

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK

**ASETAMİNOFEN İLE TOKSİK HEPATİT  
OLUŞTURULAN RATLARDA L-KARNİTİNİN  
LİPİD PEROKSİDASYONU VE OKSİDAN STRES  
ÜZERİNE ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr. Özgür AKTAŞ**

EDİRNE-2013

## **TEŞEKKÜR**

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, yönlendiren, tez çalışmamda çok değerli katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK başta olmak üzere Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Erol ÇAKIR'a, Sayın Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN'e, Sayın Doç. Dr. Hakan ERBAŐ'a, Fakültemiz Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ömer YALÇIN'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Necdet SÜT'e, çalışmamızı destekleyen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne ve çalışmamıza destek olan tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>TOKSİK HEPATİT</b> .....	3
<b>ASETAMİNOFEN</b> .....	6
<b>SERBEST RADİKALLER</b> .....	9
<b>ANTIOKSİDAN SİSTEMLER</b> .....	14
<b>L-KARNİTİN</b> .....	17
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	18
<b>BULGULAR</b> .....	24
<b>TARTIŞMA</b> .....	28
<b>SONUÇLAR</b> .....	32
<b>ÖZET</b> .....	33
<b>SUMMARY</b> .....	35
<b>KAYNAKLAR</b> .....	37
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ALT</b>	:Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	:Aspartat aminotransferaz
<b>APAP</b>	:Asetaminofen
<b>BHT</b>	:Butillenmiş Hidroksi Toluen
<b>CO<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	:Karbon dioksit radikali
<b>CO<sub>3</sub><sup>•-</sup></b>	:Karbonat radikali
<b>COX</b>	:Siklooksijenaz
<b>CYP</b>	: Sitokrom
<b>DNA</b>	:Deoksiribonükleik asit
<b>DNTB</b>	:2,2'-Dinitro-5,5'ditiobenzoik asit
<b>GPx</b>	:Glutatyon Peroksidaz
<b>GSH</b>	:Glutatyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	:Hidrojen peroksit
<b>Hb</b>	:Hemoglobin
<b>HO<sub>2</sub><sup>•</sup></b>	:Hidroperoksil
<b>HOBr</b>	:Hipobromöz asit
<b>HOCl</b>	:Hipokloröz asit
<b>MDA</b>	:Malondialdehid
<b>NAD</b>	:Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NAPQI</b>	:N-asetil-p-benzokinonemin
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	:Süperoksit

<b>O<sub>2</sub><sup>1Δg</sup></b>	:Singlet oksijen
<b>O<sub>3</sub></b>	:Ozon
<b>OH<sup>•</sup></b>	:Hidroksil radikali
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	:Peroksinitrit radikali
<b>RO<sup>•</sup></b>	:Alkoksil radikali
<b>ROO<sup>•</sup></b>	:Peroksil radikali
<b>ROOH</b>	:Organik peroksit
<b>ROT</b>	:Reaktif Oksijen Türleri
<b>SDS</b>	:Sodyum Dodesil Sülfat
<b>SOD</b>	:Süperoksit dismutaz
<b>TBA</b>	:Tiyobarbitürik asit
<b>TH</b>	:Toksik Hepatit

## GİRİŞ VE AMAÇ

İlaç metabolizmasında önemli fonksiyonları olan karaciğer, yine ilaç toksisitesinin hedef organı konumundadır. İlaç hasarı sonucu oluşan toksik hepatit, akut karaciğer hasarının sık nedenlerinden biridir. Yapılan çalışmalar akut karaciğer yetmezliğinin % 58'inin ilaçlardan kaynaklandığını, ilaçlar arasında da asetaminofenin ciddi bir yer kapladığını göstermiştir (1).

Evlerde yaygın kullanımı ve reçetesiz kolaylıkla alınabilmesi gibi sebeplerle, asetaminofen içeren ilaçlarla intihar veya kaza sonucu ölümler sıklıkla görülmektedir. Uzun zamandan beri asetaminofenin yüksek dozlarında karaciğer hasarı olduğu, hatta ölümlerle sonuçlanabildiği bilinmektedir. Hepatik hasarın mekanizması tam olarak kesinlik kazanmamakla birlikte en çok oksidatif hasar üzerinde durulmaktadır. Asetaminofen karaciğerde toksik, reaktif metaboliti olan N-asetil-p-benzokinonemin (NAPQI)'e metabolize olur. Yüksek doz asetaminofen alımında aktif metabolit glutatyona bağlanarak inaktive edilemez ve sitozol proteinlere kovalent olarak bağlanarak hücrel nekroz oluşturur (2).

Serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarı önlemek için vücutta antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. Hepatotoksisite durumunda serbest radikal üretimi artmakta ve antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalmaktadır (3). L-Karnitin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri araştırılmaktadır. L-Karnitin demir iyonları ile şelat oluşturarak lipid peroksidasyonunu önlediği; radikal süpürücü etki göstererek lipid, protein ve DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu ileri sürülmektedir (4).

Çalışmadaki amacımız; L-Karnitinin, toksik dozlardaki asetaminofenin neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu olup olmadığını biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **TOKSİK HEPATİT**

Karaciğer karın boşluğunda, diyafragmanın altında yer alır ve vücudun en büyük organlarından bir tanesidir. Ağırlığı yaklaşık 1.5 kg'dır. Kanlanması iyi olan organa kanın %60-70'i portal venden, geri kalanı hepatik arterden gelir. Karaciğer vücudun hemen bütün sistemleriyle ilişkisi bulunan, son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları olan bir organdır. Karaciğerin; karbonhidratların depolanması ve metabolizmasının kontrolü, safra yapımı, keton bileşiklerinin yapımı, plazma proteinlerinin sentezi, çeşitli ilaçların ve zehirlerin detoksifikasyonu, üre yapımı, bazı hormonların inaktivasyonu, yağ metabolizması gibi fonksiyonları vardır.

Karaciğerde farklı hücre tipleri bulunmaktadır. Bunlar; hepatositler, endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, ito hücreleri ve safra kanalı epitel hücreleridir. Karaciğer, detoksifikasyon da dahil birçok görevi karaciğer parankimini oluşturan hepatositler aracılığıyla gerçekleştirir. İlaç metabolizmasında önemli fonksiyonu olan karaciğer, yine ilaç toksisitesinin hedef organı konumundadır (5).

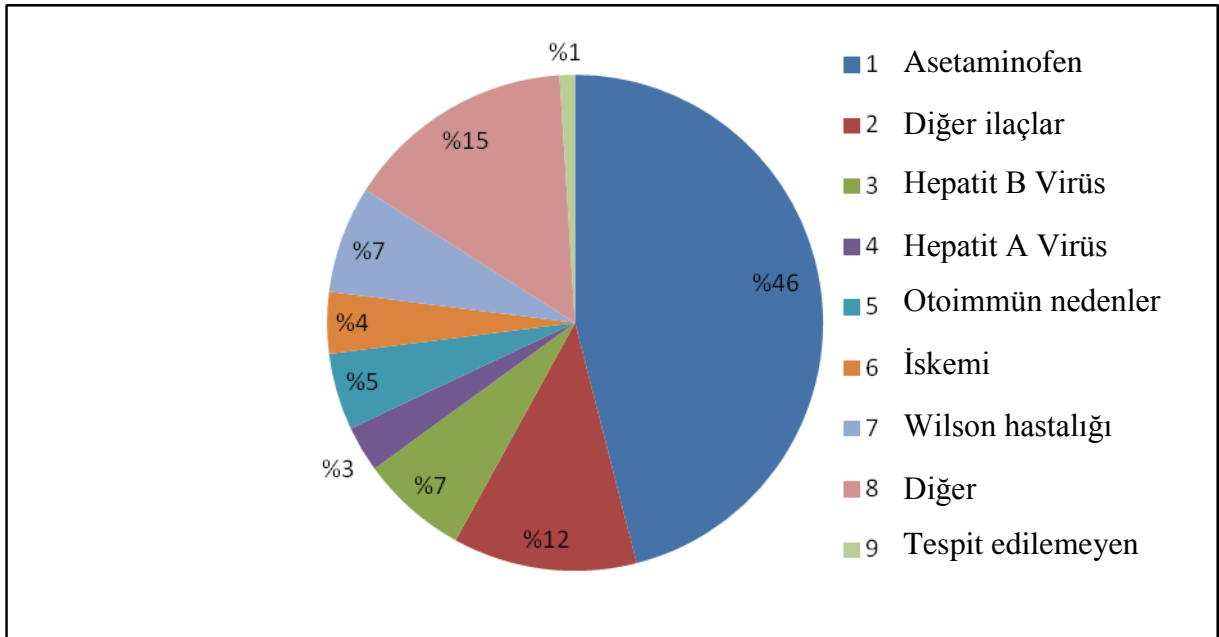
Tedavi amaçlı kullanılan ilaçların birçoğu kolay emilebilmeleri için lipofilik yapıya sahip olmaları gerekir. Lipofilik ilaçlar hidrofilik özellik kazanabilmek için de biyotransformasyona ihtiyaç duyarlar. Biyotransformasyon ile hidrofilik özellik kazandıktan sonra idrar veya safra ile atılabilir hale gelirler (6). Biyotransformasyon, ilaçların vücuttan uzaklaştırılabilmesinin yanında bazı ilaçların aktif hale gelebilmeleri için de esastır. Biyotransformasyon sonucu oluşan metabolitler toksisiteden de sorumlu olabilirler.

Biyotransformasyon için ilaçların geçirmeleri gereken reaksiyonlar; faz I ve faz II olarak gruplandırılır. Yükseltgenme, indirgeme ve hidroliz reaksiyonları faz I reaksiyonlarında



gerçekleşir ve substrata aktif gruplar eklenir, böylece faz II reaksiyonları için yeni bir substrat hazırlanmış olur (7). Faz II'de asetilasyon, metilasyon, sülfasyon, glukuronidasyon gibi reaksiyonlar ve glutatyon, glisin gibi endojen maddeler ile konjugasyon işlemleri gerçekleşir. Bu basamaklarda aracı olan enzimler genetik polimorfizm gösterebilir, ayrıca çevresel etmenlerden de etkilenebilirler. Sitokrom p450 (CYP) faz I reaksiyonları içinde en önemli enzim grubudur. Karaciğerde santral ven çevresinde ağırlıklı olarak bulunur. Endojen ve ekzojen substratların metabolizmasından sorumludur. Sitokrom p450 enzimlerinin hepatik ekspresyonunda belirgin farklılıklar vardır ve genetik polimorfizm denilen bu olay toksisitenin neden bir hastada görülürken diğerinde gözlenmediğini açıklar (8).

Toksik hepatit, akut karaciğer hasarının sık nedenlerinden biridir. Yapılan çalışmalar akut karaciğer yetmezliğinin % 58'inin ilaçlardan kaynaklandığını, ilaçlar arasında da asetaminofenin (parasetamol) ciddi bir yer kapladığını göstermiştir (Şekil 1).



**Şekil 1. Akut karaciğer yetmezliği nedenleri (1)**

Toksik dozda alınan birçok ilaç direkt hepatosit nekrozu/apoptoz oluştururken, bazı ilaçlar safra kanallarına zarar vererek kolestaza neden olur. Bazı ilaçlar ise her iki etkiyi de oluşturabilir. Karaciğer hasarının tespitinde günümüzde birçok test kullanılmaktadır (1). Son yıllarda asetaminofen hepatotoksitesi ve diğer karaciğer hastalıklarında plazma Gc-globulin düzeylerinin değişimi araştırılmaktadır.

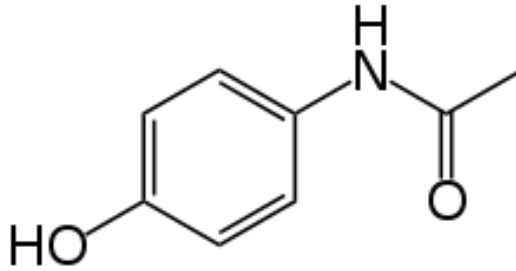
Gc-globulin multifonksiyonel bir protein olup, asıl fizyolojik rolü aktini bağlayarak plazmadan temizlemektir. Normal bireylerde Gc-globulin serum konsantrasyonu yaklaşık

300-500 mg/L'dir. Serum Gc-globulin konsantrasyonu hayat boyunca sabittir ve yaş, cinsiyet gibi faktörlerden etkilenmez. Gc-globulinin büyük çoğunluğu karaciğer parankim hücreleri tarafından sentezlenmekle birlikte böbrek, yolk kesesi, testis gibi ekstrahepatik dokularda minimal bir sentez mevcuttur (9).

Gc-globulin plazmada bulunan monomerik G-aktin bağlar. Aktin; hepatosit ve diğer çoğu hücre için hücre iskeletini oluşturan, hücrelerin hareketinde ve hücre biçiminin sürdürülmesinde etkisi olan önemli bir hücre proteinidir. Hepatotoksisite durumunda hücre bütünlüğünün bozulması ile dolaşıma geçen monomerik G-aktin, lineer filamanlar oluşturmak üzere birleşerek, aktinin polimerik formu olan F-aktini oluşturur. Dolaşımdaki aktin; trombosit agregasyonu uyararak, plazmin inhibitörü gibi davranarak veya fibrinolitik sistem ile etkileşerek; intravasküler trombozda artışa, fibrinolizde ise azalmaya neden olur. Hemostazdaki bu bozulma, aktin temizleyici sistemin elemanları olan GC-globülin ve gelsolinin devreye girmesine yol açar. Gelsolin, iskelet kasında sentezlenir, dolaşımda bulunan F-aktini parçalayarak monomerik G-aktine dönüşmesini sağlar. Monomerik aktine Gc-globulin yüksek afinite ile bağlanır. Oluşan Gc-globulin-aktin kompleksleri karaciğer parankim ve endotel hücreleri veya Kupffer hücreleri tarafından temizlenir. Bu durumda ölçülen Gc-globulinin plazma seviyeleri düşer (10).

## ASETAMİNOFEN

Asetaminofen, non-steroidal antiinflatuvar ilaç (NSAID) grubundan fenasetinin aktif metabolitlerinden biri olan para-aminofenol türevidir (Şekil 2) (11).



Şekil 2. Asetaminofenin kimyasal yapısı (11)

Asetaminofen; N-asetil-p-aminofenol (APAP) ismiyle de bilinir. Analjezik ve antipiretik etkisi ile aspirine alternatif olarak, özellikle pediatrik yaş grubunda sık kullanılan bir ilaçtır. Aspirine göre antiinflatuvar etkisi zayıftır ve gastrik lezyonlara sebep olmaz. Evlerde yaygın kullanımı ve reçetesiz kolaylıkla alınabilmesi gibi sebeplerle, asetaminofen

içeren ilaçlarla intihar veya kaza sonucu ölümler sıklıkla görülmektedir. Günde 2 gramdan az kronik kullanımı karaciğer fonksiyon bozukluğu oluşturmaz (12).

### **Asetaminofenin Farmakolojik Özellikleri**

Asetaminofen, merkezi sinir sisteminde (MSS) siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek prostaglandin sentezini baskılar (13). Asetaminofenin COX-1 ve COX-2'den farklı bir COX enzim varyantını selektif olarak bloke ettiği bildirilmiştir. Bu enzim MSS'de tespit edilmiş ve COX-3 olarak isimlendirilmiştir (14). Analjezik ve antipiretik etkisi bu yolla açıklanabilir. Merkezi sinir sistemindeki ağrı yolları üzerinde farklı mekanizmalarla da etkili oldukları ileri sürülmektedir. P maddesi veya N-metil-D-aspartat aracılı L-arginin-nitrik oksit yolunun inhibisyonu, inhibitör serotonerjik ağrı yolağının güçlendirilmesi gibi alternatif mekanizmalarla da MSS'de etkili olduğu bildirilmektedir (13).

Asetaminofen periferik dokularda zayıf bir siklooksijenaz inhibitörü olması nedeniyle, periferik inflamasyon üzerine nonsteroid antiinflamatuvarlara göre zayıf etkilidir (14).

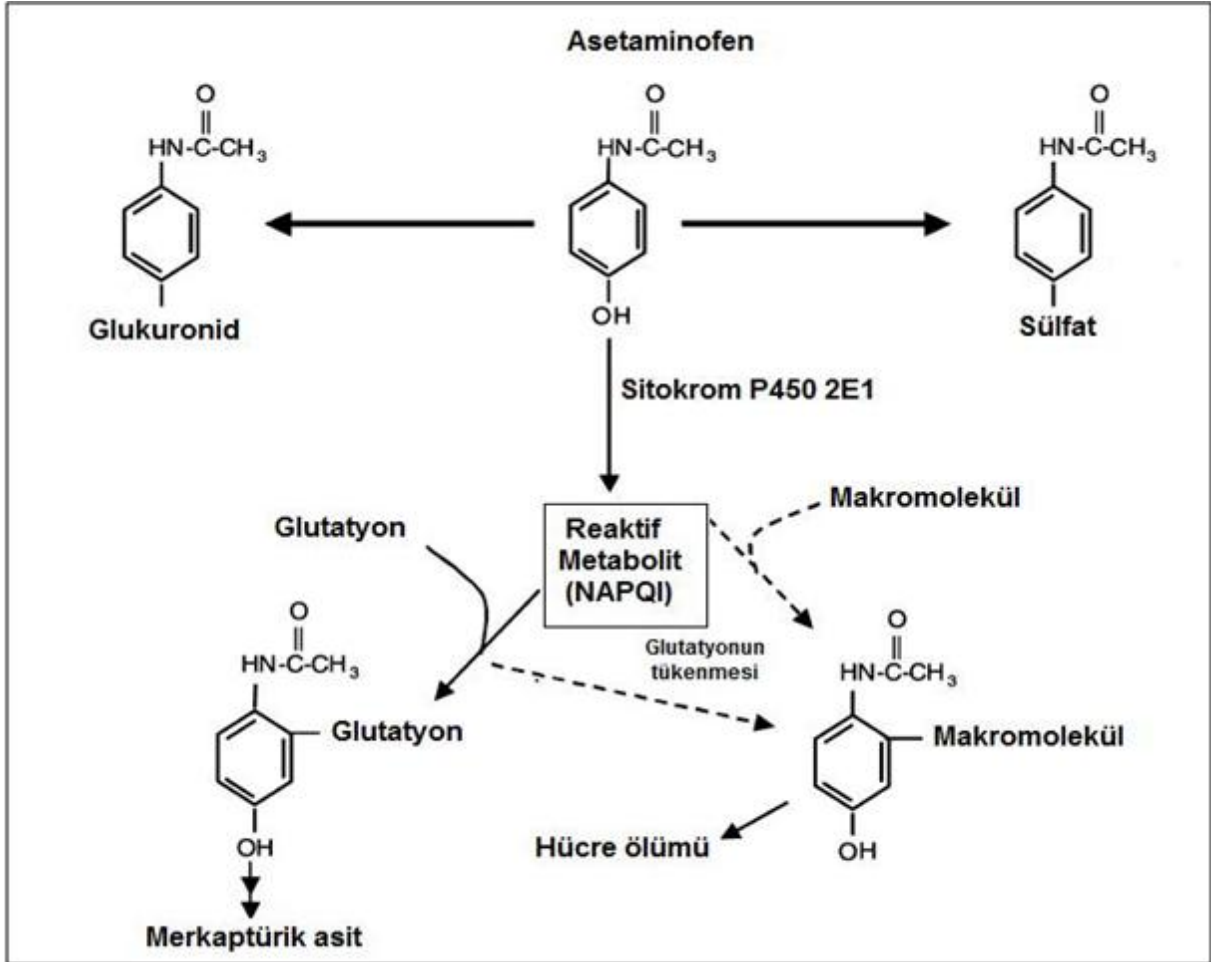
### **Asetaminofenin Farmakokinetiği**

Asetaminofen oral yoldan alındığında hızla absorbe edilir ve etkisi erken başlar; plazma düzeyi 30-60 dakika içinde maksimuma ulaşır. Absorpsiyonu besinler tarafından azaltılır. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat devam eder (11). Plazma yarı ömrü terapötik dozlardan sonra 2 saat civarındadır. Vücut sıvılarına eşit oranda dağılır. Plazma proteinlerine bağlanması değişkendir; akut entoksikasyon sırasında karşılaşılan konsantrasyonlarda sadece % 20-50'si bağlanır. İlacın % 90-100'ü karaciğerde konjuge edilerek terapötik dozajın ilk gününde idrarla atılır (12).

