0.069	0.069						
B01 SMP0002	0.044	0.044						
C01 SMP0003	0.038	0.038						
D01 SMP0004	0.037	0.037						
E01 SMP0005	0.061	0.061						
F01 SMP0006	0.038	0.038						
G01 SMP0007	0.061	0.061						
H01 SMP0008	0.091	0.091						
A02 SMP0009	0.074	0.074						
B02 SMP0010	0.042	0.042						
C02 SMP0011	0.043	0.043						
D02 SMP0012	0.048	0.048						
E02 SMP0013	0.045	0.045						
F02 SMP0014	0.039	0.039						
G02 SMP0015	0.058	0.058						
H02 SMP0016	2	0.085						
A03 SMP0017	3	0.064						
B03 SMP0018	4	0.047						
C03 SMP0019	5	0.145						
D03 SMP0020	6	0.068						

86 {

Well ID	BlkdOD	CalcOD	Call	Pred Conc	RSLT	Std Dev	CV%	Notes:
E03 SMP0021	7	0.051		0.051				
F03 SMP0022	8	0.039		0.039				
G03 SMP0023	9	0.102		0.102				
H03 SMP0024	10	0.073		0.073				
A04 SMP0025	11	0.076		0.076				
B04 SMP0026	12	0.045		0.045				
C04 SMP0027	13	0.048		0.048				
D04 SMP0028	14	0.045		0.045				
E04 SMP0029	15	0.062		0.062				
F04 SMP0030	16	0.039		0.039				
G04 SMP0031	17	0.067		0.067				
H04 SMP0032	18	0.079		0.079				
A05 SMP0033	19	0.065		0.065				
B05 SMP0034	20	0.067		0.067				
C05 SMP0035	21	0.048		0.048				
D05 SMP0036	22	0.041		0.041				
E05 SMP0037	23	0.042		0.042				
F05 SMP0038	24	0.040		0.040				
G05 SMP0039	25	0.066		0.066				
H05 SMP0040	26	0.080		0.080				
A06 SMP0041	27	0.251		0.251				
B06 SMP0042	28	0.094		0.094				
C06 SMP0043	29	0.075		0.075				
D06 SMP0044	30	0.041		0.041				
E06 SMP0045	31	0.041		0.041				
F06 SMP0046	32	0.078		0.078				

Well ID	BlkdOD	CalcOD	Call	Pred Conc	RSLT	Std Dev	CV%	Notes:
G06	SMP0047	33	0.693	0.693				
H06	SMP0048	34	0.072	0.072				
A07	SMP0049	35	0.074	0.074				
B07	SMP0050	36	0.059	0.059				
C07	SMP0051	37	0.040	0.040				
D07	SMP0052	38	0.041	0.041				
E07	SMP0053	39	0.042	0.042				
F07	SMP0054	40	0.040	0.040				
G07	SMP0055	41	0.080	0.080				
H07	SMP0056	42	0.072	0.072				
A08	SMP0057	43	0.065	0.065				
B08	SMP0058	44	0.044	0.044				
C08	SMP0059	45	0.055	0.055				
D08	SMP0060	46	0.055	0.055				
E08	SMP0061	47	0.086	0.086				
F08	SMP0062	48	0.050	0.050				
G08	SMP0063	49	0.234	0.234				
H08	SMP0064	50	0.077	0.077				
A09	SMP0065	51	0.059	0.059				
B09	SMP0066	52	0.039	0.039				
C09	SMP0067	53	0.045	0.045				
D09	SMP0068	54	0.043	0.043				
E09	SMP0069	55	0.042	0.042				
F09	SMP0070	56	0.042	0.042				
G09	SMP0071	57	0.063	0.063				
H09	SMP0072	58	0.066	0.066				
A10	SMP0073	59	0.077	0.077				

