

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**APAP İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINDA OZON
İLE L-KARNİTİN TEDAVİSİNİN KAN VE DOKU
ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİ İLE BİYOKİMYASAL
DEĞERLERE ETKİLERİ**

**Elif PALDIR
Fizyoloji Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU

2017- KARS

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**APAP İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINDA OZON
İLE L-KARNİTİN TEDAVİSİNİN KAN VE DOKU
ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİ İLE BİYOKİMYASAL
DEĞERLERE ETKİLERİ**

**Elif PALDIR
Fizyoloji Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU

2017- KARS

Bu Çalışma KAÜ Araştırma Fonu (Proje No: 2016-TS-86) tarafından desteklenmiştir.

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde ELİF PALDIR tarafından hazırlanmış olan “**Apap ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Ozon ile L-Karnitin Tedavisinin Kan ve Doku Antioksidan Parametreleri ile Biyokimyasal Değerlere Etkileri**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonucunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy **birliği**..... ile **kabul**.. edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/06/2017

Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Nesrin Sulu

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gözde Atıla

İmza



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..../.... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Duygu KAYA
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Asetaminofen (APAP) yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipiretik etkiye sahip bir ilaçtır. Reçetesiz elde edilebilmesi ve ucuz olması nedeniyle kullanımı yaygındır. Teröpatik dozlarda kullanımı güvenli olup, yüksek dozda alındığında ise ölüme neden olabilmektedir (Guggenheimer ve Moore 2011).

Erişkinlerin günlük alabilecekleri en yüksek APAP dozu 4 gr'dır. Erişkinlerdeki teröpatik dozu ise 500-1000 mg olup 4-6 saat arayla oral olarak verilebilir. Tek seferde; 150 mg/kg ve üzerinde alındığında toksik etki oluşturur, 300 mg ve üzerinde alındığında ise ölüme sebep olduğu bildirilmiştir (Lauterburg ve ark. 1983, Ranganathan ve ark. 2006, Erfidan 2016).

APAP'ın yüksek dozu hepatik ve renal hasara neden olmaktadır (James ve ark. 2003, Ozkaya ve ark. 2010). İlacın yüksek dozda kullanımına bağlı gerçekleşen yan etkilerin çoğunluğunu parasetamol toksisitesi oluşturmaktadır (Erfidan 2016). Batı ülkelerinde ilaç kullanıma bağlı zehirlenmelerde ilk sırada asetaminofen kullanımı olduğu rapor edilmiştir (Tucer 2015). Ülkemizde ise acil servise başvuran hastaların %59.6'sının ilaç zehirlenmesine bağlı olduğu ve bunların %43'ünü oluşturan kesimin ise kullandıkları analjezik ilaçlar nedeniyle başvurdukları belirtilmiştir (Erfidan 2016).

Karaciğerde metabolize edilen APAP, terapötik doz aralığında alındığında glukuronik asit ve sülfat konjugatlarıyla böbreklerden atılımı gerçekleşmektedir. (%5) bölümü ise karaciğerde sitokrom P450 (CYP450) enzimin etkisiyle N-acetyl-P-benzoquinoneimine (NAPQI) metabolitine dönüştürülür ve Glutatyon (GSH) ile vücuttan detoksifiye edilmektedir. APAP'ın yüksek dozda alımı NAPQI birikimine neden olmaktadır. Yüksek dozda APAP alındığında oluşan NAPQI birikimi ise karaciğer hasarına, NAPQI detoksifiye etmek için gerekli olan GSH depolarının azalmasına, antioksidan savunma mekanizmasının baskılanmasına neden olur. Böylelikle NAPQI vücuttan uzaklaştırılmaz ve birikimine bağlı hepatik toksisite oluşmaktadır (Yapar ve ark. 2007).

Oksidatif stres, antioksidan savunma ve serbest radikal oluşumu arasındaki dengenin bozularak serbest radikal oluşumunun artması veya antioksidan

savunmanın yetersiz kalması durumudur. Oksidatif stres APAP toksisitesinde önemli bir yere sahiptir. APAP'ın metabolize olması sonucu NAPQI'nun artması, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) oluşumunda artışla sonuçlanmaktadır. NAPQI oluşumu hücredeki GSH'ı okside ederek GSH ve GP_x enziminin azalmasını neden olmaktadır. Organizmada artan NAPQI'nun yüksek oksidatif etkisiyle oluşan tiyol oksidasyonu karaciğerdeki toksisitenin ana nedenidir (Bessems ve Vermeulen 2001).

Normal koşullarda hücrelerde bulunan enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar, serbest radikalleri belirli bir düzeyin altında tutarak neden oldukları oksidatif hasarları engellerler. Böylelikle hücreler serbest radikallerin etkilerinden ve lipid peroksidasyonundan korunurlar (Mates 1999).

Parasetamolün yüksek dozda alımıyla oluşan toksisitesinde en sık kullanılan tedavi N-asetilsistein (NAC) uygulamasıdır. (NAC) uygulamasının azalan GSH depolarını arttırdığı, hepatoksisiteyi önlediği ve koruyucu etkisi yapılan çalışmalarla onaylanmıştır (Köseoğlu ve Ersoy 2014). Fakat NAC'ın verilmesi durumunda bile hepatotoksisite gelişebilmektedir (Doyon ve Schwartz 2009).

Renksiz ve keskin kokulu bir gaz olan ozon, yüksek bir enerjinin etkisiyle havadaki oksijen molekülünün kararsız atomlarına ayrışması ve ayrılan bu kararsız atomların başka bir oksijen molekülüyle birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (Karaca 2006, Sevilgen 2009). Ozon/oksijen gaz karışımının uygulanması ozon terapi olarak tanımlanmaktadır (Bocci ve ark. 2011). Yapılan klinik çalışmalarda ozon terapinin peritonit, enfekte yaralar, kronik deri ülseri, yanıklar, ve iskemik hastalıklar gibi durumlarda yararlı olduğu belirtilmiştir.

Otohemoterapi yöntemiyle uygulanan oksijen/ozon karışımındaki ozon, çoklu doymamış yağ asitleri, antioksidanlarla ve tiyol bileşikleriyle reaksiyona girer. Bu bileşikler elektron donörü gibi davranarak oksitlenmeleri sonucunda reaktif oksijen türevleri olan hidrojen peroksit, süperoksit, lipid oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Ozonun biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için serbest radikallerin oluşması önemlidir. Çünkü; serbest radikaller kimyasal reaksiyonlarda bazen başlatıcı, gerektiğinde ise ara basamaklarda işe karışan ya da reaksiyon sonucunda ortaya

ıkan reaktif maddelerdir. Görüldüğü üzere ozon oksidatif etki oluşturarak serbest radikalleri artırması sonucunda serbest radikallerin etkilerine karşı canlılardaki antioksidan savunma sistemini harekete geçirmektedir (Kutlubay ve ark. 2010).

Organizmada sentezlenebilen L-karnitin, stoplazmadan mitokondriye taşınan uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrinin i zarından geebilmelerinde görev aldığı bildirilmiştir. İlk olarak Rus asıllı araştırmacılar Gulewitsch ve Krimberg tarafından 1905 yılında kas dokusundan izole edilmiş olan yapıya carnis (latince et anlamında) teriminden esinlenerek karnitin adı verilmiştir. 1952 yılında Tenebrio molitor adındaki un kurtlarının gelişmesinde etkili olduğu için vitamin benzeri etkisinden ötürü vitamin B_T olarak adlandırılmıştır (itil 2002, Tuna 2014).

Doğada bitkisel kaynaklı gıdalarda hayvansal kaynaklı gıdalara nazaran daha az bulunan L-karnitin kırmızı et, süt ürünlerinde ve tüm hayvansal kaynaklı gıdalarda bulunmaktadır. İnsan ve hayvanların vücudunda belirli bir miktarda L-karnitin üretilmektedir. Birçok etkiye sahip olan L-karnitin organizmada karbonhidrat ve yağların metabolizmasında da görev yapmaktadır. Bunların yanında sperm hareketliliğini artırır, bağışıklık sistemi, diyabet, yüksek tansiyon gibi birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır (Crenstil 2010, Taşbozan 2005). Antioksidan ve serbest radikalleri süpürücü etkiye sahip olan karnitinler serbest radikallerin geçişini azalmaktadır. Serbest radikallerin hücrede oluşturdukları zararlara karşı hücre membranını koruyarak hücresel hasarı önlemekte ve mitokondriyal hasarıda önleyerek enerji üretiminin artmasına yardımcı olmaktadır (Demircan 2012).