### **Asetaminofenin Metabolizması**

Asetaminofenin metabolik yolları oldukça iyi bilinmektedir (Şekil 3) (2). Asetaminofenin biyotransformasyonu ve biyoaktivasyonu karaciğerde; glukuronidasyon, sülfasyon ve mikrozomal oksidasyon ile gerçekleşmektedir. Asetaminofenin yaklaşık % 90'ı, inaktif, zararsız metabolitler olan hepatik glukronid ve sülfat konjugatına dönüştürülür. Oluşan bu konjugatların bir kısmı safra ile bir kısmı da kan dolaşımına geçerek idrarla atılır. % 5'inden daha az olan küçük bir kısım ise değişmeden idrara ulaşmaktadır. Geriye kalan % 5-15 arasında değişen kısmı ise karaciğerde CYP enzim sistemi (CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4, CYP2A6) kullanılarak N-asetil-p-benzokinonemin (NAPQI) adlı, oldukça reaktif,

hücre makromoleküllerine bağlanabilen, toksik metabolite dönüşür. Glutasyon hızla NAPQI ile birleşir, oluşan kompleks daha sonra toksik olmayan sistein veya merkaptirik asit konjugatlarına dönüştürülerek idrarla elimine edilir (15).



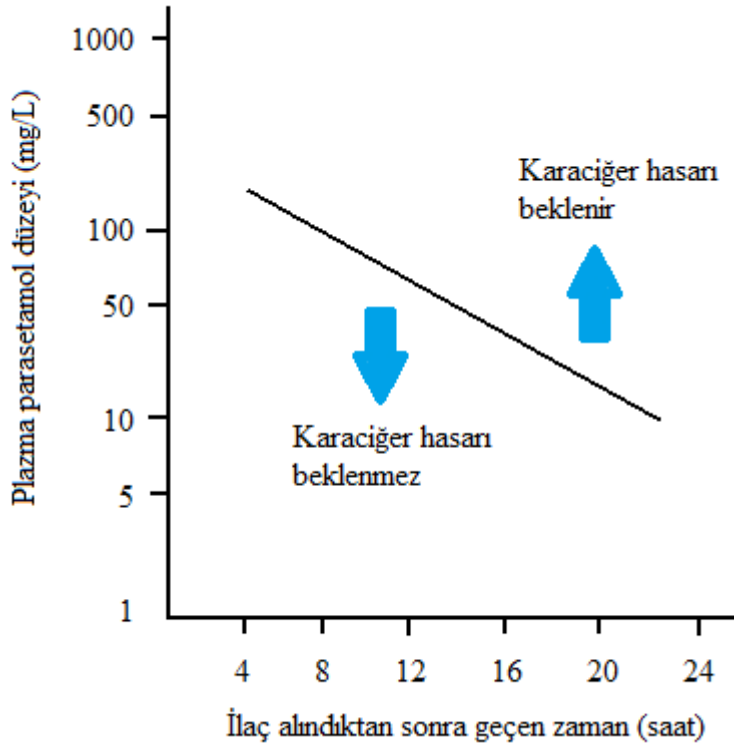
Şekil 3. Asetaminofenin metabolizması (2)

### Asetaminofen Hepatotoksitesisi

Erişkinlerde toplam günlük doz 4 gr'ı aşmamalıdır. Tek bir 10-15 g (150-250 mg/kg) asetaminofen dozundan sonra hepatotoksisite ortaya çıkabilir; 20-25 g ve üzerindeki dozlar potansiyel olarak ölümcüldür. Ağır alkol tüketimi gibi CYP indüksiyonuna veya açlık, malnütrisyon gibi glutasyon (GSH) tükenmesine sebep olan durumlarda daha düşük dozlarda bile hepatotoksisite oluşabilmektedir.

Akut parasetamol zehirlenmesinin ilk 2 günündeki semptomlar bulantı, kusma, iştahsızlık gibi semptomlardır ve entoksikasyonun ciddiyetini gizler. İlaç alındıktan sonraki 12-36 saat içinde plazma transaminaz düzeylerinde belirgin yükselme olur. Karaciğer hasarının klinik göstergeleri toksik doz alındıktan sonraki 2-4 gün içinde ortaya çıkar; sağ

subkotal ağrı, hassas hepatomegali, sarılık ve koagülopati gelişir. Böbrek fonksiyonunda bozulma veya böbrek yetmezliği gelişebilir. Hepatik ensefalopati oluşması veya koagülopatinin kötüleşmesi kötü prognoz göstergesidir. Karaciğer biyopsisinde periportal alanın korunduğu sentrolobüler nekroz saptanır.



**Şekil 4. Parasetamolün plazma düzeyleriyle akut alımından karaciğer hasarına kadar geçen süre arasındaki ilişki (12)**

Parasetamol doz aşımı bir tıbbi acil durumdur. Plazma parasetamol konsantrasyonlarının ilaç alındıktan 4 saat sonra 300 mg/L'yi ya da 15 saat sonra 45 mg/L'yi aştığı durumlarda hastaların % 90'ında ciddi karaciğer hasarı oluşur (Şekil 4). Tedavide aktif kömür ilk 4 saat içerisinde verilirse, parasetamol emilimini % 50-90 oranında azaltır. Karaciğer hasarı riski taşıyanlarda N-asetilsistein (NAC) tedavisi endikedir (12).

Asetaminofenin aşırı dozunun hepatotoksisiteye neden olmasındaki ana mekanizma, onun toksik metaboliti olan NAPQI'ya dönüşümünden kaynaklanmaktadır. NAPQI hepatik glutasyonu tüketir ve hücresel proteinlere kovalent olarak bağlanır. Hepatik glutasyon depoları % 80-90'ın altına düştüğünde NAPQI detoksifiye edilemez ve hücre hasarı oluşur. Glutasyonun tükenmesi ile hepatosit içerisinde reaktif oksijen ve nitrojen türleri artar, nekrotik değişiklikler oluşmaya başlar. Artmış oksidatif stres, intraselüler kalsiyum homeostazının,

sinyal iletiminin, mitokondriyal geçirgenliğin bozulmasına neden olur. Mitokondriyal membran potansiyeli kaybolur ve adenosin trifosfat (ATP) üretimi durur. Tüm bunların sonucunda hücre nekrozu oluşur (3).

### **SERBEST RADİKALLER**

Canlı hücrelerin yapıtaşlarını oluşturan moleküllerde bulunan atomlar, birbirine kovalent bağlarla bağlıdır. Kovalent bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasıyla oluşmaktadır. Yeterli bir enerji kaynağı ile (radyasyon veya çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir. Bunun sonucunda oluşan, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar serbest radikal olarak adlandırılırlar. Radikal, eşleşmemiş elektronun atomik ya da moleküler orbitali tek başına işgal etmesidir. Radikallerde eşleşmemiş elektron nokta ile gösterilir (16).

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif hasar meydana getirirler. Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmalarında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhine bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır. Radikaller nedeniyle oluşan oksidatif stres; lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücre bileşenlerinde hasara yol açabilmektedir (17). Ateroskleroz, kanser, inme, iskemi reperfüzyon hasarı, Parkinson hastalığı, katarakt, kronik böbrek hastalığı, diabetes mellitus, hepatit, siroz, pankreatit, amfizem, preeklampsi gibi birçok hastalıkta oksidatif hasarın rol oynadığı bildirilmektedir (18).

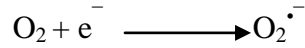
### **Serbest Radikal Türleri**

Serbest radikaller, oksijen merkezli ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olarak iki sınıfa ayrılır. Oksijen merkezli bileşiklerin bir kısmı serbest radikal iken bir kısmı ise eşleşmemiş elektron taşımadıkları için radikal değildirler. Ancak; radikal olmayan oksijen merkezli bileşikler, çok reaktif radikallerin oluşumunda yer alarak indirekt veya biyomolekülleri indirgeyici yükseltgeyici ajan olarak direkt hasar oluşturmaktadır. Bu nedenle radikal ve radikal olmayan oksijen merkezli bileşiklerin hepsine birden reaktif oksijen türleri (ROT) denir (Tablo 1) (16).

**Tablo 1. Reaktif oksijen türleri (16)**

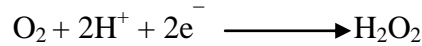
<b>Radikaller</b>	<b>Radikal olmayanlar</b>
Hidroksil (OH <sup>•</sup> )	Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Alkoksil (RO <sup>•</sup> )	Singlet oksijen (O <sub>2</sub> <sup>1</sup> Δg)
Peroksil (ROO <sup>•</sup> )	Ozon (O <sub>3</sub> )
Hidroperoksil (HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	Organik peroksit (ROOH)
Süperoksit (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> )	Peroksinitrit (ONOO <sup>-</sup> )
Karbonat (CO <sub>3</sub> <sup>•-</sup> )	Hipobromöz asit (HOBr)
Karbon dioksit (CO <sub>2</sub> <sup>•-</sup> )	Hipokloröz asit (HOCl)

**Süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>):** Süperoksit radikali moleküler oksijene bir elektron eklenmesi ile oluşur.



Sitoplazmadaki O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radikali, asıl olarak sitokrom P450 sisteminde detoksifikasyon reaksiyonları sırasında ve mitokondriyal solunum esnasında oluşmaktadır. Hem çevresel etmenler, hem de organizmadaki enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlarla en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir. Yarılma ömrü çok kısadır ve oksidan etkisi de zayıftır. Süperoksit radikali genellikle zararlı oksidatif bir faktör olarak kabul edilir, hücre membranında deesterifikasyon ile fosfolipid moleküllerinin yağ asitlerini serbestleştirmek suretiyle fosfolipoproteinli yapının stabilitesini bozar. Asıl önemli özelliği, hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (19).

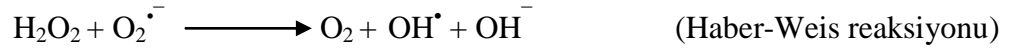
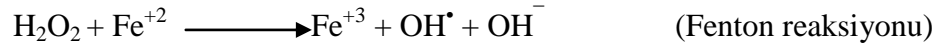
**Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması veya süperoksit radikalinin bir elektron alması sonucu oluşur.



Hidrojen peroksit ortaklanmamış elektron içermediği için, kendi başına çok zayıf oksidan özellik gösterir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membranlardan geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır, gerektiğinde selenyum içeren glutatyon peroksidaz ve katalaz tarafından ortamdan kaldırılarak zararsız hale getirilir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serbest radikal olmadığı halde radikal oluşumunda önemli bir rol oynar. Demir (Fe<sup>+2</sup>) ve bakır (Cu<sup>+2</sup>) gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit

radikali ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (20).

**Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>):** Hidroksil radikali, en reaktif, en toksik radikal olarak bilinir. Yarı ömrü çok kısa, reaktivitesi çok yüksek olduğu için yapıldığı hücre bölümünden daha uzağa difüzyonuna gerek kalmadan derhal reaksiyona girer. Hücre membranındaki doymamış yağ asitleri, hücre proteinleri, karbonhidratlar, DNA gibi önemli hücre komponentlerinin yapı ve fonksiyonlarını bozabilir. Önemli iki kaynağı Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonudur (21).



**Singlet oksijen (O<sub>2</sub><sup>1Δg</sup>):** Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu, kendi dönüş yönünün tersi yönünde bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi, oksijenin dismutasyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir. Deri ve retina gibi güneş ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu saptanmıştır. Oksijenden daha reaktif olan singlet oksijen DNA, protein ve lipidleri direkt olarak okside edebilir (16).

### Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal metabolik reaksiyonlar sırasında oluşabileceği gibi çeşitli dış kaynaklı nedenlerle de oluşabilir. Serbest radikallerin kaynakları, endojen ve eksojen kaynaklar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Tablo 2) (22).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, elektron alıcısı olarak, aerob organizmaların yaşamı için gereklidir. Memeliler, hücrelerindeki ATP üretiminin büyük bir kısmını mitokondrial elektron transport sisteminde, oksijeni su oluşturmak üzere dört elektron ile indirgemesiyle elde ederler. Fakat bu süreçte oksijenin % 1-2'si tam olarak suya dönüşemez ve ara ürün olarak serbest oksijen radikalleri ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile reaktif oksijen türleri meydana gelir (23).



**Tablo 2. Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları (22)**

<b>Endojen kaynaklar</b>	<b>Eksojen kaynaklar</b>
Mitokondriyal elektron taşıma sistemi	İlaçlar
Endoplazmik retikulum	Radyasyon
Redoks döngüsü	Sigara dumanı
Araşidonik asit metabolizması	Kanserojen maddeler
Fagositoz	Pestisitler
Otooksidasyon	Metal iyonları
Oksidan enzimlerin reaksiyonları	Güneş ışığı

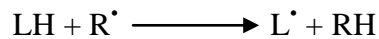
### **Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri**

Çeşitli patolojik durumlarda, normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla veya organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller, hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar. Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein, nükleik asit gibi tüm biyomoleküllerine etki ederler.

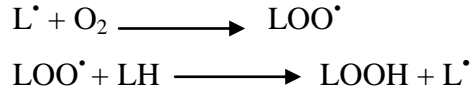
**Serbest radikallerin lipidlere etkisi:** Serbest radikallerden en fazla etkilenen biyomoleküller lipidlerdir. Doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri oksidatif hasara, çoklu doymamış yağ asitlerinden daha dirençlidirler. Birçok membran fosfolipidlerinde ve lipoproteinlerde ise çoklu doymamış yağ asitleri bulunur. Serbest radikaller, membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur ve böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozar. Bu kimyasal olaya lipid peroksidasyonu denir.

Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve 3 aşamada gerçekleşir:

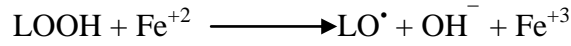
1-Başlama safhası: Lipid peroksidasyonu, ardışık olan çift bağlar arasındaki metilen grubundan (-CH<sub>2</sub>-) proton koparabilecek reaktiviteye sahip herhangi bir ROS'un (OH<sup>•</sup>, HO<sub>2</sub><sup>•</sup>, RO<sup>•</sup>, ROO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>1Δg</sup>) lipid molekülüne saldırısıyla başlar. Böylece karbon merkezli bir lipid radikali (L<sup>•</sup>) oluşur. O<sub>2</sub><sup>•-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ise ancak geçiş metalleri varlığında OH<sup>•</sup> radikali oluşturarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir.



2-İlerleme safhası: Oluşan lipid radikali kararsızdır ve molekül içi düzenlenme ile dien konjugatı oluşturur. Konjuge dienler de oksijen ile birleşerek lipid peroksil radikali (LOO<sup>•</sup>) oluşturur, bu da başka bir lipidden proton kopararak yeni bir zincir reaksiyonu başlatır. Lipid peroksilin kendisi de lipid hidroperoksite (LOOH) dönüşür. Lipid peroksil radikali ayrıca, membran proteinlerine atakta, kolesterolün oksidasyonunda ve singlet oksijenin oluşumunda rol oynar.



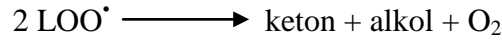
Fizyolojik şartlarda oldukça stabil bir molekül olan LOOH geçiş metallerinin varlığında bozularak; reaktif moleküller olan lipid alkoksil radikalini (LO<sup>•</sup>) oluşturur.



Lipid alkoksil radikali komşu fosfolipidlerin yağ asidi zincirlerinden ve lipid hidroperoksitlerden proton çıkararak yeni zincir reaksiyonlarının başlamasına yol açarlar.

Metal iyonlarının varlığında lipid peroksitlerinin parçalanması sırasında epoksitler, aldehitler, ketonlar, etan ve pentan gibi hidrokarbonlar oluşur.

3-Sonlanma safhası: Reaksiyon, lipid peroksil radikalinin bazı antioksidanlar tarafından temizlenmesiyle ya da iki lipid peroksil radikalinin kombinasyonu ile keton ve alkol gibi radikal olmayan ürünlere dönüşmesiyle sonlanır.



Lipid peroksidasyonu sırasında karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısında sitotoksik yıkım ürünleri ortaya çıkar. Bu ürünler malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksinonenal gibi hidroksialkanlardır. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Reaktif aldehidler ortaya çıktıkları bölgeden daha uzağa difüze olarak uzak bölgelerde de doku hasarına sebep olabilirler.

Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile MDA oluşur. MDA düzeyi lipid peroksidasyonunun yaygınlığı ile korelasyon gösterir. Okside hasarın in vivo göstergesi olarak en çok kullanılan belirteç MDA'dır. Düşük pH'da MDA reaktivitesi artar ve proteinlere atak yapar. Lizin kalıntılarında daha çok olmak üzere birçok kalıntıda modifikasyonlara neden olan molekül içi ve molekül arası çapraz bağlar oluşur.

MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranda iyon alışverişini etkileyerek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir (19,24).

**Serbest radikallerin proteinlere etkisi:** Proteinler, lipidlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi doymamış bağ veya sülfür içeren amino asitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar meydana gelir (19).

**Serbest radikallerin DNA'ya etkisi:** Serbest radikallerin DNA'ya etkileri mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açabilir. Hidroksil radikalının pürin ve pirimidin bazları, deoksiriboz gibi DNA'nın tüm bileşenleri ile reaksiyona girerek hasar oluşturduğu bilinmektedir (22).

## **ANTIOKSİDAN SİSTEMLER**

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarı önlemek için vücutta antioksidan savunma sistemi adı verilen güçlü savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bu savunma sistemlerini serbest radikal tutucular ve bazı enzimler oluşturmaktadır.

Başlıca antioksidan etki çeşitleri şunlardır:

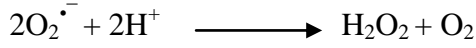
- 1-Toplayıcı etki; enzimler aracılığıyla oksidanların zayıf bir moleküle çevrilmesi
- 2-Baskılama etkisi; oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme
- 3-Onarma etkisi; hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi
- 4-Zincir kırıcı etki; zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belirli yerlerinden kırarak oksidan etkiyi durdurma şeklindedir.