Well ID	BlkdOD	CalcOD	Call	Pred Conc	RSLT	Std Dev	CV%	Notes:
B10	SMP0074 60	0.068		0.068				
C10	SMP0075 61	0.058		0.058				
D10	SMP0076 62	0.042		0.042				
E10	SMP0077 63	0.058		0.058				
F10	SMP0078 64	0.041		0.041				
G10	SMP0079 65	0.063		0.063				
H10	SMP0080 66	0.076		0.076				
A11	SMP0081 67	0.072		0.072				
B11	SMP0082 68	0.040		0.040				
C11	SMP0083 69	0.048		0.048				
D11	SMP0084 70	0.196		0.196				
E11	SMP0085 71	0.039		0.039				
F11	SMP0086 72	0.051		0.051				
G11	SMP0087 73	0.074		0.074				
H11	SMP0088 74	0.075		0.075				
A12	SMP0089 75	0.064		0.064				
B12	SMP0090 76	0.039		0.039				
C12	SMP0091 77	0.048		0.048				
D12	SMP0092 78	0.042		0.042				
E12	SMP0093 79	0.047		0.047				
F12	SMP0094 80	0.037		0.037				
G12	SMP0095	0.047		0.047				
H12	SMP0096	0.045		0.045				

End of Report

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim: Muharrem KESKİN
Doğum: 28.01.1976, Yalvaç
Adres: Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, Çünür,
Isparta
Telefon: 0 246 2112656
E-posta: muharremkeskin@hotmail.com

EĞİTİM

1982-1987 Isparta Selçuklu İlkokulu
1987-1991 Isparta Anadolu Lisesi Ortaokul Kısmı
1991-1994 Ankara Fen Lisesi
1995-1996 Ankara Orta Doğu Teknik Üniversitesi Matematik Eğitimi
1996-2004 Ankara Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıp Fakültesi Sonrası

19.10.2004' te Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Arş. Gör. Dr. olarak başladı ve halen devam etmekte.

SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayın

1. **M. Keskin**, Y. Songür, M. İşler. Clomiphene-Induced Acute Pancreatitis Without Hypertriglyceridemia. Am J Med Sci 2007;333:194–196.
2. Sahin M, **Keskin M**, Tunc SE, Coskun HS, Kapucuoglu N. Kaposi's sarcoma complicating rheumatoid arthritis treated with corticosteroid Kaposi's sarcoma and rheumatoid arthritis. Saudi Med J. 2007;28:1133-4.

Ulusal toplantıda poster, sözlü sunum ve gösterim

1. A.Şenol, M.İşler, İ.Gören, A.G.Karahan, Ü.Sarıtaş, S.Kaya, **M.Keskin**, H.Dinelek, M.Kiriş, G.Başıyigit, O.Aktürk, B.C.Ardoğan, N.Delibaş, E.Eroğlu, M.L. Çakmakçı, Probiyotiklerin sıçanlarda etanol ile uyarılan mide mukoza lezyonlarına koruyucu etkisi, 22.Ulusal Gastroenteroloji Haftası, 2005, Malatya.

2. Ü.Sarıtaş, A. Şenol, **M. Keskin**, Nadir bir intestinal psödoobstriksiyon nedeni; POEMS Sendromu, 22.Ulusal Gastroenteroloji Haftası, 2005, Malatya.

3. Songür Y., İşler M., Karahan A., Şenol A.,Gören İ., **Keskin M.**, Kuleaşan H., Onaran İ., Başyigit G., Gültekin F., Gündoğdu A., K. Deneysel Akut Pankreatitte Probiotiklerin Protektif Etkinliği. III. Hepatogastroenteroloji Kongresi, Hepatobiliopankreatoloji Derneği, Antalya, Eylül 2006.

4. Alanoglu G, **Keskin M**, Salim O, Doğru H, Kuralay E, Karadoğan İ. Inoperabl aort disseksiyonuna bağı kronik yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu: Bilinen ancak nadir kanama nedeni. 34. Ulusal Hematoloji Kongresi 8–11 Ekim 2008 İzmir.