L-karnitin birçok etkiye sahip olmasından dolayı bilimsel olarak birçok çalışmada araştırma konusu olmaktadır. Yapılan alışmalar metabolik rolünün önemini ortaya koymaktadır. Yapacağımız deneysel çalışmada ise APAP ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda antioksidan etkilere sahip olan Ozon ve L-karnitinin ayrı ayrı ve beraber kullanımlarının karaciğer hasarında kan ve doku antioksidan parametreler ve biyokimyasal değerlerde nasıl bir etki oluşturacağını araştırmayı amaçladık.

Eđitimim ve çalışmam boyunca bana ışık neferi olan ve her konuda elinden gelen yardımı esirgemeyen, psikolojik olarak enerjimin dūřtūđu anlarda bana destek vererek azimle çalışmama katkı sağlayan sayın danışmanım Yrd. Doç. Dr. Hūseyin Avni Erođlu'na, çalışmamın başından sonuna kadar bana birçok konuda yardımını ve özverisini eksik etmeyen Arař. Gör. Mustafa Makav'a, patoloji çalışmalarımda Yrd. Doç. Dr. Yasemen Adalı'ya, değerli đretim Őyeleri Yrd. Doç. Dr. Gözde Atıla'ya, Arař. Gör. Volkan Gelen'e, her yardıma ihtiyaç duyduğumda yardımlarını hiç eksik etmeyen Dr. Öđr. Pelin şahin'e, laboratuvar çalışmalarımda ve birçok konuda yardımına koşan değerli dostum Canan Kumař'a, nbetlerimde her anlamda bana yardımcı olan ve desteklerini eksik etmeyen Digor İlçe Devlet Hastanesi'nde görev yapan sevgili dostlarım Hūlya Atalay, Esengül Kılıç'a, çok kıymetli arkadaşlarım ađla zsoy, zlem Kurter Gl, Serpil Vargün Binici ve tüm acil ekibine, engin bilgileriyle evirilerimde bana her zaman destek olan çok değerli arkadaşlarım Dr. Zehra Gamze Ateř'e, Dr. Dođukan Bayram'a, Aysun Tokgöz'e, Perihan şimşek'e, sıkıntılı anlarımda manevi desteklerini hiç eksik etmeyen dostlarım Seda Akyn, Yeřim Karadeniz, Būřra ztrk ve Kübra Yıldız'a, ilaç teminimizde bize yardımcı olan Atabay Kimya Sanayi ve Ticaret Anonim şirketine, lisans eğitimimde engin bilgileriyle eğitimimi tamamlamama vesile olan KT'nn saygı değer çok değerli hocalarıma, bütün eğitim-đretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini sonuna kadar kullanarak her zaman benim için ellerinden gelenin en iyisini yapan canım Annem, Babam, Abim ve Kardeřlerime, çalışmamın en başından sonuna kadar benim bütün sıkıntılarımı paylaşan ve her daim yanımda olarak destek veren sevgili hayat arkadaşım Berkan Paldır'a ve ailesine, her karış toprağı Aziz şehitlerimizin kaniyla kazanılmış bu güzel vatanım Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kısaltmalar ve Simgeler	I
Şekiller Dizini	V
Resimler Dizini	VI
Tablolar Dizini	VII
Özet	VIII
Summary	X
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Karaciğer Anatomisi	1
1.2. Karaciğer Histolojisi	1
1.3. Karaciğer Fizyolojisi	4
1.3.1. Karaciğer Enzimleri	5
1.3.2. Karaciğer Hastalıkları	6
1.3.2.1. Hepatitler	6
1.3.2.2. Akut Viral Hepatitler (AVH)	6
1.3.2.3. Fulminan karaciğer yetmezliği (FKY)	7
1.3.2.4. Kronik Viral Hepatitler	7
1.3.2.5. Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı	8
1.3.2.6. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı	8
1.3.2.7. Karaciğer Sirozu	8
1.4. Asetaminofen (APAP)	9
1.4.1. Asetaminofen Tarihçesi	9
1.4.2. Asetaminofenin Kimyasal Yapısı	9
1.4.3. Asetaminofenin Etki Mekanizması	10
1.4.4. Asetaminofenin Yan Etkileri	10
1.4.5. Asetaminofenin Metabolizması ve Toksisitesi	12
1.5. Karaciğerde İlaçların Biyotransformasyonu	15
1.5.1. Sitokrom P450 Enzim Sistemi	17
1.6. APAP ile Oluşturulan Karaciğer Toksisitesinde Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	18

1.6.1.	Oksidatif Stres	18
1.6.2.	Serbest Radikaller	18
1.6.2.1.	Serbest Radikal Türleri	20
1.6.3.	Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları	22
1.6.3.1.	Biyolojik Kaynaklar	22
1.6.3.2.	İntraselüler Kaynaklar	22
1.6.4.	Serbest Radikallerin Organik Moleküller Üzerine Etkileri	23
1.6.4.1.	Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi	23
1.6.4.2.	Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi	23
1.6.4.3.	Protein Metabolizması Üzerine Etkisi	23
1.7.	Antioksidanlar	24
1.7.1.	Enzim Yapısındaki Antioksidanlar	24
1.7.2.	Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar	26
1.8.	Ozon Gazı (O ₃)	27
1.8.1.	Ozon Gazının Tarihçesi	27
1.8.2.	Ozon Gazının Özellikleri ve Oluşum Mekanizması	27
1.8.3.	Ozon Tedavisi ve Etki Mekanizması	28
1.9.	L–Karnitin ve Tarihçesi	30
1.9.1.	L-Karnitinin Yapısı ve Özellikleri	31
1.9.2.	L-Karnitinin Doğadaki Kaynakları	32
1.9.3.	L-Karnitinin Biyosentezi	33
1.9.4.	L- Karnitin Emilimi	35
1.9.5.	L-Karnitin Metabolik Görevleri	35
1.9.5.1.	Uzun Zincirli Yağ Asitlerinin Mitokondriye Taşınması	36
1.9.5.2.	Kısa ve Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Mitokondriden Taşınması	37
1.9.5.3.	KoA Havuzunun Tamponu ve Açıl Gruplarının Detoksifikasyonu	37
1.9.5.4.	Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri	38
1.9.5.5.	Protein Metabolizmasına Etkileri	38

1.9.5.6.	L-Karnitin ve Antioksidan Savunma	39
1.9.5.7.	Metabolizmada L-Karnitin Eksikliği	41
1.9.6.	L-Karnitinin Kullanıldığı Alanlar	41
2.	MATERYAL VE METOD	42
2.1.	Materyal	42
2.1.1.	Çalışmada Kullanılan Aletler	42
2.1.2.	Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	42
2.2.	Metod	43
2.2.1.	Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	44
2.2.2.	Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	45
2.2.3.	Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değişikliklerin Belirlenmesi	45
2.2.4.	MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	45
2.2.5.	Total Oksidan (TOS) Test Kiti	46
2.2.6.	Total Antioksidan (TAS) Test Kiti	47
2.2.7.	Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Ölçümü	48
2.2.7.1.	GGT, AST, ALT düzeylerinin belirlenmesi	48
2.2.8.	Asetaminofenin Hazırlanması	48
2.2.9.	Ozon Gazının Hazırlanması	48
2.2.10.	L-Karnitin Hazırlanması	48
2.2.11.	İstatistiksel Analiz	48
3.	BULGULAR	49
3.1.	Karaciğer Dokusundaki Histopatolojik Bulgular	49
3.2.	MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	57
3.3.	Grupların AST Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	59
3.4.	Grupların ALT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	60
3.5.	Grupların GGT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	61
3.6.	Grupların Total Antioksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler (TAS)	62
3.7.	Grupların Total Oksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler (TOS)	64

4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	66
5.	KAYNAKLAR	82
6.	ÖZGEÇMİŞ	90



KISALTMALAR ve SİMGELER

°C	Santigrat
¹O₂	Singlet Oksijen
AcyI	Açıl
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
APAP	Asetaminofen
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
AVH	Akut Viral Hepatitler
B₁₂	Kobalamin
B₆	Pridoksin
C	Karbon Atomu
Ca	Arteriyel İlaç Konsantrasyonu
CAT	Katalaz
CH₃	Metil radikali
CMV	Sitomegalo-virüs
COOH	Karboksilik Asit
COX	Siklooksijenaz
Cu⁺²	Bakır
Cu-Zn SOD	Bakır-Manganez Süperoksit dismutaz
Cv	Venöz İlaç Konsantrasyonu
CYP	Sitokrom P450
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E	Ekstraksiyon
e⁻	Elektron
EBV	Ebstein-Barrvirüs
E_H	Hepatik ekstraksiyon oranı
Fe⁺²	Ferröz Demir