Antioksidanlar yapılarına göre enzimatik antioksidanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak gruplandırılır.

### **Enzimatik Antioksidanlar**

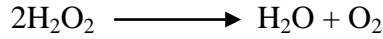
Başlıca antioksidan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx)'dir (25).

**Süperoksit dismutaz:** Süperoksit radikallerinin  $H_2O_2$ 'ye dismutasyonunu katalizleyen enzim grubudur. Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir;



Hücreyi radikallerin etkisinden koruyan savunma mekanizması arasında SOD enzimi ilk rolü oynar. SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürünün birikimi katalaz enzimi tarafından önlenmektedir. SOD metal ihtiva ettiği için metalloenzim grubundandır (26).

**Katalaz:** Katalaz enzimi, glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi direkt olarak suya dönüştürür. Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde ise  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi substrat olarak kullanan GPx gibi diğer antioksidan enzimler devreye girerek  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi ortamdan uzaklaştırırlar. Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin etkisi benzer olmasına rağmen, hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki biçimleri bakımından farklılık göstermektedirler. Katalaz enzimi peroksizomlarda daha etkili iken, GPx enzimi başlıca sitozol ve mitokondride daha etkilidir (22).

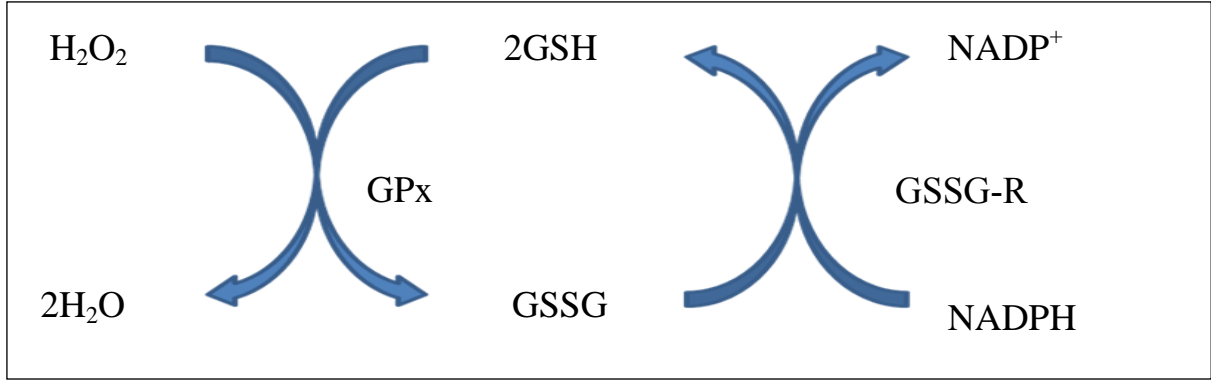


**Glutatyon peroksidaz:** Glutatyon peroksidaz yapısında selenyum bulundurduğu için metalloenzim grubunda değerlendirilir. Bu enzim, redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) çevrildiği in vitro ortamda gerçekleşen reaksiyonda, hidrojen peroksidi yüksek spesifite ile detoksifiye etmektedir (Şekil 5). Daha sonra glutatyon redüktaz (GSSG[R) enziminin katalizlediği reaksiyon ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) harcanarak okside glutatyon tekrar redükte hale dönüştürülür (27).

### **Enzim Olmayan Antioksidanlar**

**Glutatyon (GSH):** Hücre içi tiyol grubu taşıyan antioksidanların en önemlisi olan glutatyon ( $\gamma$ -glutamilsisteinil glisin); glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen bir tripeptittir. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunur. Suda çözünebilen, indirgeyici bir moleküldür.

Yapısındaki sistein kalıntısının içerdiği tiyol grubu sayesinde hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasara karşı korur. Hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün, yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında önemi büyüktür. GPx'in kofaktörlüğünü yaparak, hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında yer alır.



**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen peroksit; **H<sub>2</sub>O:** Su; **GPx:** Glutasyon peroksidaz; **GSH:** Glutasyon; **GSSG:** Okside glutasyon **GSSG-R:** Glutasyon redüktaz; **NADP<sup>+</sup>:** Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat; **NADPH:** İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.

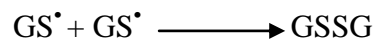
### Şekil 5. Glutasyonun okside ve redükte formları arasında dönüşümü

Glutasyonun indirgenmiş formu redükte glutatyondur ve GSH şeklinde ifade edilir. Yükseltgenmiş yani oksitlenmiş formu da glutasyon disülfittir ve GSSG şeklinde ifade edilir. Yükseltgenmiş glutasyon tekrar glutasyon redüktazla indirgenirken NADPH'a ihtiyaç duyar. Bu şekilde dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulur. Oksidatif stres durumunda GSH düzeyi azalır ve GSSG/GSH oranı artar.

Glutasyon, oksidatif hasar durumunda proteinlerin sülfidril gruplarını redükte formda tutarak redoks dengesini sağlar. OH<sup>•</sup> radikalini ve O<sub>2</sub><sup>1</sup>Δg'i doğrudan süpürür. GPx'ın katalitik etkisiyle lipit peroksitleri ve hidrojen peroksitleri detoksifiye eder. Antioksidan etkili A ve C vitaminlerinin yenilenmesini sağlar. Glutasyonun radikalleri detoksifiye etme reaksiyonu şöyledir:



Bu reaksiyon ile oluşan tiyil radikali (GS<sup>•</sup>) dimerize olarak okside glutasyonu oluşturur.



Oluşan okside glutasyon hücre içinde birikir ve GSSG/GSH oranı denge durumunu kaybeder.

**Diğerleri:** Glutasyon dışında farklı mekanizmalarla oksidatif hasarı engelleyen veya azaltan; L-Karnitin, C vitamini, E vitamini, A vitamini, melatonin, ürik asit, selenyum, albumin, sistein, bilirubin, seruloplazmin, ferritin, transferrin, laktoferrin, haptoglobulin, hemopeksin, mannitol, oksipurinol, lipoik asit, flavonoidler ve araştırma aşamasında olan birçok madde vardır (22).

## L-KARNİTİN

Karnitin esansiyel olmayan bir amin türevidir. Önceleri esansiyel bir vitamin olduğu düşünülmüş ancak daha sonraları karaciğer, böbrek ve beyinde sentezlendiği gösterilmiştir. Karnitin sentezinde proteine bağlı lizil kalıntıları ve metil vericisi olarak metionin görev alır. İnsanda iskelet ve kalp kası, karaciğer, böbrek ve beyinde karnitinin öncülü olan gamma-bütirobetain sentezlenir, ancak sadece karaciğer, böbrek ve beyinde bu madde karnitine dönüştürülebilir. Bu reaksiyon gamma-bütirobetain hidrosilaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. İnsanlarda karnitinin % 75'i diyetten sağlanır, geri kalan % 25'i ise endojen olarak sentezlenir. Vücutta L izoformunda bulunan karnitinin L-Karnitin, asetil-L-Karnitin ve propiyonil-L-Karnitin türevleri bulunmaktadır.

Karnitin hücrel enerji metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Aktif uzun zincirli yağ asitlerinin, enerji üretimi için beta oksidasyona girmek üzere, mitokondri dış membranından mitokondri matriksine geçişinde esansiyel bir kofaktör olarak rol alır. Karnitin aynı zamanda asetil KoA/KoA oranını düzenler ve sitrik asit siklusu, glukoneogenez, üre siklusu, beta oksidasyonda görev alan birçok mitokondriyal enzimin aktivitesini düzenler (28).

Hücre içi oksidatif hasar; lipid peroksidasyonuna, fosfolipid yıkımına ve bu yolla serbest yağ asidi miktarının artışına neden olur. Serbest uzun zincirli yağ asitleri hidrofobik anyonlar olup, anyonik deterjanlarla benzer özellikler taşırlar ve doku düzeylerindeki artışları mitokondri de dahil olmak üzere hücre membran yapılarında ve fonksiyonlarında değişikliğe yol açar. Serbest yağ asitlerinin neden olduğu mitokondriyal disfonksiyon karnitin tarafından engellenebilir.

L-Karnitin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri araştırılmaktadır. L-Karnitin demir iyonları ile şelat oluşturarak lipid peroksidasyonunu önlediği; radikal süpürücü etki göstererek lipid, protein ve DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu ileri sürülmektedir (4).

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma; Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul onayı alınarak (Ek 1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ölçümü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda, karaciğer dokularının mikroskopik incelemesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

### **DENEY HAYVANLARI**

Ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen, 10-12 haftalık, 30 adet, erkek Wistar-Albino cinsi rat Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Ratlar rastgele gruplara ayrıldı. Bazal diyet ile beslendiler. 22 °C oda sıcaklığı, % 60 nem oranı, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ritm sağlandı.

Çalışmada kontrol grubu (n=10), Toksik hepatit (TH) grubu (n=10), TH+L-Karnitin grubu (n=10) şeklinde 3 grup oluşturuldu. TH ve TH+L-Karnitin grubundaki sıçanlara toksik hepatit oluşturmak için asetaminofen sıcak salin içerisinde çözülerek 300 mg/kg tek doz intraperitoneal (ip) olarak verildi. TH+L-Karnitin grubundaki sıçanlara tedavi için L-Karnitin 500 mg/kg dozunda ip olarak asetaminofeni takiben 5 dk sonra tek doz verildi. Kontrol grubundaki sıçanlara ise asetaminofenle eş zamanlı olarak ip sıcak salin solüsyonu enjekte edildi. Akut karaciğer hasarını değerlendirebilmek için bu 3 grup, 24 saat sonunda, anestezi altında kan ve doku örnekleri alınarak sonlandırıldı.

Anestezik olarak ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (50 mg/kg) kullanıldı. Deney aşaması tamamlanan sıçanların anestezisi altında batin ön duvarı insizyonla açılıp diyafragmadan kalbe ulaşıldı, ponksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Karaciğer dokuları alınarak % 0.9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Karaciğer dokularından bir kısım alınarak % 10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Kan ve doku örneklerinden aynı gün GSH analizi yapıldı. Kalan kanlar santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı, eritrosit paketleri hazırlandı. Tüm numuneler diğer biyokimyasal çalışmalar yapılana dek -80 °C'de saklandı.

## **KULLANILAN MALZEMELER**

### **Kimyasal Maddeler**

- 1-Butanol (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O) (Merck, Almanya)
- 2,2'-Dinitro-5,5'-ditiobenzoyl asit (C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>) (Merck, Almanya)
- 2,6-Di-tert-bütül-4-metilfenol (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O) (Sigma Aldrich, Almanya)
- Asetik asit (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) (Merck, Almanya)
- Bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) (Panreac, İspanya)
- Beta-nikotinamid adenin dinükleotid 2'-fosfat (NADPH) (Sigma Aldrich, USA)
- Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma Aldrich, USA)
- Etanol (Mutlak) (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (Merck, Almanya)
- Folin reaktifi (Merck, Almanya)
- Gc-globulin ELISA test kiti (Life Diagnostics)
- Glutasyon redüktaz (GSSG-R) (Sigma Aldrich, USA)
- Hidrojen peroksit (%30) (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merck, Almanya)
- Metanol (CH<sub>3</sub>OH) (Merck, Almanya)
- Perklorik asit (%70) (HClO<sub>4</sub>) (Merck, Almanya)
- Piridin (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N) (Riedel de Haen, Almanya)
- Potasyum fosfat monobazik (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Sigma Aldrich, Japonya)
- Potasyum klorid (KCl) (Lachema, Çek Cumhuriyeti)
- Potasyum siyanid (KCN) (Merck, Almanya)
- Potasyum ferriksiyaniid (K<sub>3</sub>F(CN)<sub>6</sub>) (Merck, Almanya)
- Redükte glutasyon (C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S) (Sigma Aldrich, Japonya)
- Sodyum azid (NaN<sub>3</sub>) (Merck, Almanya)
- Sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) (Merck, Almanya)
- Sodyum dodesil sülfat (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S) (Sigma Aldrich, Japonya)



Sodyum fosfat dibazik ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (Merck, Almanya)  
Sodyum fosfat monobazik ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Panreac, İspanya)  
Sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ) (Merck, Almanya)  
Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Merck, Almanya)  
Sodyum potasyum tartarat ( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Panreac, İspanya)  
Sodyum sitrat dihidrat ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Almanya)  
Tiyobarbitürik asit ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ) (Sigma Aldrich, Almanya)

### **Diğer Alet ve Cam Malzemeler**

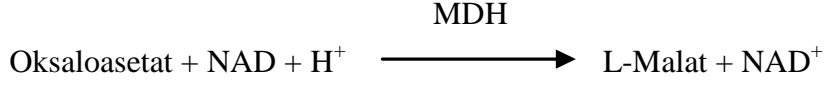
Cam malzemeler:	Deney tüpleri, balon jojeler, beherler vb.
Distile su cihazı:	Millipore, Fransa
Elektronik tartı:	Sartorius AG, Almanya
Etüv:	Memmert 400, Almanya
Homojenizatör:	Heidolph DIAX 900, Almanya
Manyetik karıştırıcı:	Daihan Scientific MSH-20A, Kore
Otoanalizör:	Siemens Advia 1800
Otomatik pipetler:	Eppendorf, Socorex, Microlit
pH metre:	Inolab pH level 1 WTW, Almanya
Sallantılı Su Banyosu:	GFL 1083, Almanya
Soğutmalı santrifüj:	Thermo Multifuge 3 S-R, Almanya
Spektrofotometre:	Shimadzu UV-1700A, Japonya
Vorteks:	Velp Scientifica, Almanya

## **BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER**

### **Aspartat Aminotransferaz Aktivite Tayini**

Serum AST değerleri enzimatik-kinetik olarak, Siemens Advia 1800 marka otoanalizörde, orijinal kiti kullanılarak tayin edildi. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi.

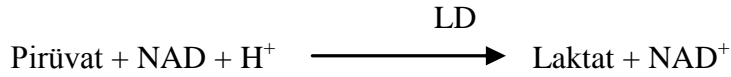
Serumda AST enzim aktivitesi, reaksiyon sonunda meydana gelen oksaloasetatın NADH varlığında, malat dehidrogenaz (MDH) enzimi ile L-Malata dönüşmesi esnasında, NADH'nin  $\text{NAD}^{+}$ 'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış kit ile indirekt olarak tesbit edildi.



### **Alanin Aminotransferaz Aktivite Tayini**

Serum ALT değerleri enzimatik-kinetik olarak, Siemens Advia 1800 marka otoanalizörde, orijinal kiti kullanılarak tayin edildi. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi.

Serumda ALT enzim aktivitesi, reaksiyon sonunda meydana gelen piruvatın, NADH varlığında, laktat dehidrogenaz (LD) enzimi ile laktata donüşmesi esnasında, NADH'nin NAD<sup>+</sup>'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış kit ile indirekt olarak tesbit edildi.



### **Malondialdehid Ölçümü**

**Prensip:** Deneyin prensibi çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan son ürünlerden biri olan MDA'nın sıcak ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (29).

**Deney:** 200 µL plazma üzerine % 20'lik asetik asit ve % 0.8'lik TBA eklendi. Tüpler kaynar su banyosunda 60 dakika bekletildikten sonra soğutularak üzerine n-butanol/piridin karışımı eklendi. Tüpler 1700xg'de 10 dakika santrifüj edilerek, butanol/piridin fazı ayrıldıktan sonra, butanol/piridin körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü. Karaciğer MDA tayininde ise 50 µL homojenat üzerine % 8'lik sodyum dodesil sülfat (SDS), % 20'lik asetik asit, % 0.8'lik TBA ve butillenmiş hidroksi toluen (BHT) eklenerek aynı işlemler tekrarlandı.

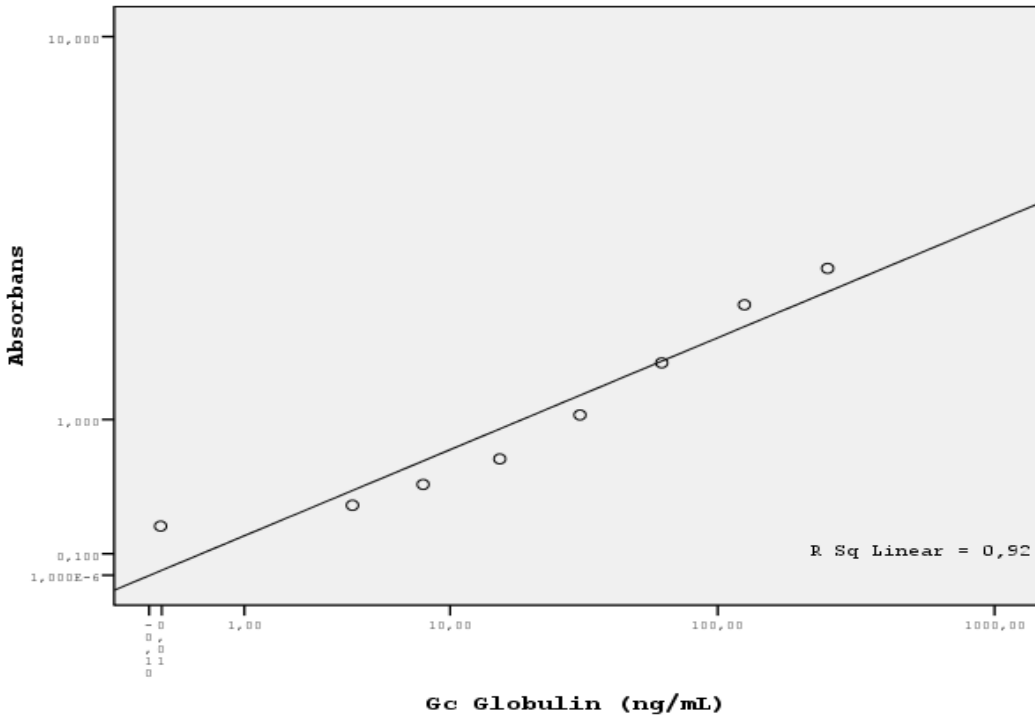
Tüm örnekler ikişer kez tekrarlandı. Malondialdehidin 532 nm'deki molar absorbtivitesi kullanılarak serumdaki MDA değeri hesaplandı, sonuçlar plazmada nmol/mL, dokuda nmol/mg protein olarak ifade edildi.

### Gc-globulin Tayini

Plazma Gc-globulin seviyeleri enzyime-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile çalışıldı. Gc-globulin seviyelerini belirlemek amacıyla 4100-2 numaralı Life Diagnostics marka Rat Gc-globulin ELISA Test Kit kullanıldı. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı. 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 62.5, 125, 250 ng/mL standart çözeltileri ile kalibrasyon eğrisi hazırlandı (Şekil 6). Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki Gc-globulin düzeyi hesaplandı. Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi.

Gc-globulin standart eğrisinin denklemi:

$$y = 0.534 + 0.11x$$



Şekil 6. Gc-globulin standart grafiği

### Glutasyon Tayini

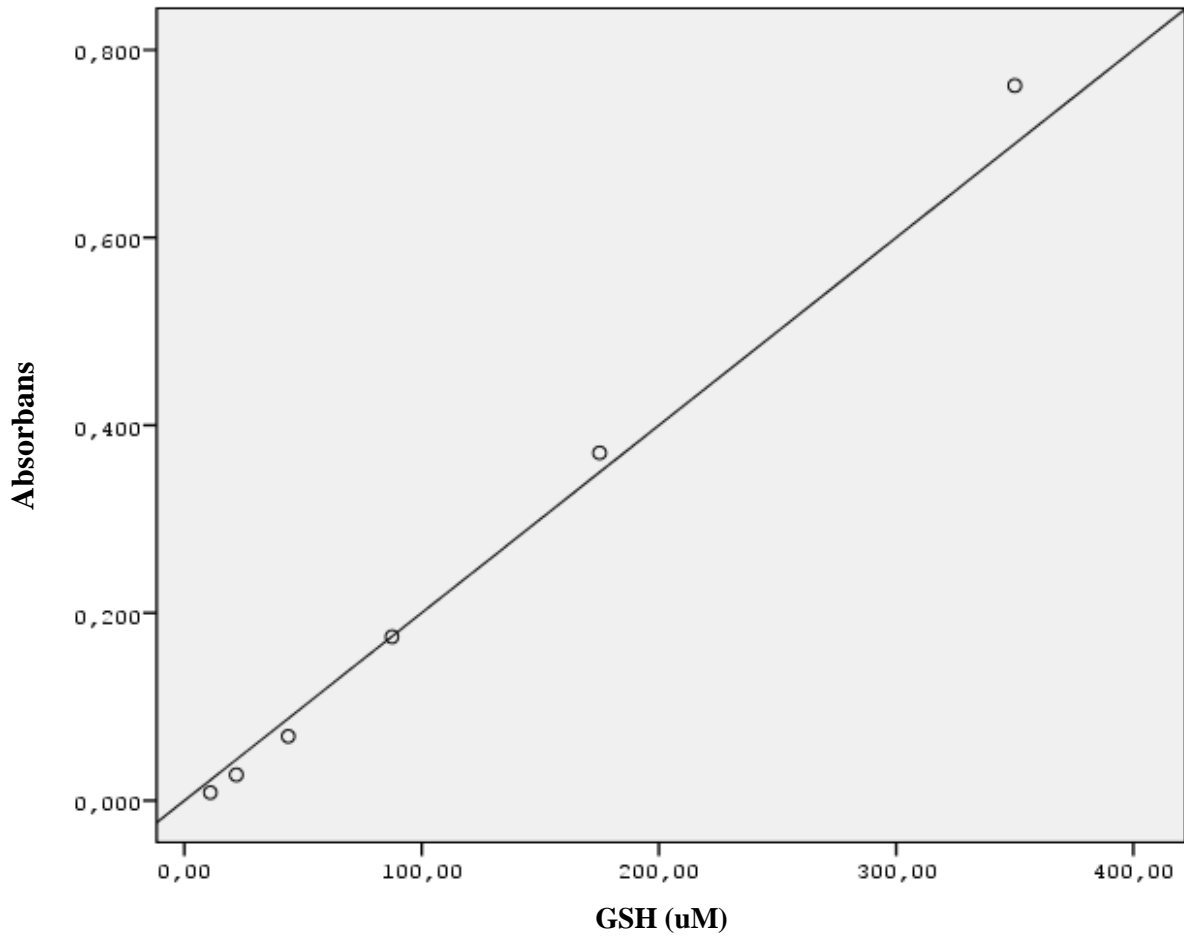
**Prensip:** İndirgenmiş glutasyonun sülfidril (-SH) grupları bazik ortamda 2,2'-Dinitro-5,5'ditiobenzoik asit (DNTB) ile sarı renkli bir bileşik oluşturur. Bu bileşiğin renginin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (30).

**Deney:** Homojenat ve tam kanda proteinler çöktürüldükten sonra elde edilen berrak süpernatantlara pH 8 fosfat tamponu ve % 0.04'lük DNTB eklenerek meydana gelen reaksiyon 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı.

Standart eğrinin hazırlanması için; 10.93, 21.87, 43.75, 87.5, 175, 350 µM konsantrasyonlarında GSH çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yönteme göre ikişer kez çalışılarak konsantrasyon-absorbans grafikleri çizildi (Şekil 7). Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki GSH yoğunlukları hesaplandı. Hematokrit değerlerinden tam kanın bir litresindeki eritrosit oranları hesaplandı ve sonuçlar µmol/L eritrosit olarak ifade edildi. Dokuda protein düzeyine oranlanarak nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Glutasyon kalibrasyon eğrisinin denklemi:

$$y = 0.02183 + 0.002239x$$



**GSH:** Glutasyon.

**Şekil 7. Glutasyon standart grafiği**

### Total Protein Tayini

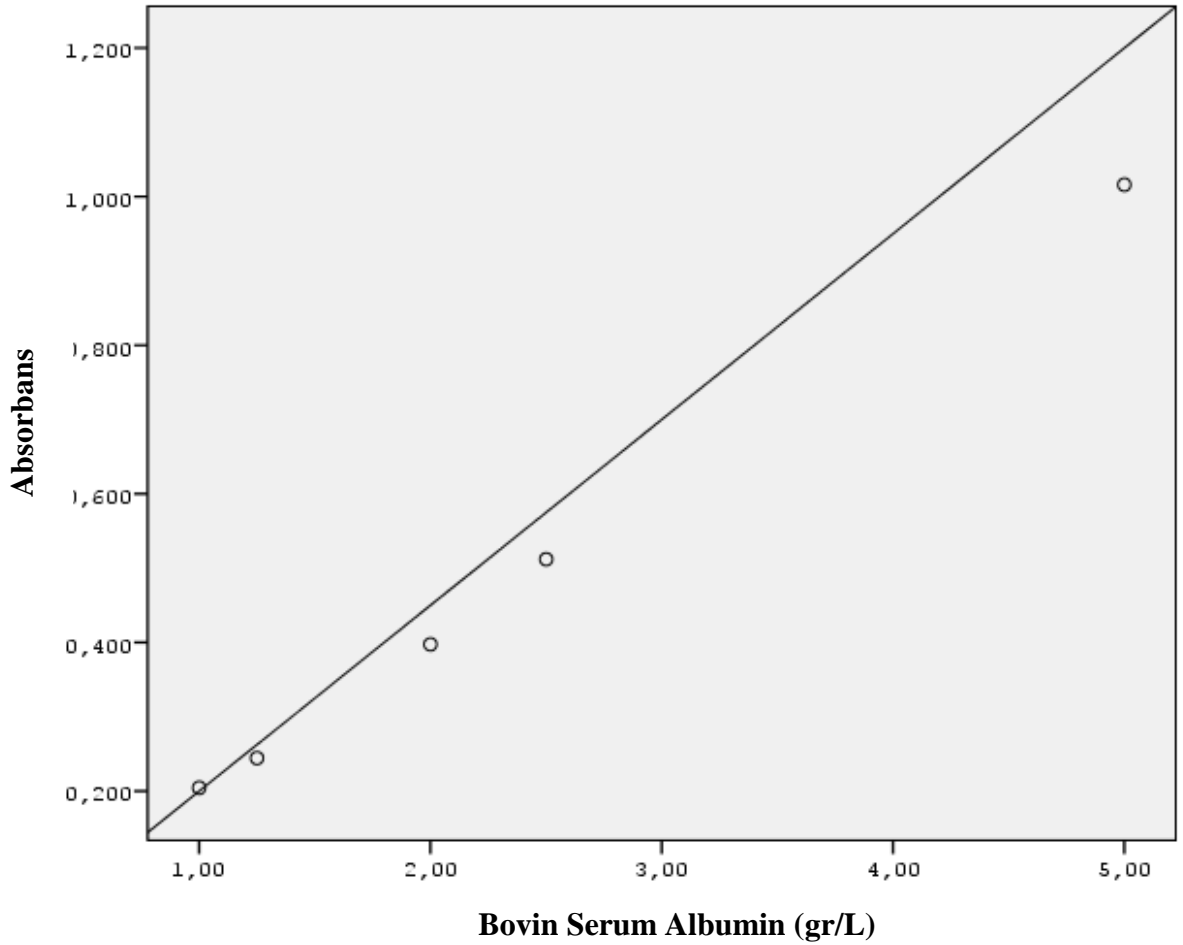
**Prensip:** Alkali ortamda proteinlerin peptid bağlarının bakır iyonları ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Bakır-peptid kompleksleri folin ayırıcı ile reaksiyona girerek mavi-mor renk oluşturur (31).

**Deney:** Homojenat üzerine 200 µl alkalin bakır solüsyonu eklendi. İyi karıştırıp 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra üzerine seyreltik folin ayırıcı eklendi. Örnekler 30 dakika sonra 660 nm dalga boyunda reaktif körüne karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Standart eğrinin hazırlanması için bovin serum albumini ile 1, 1.25, 2, 2.5 ve 5 g/L konsantrasyonlarında standart çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntemle göre ikişer kez çalışılarak, konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 8). Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki protein yoğunlukları hesaplandı.

Protein kalibrasyon eğrisinin denklemi:

$$y = 0.00548 + 0.204417x$$



Şekil 8. Lowry yöntemine göre protein standart grafiği

### **Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

**Prensip:** Doku homojenatında ve hemolizatlarda bulunan katalaz enziminin dışarıdan eklenen  $H_2O_2$ 'yi parçalaması ile 240 nm'de  $H_2O_2$ 'nin absorbansının zamana bağlı olarak azalmasının belirli bir aralıkta ölçülmesi esasına dayanır (32).

**Deney:** Eritrosit paketinden hazırlanan hemolizatlar ve karaciğer homojenatları pH 7 fosfat tamponu ile dilüe edilerek çalışma hemolizatları hazırlandı. Çalışma hemolizati üzerine  $H_2O_2$  solüsyonu eklenerek 240 nm'de 1 dakikadaki absorbans değişimi ölçüldü. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı.

Hemolizatların hemoglobin değerleri, dokuların protein miktarları ölçülerek sonuçlar eritrositlerde U/gr Hb, dokuda U/gr protein olarak ifade edildi.

### **Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

**Prensip:** Glutasyon peroksidaz enzimi varlığında NADPH'nin NADP'ye dönüşürken 340 nm'deki absorbansının zamana bağlı olarak azalmasının belirli bir aralıkta ölçülmesi esasına dayanır (33).

**Deney:** Eritrosit paketinden hazırlanan hemolizatlar pH 7 fosfat tamponu ile dilüe edildi. Eşit miktarda Drabkin's reaktifi ile karıştırıldı. Karışımdan 50 µl alınarak üzerine fosfat tamponu, NADPH, GSSG-R,  $NaN_3$ , GSH,  $H_2O_2$  eklenerek 340 nm'de 2. ve 4. dakikalar arasındaki absorbans değişimi ölçüldü. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı.

Hemolizatların hemoglobin değerleri ölçülerek sonuçlar U/gr Hb olarak ifade edildi.

### **Hemoglobin Ölçümü**

**Prensip:** Hemoglobin tayini, siyanomethemoglobin metoduna göre gerçekleştirildi. Metodun prensibi; hemoglobin molekülündeki +2 değerlikli demirin Drabkin's çözeltilisindeki ferrosiyaniür ile +3 değerliğe yükseltgenerek methemoglobine daha sonra potasyum siyaniür ile kararlı bir bileşik olan siyanomethemoglobine dönüşmesi ve oluşan siyanomethemoglobinin 540 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerinin ölçülerek Hb miktarının belirlenmesi esasına dayanır (34).

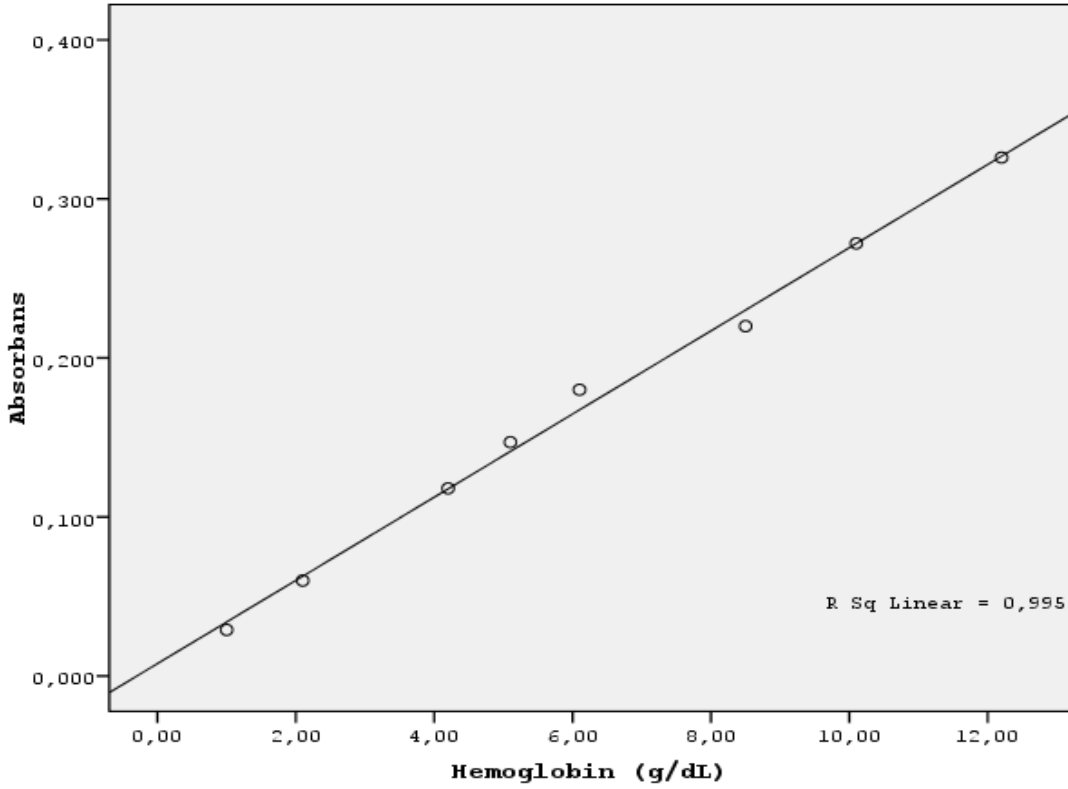
**Deney:** Drabkin's solüsyonu üzerine 20 µl tam kan eklendi, 2 dakika bekletildikten sonra 540 nm dalga boyunda absorbansı okundu.

Standart eğrinin hazırlanması için tam kan örneklerinden 1, 2.1, 4.2, 5.1, 6.1, 8.5, 10.1, 12.2 g/dL konsantrasyonlarında standart numuneleri hazırlandı ve yukarıdaki yöntemle göre

ikişer kez çalışılarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 9). Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki hemoglobün yoğunlukları hesaplandı.

Hemoglobün kalibrasyon eğrisinin denklemi:

$$y = 0.008 + 0.026x$$



Şekil 9. Hemoglobün standart grafiği

## HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda deney hayvanlarından elde edilen karaciğer dokularından kesitler alınarak rutin doku takibine alındı. Doku takibi sonrası parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler hematoxilen-eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre ve parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu açısından değerlendirildi.

Karaciğerlerin mikroskopik incelemesinde görülen yapısal değişikliklerin şiddetine göre skorlama yapıldı. Bu skorlamaya göre 0; hiçbir yapısal değişikliğin olmadığını, 1; hafif derecede, 2; orta derecede, 3; ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir (35).

## İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin istatistiksel değeriendirilmesi için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı'nda bulunan SPSS 20 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanıldı. Her grupta verilerin parametrik varsayımları yerine getirip getirmediğini incelemek için normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenliği testleri yapıldı. Gruplar önce Kruskal Wallis varyans analizi ve arkasından anlamlı bulunan parametreler Mann-Whitney U testi ile değeriendirildi. Elde edilen değerieler ortalama±standart sapma (Ort±SD) olarak ifade edildi ve  $p<0.05$ 'in altındaki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Histopatolojik değerişiklikler ise Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılarak değeriendirildi. Elde edilen değerieler yüzde (%) olarak ifade edildi,  $p<0.05$ 'in altındaki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Değerişkenlerin birbirleriyle ilişkisini ortaya koymak için ise Spearman's korelasyon analizi uygulandı.



## BULGULAR

Grupların serum ALT ve AST düzeyleri Tablo 3 ve Şekil 10’da görülmektedir.

**Tablo 3. Grupların serum ALT ve AST düzeyleri**

Gruplar	ALT (U/L)	AST (U/L)
Kontrol (n=10)	49.00±3.65	87.60±3.02
TH (n=10)	186.40±14.40 <sup>a***</sup>	284.70±18.05 <sup>a***</sup>
TH + L-Karnitin (n=10)	128.00±8.93 <sup>a***</sup> <sup>b***</sup>	232.70±13.06 <sup>a***</sup> <sup>b***</sup>
p <sup>#</sup>	0.000	0.000

**ALT:** Alanin aminotransferaz; **AST:** Aspartat aminotransferaz; **TH:** Toksik hepatit.

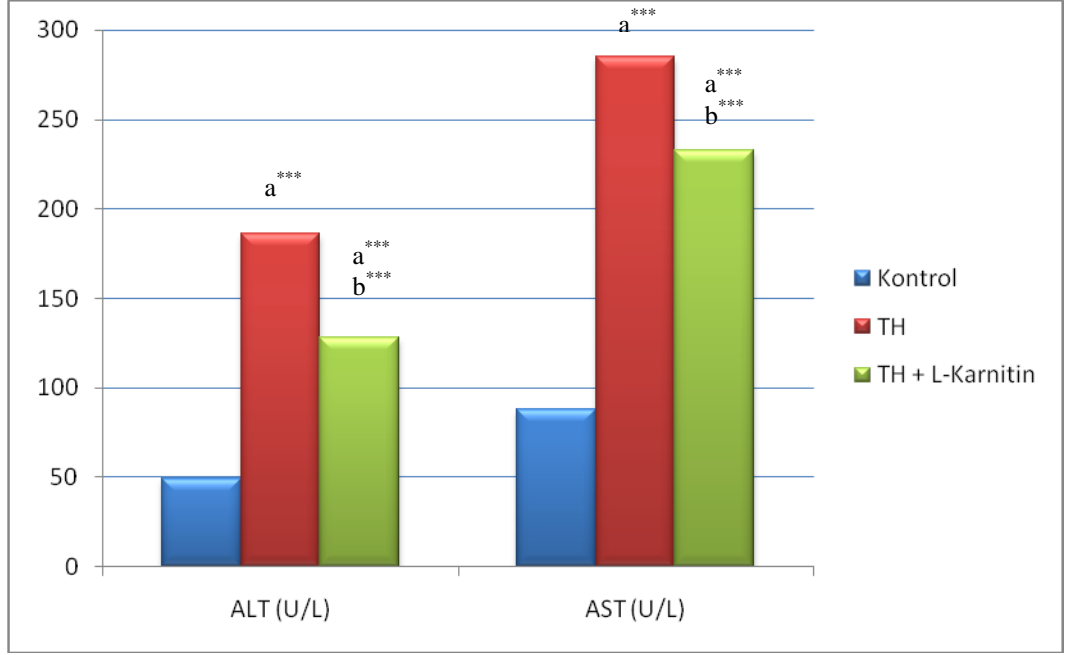
#: Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

b: Toksik hepatit grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

\*\*\*: p<0.001.