Fe⁺³	Ferrik Demir
FKY	Fulminan karaciğer yetmezliği
GGT	Gama Glutamil Transpeptidaz
GP_x	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
Gr	Gram
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Glutathione disulfide
H⁺	Proton
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
H₂O	Su
HAV	Hepatit A virüsü
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
HDV	Hepatit D virüsü
HEV	Hepatit E virüsü
HGV	Hepatit G virüsü
HO₂	Hidroperoksit
HOCl	Hipokloröz Asit
HT	Otohemoterapi
KAT	Asetiltransferaz
Kg	Kilogram
KH	Kronik hepatit
KL_H	Hepatik Klerens
KoA	Koenzim A
KPT I	L-karnitin-palmitoil transferaz I
KPT II	L-Karnitin- Palmitoil Transferaz II
KT	Translokaz Enzimi
L	Litre
L(R)OOH	Hidroperoksid
L00	Lipit Peroksil Radikali

LOOH	Lipid Peroksitler
LOP	Lipit Oksidasyon Ürünleri
MDA	Malondialdehid
MEL	Melatonin
ML	Mililitre
Mn⁺²	Mangan
Mo⁺³	Molibden
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
N	Azot
N₂O₂	Nitrojen Dioksit
NAC	N-Asetil Sistein
NaCl	Sodyum Klorür
NADP⁺	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen
NAPQI	N-asetil-p-benzokinonim
NASH:	Non-alkolik steatohepatit hastalığı
NAYKH	Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂	Oksijen molekülü
O₂⁻	Süperoksit Anyonu
O₃	Ozon
OH⁻	Hidroksil Radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
ONOO[•]	Peroksinitrit
PDH	Pürivat Dehidrogenaz
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
QH	Hepatik kan akımı
ROO⁻	Peroksil Radikali
RO	Alkoksil
RO₂	Peroksil
ROH	Hidroksil

ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SH	Sülhidrid grubu
SOD	Süperoksit Dismutaz
T	Tenebrio molitor
TAS	Total Antioksidan Düzeyi
TBA	Tiyobarbitürk asit
TCA	Trikarboksilik Asit
TOS	Total Oksidan Düzeyi
TTV	Transfusion Transmitted Virus
ug	Mikrogram
UV	Ultra viyole
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
Zn	Çinko
μmol	Mikromol

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 1.	Karaciğer Hücresi	2
Şekil 2.	Asetaminofenin Moleküler Yapısı	9
Şekil 2.1.	Parasetamol Molekülünün Üç Boyutlu Görüntüsü	10
Şekil 3.	Plazma Asetaminofen Düzeyinin Zamana Bağlı Değişimi İle Karaciğer Hasarı İlişkisi	12
Şekil 4.	Karaciğerde Asetaminofen Mekanizması	13
Şekil 5.	Ozon Molekülünün Oluşumu	28
Şekil 6.	L-karnitin (L-3- hidroksi 4-N-trimetilamino bütürat)	31
Şekil 7.	L-Karnitin Biyosentezindeki Reaksiyon Aşamaları	34
Şekil 8.	Sitozolden mitokondri içerisine aktif yağ asitlerinin taşınmasında görev alan L-karnitin fonksiyonu	37
Şekil 9.	Grupların Serum MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	57
Şekil 10.	Grupların Doku MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	58
Şekil 11.	Grupların Serum AST Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	59
Şekil 12.	Grupların Serum ALT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	60
Şekil 13.	Grupların Serum GGT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	61
Şekil 14.	Grupların Serum Total Antioksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	62
Şekil 15.	Grupların Doku Total Antioksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	63
Şekil 16.	Grupların Serum Total Oksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	64
Şekil 17.	Grupların Doku Total Oksidan Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	65

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 1. Grup 1. Morfolojik limitlerde karaciğer dokusu	51
Resim 2. Grup 2. Ozon grubu portal alan	52
Resim 3. Grup 3. L-karnitin konjesyone damarlar	52
Resim 4. Grup 4. Ozon_L-karnitin konjesyone damarlar	53
Resim 5. Grup 5. APAP toksisitesi grubu kanama ve nekroz	53
Resim 6. Grup 5. APAP toksisitesi grubu kanama ve nekroz	54
Resim 7. Grup 6. APAP_Ozon grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu alanlar	54
Resim 8. Grup 6. APAP_Ozon grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu ve devam ettiği alanlar	55
Resim 9. Grup 7. APAP_L-karnitin grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu ve devam ettiği alanlar	55
Resim 10. Grup 8. APAP_Ozon_L-karnitin grubu, kanama alanları	56
Resim 11. Grup 8. APAP_Ozon_L-karnitin grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu ve devam ettiği alanlar	56

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Bazı ilaçların ve metabolitlerin hepatik ekstraksiyon oranları	16
Tablo 2. Bazı serbest radikaller	19
Tablo 3. Medikal ozon uygulaması sonrası ortaya çıkan temel biyolojik etkiler	30
Tablo 4. Bazı besinlerin ham maddelerinde bulunan doğal L-karnitin içerikleri	33



ÖZET

Bu çalışmada, asetaminofen ile tetiklenen deneysel karaciğer hasarı olan sıçanlarda ekzojen olarak verilen ozon ve L-karnitin maddelerinin kan ve doku antioksidan parametreleri ve biyokimyasal değerler üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Bu amaçla, ağırlıkları 190 ile 250 gr arasında değişen, her grupta 7 adet olmak üzere toplam 8 gruptan oluşan 56 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Kontrol ve ozon, L-karnitin, Ozon_L-karnitin kontrol gruplarına asetaminofen uygulanmadı; Deneysel grupta hepatotoksisite, 1 gr/kg'lık bir dozda asetaminofen oral olarak uygulanarak indüklendi. Hepatotoksisite ile oluşturduğumuz hayvanlar APAP kontrol ve intraperitoneal madde olarak APAP_Ozon, APAP_L-karnitin, APAP_Ozon_L-karnitin uygulanan gruplar olarak ayrıldı. Bütün gruplar 24 saat boyunca ad libitum beslendi. Çalışma sonunda elde edilen örneklerin MDA, TOS, TAS düzeyleri spektrofotometre ile belirlendi ve serum AST, ALT, GGT düzeyleri otoanalizör ile ölçüldü. Asetaminofen uygulamamızın serum MDA, GGT ($p<0.05$) serum TOS, ALT ($p<0.001$), AST ($p\leq 0.001$), ve doku MDA, TOS ($p<0.001$) parametrelerini artırırken, doku ve serum TAS düzeylerinde ise istatistiksel olarak azalma meydana getirdiği tespit edildi ($p<0.05$). APAP_ozon uygulamamızın serum MDA ($p<0.001$), TOS ($p<0.001$), GGT ($p<0.05$), AST ve ALT ($p\leq 0.001$) ile doku MDA ve TOS ($p<0.05$) parametrelerini düşürdüğü, doku TAS ($p<0.05$) değerini ve serum TAS değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edildi ($p<0.01$). APAP_L-karnitin uygulamamızın serum MDA, AST, GGT, TOS ($p<0.05$), ALT ($p\leq 0.001$), ve doku MDA ($p<0.001$), TOS ($p<0.05$) seviyelerini düşürdüğü, doku TAS ($p<0.05$) değerini ve serum TAS değerini APAP_ozon grubuna benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı saptandı ($p<0.001$). APAP_Ozon_L-karnitin uygulamamızın serum MDA, ALT ($p\leq 0.001$), TOS ($p<0.001$), AST, GGT ($p<0.05$) seviyelerini ve doku MDA ($p<0.001$), TOS ($p<0.05$) seviyelerini düşürdüğü, doku TAS ($p<0.05$) değerini ve serum TAS değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edildi ($p<0.001$).

Histopatolojik incelemelerde, kontrol grubunun karaciğerinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi. Ancak APAP ile toksikasyon oluşturulan hayvanların karaciğer dokularında diffüz olarak yaygın olan orta ve şiddetli düzeyde hücresel hasar, yer yer nekroz ve hemoraji alanları, vasküler konjesyon meydana geldiği gözlemlendi. Çalışmamızda kullandığımız Ozon, L-Karnitin, Ozon_L-karnitin maddelerinin APAP ile indüklenen karaciğer toksikasyonu sonucu oluşan histopatolojik karaciğer hasar bulgularında yer yer azalma ve rejenerasyona neden oldukları saptandı.