Toksik hepatit grubunda serum ALT ve AST düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı (ikisi de; p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunda serum ALT ve AST düzeylerinin TH grubuna göre azaldığı (ikisi de; p<0.001) saptanmıştır. Tedavi grubunda serum ALT ve AST düzeyinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek (ikisi de; p<0.001) olduğu görülmüştür.



\*\*\*:  $p < 0.001$ .

**Şekil 10. Grupların serum ALT ve AST düzeyleri**

Grupların plazma ve karaciğer MDA düzeyleri Tablo 4, Şekil 11 ve 12’de görülmektedir.

**Tablo 4. Grupların plazma ve karaciğer malondialdehid düzeyleri**

Gruplar	Plazma MDA (nmol/mL)	Karaciğer MDA (nmol/mg protein)
Kontrol (n=9)	2.97±0.22	2.86±0.29
TH (n=10)	6.79±0.54 a*	5.74±0.70 a***
TH + L-Karnitin (n=7)	5.44±0.57 a*** b*	4.79±0.24 a* b*
p <sup>#</sup>	0.000	0.000

**MDA:** Malondialdehid; **TH:** Toksik hepatit.

#: Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

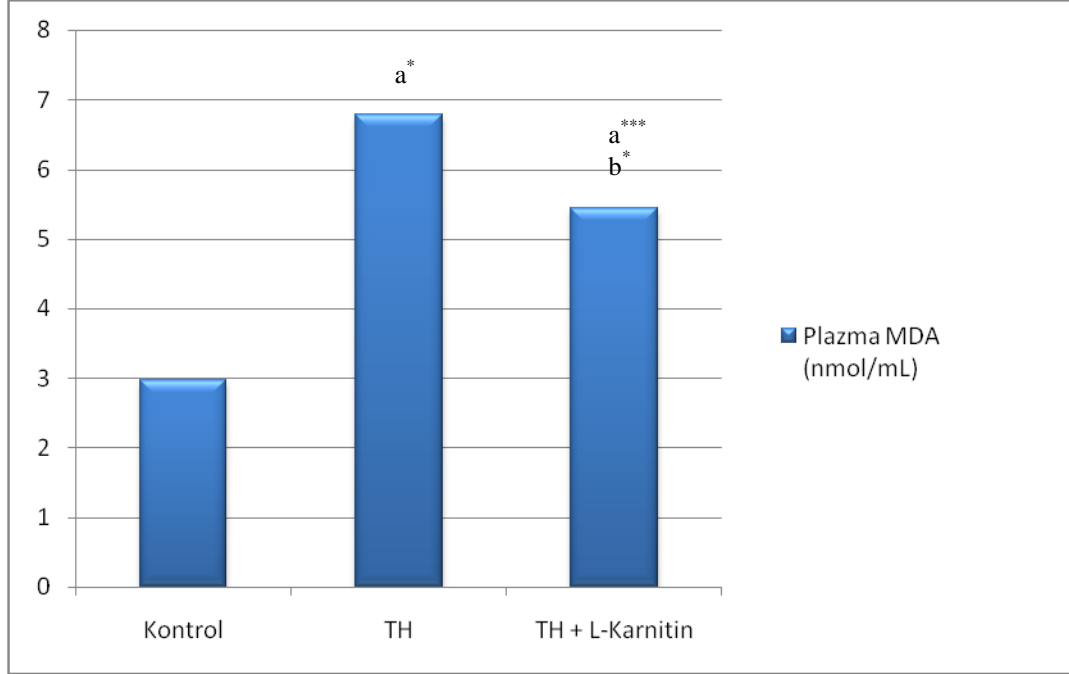
a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

b: Toksik hepatit grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

\*:  $p < 0.05$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ .

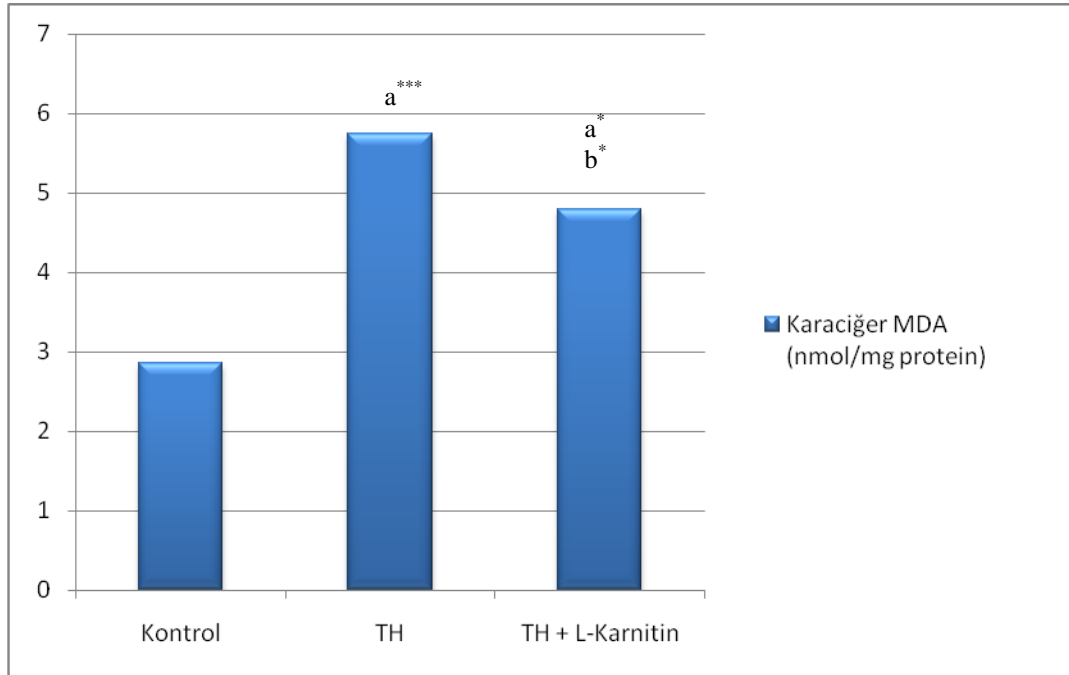
Toksik hepatit grubunda plazma ve karaciğer MDA düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı (sırasıyla;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ) görülmüştür. Tedavi grubunda plazma ve karaciğer MDA düzeyinin TH grubuna göre azaldığı (ikisi de;  $p < 0.05$ ) saptanmıştır. Tedavi

grubunda plazma ve karaciğer MDA düzeyinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek (sırasıyla;  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ) olduğu görülmüştür.



\*:  $p<0.05$ ; \*\*\*:  $p<0.001$ .

**Şekil 11. Grupların plazma MDA düzeyleri**



\*:  $p<0.05$ ; \*\*\*:  $p<0.001$ .

**Şekil 12. Grupların karaciğer MDA düzeyleri**

Grupların plazma Gc-globulin düzeyleri Tablo 5 ve Şekil 13'te görülmektedir.

**Tablo 5. Grupların plazma Gc-globulin düzeyleri**

Gruplar	Plazma Gc-globulin (ng/mL)
Kontrol (n=10)	107.76±5.06
TH (n=10)	55.81±7.16 a***
TH + L-Karnitin (n=10)	57.52±7.91 a***
p <sup>#</sup>	0.000

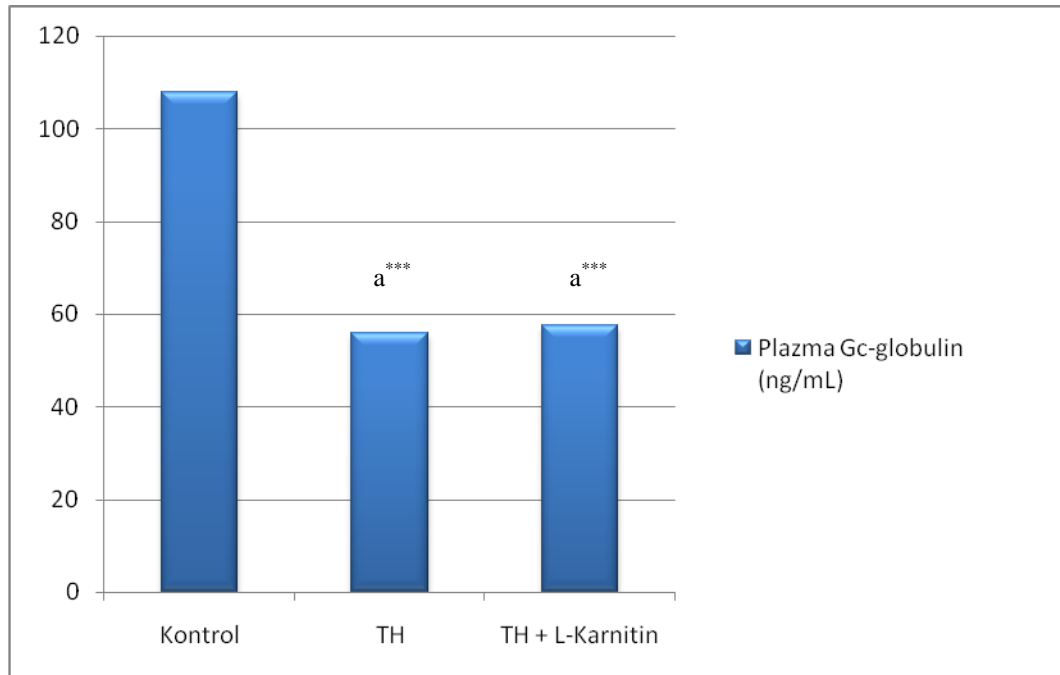
TH: Toksik hepatit.

#: Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

\*\*\*: p<0.001.

Toksik hepatit grubunda plazma Gc-globulin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunda plazma Gc-globulin düzeyinde TH grubuna göre bir anlam saptanmamıştır. Tedavi grubunda plazma Gc-globulin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük (p<0.001) olduğu görülmüştür.



\*\*\*: p<0.001.

**Şekil 13. Grupların plazma Gc-globulin düzeyleri**

Grupların tam kan ve karaciğer GSH düzeyleri Tablo 6, Şekil 14 ve 15'te görülmektedir.

**Tablo 6. Grupların tam kan ve karaciğer glutatyon düzeyleri**

Gruplar	Tam kan GSH ( $\mu\text{mol/L}$ eritrosit)	Karaciğer GSH ( $\text{nmol/mg}$ protein)
Kontrol (n=10)	30.51 $\pm$ 4.05	26.45 $\pm$ 3.75
TH (n=10)	26.29 $\pm$ 2.10 <sup>a*</sup>	20.00 $\pm$ 1.79 <sup>a*</sup>
TH + L-Karnitin (n=8)	29.69 $\pm$ 2.08 <sup>b*</sup>	24.31 $\pm$ 1.27 <sup>b*</sup>
p <sup>#</sup>	0.007	0.000

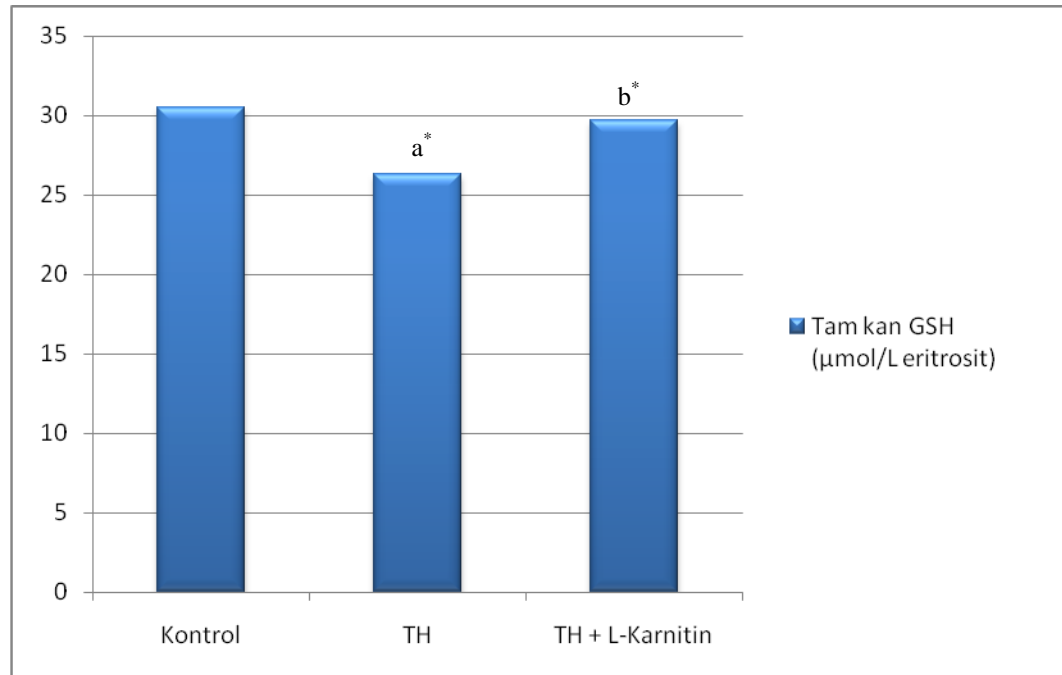
**GSH:** Glutatyon; **TH:** Toksik hepatit.

#: Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

b: Toksik hepatit grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

\*: p<0.05.

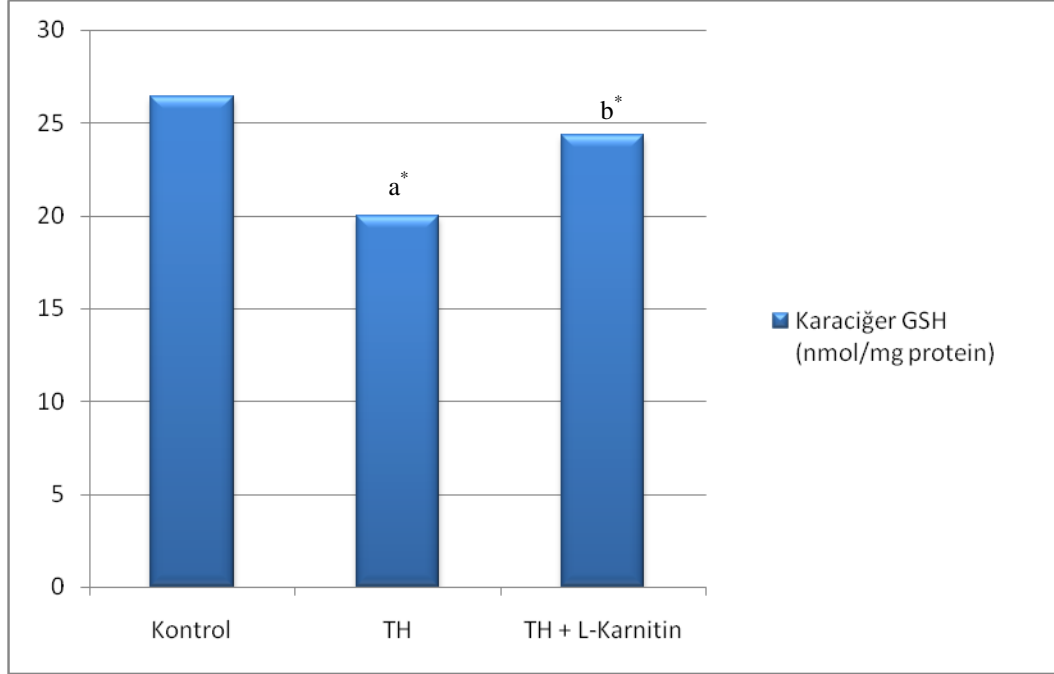


\*: p<0.05.

**Şekil 14. Grupların tam kan GSH düzeyleri**

Toksik hepatit grubunda tam kan ve karaciğer GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (ikisi de; p<0.05) görülmüştür. Tedavi grubunun tam kan ve

karaciğer GSH düzeylerinin TH grubuna göre arttığı (ikisi de;  $p<0.05$ ) görülmüşken, kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.



\*:  $p<0.05$ .

**Şekil 15. Grupların karaciğer GSH düzeyleri**

Grupların karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeyleri Tablo 7, Şekil 16, 17 ve 18’de görülmektedir.

**Tablo 7. Grupların karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeyleri**

Gruplar	Karaciğer katalaz (U/gr protein)	Eritrosit katalaz (U/gr Hb)	Eritrosit GPx (U/gr Hb)
Kontrol (n=10)	481.72±22.92	109.98±9.51	57.55±4.48
TH (n=10)	357.96±14.92 a***	80.21±4.34 a***	41.02±5.22 a***
TH + L-Karnitin (n=10)	422.62±21.09 a*** b***	88.91±7.09 a*** b*	48.58±3.47 a* b*
p <sup>#</sup>	0.000	0.000	0.000

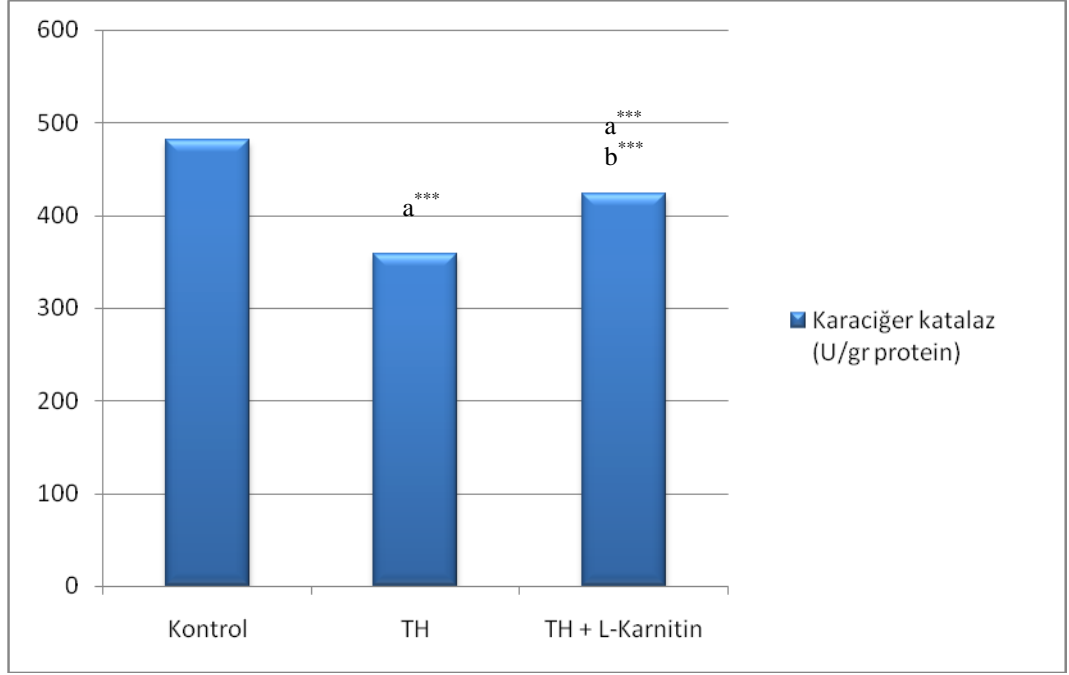
**GPx:** Glutasyon peroksidaz; **TH:** Toksik hepatit; **Hb:** Hemoglobin.

#: Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

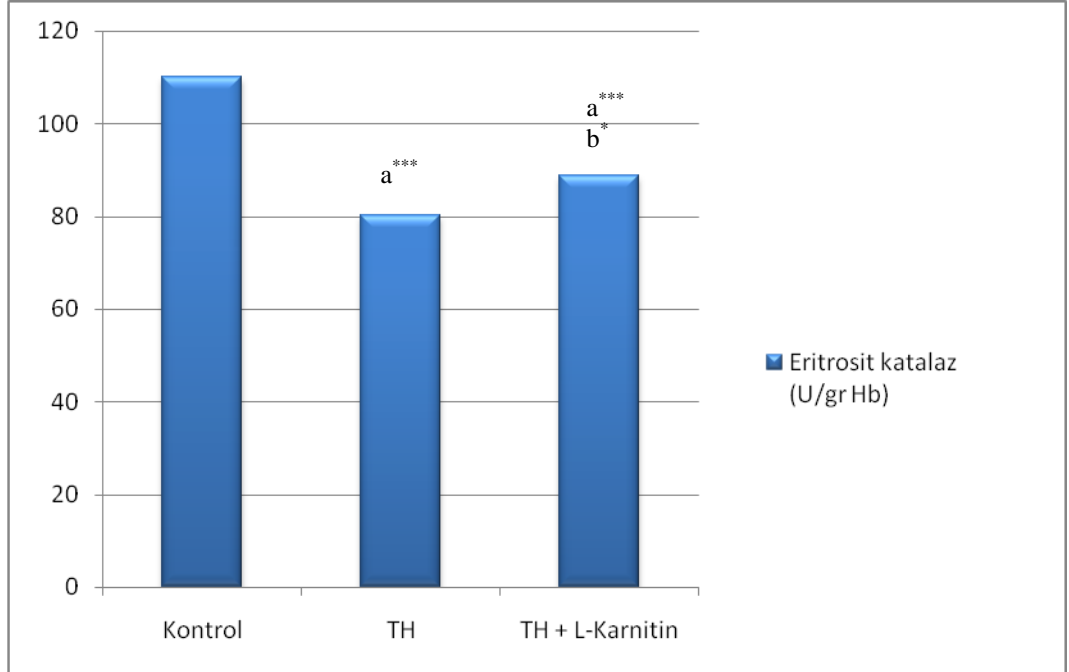
b: Toksik hepatit grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

\*:  $p<0.05$ ; \*\*\*:  $p<0.001$ .



\*\*\*:  $p < 0.001$ .

**Şekil 16. Grupların karaciğer katalaz aktivite düzeyleri**

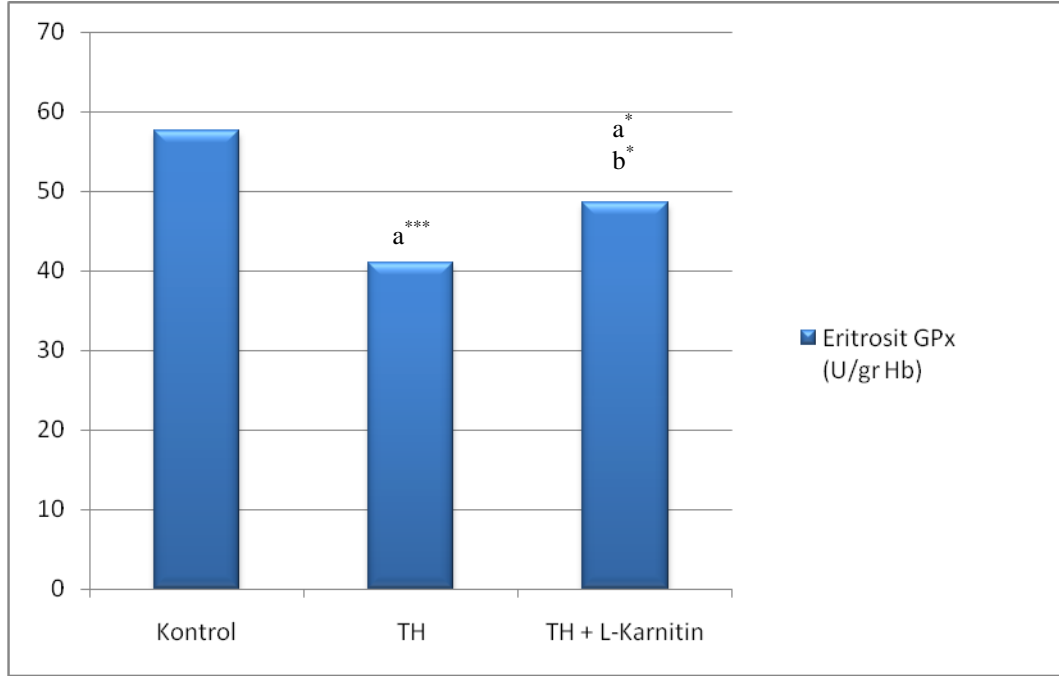


\*:  $p < 0.05$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ .

**Şekil 17. Grupların eritrosit katalaz aktivite düzeyleri**

Toksik hepatit grubunda karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (hepsi;  $p < 0.001$ ) görülmüştür. Tedavi grubunda karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeylerinin toksik

hepatit grubuna göre anlamlı derecede arttığı (sırasıyla;  $p<0.001$ ,  $p<0.05$  ve  $p<0.05$ ) görülürken, kontrol grubuna göre ise anlamlı derecede düşük (sırasıyla;  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ) olduğu saptanmıştır.



\*:  $p<0.05$ ; \*\*\*:  $p<0.001$ .

### Şekil 18. Grupların eritrosit GPx aktivite düzeyleri

Gruplarda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesi Tablo 8, Şekil 19, 20 ve 21’de görülmektedir.

Sinüzoidal dilatasyon skorlamasında kontrol grubunun % 90’ı 1, % 10’u 2 puan, toksik hepatit grubunun % 20’si 1, % 70’i 2, % 10’u 3 puan almışken; tedavi grubunda ise deneklerin % 60’ı 1, % 30’u 2, % 10’u 3 puan almıştır. Sinüzoidal dilatasyon açısından toksik hepatit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmışken ( $\chi^2$ : 9.98,  $p<0.05$ ), tedavi grubu ile arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Tedavi grubu ile kontrol grubu arasında da anlamlı bir fark görülmemiştir.

Nekrotik hücre skorlamasında kontrol grubunun % 80’i 1, % 10’u 2, % 10’u 3 puan, toksik hepatit grubunun % 10’u 1, % 80’i 2, % 10’u 3 puan olarak skorlanmışken; tedavi grubunda yer alan deneklerin % 70’i 1, % 30’u 2 puan almıştır. Toksik hepatit grubu ile kontrol ve tedavi grupları arasında nekrotik hücre skorlaması açısından anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla;  $\chi^2$ : 10.89,  $p<0.05$  ve  $\chi^2$ : 7.77,  $p<0.05$ ). Tedavi grubu ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir.



Parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu skorlamasında kontrol grubunun % 40'ı 0, % 30'u 1, % 30'u 2 puan, toksik hepatit grubunun % 70'i 2, % 30'u 3 puan, tedavi grubunun % 50'si 0, % 50'si 1 puan almıştır. Parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu şiddetinin toksik hepatit grubunda, kontrol ve tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı olduğu saptanmıştır (sırasıyla;  $\chi^2$ : 11.60, p<0.05 ve  $\chi^2$ : 20.00, p<0.001). Tedavi grubu ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir.

**Tablo 8. Gruplarda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesi (%)**

Bulgular	Skor	Kontrol (n=10)	TH (n=10)	TH + L-Karnitin (n=10)	$\chi^2$	P
<b>Sinüzoidal dilatasyon</b>	0	-	-	-	10.44	0.034
	1	90	20	60		
	2	10	70	30		
	3	-	10	10		
<b>Nekrotik hücre</b>	0	-	-	-	12.88	0.012
	1	80	10	70		
	2	10	80	30		
	3	10	10	-		
<b>Parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu</b>	0	40	-	50	22.82	0.001
	1	30	-	50		
	2	30	70	-		
	3	-	30	-		

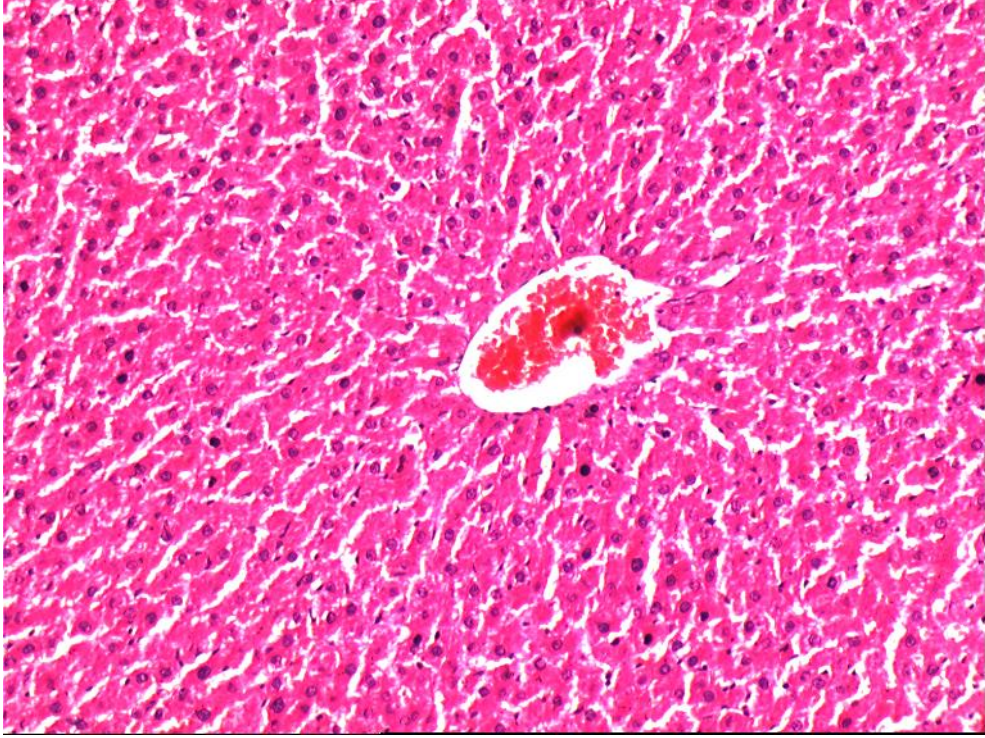
TH: Toksik hepatit.

$\chi^2$ : Ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.

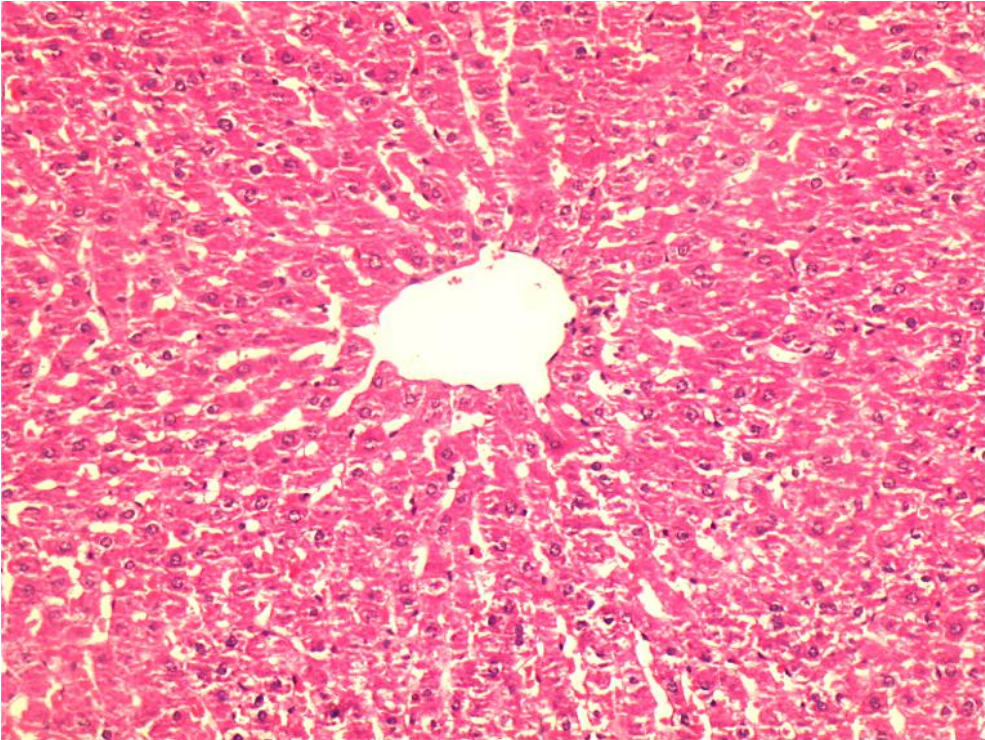
a: Kontrol grubu ile toksik hepatit grubunun karşılaştırması.

b: Tedavi grubu ile toksik hepatit grubunun karşılaştırması.

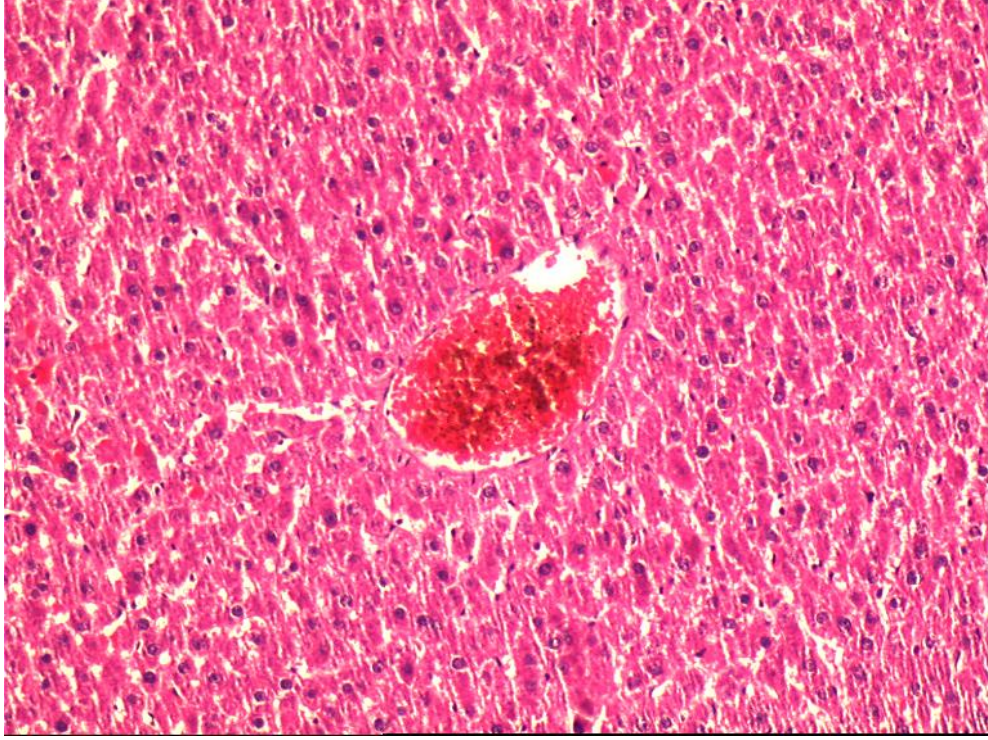
\*: p<0.05, \*\*\*: p<0.001.



**Şekil 19. Kontrol grubuna ait normal karaciğer dokusu (HE, X100)**



**Şekil 20. Toksik hepatit grubunda belirgin sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre, parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HE, X100)**



**Şekil 21. Tedavi grubunda azalmış sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre, parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HE, X100)**

Korelasyon analizlerinde, toksik hepatit grubunda; serum ALT ve AST arasında pozitif korelasyon ( $r: 0.829$ ,  $p: 0.003$ ), plazma Gc-globulin ile karaciğer katalaz arasında pozitif korelasyon ( $r: 0.891$ ,  $p: 0.001$ ), plazma MDA ile eritrosit GPx arasında negatif korelasyon ( $r: -0.786$ ,  $p: 0.036$ ), mikroskopide görülen nekrotik hücre ile karaciğer MDA arasında pozitif korelasyon ( $r: 0.707$ ,  $p: 0.033$ ) saptanmıştır. Tedavi grubunda ise; serum ALT ve AST arasında pozitif korelasyon ( $r: 0.903$ ,  $p: 0.000$ ), plazma MDA ile eritrosit GPx arasında negatif korelasyon ( $r: -0.786$ ,  $p: 0.036$ ), karaciğer katalaz ile eritrosit GPx arasında pozitif korelasyon ( $r: 0.855$ ,  $p: 0.002$ ) saptanmıştır.

Deney grubunda yer alan her bir hayvana ait tüm biyokimyasal parametreler Tablo 9'da görülmektedir.