Sonuç olarak; APAP'ın neden olduğu akut karaciğer toksikasyonunda antioksidan özelliklere sahip olan Ozon, L-karnitin ve Ozon_L-karnitin kullanımlarının karaciğer dokusunda tedavi edici etkinlikleri tespit edildi. Ozon, L-karnitin ve Ozon_L-karnitin'in bu koruyuculuğu lipid peroksidasyonunu ve oksidan düzeylerini düşürmeleri yanında antioksidan enzim düzeylerini önemli düzeyde artırdıkları aynı zamanda karaciğer enzimlerinin kan dolaşımına geçişlerini engelleyerek enzim düzeylerinin düşük seviyede kalmalarını sağlayarak etkili oldukları kanaatine varıldı.

SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the effects of exogenously given ozone and L-carnitine substances on blood and tissue antioxidant parameters and biochemical values in rats with experimental liver injury induced by acetaminophen.

For this purpose, a total of 56 female Wistar Albino rats weighing between 190 and 250 gr were used, consisting of 8 groups, each group has 7 rats. Control and ozone, L-carnitine, Ozone_L-carnitine control groups were not administered acetaminophen; Hepatotoxicity was induced in the experimental group by oral administration of acetaminophen at a dose of 1 gr/kg. The animals we formed with hepatotoxicity were classified as APAP control and intraperitoneal substance given groups as APAP_Ozone, APAP_L-Carnitine, APAP_Ozone_L-Carnitine. All groups were fed ad-libitum for 24 hours. MDA, TOS, TAS levels of the samples obtained at the end of the study were determined by spectrophotometer and serum AST, ALT, GGT levels were measured by autoanalyzer.

While acetaminophen treatment increased serum MDA, GGT ($p < 0.05$), serum TOS, ALT ($p < 0.001$), AST ($p \leq 0.001$) and tissue MDA and TOS ($p < 0.001$) parameters, tissue and serum TAS levels found decreased statistically ($p < 0.05$). APAP_ozon administration decreased tissue MDA and TOS ($p < 0.05$) parameters and serum MDA ($p < 0.001$), TOS ($p < 0.001$), GGT ($p < 0.05$), AST and ALT ($p < 0.05$), increased tissue TAS level ($p < 0.05$) and serum TAS level statistically significantly ($p < 0.001$). APAP_L-karnitin administration decreased serum MDA, AST, GGT, TOS ($p < 0.05$), ALT ($p \leq 0.001$) and tissue MDA ($p < 0.001$), TOS ($p < 0.05$) levels, increased tissue TAS level ($p < 0.05$) and serum TAS level statistically significantly ($p < 0.001$) similar to APAP_ozon administered group. APAP_ozon_L-carnitine administration lowered serum MDA, ALT ($p \leq 0.001$), TOS ($p < 0.001$), AST, GGT ($p < 0.05$) levels and tissue MDA ($p < 0.001$), TOS ($p < 0.05$) levels, increased tissue TAS level ($p < 0.05$) and serum TAS level statistically significantly ($p < 0.001$).

Histopathological examinations showed no change in the liver of the control group. However, generally diffuse moderate and severe cellular damage, focal areas of necrosis and hemorrhage and vascular congestion has been observed in group of animals which APAP-induced toxicity formed. Ozone, L-carnitine, and Ozone_L-carnitine substances that we used in our study were found to cause regeneration and occasional decrease in histopathological liver damage findings resulting from APAP-induced liver toxicity.

As a result; therapeutic activities of ozone, L-carnitine and ozone_L-carnitine which have antioxidant properties were determined in liver tissue in acute liver toxicity caused by APAP. It was concluded that this effect of ozone, L-carnitine and ozone_L-carnitine not only lowered the lipid peroxidation and oxidant levels but also significantly increased antioxidant enzyme levels, while at the same time inhibiting the liver enzymes to pass into the bloodstream and ensuring that the enzyme levels remain low.

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

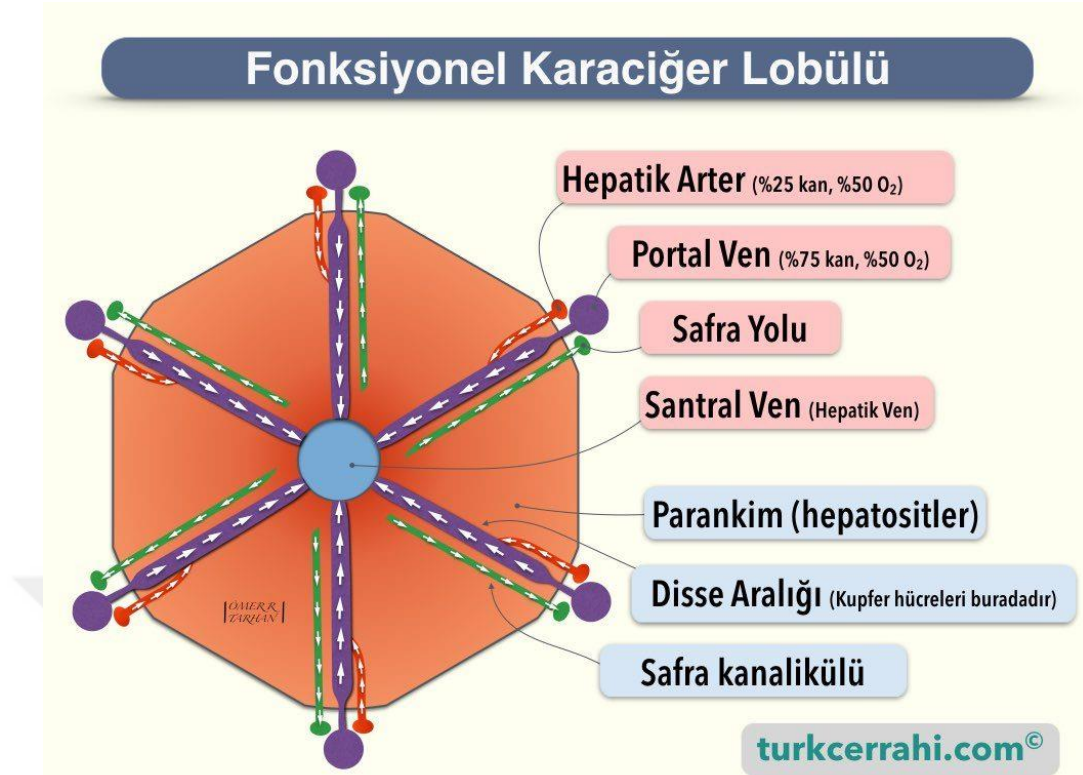
1.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, abdominal bölgede bulunan organların en büyük olanıdır. Yetişkinlerde vücut ağırlığının %2'sini oluştururken, çocuklarda ise %5'ini oluşturmaktadır (Ergün ve Ergün 2009). İki ana loptan oluşan karaciğerin sağ lobu sol lobuna oranla büyüktür ve hepatik hücrelerden oluşmaktadır. Karaciğere kan hepatik arter ve hepatik portal ven ile gelerek karaciğer kapısı olarak bilinen hilumdan (porta hepatis) içeri girerler. Her bir lobülünün merkezinde ise vena centralis bulunmaktadır (Acar 2015).

Sağlıklı kişilerde alt kenarı göğüs kafesinin altına kadar uzanan karaciğerin üst yüzü diyaframa ile çok yakındır. Anatomik olarak sağ lobun en yüksek yeri 4. İnterkostal aralık veya 5. kostaya kadar yükselmektedir. Sol lobun üst sınırı ise 6. kostanın üst sınırına kadar uzanır ve sol ucu diyafragma ile tamamen örtülmektedir. Ön yüzünün ise küçük bir bölümü karın ön duvarı ile temas halindedir ve kostalar sağ lobun büyük bir kısmını kaplarlar. Solunum sırasında karaciğer, diyafragmanın hareketlerini izleyerek ön kenarında üç cm kadar bir yükselme hareketi göstermektedir (Daham 2009).

1.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğerin dışını seröz özellikli periton zarı ve bu zarın altında bulunan Glisson kapsülü sarmaktadır. Glisson kapsülü ise karaciğerin içene doğru uzantılarını göndererek karaciğeri lob, segment ve lobüllere ayırır. Temelde lobus hepatis dexter ve sinister olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu iki lobun birleştiği orta oluğun alt kısmını lobus quadratus arka kısmını ise lobus caudatus oluşturmaktadır (Ergün ve Ergün 2009, Şekil 1).