**Tablo 9. Deneklerin her birinde saptanan biyokimyasal parametreler**

Grup	No	Htc	Tam kan GSH (umol/L/dL eritrosit)	Karaciğer GSH (nmol/mg protein)	Plazma MDA (nmol/mL)	Karaciğer MDA (nmol/mg protein)	Serum ALT (U/L)	Serum AST (U/L)	Plazma Gc-globulin (ng/mL)	Karaciğer katalaz (U/gr protein)	Eritrosit katalaz (U/gr Hb)	Eritrosit GPx (U/gr Hb)
Kontrol	1	43	26.21	32.38	2.72	2.92	53	90	105.23	502.34	118.42	59.15
	2	42	30.20	27.42	3.20	2.85	47	86	103.59	507.10	114.38	58.50
	3	41	31.66	26.89	-	3.03	52	88	106.73	494.38	119.83	65.87
	4	41	28.21	26.31	3.12	2.85	46	92	119.64	476.57	126.75	61.24
	5	39	36.44	26.15	3.32	2.56	44	82	112.36	457.11	97.12	52.69
	6	44	23.58	21.61	2.69	2.58	55	89	102.45	440.50	104.89	56.04
	7	41	34.30	24.47	2.88	3.20	51	91	105.09	487.79	102.50	56.02
	8	40	27.80	31.41	2.86	3.34	49	87	107.09	490.37	110.07	60.66
	9	41	34.30	-	2.84	-	45	85	105.77	503.48	102.94	50.49
	10	39	32.43	21.48	3.15	2.50	48	86	109.68	457.58	103.00	54.94
TH	1	44	25.44	17.32	6.23	5.29	171	283	51.50	340.38	74.88	41.91
	2	43	22.14	22.56	7.43	6.59	166	261	65.91	389.71	76.79	32.97
	3	36	28.82	19.54	6.15	4.87	206	307	63.73	369.49	80.88	41.92
	4	38	24.17	20.48	7.55	5.01	183	273	41.77	349.59	86.26	39.00
	5	41	25.76	20.18	6.59	6.38	178	267	55.00	351.09	81.87	47.31
	6	40	27.71	18.64	6.97	6.88	192	304	59.55	351.28	75.54	34.25
	7	41	25.31	19.45	-	5.69	183	269	60.86	367.90	77.31	45.59
	8	40	28.17	17.89	6.68	6.11	196	285	54.64	358.69	78.82	40.26
	9	40	27.43	21.52	-	5.14	210	313	55.68	360.43	87.52	48.82
	10	38	27.99	22.44	-	5.52	179	285	49.50	341.05	82.28	38.20
TH + L-Karnitin	1	40	29.66	-	-	-	141	254	62.32	440.45	81.95	45.55
	2	38	30.15	24.86	5.72	4.71	116	217	62.68	395.30	87.98	45.06
	3	38	29.17	24.83	5.55	4.78	115	209	44.86	434.91	100.80	55.52
	4	38	32.40	23.94	5.26	4.72	127	226	59.14	414.14	87.40	43.88
	5	36	32.96	24.29	6.06	-	136	238	49.23	451.69	95.41	50.56
	6	35	31.35	23.33	5.62	4.63	131	243	61.36	415.95	89.91	48.60
	7	42	-	24.12	-	4.71	121	229	51.82	404.35	74.50	46.31
	8	41	28.76	-	5.96	4.89	130	234	50.00	407.08	91.35	50.53
	9	41	-	-	-	4.00	138	241	65.86	407.64	90.64	49.75
	10	42	28.87	25.16	5.65	-	125	236	68.00	454.71	89.16	50.14

TH: Toksik hepatit; GSH: Glutatyon; MDA: Malondialdehid; Htc: Hematokrit; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotransferaz; GPx: Glutatyon peroksidaz.

Deney grubunda yer alan her bir hayvana ait karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesi Tablo 10’da görülmektedir.

**Tablo 10. Deneklerin her birine ait karaciğerlerin mikroskopik değerlendirme skorları**

Grup	No	Sinüzoidal dilatasyon	Nekrotik hücre	Parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu
<b>Kontrol</b>	1	1	1	1
	2	1	1	0
	3	1	1	0
	4	1	1	0
	5	1	1	2
	6	1	1	2
	7	2	3	2
	8	1	2	1
	9	1	1	1
	10	1	1	0
<b>TH</b>	1	1	1	2
	2	2	3	3
	3	2	2	2
	4	2	2	3
	5	2	2	3
	6	2	2	2
	7	2	2	2
	8	1	2	2
	9	2	2	2
	10	3	2	2
<b>TH + L-Karmifin</b>	1	1	2	0
	2	1	1	1
	3	2	1	0
	4	3	1	1
	5	1	1	0
	6	2	2	0
	7	2	1	1
	8	1	2	1
	9	1	1	0
	10	1	1	1

TH: Toksik hepatit.

## TARTIŞMA

Asetaminofen kaynaklı karaciğer toksisitesi, günümüzde akut karaciğer yetmezliğinin önde gelen sebeplerinden birini oluşturmaktadır. Asetaminofenin karaciğerde sitokrom P-450 sistemince metabolize edilmesi, reaktif bir metabolit olan ve hücre makromoleküllerine bağlanabilen NAPQI adlı toksik bileşiğin açığa çıkmasına yol açmaktadır. Fazla miktarda NAPQI üretimi ise karaciğerdeki glutasyon depolarında azalmayla sonuçlanmaktadır. Böylece hem serbest radikal oluşumu artmakta hem de hepatositler oksidatif hasara karşı duyarlı hale gelmekte ve sonuç olarak hücre hasarı gelişmektedir (36).

Deneysel toksik hepatit modeli oluşturmak için asetaminofen sıklıkla kullanılmaktadır. 250-1000 mg/kg asetaminofen dozunda hepatotoksisite ortaya çıkmaktadır (37-39). Bizim çalışmamızda da asetaminofen dozu 300 mg/kg olarak belirlendi. Karaciğer parankim hasarını göstermede serum ALT ve AST aktiviteleri kullanıldı. Asetaminofen ile oluşturduğumuz karaciğer hasarı sonucunda, serum ALT ve AST düzeylerini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p<0.001$ ) saptadık. Bu bulgumuz asetaminofen ile hepatosit hasarı oluşturarak, toksik hepatit modelini oluşturduğumuza işaret etmektedir. Bizim kullandığımız asetaminofen dozundaki çalışmalarda da serum ALT ve AST seviyelerinin yükseldiği görülmüştür (39-42). L-Karnitin, toksik hepatit grubuna göre tedavi grubunda serum ALT ve AST düzeyini anlamlı olarak düşürdüğünü ( $p<0.001$ ) saptadık. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatit modelinde L-Karnitin uygulamasının serum ALT ve AST seviyelerini azalttığı bildirilmiştir (43,44). Hepatosellüler hasar belirteci olan serum ALT ve AST sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda L-Karnitinin antioksidan etkileri araştırılmaktadır. Bir bileşiğin indirgeme kapasitesinin olması antioksidan etkinliğinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Farklı konsantrasyonlarda, L-Karnitin etkili bir indirgeme gücü olduğu gösterilmiştir. Geçiş metalleri arasında yer alan demir, yüksek reaktivitesi nedeniyle, protein ve lipid oksidasyonu için önemli bir prooksidan olarak bilinir. Demirin ferröz formu Fenton reaksiyonu ile reaktif serbest radikallerin oluşumuna neden olarak oksidatif stresi hızlandırır. L-Karnitin demir iyonları ile şelat oluşturabilir. L-Karnitin demir bağlama kapasitesi sayesinde protein oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu azaltabileceği söylenebilir. L-Karnitin etkili bir hidrojen peroksit ve süperoksit anyon radikal süpürücüsü olduğu gösterilmiştir (28). İnsan karaciğer hücre kültürü çalışmalarında L-Karnitin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen ROT artışını engellediği bildirilmiştir (45).

Asetaminofenin doku hasarına sebep olmasında lipid peroksidasyonunun yakından ilgisi olduğu ileri sürülmektedir. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte plazma MDA seviyesini inceleyen sadece iki çalışmaya rastladık (43,46). Bu çalışmalarda asetaminofen verilen grupta plazma MDA seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda TH grubunun plazma MDA seviyesinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek ( $p<0.05$ ) olduğunu saptadık.

Asetaminofen hepatotoksisitesinde literatürdeki çalışmalarda karaciğer dokusu MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir (44,47-49). Karaciğer hücre kültürlerinde çalışıldığında da asetaminofenin MDA düzeyini yükselttiği bildirilmiştir (50). Yaptığımız çalışmada asetaminofen ile oluşturduğumuz karaciğer hasarı sonucunda karaciğer MDA düzeyini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ( $p<0.001$ ) saptadık. Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte MDA düzeyinin yüksek bulunması, serbest radikaller ile oluşan lipid peroksidasyonunun sonuçlarından biridir. Bu sonuç toksik hepatitte oluşan doku hasarında serbest radikallerin ve oksidatif stresin rol aldığını düşündürmektedir. Artan lipid peroksidasyon ürünlerinden özellikle aldehidler oluştuğu yerde çeşitli biyomoleküllerle etkileşerek, bu biyomoleküllerin fonksiyonlarını etkileyebilirler. Terneus ve ark. (49) lipid peroksidasyon ürünlerinden ve aynı zamanda bir aldehid olan 4-hidroksinonenal molekülünün parasetamol uygulanan gruplarda karaciğer dokusu proteinlerine bağlandığını bildirmişlerdir. Literatürdeki bilgiler ışığında çalışmamızda gördüğümüz plazma ve karaciğer dokusu MDA düzeyinin yüksek olması; MDA'nın hem oluştuğu bölgede hem de uzak dokularda olumsuz etkilerini devam ettireceğini düşündürmektedir.

Çeşitli nedenlerle oluşan karaciğer hasarında L-Karnitin lipit peroksidasyonunu azaltarak serum MDA seviyesini düşürdüğü bildirilmiştir (51,52). Parasetamolün yol açtığı toksik hepatitte L-karnitin lipit peroksidasyonu üzerine etkilerini araştıran çok az çalışmaya rastladık (43,44). Yapar ve ark. (43) farelerde oluşturduğu akut asetaminofen toksisitesinde L-Karnitin, serumda artmış olan MDA seviyesini azalttığını bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda asetaminofen ile oluşturduğumuz karaciğer hasarında, L-Karnitin, tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre plazma MDA düzeyini anlamlı olarak azalttığını ( $p<0.05$ ) saptadık.

L-Karnitin çeşitli ajanlarla oluşturulan toksik hepatitte karaciğer dokusu MDA düzeyini azalttığı bildirilmiştir (53-55). Asetaminofen hepatotoksitesinde L-Karnitin, karaciğer dokusu MDA düzeyini azalttığını bildiren iki çalışmaya rastladık (43,44). Biz de çalışmamızda L-Karnitin, tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre karaciğer MDA düzeyini anlamlı olarak azalttığını ( $p<0.05$ ) saptadık. Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; L-Karnitin, asetaminofen ile indüklenen lipit peroksidasyonunu azalttığı görülmektedir. Tedavi grubunda MDA seviyesinin düşmesi, oksidan stres aracılı karaciğer ve uzak doku hasarının L-Karnitin ile azalabileceğine işaret etmektedir.

Son yıllarda karaciğer hastalıklarında Gc-globulin düzeyleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Schiødt ve ark. (56) yaptıkları çalışmada akut karaciğer hastalarında serum Gc-globulin seviyelerini sağlıklı insanlara göre daha düşük bulmuşlardır. Schiødt ve ark. (57) yaptığı başka bir çalışmada yüksek doz asetaminofen alan hastalarda serum Gc-globulin düzeylerini incelemiştir. Transaminaz düzeyleri 1000 U/L'den fazla olan hastaların serum Gc-globulin seviyelerinin, transaminaz düzeyleri 1000 U/L'yi aşmayan hastaların serum Gc-globulin seviyelerinden daha düşük olduğunu saptamışlardır. Hastalardan hepatik ensefalopati gelişenlerin serum Gc-globulin seviyelerinin diğer hastalardan daha düşük olduğunu saptamışlardır. Liu ve ark. (58) hepatit B kaynaklı karaciğer hasarı gelişen hastalarda serum Gc-globulin düzeylerinin sağlıklı insanlara göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Serum Gc-globulin düzeyi ile karaciğer hasarı arasında negatif bir ilişki olduğu görülmektedir. Literatürde asetaminofen verilerek oluşturulan deneysel toksik hepatit modellerinde Gc-globulin düzeyini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır, ayrıca literatürde L-Karnitin, Gc-globulin düzeyleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya da rastlamadık. Bu açıdan bizim çalışmamız bir ilki teşkil etmektedir. Yaptığımız çalışmada asetaminofen ile oluşturduğumuz karaciğer hasarı sonucunda, toksik hepatit grubunda plazma Gc-globulin düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.001$ ) saptadık. Bu bulgu



karaciğer hasarı olan hastalarda yapılan Gc-globulin düzeylerini gösteren çalışmalarla uyumludur. Bununla beraber tedavi grubunda plazma Gc-globulin seviyelerinin toksik hepatit grubundan farksız olduğunu gördük. Asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte oluşan hepatosit nekrozu, hücre iskeletinde yer alan aktinin dolaşıma geçmesine neden olmuştur. Dolaşımdaki monomerik aktine yüksek afinite ile bağlanan Gc-globulinler kompleksler oluşturarak aktini temizlemiş, Gc-globulinin plazma seviyeleri, toksik hepatit oluşturulan grupta düşmüştür. Tedavi grubunda Gc-globulinin toksik hepatit grubuna göre yükselmemiş olması bu grupta da karaciğer hasarı olduğuna işaret edebildiği gibi; parasetamol ile hasar oluşturduktan 24 saat sonra deneyi sonlandırdığımız için aktinlerle birleşerek sistemik dolaşımdan temizlenen Gc-globulinlerin yeniden üretimi için bu süre yetmemiş de olabilir.

Glutasyonun hücre sel bütünlüğü korumak ve hücre içi savunma hattına katkı sağlamak için önemli bir serbest radikal süpürücü yeteneğe sahip olduğu kabul edilmektedir. Hücre içi GSH'deki azalma tek başına hücre ölümüne neden olmayabilir, ancak GSH'nin tükenmesinin sitotoksisiteyi tetiklediği gösterilmiştir. GSH azalmasının reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve mitokondriyal disfonksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Asetaminofen kaynaklı hepatotoksistide, NAPQI adlı reaktif metabolitleri detoksifiye eden GSH'nin tükenmesinin, karaciğer hasarının başlamasında rolü olduğu düşünülmektedir (3,36). Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte tam kan GSH düzeyini inceleyen tek çalışmaya rastlanmıştır (43). Bu çalışmada tam kan GSH düzeyinin toksik hepatit oluşturulan grupta azaldığı, L-Karnitin uygulamasının tam kan GSH düzeyinde artış sağladığı bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan grupta tam kan GSH düzeyinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığını ( $p<0.05$ ), L-Karnitin verilen grupta ise toksik hepatit grubuna göre anlamlı olarak yükseldiğini ( $p<0.05$ ) saptadık.

Asetaminofen hepatotoksistesinde, literatürdeki çalışmalarda karaciğer dokusu GSH düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (40,41,59-61). Yaptığımız çalışmada asetaminofen ile oluşturduğumuz karaciğer hasarı sonucunda karaciğer GSH düzeyini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük ( $p<0.05$ ) saptadık. Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte artan serbest radikaller GSH düzeyinde tükenmeye neden olmaktadır. Bu durum, tükenen GSH nedeniyle antioksidan kapasitenin azaldığı ve oksidatif hasar gelişiminin önlenemediğini düşündürmektedir.

L-Karnitinin çeşitli ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında karaciğer dokusu GSH düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (51,53,62,63). Literatürde asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitin, karaciğer GSH düzeyi üzerine etkisini araştıran iki

çalışmaya rastladık (43,44). İki çalışmada da L-Karnitinin karaciğer GSH düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada L-Karnitin verilen tedavi grubunda karaciğer dokusu GSH düzeyini toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p<0.05$ ) saptadık. Sonuçlarımız, asetaminofen ile indüklenen toksik hepatit modelinde L-Karnitinin GSH düzeyini arttırarak serbest radikal aracılı oksidatif hasarı azaltabileceğini düşündürmektedir.

Artan oksidatif strese karşı SOD, katalaz ve GSH-Px gibi enzimler hücre içi antioksidan savunma mekanizmalarını oluştururlar. Sırasıyla; süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksitleri elimine eder ve serbest radikal oluşumunda zincir reaksiyonlarını önlerler. Literatürde rastladığımız; asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında eritrosit katalaz aktivite düzeyini araştıran tek çalışmada, eritrosit katalaz aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (46). Biz de yaptığımız çalışmada eritrositlerde katalaz aktivitesini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.001$ ) saptadık. Asetaminofen toksisitesinde L-Karnitin uygulamasının eritrosit katalaz aktivitesine etkisini araştıran bir çalışmaya ise rastlamadık. Yaptığımız çalışmamızda tedavi grubunda eritrosit katalaz aktivitesini toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p<0.05$ ) saptadık.

Literatürde asetaminofen hepatotoksitesisi üzerine yapılan çalışmalarda karaciğer dokusu katalaz aktivite düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (37-39,59,64). Biz de çalışmamızda toksik hepatit grubunda karaciğer dokusunda katalaz aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.001$ ) saptadık. Asetaminofen ile karaciğer toksisitesi oluşturularak, L-Karnitinin karaciğer katalaz aktivitesi üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya ise rastlamadık. Ancak; çeşitli ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitinin karaciğer katalaz aktivite düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (45,54,55,63,65). Bizim yaptığımız çalışmada karaciğer katalaz aktivitesini tedavi grubunda, toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p<0.001$ ) saptadık. Çalışmamız asetaminofen toksisitesinde L-Karnitinin eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi üzerine etkisinin araştırılmasında ilki teşkil etmektedir.

Literatürde asetaminofen ile oluşturulan hepatotoksitede eritrosit GPx aktivite düzeyini araştıran tek çalışmaya rastladık (46). Bu çalışmada asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında, eritrositlerde GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada eritrositlerde GPx aktivitesini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p<0.001$ ) saptadık. Literatürde asetaminofen ve diğer toksik ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitinin eritrosit

GPx aktivitesi üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bizim yaptığımız çalışmada tedavi grubunda eritrosit GPx aktivitesini toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p < 0.05$ ) saptadık. Araştırmamız toksik hepatit modelinde L-Karnitinin eritrosit GPx aktivitesi üzerine etkisini araştıran ilk araştırma olma niteliğini taşımaktadır.

Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; toksik hepatit oluşturulan grupta artan serbest radikaller nedeni ile hücre hasarı oluşmuştur. Hasar nedeni ile hücre içi antioksidan savunmada yer alan katalaz ve GPx gibi enzimlerin doku rezervleri kontrol grubuna göre azalmış olabilir. Toksik hepatit grubunda artmış olan MDA düzeyleri de membran lipidlerine zarar vererek hem hepatositlerde hem de eritrositlerde oluşan hasara katkıda bulunmuş olabilir. Toksik hepatit grubunda plazma MDA ile eritrosit GPx arasında saptadığımız negatif korelasyon ( $r: -0.786$ ,  $p: 0.036$ ) da bu düşüncemizi desteklemektedir. Toksik hepatit grubunda artan oksidatif stres eritrositlerde ve karaciğerde bulunan katalaz ve GPx enzimlerinde yapısal değişikliklere, fonksiyon kaybına veya bu enzimlerin sentezinde azalmaya neden olmuş olabilir. Yine toksik hepatit grubunda, eritrositlerde azalan GSH düzeyleri de, GPx enziminin kofaktörü olması nedeniyle, bu enzimin aktivite düzeyinde azalmaya sebep olmuş olabilir. Toksik hepatit grubunda katalaz ve GPx aktivitelerinin bu nedenlerle azaldığını düşünmekteyiz.

Cao ve ark. (66) oral yoldan verilen L-Karnitinin, sağlıklı bireylerde de plazma katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesini arttırdığını bildirmiştir. L-Karnitinin antioksidan enzimler olan katalaz ve GPx enzimlerinin aktivitesini arttırarak serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı azalttığını söyleyebiliriz. Tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre yüksek bulunan glutatyon düzeyleri de, GPx enziminin kofaktörü olması nedeniyle, bu enzimin aktivitesini arttırmada yardımcı olmuş olabilir. L-Karnitinin serbest radikal süpürücü özelliği sayesinde de antioksidan enzimleri oksidatif hasardan koruduğunu düşünmekteyiz. Tedavi grubunda saptadığımız plazma MDA ile eritrosit GPx arasındaki negatif korelasyon ( $r: -0.786$ ,  $p: 0.036$ ) da bu düşüncemizi desteklemektedir.