Şekil 1. Karaciğer Hücresi. <http://www.turkcerrahi.com/makaleler/karaciger/portal-hipertansiyon>. Erişim tarihi: 04.06.2017.

Karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi altıgen şeklinde olan lobulus hepatistir. Her lobülüsün ortasında vena centralis damarı bulunur. Karaciğerin parenkimal hücreleri v. centralis etrafında dizilerek karaciğer kordonlarını oluştururlar bu kordonların aralarında sinüzoidler bulunmaktadır. Lobülüs hepatistlerin arasındaki boşluklarda yer alan portal kanallarda, arteria hepatica propria'nın, v. portae hepatis'in ve safra kanalının dalları bulunmaktadır (portal triad).

Karaciğerde temiz olan arteriyel kanın dolaşımı (%20-40) a. hepatica propria ile sağlanırken, kirli olan venöz kanın (%60-80)'inin dolaşımı ise v. portae hepatis ile gerçekleşmektedir. Küçük dallara ayrılan bu damarlar safra kanallarıyla birlikte portal triadı oluşturur. Buralarda v. portae hepatis'in ve a. hepatica propria'nın küçük dallarının birleşmesiyle sinüzoidler oluşmaktadır. Karaciğer dokusunda madde alış veriş kanın sinüzoidlerin içerisinden periferden v. centralis'e doğru geçmesi esnasında oluşmaktadır. V. centralisler birleşerek öncelikle v. sublobularisleri, daha sonra v. hepatica'yı oluştururlar; Oluşan bu damar v. cava inferior'a dökülür.

Sinüzoidlerin içindeki kandan parankima hücresine geçen maddelerin (ilaçlar dâhil) burada birtakım kimyasal işlemleri gerçekleştikten sonra ya tekrar kana verilirler ya da safra kanalcıklarına (ductulus biliferi) atılırlar. Bu kanalcıklar portal triadı oluşturan ductuli interlobulares'e katılırlar ve birleşerek sağ ve sol hepatik kanalı oluştururlar. Oluşan sağ ve sol kanalın birleşmesiyle ortak hepatik kanal meydana gelmektedir. Bu son kanala sistik kanal eklendiğinde ise ortak safra kanalı oluşmaktadır. Ortak safra kanalı ise duodenal papillada duodenum kanalına açılmakta ve oluşan deliğin etrafını oddi sfinkteri sarmaktadır (Ergün ve Ergün 2009).

Karaciğerde, üç önemli histofizyolojik karaciğer lobül modeli tanımlanmaktadır.

- ❖ **Klasik karaciğer lobülü:** Köşelerinde portal alanlar, ortada ise vena sentralis yer almaktadır. Hepatositler merkezden periferine doğru hücre kordonları şeklinde uzanırlar ve kordonlar arasında sinüzoidler yer almaktadır. Burada kan akımı periferden merkeze doğru gerçekleşmektedir.
- ❖ **Portal lobül:** Bu model hepatositlerde salgılanan safranın salgılanışı dikkate alınarak oluşturulmuştur. Safra iki hepatosit komşuluğundaki küçük hücreler arası boşluğa salgılanmaktadır ve burası safra kanalikülü olarak adlandırılmıştır. Bu kanalın duvarı hepatosit membranları tarafından oluşturulmaktadır. Daha sonra hepatositler arasında yer alan bu küçük kanaliküller bir lobül içindeki hücrelerin arasından kanla temas etmeksizin içerdiği zonula okludensler sayesinde bir labirent ağ oluştururlar. Her bir lobülün periferinde portal alana girmeden önce Hering kanalını (safra kanalcığı) oluşturur ve Hering kanallarında interlobüler safra kanallarına açılırlar. Görüldüğü üzere safranın akışı kan akımının tersine merkezden periferine doğru gerçekleşmektedir. Portal alandaki safra kanalları birleşerek sağ ve sol safra kanalını oluşturarak karaciğerden uzaklaşırlar.
- ❖ **Portal asinüs:** Daha fonksiyonel bir modeldir. Portal asinüs lobül yapısı, dejenerasyon, rejenerasyon, vasküler perfüzyon ve bazı maddelerin toksik etkilerini açıklamada rol almaktadır. Komşusu olan klasik lobül içinde bulunan

dağıtıcı arteriyol ve venülden kanlanan hücrelerden oluşmaktadır. Sınırları komşu iki lobülün portal alanları ve vena sentralislerinin birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu lobüle göre lobüldeki hepatositler dağıtıcı damarlardan farklı içerik ve miktardaki kanlanmaya göre üç ayrı zona ayrılmaktadır.

- **Periferik zon (Zon I):** Burada kan akış yönü lobülün periferinden merkezine doğrudur. Bundan dolayı içerdiği oksijen, glikojen ve diğer maddelerin miktarları açısından en zengin zondur. Dolaşım bozulduğu sırasında en geç ölen ve rejenerasyonun ilk izlendiği hücrelerdir.
- **Ara zon (Zon II):** Orta düzeyde aktivite gösterip, kana ikinci derece cevap veren hücrelerdir.
- **Santral zon (Zon III):** Organelleri az gelişmiş olup düz endoplazmik retikulumdan zengin hücrelerdir. Vena sentralisi saran en içteki hepatosit hücre gruplarından oluşur ve perfüzyon azaldığı zaman ilk iskemik nekroz gerçekleşen yerdir. Bu zonal düzenleme, hepatositlerin toksit maddelere karşı ve değişik hastalıklarda farklı derecede hasar görmelerinin nedenini açıklamaktadır (Daham 2009).

1.3. Karaciğer Fizyolojisi

Vücudumuzun, metabolik hemeostazisini düzenlemede, birçok maddenin üretimini, depolanmasını, salgılanabilmesini gerçekleştirmede görevli olan karaciğer, yaşamın devamını sağlayabilmek açısından önemli bir organdır. Bu önemli görevinden ötürü karaciğer bozuklukları ciddi sonuçlara neden olabilmektedir (Ergün ve Ergün 2009).

Sindirim kanalından emilen besinler vücudumuzda işlenir. Vücudumuzun diğer kısımlarının emilen bu besinlerden yararlanabilmesi için bu besinlerin bazılarının depolanması bazılarının ise hemen dolaşıma verilmesi gerekir. Bu gibi olaylar karaciğerde gerçekleşmektedir (Akşit ve ark. 2015).

Yabancı maddelerin metabolizmasında ve ilaç toksisitesinde önemli bir organ olan karaciğer; kan dolaşımı, karbonhidrat metabolizması, protein metabolizması, yağ metabolizmasında ve hematolojik fonksiyonlarda görev almaktadır.

Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında; glikojenin depolanması, galaktozun fruktoz ve glikoza dönüşümü, glikoneogenezis, karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden çok sayıda önemli kimyasal maddelerin oluşturulması gibi metabolik olayları gerçekleştirmektedir. Yağ metabolizmasında ise enerji üretebilmek amacıyla yağ asitlerinin küçük bileşenlerine yıkımını, karbonhidrat ve proteinlerden trigliserid sentezini, kolesterol ve fosfolipid gibi diğer lipidlerin yapımını gerçekleştirmektedir. Vücudumuzun %75'lik bölümünü oluşturan proteinlerin sentezinde de en aktif organ karaciğerdir. Protein metabolizmasında; aşırı protein alındığında aminoasitlerin deaminasyon yoluyla yıkılmasında, üre yapımı ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılmasında, plazma proteinlerinin sentezinde görev yapmakla beraber çeşitli aminoasitlerin ve vücudun metabolik işlemlerinde önemli olan diğer bileşimlerin birbirine dönüşümünü sağlama gibi fonksiyonları da gerçekleştirmektedir (Daham 2009).

Karaciğer safra üretimi ve pıhtılaşma faktörlerinin sentezinde (fibrinojen, protrombin, faktör V, VII, IX ve X) de görev yapmaktadır (Daham 2009). Bunların dışında, vitamin depolayarak (A, D, B₁₂ ve diğer B grubu vitaminlerini, K vitaminini) ve karotenleri β -karoten olarak adlandırılan A vitaminine çevirerek vitamin metabolizmasında da görev yapmaktadır. Yabancı maddelerin (çeşitli ilaçların) kandan detoksifikasyonunu, amonyağın ortamdan uzaklaştırılmasını, steroid hormonların atılımını gerçekleştirmektedir (Acar 2015).