Literatürde asetaminofen hepatotoksitesisi üzerine yapılan çalışmalarda karaciğer dokusunun mikroskopik değerlendirmesinde sinüzoidal dilatasyon, nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlendiği bildirilmiştir (41,49,67). L-Karnitinin oluşan bu yapısal değişiklikleri azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (43,44). Biz de yaptığımız çalışmada toksik hepatit grubundaki karaciğer doku kesitlerinin mikroskopik incelemesinde belirgin sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre ve parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu gözledik. Toksik hepatit grubunda mikroskopide görülen nekrotik hücre ile karaciğer MDA

arasında saptadığımız pozitif korelasyon ( $r: 0.707$ ,  $p: 0.033$ ) oksidatif hasarın doku hasarı ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. L-Karnitin tedavisi verilen grupta toksik hepatit grubunda oluşan yapısal değişikliklerin azaldığını saptadık. Gruplarımızda saptadığımız transaminaz düzeyleri de histopatolojik bulgularımızı desteklemektedir.

Sonuç olarak asetaminofen ile oluşturulmuş toksik hepatit modelinde, 500 mg/kg dozundaki L-Karnitin uygulamasının, lipid peroksidasyonu ve oksidan stres aracılı karaciğer hasarını azaltmada başarılı olduğunu söyleyebiliriz. L-Karnitin asetaminofen kaynaklı hepatotoksisitede tedavi protokolüne eklenmesinin yarar sağlayacağını ummaktayız. Özellikle intihar amaçlı çok yüksek doz asetaminofen alan vakalarda meydana gelen toksik tesirlerin önlenmesinde yeterli tedavi stratejileri halen mevcut değildir ve bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

## SONUÇLAR

Asetaminofen ile toksik hepatit geliştirdiğimiz çalışma gruplarımızda oluşan oksidatif stresi ve L-Karnitin tedavisinin etkisini tam kan, plazma, eritrosit ve karaciğer üzerinde yaptığımız çalışmalarla değerlendirdik. L-Karnitinin lipid peroksidasyonu ve antioksidanlar üzerine etkisini tespit etmeyi hedefledik. Bu amaçla; tam kanda GSH, eritrositlerde katalaz, GPx, plazmada MDA, Gc-globulin, serumda ALT, AST, karaciğerde GSH, MDA, katalaz düzeylerini değerlendirdiğimiz ve histopatolojik inceleme yaptığımız çalışmamızda elde edilen sonuçlar şunlardır:

1. Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan grupta serum ALT ve AST aktivite düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
2. L-Karnitinin uygulanan tedavi grubunda serum ALT ve AST aktivite düzeyi toksik hepatit grubuna göre düşük bulundu.
3. Plazma ve karaciğer MDA düzeyi toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
4. Plazma ve karaciğer MDA düzeyi tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre düşük bulundu.
5. Toksik hepatit grubunda plazma Gc-globulin düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulundu.
6. Tedavi grubunda plazma Gc-globulin düzeyi, toksik hepatit grubuna göre yüksek bulundu.
7. Toksik hepatit grubunda tam kan ve karaciğer GSH düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulundu.

8. Tedavi grubunda tam kan ve karaciğer GSH düzeyi, toksik hepatit grubuna göre yüksek bulundu.
9. Eritrosit ve karaciğer katalaz aktivite düzeyi toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu.
10. Eritrosit ve karaciğer katalaz aktivite düzeyi tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre yüksek bulundu.
11. Toksik hepatit grubunda eritrosit GPx aktivite düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulundu.
12. Tedavi grubunda eritrosit GPx aktivite düzeyi toksik hepatit grubuna göre yüksek bulundu.
13. Toksik hepatit grubunda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesinde oluşan yapısal değişikliklerin kontrol grubuna göre daha yüksek yüzdelerle ifade edildiği bulundu.
14. Tedavi grubunda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesinde oluşan yapısal değişikliklerin toksik hepatit grubuna göre daha düşük yüzdelerle ifade edildiği bulundu.

Sonuç olarak bulgularımız asetaminofen ile geliştirilen toksik hepatitte antioksidan savunmanın azaldığını, lipid peroksidasyonunun arttığını ve oksidatif stresin oluştuğunu göstermektedir. L-Karnitin antioksidan etkileri sayesinde oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azalttığını söyleyebiliriz.

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı, asetaminofen ile ratlarda toksik hepatit oluşturarak, L-Karnitin tedavi edici etkinliğini araştırmaktır. Çalışmada 30 adet Wistar rat ortalama ağırlıkları eşit olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubu (n=10), toksik hepatit grubu (n=10), L-Karnitin grubu (n=10) şeklinde 3 grup oluşturuldu. Toksik hepatit ve L-Karnitin grubundaki sıçanlara asetaminofen sıcak salin içerisinde çözülerek 300 mg/kg tek doz intraperitoneal olarak verildi. L-Karnitin grubundaki sıçanlara L-Karnitin 500 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak asetaminofeni takiben 5 dk sonra tek doz verildi. Kontrol grubundaki sıçanlara ise asetaminofenle eş zamanlı intraperitoneal sıcak salin solüsyonu enjekte edildi.

Toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz düzeyi yüksek (ikisi de;  $p<0.001$ ), plazma ve karaciğer malondialdehid düzeyi yüksek (sırasıyla;  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ), plazma Gc-globulin düzeyi düşük ( $p<0.001$ ), tam kan ve karaciğer glutatyon düzeyi düşük (ikisi de;  $p<0.05$ ), eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi düşük (ikisi de;  $p<0.001$ ), eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesi düşük ( $p<0.001$ ) bulundu. Tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz düzeyi düşük (ikisi de;  $p<0.001$ ), plazma ve karaciğer malondialdehid düzeyi düşük (ikisi de;  $p<0.05$ ), tam kan ve karaciğer glutatyon düzeyi yüksek (ikisi de;  $p<0.05$ ), eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi yüksek (sırasıyla;  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ), eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesi yüksek ( $p<0.05$ ) bulundu. Plazma Gc-globulin düzeyinde ise anlamlı bir değişim görülmedi. Toksik hepatit grubunda oluşan nekrotik değişikliklerin tedavi grubunda azaldığı gözlemlendi.

Sonuç olarak bu çalışmada, L-Karnitin, asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda, lipid peroksidasyonu ve oksidan stres aracılı karaciğer hasarına karşı koruyucu

olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Asetaminofen, L-Karnitin, lipid peroksidasyonu, oksidan stres, antioksidanlar.



# **THE EFFECTS OF L-CARNITINE ON LIPID PEROXIDATION AND OXIDANT STRESS OF ACETAMINOPHEN INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS**

## **SUMMARY**

Aim of this study, toxic hepatitis in rats with acetaminophen, investigate the effects of L-Carnitine in the therapeutic. To be equal to the average weight of the study, 30 Wistar rats were divided into 3 groups. Control (n=10), toxic hepatitis (n=10), L-Carnitine group (n=10) in the form three groups created. Rats in groups toxic hepatitis and L-Carnitine to form an acute toxic hepatitis, acetaminophen dissolved in warm saline, 300 mg/kg was administered intraperitoneally at a single dose. Group L-Carnitine animals treated with the L-Carnitine 500 mg/kg as a single dose given intraperitoneally. Warm saline solution was injected intraperitoneally to animals in the control group.

Toxic hepatitis group than the control group with high levels of serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase (both;  $p<0.001$ ), malondialdehyde levels were higher in plasma and liver (respectively;  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ), plasma Gc-globulin level were lower ( $p<0.001$ ), whole blood and liver glutathione levels were lower (both;  $p<0.05$ ), erythrocyte and liver catalase activity were lower (both;  $p<0.001$ ), erythrocyte glutathione peroxidase activity were lower ( $p<0.001$ ). L-Carnitine group than the toxic hepatitis group decreased the levels of serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase (both;  $p<0.001$ ), malondialdehyde levels were lower in plasma and liver (both;  $p<0.05$ ), whole blood

and liver glutathione levels were higher (both;  $p < 0.05$ ), erythrocyte and liver catalase activity were higher (respectively;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ), erythrocyte glutathione peroxidase activity were higher ( $p < 0.05$ ). There was no significant change in the level of plasma Gc-globulin. Necrotic changes in the treatment group showed a decrease of toxic hepatitis group.

As a result of this study, L-Carnitine, acetaminophen in rats with toxic hepatitis, liver damage mediated by oxidative stress and lipid peroxidation were found to be protective.

**Key Words:** Acetaminophen, L-Carnitine, lipid peroxidation, oxidative stress, antioxidants.

## KAYNAKLAR

1. Lee WM, Seremba E. Drug-induced liver disease. In: Yamada T (Ed.). Textbook of Gastroenterology. 5<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2009. p.2167-84.
2. Benson GD, Koff RS, Tolman KG. The therapeutic use of acetaminophen in patients with liver disease. Am J Ther 2005;12(2):133-41.
3. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. Handb Exp Pharmacol 2010;(196):369-405.
4. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. Life Sci 2006;78(8):803-11.
5. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R (Çeviri: U Çevikbaş). Robins temel patoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 2010:631-75.
6. Dökmeci İ. Farmakoloji ilaçlar ve etkileri. İstanbul: Alfa Yayınları, 2007:309-10.
7. Tarantino G, Di Minno MN, Capone D. Drug-induced liver injury: is it somehow foreseeable? World J Gastroenterol 2009;15(23):2817-33.
8. Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2010;154(2):103-16.
9. Schiødt FV. Gc-globulin in liver disease. Dan Med Bull 2008;55(3):131-46.
10. Meier U, Gressner O, Lammert F, Gressner AM. Gc-globulin: roles in response to injury. Clin Chem 2006;52(7):1247-53.

11. Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 12. baskı. 2. cilt. Ankara: Pelikan Yayıncılık, 2009:849-50.
12. Brunton LL (Çeviri: Ö Süzer). Goodman & Gilman tedavinin farmakolojik temeli. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2009:693-5.
13. Anderson BJ. Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. *Paediatr Anaesth* 2008;18(10):915-21.
14. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *Am J Ther* 2005;12(1):46-55.
15. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 2006;12(3-4):250-75.
16. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol* 2006;141(2):312-22.
17. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007;2(2):219-36.
18. Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K, Heward C. Oxidative stress profiling: part II. Theory, technology, and practice. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1055:136-58.
19. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Newyork: Oxford University Press Inc, 2007:55-79.
20. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2010;42(10):1634-50.
21. Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta* 2008;390(1-2):1-11.
22. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160(1):1-40.
23. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2009;20(7):332-40.
24. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005;15(4):316-28.

25. Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2007;2(3):377-87.
26. Miller AF. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett* 2012;586(5):585-95.
27. Comhair SA, Erzurum SC. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid Redox Signal* 2005;7(1-2):72-9.
28. Calabrese V, Giuffrida Stella AM, Calvani M, Butterfield DA. Acetylcarnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *J Nutr Biochem* 2006;17(2):73-88.
29. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.
30. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963;61:882-8.
31. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265-75.
32. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-6.
33. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
34. Hoffman GC. Hematology. In: Faulkner WR, King JW (Eds). *Manuel of clinical laboratory procedures*. 2<sup>nd</sup> ed. Cleveland: Chemical Rubber Co; 1970. p.154-6.
35. Koçak A, Gökçimen A, Yılmaz N, Vural H. Değişik dozlardaki asetaminofenin karaciğer nitrik oksit sentaz enzimi üzerindeki etkisinin immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi. *Nobel Med* 2011;7(2):88-95.
36. Jaeschke H, McGill MR, Williams CD, Ramachandran A. Current issues with acetaminophen hepatotoxicity-A clinically relevant model to test the efficacy of natural products. *Life Sci* 2011;88(17-18):737-45.
37. Brown JM, Ball JG, Wright MS, Van Meter S, Valentovic MA. Novel protective mechanisms for S-adenosyl-L-methionine against acetaminophen hepatotoxicity: Improvement of key antioxidant enzymatic function. *Toxicol Lett* 2012;212(3):320-8.

38. More AS, Kumari RR, Gupta G, Kathirvel K, Lonare MK, Dhayagude RS et al. Effect of S-methylisothioureia in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2012;385(11):1127-39.
39. Iwalokun BA, Efedede BU, Alabi-Sofunde JA, Oduala T, Magbagbeola OA, Akinwande AI. Hepatoprotective and antioxidant activities of *Vernonia amygdalina* on acetaminophen-induced hepatic damage in mice. *J Med Food* 2006;9(4):524-30.
40. Terneus MV, Kiningham KK, Carpenter AB, Sullivan SB, Valentovic MA. Comparison of S-Adenosyl-L-methionine and N-acetylcysteine protective effects on acetaminophen hepatic toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;320(1):99-107.
41. Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biol Pharm Bull* 2008;31(8):1523-9.
42. Salminen WF, Yang X, Shi Q, Greenhaw J, Davis K, Ali AA. Green tea extract can potentiate acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 2012;50(5):1439-46.
43. Yapar K, Kart A, Karapehliyan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S et al. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Exp Toxicol Pathol* 2007;59(2):121-8.
44. Arafa HM. Carnitine deficiency: a possible risk factor in paracetamol hepatotoxicity. *Arch Toxicol* 2009;83(2):139-50.
45. Li JL, Wang QY, Luan HY, Kang ZC, Wang CB. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biomed Sci.* 2012;21:19-32.
46. Raja B, Mol SD. The protective role of vanillic acid against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacy Research* 2010;3(7):1480-4.
47. Hsu CC, Lin KY, Wang ZH, Lin WL, Yin MC. Preventive effect of *Ganoderma amboinense* on acetaminophen-induced acute liver injury. *Phytomedicine* 2008;15(11):946-50.
48. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective Effects from Carnosine and Histidine on Acetaminophen-Induced Liver Injury. *J Food Sci* 2009;74(8):259-65.
49. Terneus MV, Brown JM, Carpenter AB, Valentovic MA. Comparison of S-adenosyl-L-methionine (SAME) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. *Toxicology* 2008;244(1):25-34.

50. Kumari A, Kakkar P. Lupeol protects against acetaminophen-induced oxidative stress and cell death in rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol* 2012;50(5):1781-9.
51. Augustyniak A, Skrzydlewska E. L-Carnitine in the lipid and protein protection against ethanol-induced oxidative stress. *Alcohol* 2009;43(3):217-23.
52. Canbaz H, Akca T, Tataroglu C, Caglikulekci M, Dirlik M, Ayaz L et al. The effects of exogenous L-Carnitine on lipid peroxidation and tissue damage in an experimental warm hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Curr Ther Res Clin Exp* 2007;68:32-46.
53. Cetinkaya A, Kantarceken B, Bülbüloglu K, Kurutas EB. The effects of L- carnitine on cyclophosphamide-induced oxidative liver and intestinal damage in rats. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(5):1161-7.
54. Elsaid FG, Zeghiber FE. The effect of L-Carnitine on Sodium Valproate induced physiological disturbances in rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 2007;28:347-54.
55. Annadurai T, Vigneshwari S, Thirukumaran R, Thomas PA, Geraldine P. Acetyl-L-carnitine prevents carbon tetrachloride-induced oxidative stress in various tissues of Wistar rats. *J Physiol Biochem* 2011;67(4):519-30.
56. Schiødt FV, Bangert K, Shakil AO, McCashland T, Murray N, Hay JE et al. Predictive value of actin-free Gc-globulin in acute liver failure. *Liver Transpl* 2007;13(9):1324-9.
57. Schiødt FV, Ott P, Tygstrup N, Dahl B, Bondesen S. Temporal profile of total, bound, and free Gc-globulin after acetaminophen overdose. *Liver Transpl* 2001;7(8):732-8.
58. Liu H, Han T, Xiao SX, Li J, Lee J, Li Y et al. Plasma actin-free Gc-globulin in patients with chronic or acute-on-chronic liver failure caused by hepatitis B virus. *Gastroenterology Research* 2009;2(4):213-19.
59. Palani S, Raja S, Kumar BS. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Chloroxylon swietenia* (Rutaceae) On Acetaminophen Induced toxicity in Male Albino Rats. *Int J PharmTech Res* 2010;2(1):162-70.
60. Meotti FC, Rosa JM, Brocardo PS, Balz D, Waltrick AP, Bagio A et al. Protective effect of crude extract from *Wedelia paludosa* (Asteraceae) on the hepatotoxicity induced by paracetamol in mice. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(1):137-42.
61. Matsura T, Nishida T, Togawa A, Horie S, Kusumoto C, Ohata S et al. Mechanisms of protection by melatonin against acetaminophen-induced liver injury in mice. *J Pineal Res* 2006;41(3):211-9.

62. Ali SA, Faddah L, Abdel-Baky A, Bayoumi A. Protective effect of L-carnitine and coenzyme Q10 on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. *Sci Pharm* 2010;78(4):881-96.
63. Alshabanah OA, Hafez MM, Al-Harbi MM, Hassan ZK, Al Rejaie SS, Asiri YA et al. Doxorubicin toxicity can be ameliorated during antioxidant L-carnitine supplementation. *Oxid Med Cell Longev* 2010;3(6):428-33.
64. Kundusen S, Gupta M, Mazumder UK, Haldar PK, Panda SP, Bhattacharya S. Exploration of in vivo antioxidant potential of Citrus maxima leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Der Pharmacia Sinica* 2011;2(3):156-63.
65. Al-Rejaie SS, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Bakheet SA, Alsheikh A, Fatani AG et al. Progression of diethylnitrosamine-induced hepatic carcinogenesis in carnitine-depleted rats. *World J Gastroenterol* 2009;15(11):1373-80.
66. Cao Y, Qu HJ, Li P, Wang CB, Wang LX, Han ZW. Single dose administration of L-Carnitine improves antioxidant activities in healthy subjects. *Tohoku J Exp Med* 2011;224(3):209-13.
67. Liu WX, Jia FL, He YY, Zhang BX. Protective effects of 5-methoxypsoralen against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *World J Gastroenterol* 2012;18(18):2197-202.



## **EKLER**

# Ek 1

T.C.

## TRAKYA ÜNİVERSİTESİ


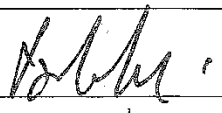
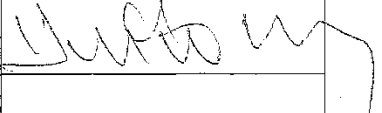
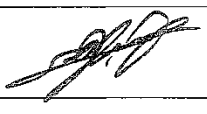
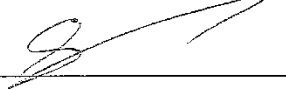

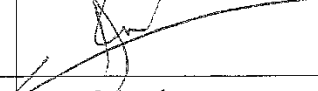
### HAYVAN DENEYLERİ VE ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 07

Karar Tarihi: 23.08.2011

KARAR NO: 2011.07.12

Yürüttüğü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK'ın yaptığı Araş. Gör. Dr. Özgür AKTAŞ'ın Tıpta Uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/52 protokol nolu "Asetaminofen ile Toksik Hepatit Oluşturulan Ratlarda L-Karnitin Lipid peroksidasyonu ve Oksidan Stres Üzerine Etkisi." başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	