1.3.1. Karaciğer Enzimleri

Vücudumuzun en büyük ve en önemli metabolik organı olan karaciğerdeki enzimler denildiğinde akla ilk gelenler alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransfer (AST), gama glutamil transpeptidaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP)'dir. Karaciğerde oluşan hücre hasarı ve kolestaz hakkında bilgi edinmeye yönelik enzim ölçüm yöntemleri bulunmaktadır. Oluşan hasarla ilgili genel bilgi ALT, AST veya ALP ve GGT enzim aktivitelerinin serum düzeylerindeki yükselmeleriyle anlaşılmaktadır. ALT ve AST hepatoselüler hasar hakkında bilgi verirken GGT ve ALP ise kolestazı göstermektedir. Bu enzimler sadece karaciğer ve safra yollarına özgü değildir. Şöyleki ALT ve AST iskelet ve kalp kasında, GGT böbreklerde, ALP ise kemikler ve barsak epitelinde de sentezlenmektedir. Bu

nedenle karaciğerden kaynaklanmayan nedenlerle de yükselebilecekleri unutulmamalıdır (Ersoy 2012).

Karaciğerde AST ve ALT parametrelerinin artması karaciğer hasarını gösterirken (Brüss ve ark. 2004), kan dolaşımındaki AST ve ALT değerlerinin düşmesi karaciğer nekrozunun göstergelerindedir. Bu enzimlerin yükselmesi hepatoselüler hasarı göstermesine rağmen karaciğer hasarının şiddetini ve akut yetmezliğinde zayıf parametrelerdir (Huang ve ark. 2008). Bazen şiddetli karaciğer harabiyetinin başlangıç döneminde AST seviyesi ALT'den yüksek çıkabilir fakat kısa bir süre sonra tekrar AST değeri ALT değerinin altına düşmektedir. Olay kronikleştiğinde birey sağlığına kavuşmamış olsa da ALT değeri normal değerlerine dönebilir. Yani, artmış AST ve ALT değerleri karaciğerde hasar varlığını göstermekle birlikte meydana gelen hasarın şiddeti hakkında kesin bir bilgi ortaya koymamaktadır (Akşit ve ark. 2015). Yapılan çalışmalarda, APAP toksikasyonuna bağlı karaciğer hasarında, serum neopterin seviyesindeki artışın AST ve ALT ye göre daha önemli bir bulgu olduğu ifade edilmiştir (Demirbas ve ark. 2011).

1.3.2.Karaciğer Hastalıkları

Viral enfeksiyonlar, ilaçlar ve toksinler, safra yolu lezyonları, metabolizma bozuklukları, hipoksi ve tümör gibi pek çok etken karaciğer hastalıklarına neden olmaktadır (Chisari 1997, Mahoney 1999).

1.3.2.1. Hepatitler

Karaciğerde viral, toksik, metabolik, farmakolojik bir etkenden veya immünolojik bir ataktan kaynaklanan hasarların oluşturduğu hastalık grubunu tanımlamada hepatit terimi kullanılmaktadır (Chisari 1997, Mahoney 1999).

1.3.2.2. Akut Viral Hepatitler (AVH)

Virüslerin karaciğerde oluşturdukları enfeksiyon sonucu oluşan altı aydan kısa süren akut enfeksiyondur. Halsizlik, bulantı, kusma, düşük dereceli ateş gibi belirtilerle başlayan AVH' de serum transaminazları normal değerlerinin 20-30 katı değere yükselir. Bu dönemde Sarılık birkaç gün içinde gelişir ve onuncu günde pik yapabilir. Sarılık başladıktan sonra idrar rengi koyulaşırken dışkı rengi soluklaşan

hastada oluşan ilk belirtiler azalır ve hasta birkaç ay içinde normale döner. AVH olgularına sebep olan ajanlar; Hepatit A (HAV), Hepatit B (HBV), Hepatit C (HCV), Hepatit D (HDV), Hepatit E (HEV), Hepatit G virüsleri (HGV) ve TTV (Transfusion Transmitted Virus)'dir (Demirci 2006). Aynı zamanda Epstein-Barrvirüs (EBV), Sitomegalo-virüs (CMV), adenovirüs ve enterovirüs gibi virüsler bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hepatite neden olabilirler. Virüslerin karaciğerde oluşturdukları hasarın şiddetini etki eden virüs tipi ve konak cevabı oluşturmaktadır (O'Grady ve ark. 1993, Riordan ve Williams 1999).

1.3.2.3. Fulminan Karaciğer Yetmezliği (FKY)

Daha önceden herhangi bir karaciğer hastalığı geçirmemiş kişilerde karaciğer fonksiyonlarının aniden ciddi anlamda bozulması şeklinde kendini gösteren, sıklıkla hepatik ensefalopatinin eşlik ettiği, tekrar düzelebilen, ölüm oranı yüksek bir klinik tablodur. Olguların % 60-80'ninin altında yatan sebep belirlenebilmekle beraber ilk sırayı hepatit virüsleri oluştururken ikinci sırayı ise toksin ve kullanılan ilaçlar oluşturmaktadır. Paramixovirüs, sitomegalovirüs, herpes virüs ve Epstein-Barr virüs, gibi hepatrop olmayan virüslerde FKY'ye yol açabilmektedir. İyi bakım koşullarının sağlanması durumunda ve karaciğer organ naklindeki gelişimler sağ kalma oranında artış sağlamalarına rağmen FKY hastalarında ölüm oranı halen %75 civarındadır (Özdemir ve Akın 2003).

1.3.2.4. Kronik Viral Hepatitler

Kronik viral hepatit hastalığı, semptomatik belirtilerin veya biyokimyasal ve serolojik bulguların 6 aydan daha fazla sürmesi şeklinde tanımlanmaktadır. HBV, HCV, HDV, HGV virüsü enfeksiyonu, otoimmün nedenlerle ve ilaçlarla kronik hepatit (KH) oluşabilir. Gelişen fibroz genellikle geri dönüşüzdür fakat rejenerasyonla birlikte olduğunda siroza dönüşmektedir. Halsizlik, yorgunluk, güçsüzlük en sık rastlanan şikâyetlerdendir. Kronik hepatitlere özgü yakınma olmadığından veya hafif yakınmalar olduğundan genellikle göz ardı edilmektedir. Tanı koymada klinik gözlem ve laboratuvar verileri önem taşımakla beraber kesin tanının belirlenmesinde biyopsi ile inflamasyonun ve nekrozun görülmesi gereklidir (Demirci 2006).

1.3.2.5. Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı

Karaciğerde oluşan bu hastalıkta, uzun zaman fazla miktarda alkol kullanımının etkisiyle karaciğerde hasar oluşmakta ve oluşan hasarın şiddeti değişik derecede olabilmektedir. Aşırı miktarda alkol kullanan kişilerin yaklaşık olarak %20'sinde karaciğer yağlanması, alkolik hepatit ve alkolik siroz görülmektedir. Hastalığın görülme olasılığı daha fazla olan kişilerde hazırlayan faktörler net olmamakla beraber tüketilen alkol miktarının ve süresinin önemli bir sebep olduğu belirtilmiştir (You ve Crabb 2004).

1.3.2.6. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)

Toplumda en sık görülen karaciğer hastalığıdır. İsminin nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı olmasının nedeni ise hastalığın oluşumunda alkol kullanımı olmamasına rağmen klinik ve histolojik belirtilerin alkole bağlı karaciğer hastalığına çok benzerlik göstermesindedir. NAYKH'na inflamasyon ve fibroz eşlik ettiğinde ise NASH (Non-alkolik steatohepatit) hastalığı oluşmaktadır. %20 oranında siroz oluşturma riski taşıyan bu hastalığa toplumda %2-3 oranında rastlanmaktadır. NAYKH'nın etiyolojisinde serbest radikal hasarı önemli bir etkidir. Çünkü bu sürece serbest radikallerin hasarı eklendiğinde lipid peroksidasyonu ve NASH oluşurken stellat hücrelerinde aktive olmasıyla fibroz tablosu oluşmaktadır. Sıklıkla obeziteyle ve tip II Diabetes Mellitus (DM) ile ilişkili olan NAYKH'nda insülin düzeyinin yüksek olması karaciğerde β -oksidasyonunu ve Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein (VLDL) oluşumunu baskılaması sonucunda yağ asitlerinden trigliserid oluşumunu artırarak karaciğer yağlanmasını tetiklemektedir (Falck-Ytter ve ark. 2001, Brunt 2001).

1.3.2.7. Karaciğer Sirozu

Siroz, hepatoselüler nekroz ve rejenerasyonla karaciğer yapısının bozulması sonucu oluşan ilerleyici geri dönüşümsüz bir hastalıktır. Hepatositlerin ölümüne yol açan sürece fibrozis ve rejenerasyon eşlik ettiğinde siroz oluşmaktadır. Karaciğer sirozunun oluşumuna sebep olan başlıca etkenlere bakıldığında; Wilson hastalığı, kronik viral hepatitler, alkolik karaciğer hastalığı, primer hemokromatozis, safra yolu hastalıklarının etkili olduğu belirtilmiştir. Bazı sirozların nedeni bilinmemekle

beraber ülkemizdeki karaciğer sirozunun başlıca nedeni viral hepatitlerdir (Tür 2008).

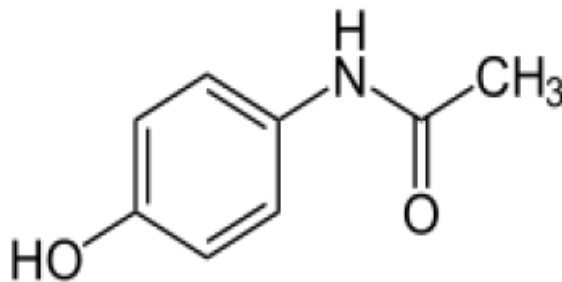
1.4. Asetaminofen (APAP)

1.4.1. Asetaminofen Tarihçesi

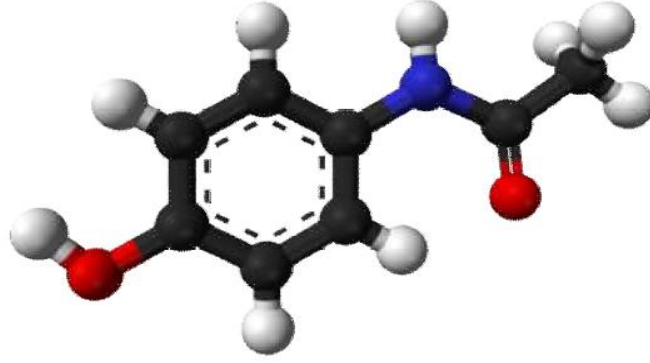
Asetaminofen (Parasetamol, N-acetyl-p-aminophenol, APAP, asetamid) ilk kez 1877 yılında Harmon Northop Morse tarafından üretilmiştir. İlk kez klinikte uygulamaya geçişi ise 1893 yılında olmuştur. Güvenli bir ağrı kesici ve ateş dürücü olan APAP 1955 yılında ABD’ de ‘Tylenol’ 1956 yılında ise İngilterede ‘Panadol’ adıyla piyasada satılmaya başlanmıştır (Brodie ve Axelrod 1948, Erfidan 2016). Birçok ülkede reçeteli ve reçetesiz temin edilebildiğinden kullanımı oldukça yaygındır. Ülkemizde de aşırı dozda alınmadığı sürece güvenle kullanılacak bir ilaç olduğu ifade edilmektedir (Kittisupamangkol 2009, Erfidan 2016).

1.4.2. Asetaminofenin Kimyasal Yapısı

APAP, sentetik non-opioid olan p-aminofenol türevi bir ilaçtır. Moleküler formülü $C_8H_9NO_2$ olan asetaminofenin kimyasal adı ise N-(4-hidroksifenil) asetamiddir. Moleküler ağırlığı 151.17 g/mol, erime noktası $169^{\circ}C$, yoğunluğu 1.263 gr/cm^3 , $20^{\circ}C$ derecede sudaki çözünürlüğü 1.4 gr/100 mL’dir (Lee 2004, Erfidan 2016, Şekil 2, Şekil 2.1).



Şekil 2. Asetaminofenin moleküler yapısı (Erfidan 2016).



Şekil 2.1. Parasetamol molekülünün üç boyutlu görüntüsü (Battal 2009).

1.4.3. Asetaminofenin Etki Mekanizması

APAP'ın, analjezik ve antipiretik etki mekanizmasının merkezi sinir sistemi (MSS) içerisinde santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ile etkili olduğu ortaya konmuştur. İndirekt etkileşim yolunun ise serotoninerjik sistemle olduğu düşünülmektedir. Periferik inflamasyonlara karşı reaksiyon göstermemesi anti-inflamatuar özelliğinin zayıf olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı COX inhibisyonun yanında farklı etki mekanizmasında olabileceği düşünülmüştür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda MSS'de COX-3 olarak adlandırılan yeni bir enzim keşfedilmiştir. APAP'ın ise COX-1 ve COX-2 den farklı olarak bulunan COX-3 enzimini de bloke ettiği düşünülmektedir. Bu mekanizmada birçok araştırmacı aynı görüşe sahiptir. APAP'ın COX enzim inhibisyonu yaptığı bir gerçektir fakat etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ve çalışmalar devam etmektedir (Erfidan 2016).

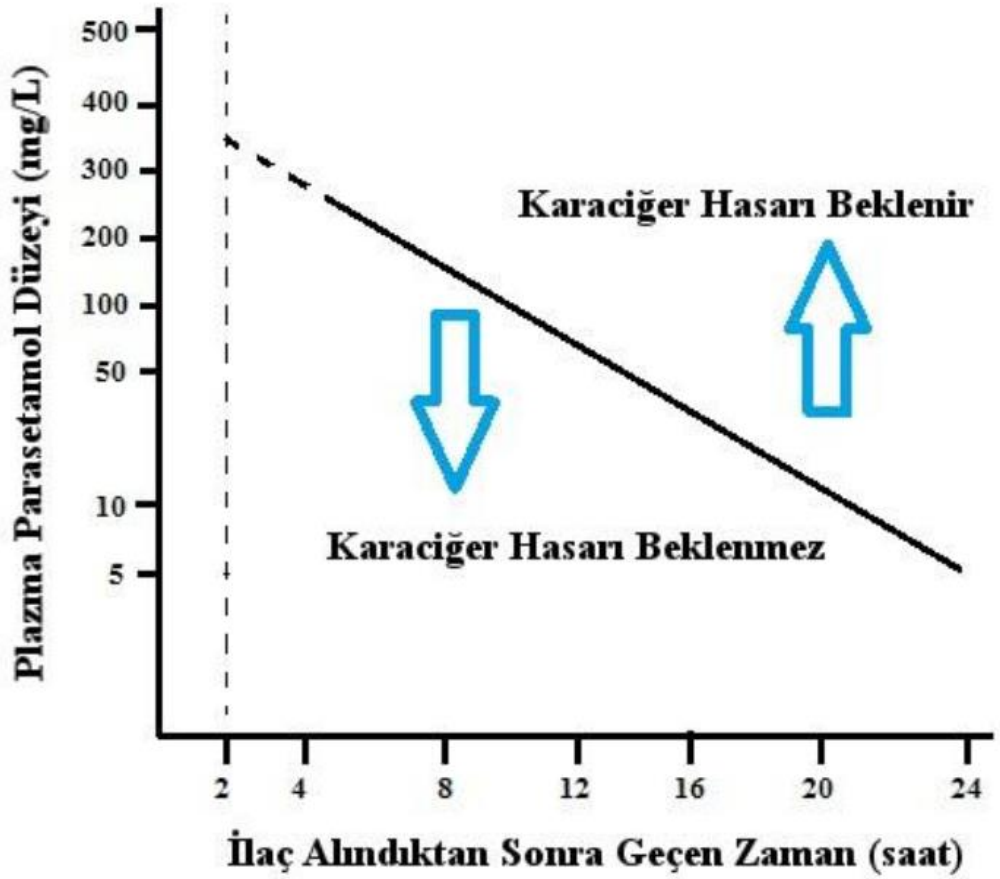
1.4.4. Asetaminofenin Yan Etkileri

APAP, analjezik ve antipiretik etkisinden ötürü yaygın kullanılan bir ilaçtır. Günlük kullanılabilecek en yüksek terapötik dozu yaklaşık olarak 4 gr kabul edilmektedir (Yaman ve ark. 2011).

Terapötik doz aralığında kullanılan APAP; nadir olarak ciltte kızarıklık, döküntü, ilaç ateşi, cilt alerjisine bağlı mukozal lezyonlar gibi şikayetlere sebep olabilmektedir. İlaç alımı sonrası hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlar da gelişebilmektedir (Erfidan 2016).

Amerika Birleşik Devletleri, İngiltere ve Avrupa'da görülen akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedeninin, kullanılan aşırı dozdaki APAP olduğu belirlenmiştir. İnsanlarda ve deney hayvanlarında terapötik doz miktarından daha fazla dozda kullanıldığında ise hepatik nekroza, böbrek toksisitesine ve ölümlere neden olmaktadır (Ajith ve ark. 2007).

ABD de hastaneye başvuran vakaların yaklaşık olarak %40 ında APAP kullanımının karaciğer toksikasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Bayram ve Türkay 2010). Akut karaciğer hasarının nedenlerine bakıldığında kullanılan ilaçların %58'lik oranla ilk sırayı aldığı ve kullanılan bu ilaçlar arasında da APAP'ın %46'lık bir oranla ciddi bir yere sahip olduğu belirtilmiştir. Kullanımının yaygın olması ve rahatlıkla reçetesiz satın alınabilmesinden ötürü intihar veya kaza sonucu ölümler sıklıkla görülmektedir. Yüksek dozlarda kullanıldığında karaciğer hasarı hatta ölüm gerçekleşmektedir. Çocuklarda max 90mg/kg kullanılan APAP'ın günlük toplam doz miktarı aşılmamalıdır. Erişkinlerde ise tek seferde kullanılan 10-15 gr (150-250 mg/kg) APAP dozundan sonra hepatotoksisite gelişmekte olup, 20-25 gr üzerinde dozlarda kullanıldığında ise ölümcül olduğu bildirilmiştir (Aktaş ve ark. 2013, Şekil 3).

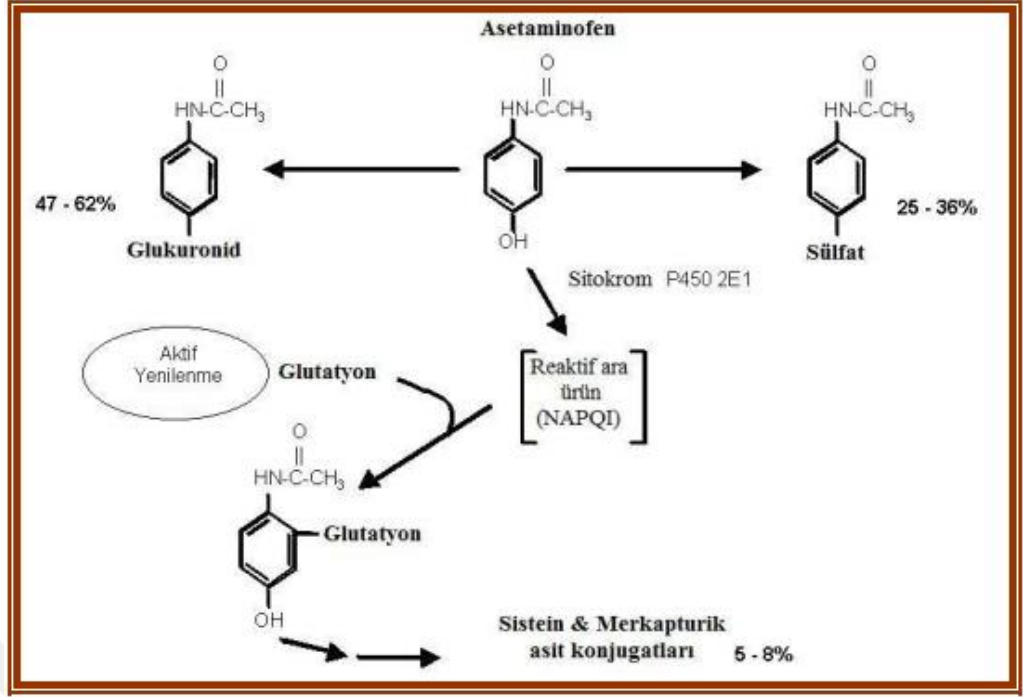


Şekil 3. Plazma asetaminofen düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi (Erfidan 2016).

APAP'ın yüksek dozda kullanımından kaynaklanan karaciğer hasarında, reaktif oksijen türevlerinin artması, antioksidanların azalması, antioksidan enzim seviyelerinin azalması ve sitokin üretiminin artması gibi faktörler etkili olmaktadır (Demirbaş ve ark. 2011).

1.4.5. Asetaminofenin Metabolizması ve Toksisitesi

Oral biyoyararlanımı %60-89 oranında olan APAP, oral yolla alındıktan sonra gastrointestinal yoldan hızla emilimi gerçekleşmektedir. Kandaki konsantrasyonu pik değerine en geç 2 saatte ulaşmaktadır. Emilim süresini açlık, tokluk ve antikolinergik ilaçların etkilemesi sonucunda emilim süresi 4. saate kadar uzayabilir. APAP'ın plazma konsantrasyonundaki analjezik etki gücü 10 mcg/mL düzeyinde olup, antipiretik etkisi ise 18 mcg/ml düzeyindedir (Erfidan 2016, Şekil 4)



Şekil 4. Karaciğerde asetaminofen mekanizması

(<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/02/briefing/Image1415.gif>. Erişim tarihi: 21.03.2016).

APAP'ın karaciğerde metabolize edilmesi glukuronidasyon ve sülfasyon ile gerçekleşir. Bu konjugatların bir kısmı safrayla kalan diğer kısmı ise kan dolaşımına geçerek idrarla, %5 'inden daha az kısmı ise direk idrarla atılmaktadır. Terapötik dozda alınan APAP miktarının çoğu sülfat-glukronit konjugasyonu ile bir kısmı ise hepatik sitokrom P450 sistemi (CYP2E1-1A2) ile N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI)'e dönüştürülür ve Glutasyon (GSH)'a bağlanması sonucunda detoksifiye olmaktadır. APAP'ın aşırı dozda kullanımıyla oluşan hepatotoksisitenin nedeni toksik metaboliti olan NAPQI'ya dönüşümünden kaynaklanmaktadır. GSH, NAPQI ile hızlı bir şekilde birleşerek NAPQI toksit olmayan sistein veya merkaptürik asit konjugatlarına dönüştürülerek idrarla atılmasını sağlamaktadır. APAP'ın aşırı dozda kullanımı, sitokrom enzimlerinin indüksiyonu ve GSH depolarının %80-90'ın altına düşmesi ile birlikte NAPQI bağlarının selüler makromoleküllerde kalması veya glukuronidasyon inhibisyonunun gerçekleştiği durumlarda NAPQI' nun yeterince detoksifiye edilememesi sonucu hücre hasarı oluşturmaktadır. GSH'ın tükenmesi, hepatosit içerisindeki hidrojen peroksit, süperoksit gibi reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türlerini arttırmaktadır. Böylelikle nekrotik değişiklikler oluşmaya

başlamaktadır. Yüksek dozda alınan APAP, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini azaltmakta bununla beraber GSH ve okside glutatyon (GSSG)'daki azalma antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına neden olmaktadır. Çünkü hücre içerisinde GSH en çok bulunan serbest tiyoldür. Hepatoksisitenin ana nedenin NAPQI artması sonucu gerçekleşen tiyol oksidasyonu olduğu düşünülmektedir. Artmış oksidatif stres, intraselüler kalsiyum homeostazını, sinyal iletiminin ve mitokondriyal geçirgenliğin bozulmasına neden olmaktadır. Mitokondriyal membran potansiyelinin kaybolması ve adenosin trifosfat (ATP) üretimi durması sonucunda hücre nekrozu gerçekleşmektedir (Jollow ve ark. 1974, Bromer ve Black 2003, James ve ark. 2003, Bertolini ve ark. 2006, Yapar ve ark. 2007, Jaeschke ve ark. 2011, Erfidan 2016).

Organizma, oluşan bir toksikasyon durumuna maruz kaldığında hücre içi iyon dengesi bozulmaktadır. Bu durum hücre hasarının habercisi olan malondialdehid (MDA) oluşumu ile gösterilmektedir. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşmaktadır. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, hücre içi iyon dengesini membrandaki iyon alışverişini etkileyerek bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, deoksiribonükleik asit (DNA) yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu saptanmıştır. Oluştugu bölgeden daha uzağa yayılarak uzak bölgelerde de doku hasarı oluşturabilmektedir. Kısaca organizmada artmış MDA oranı oksidatif hasarın oluştuğunu ortaya koyan en önemli göstergelerdendir.

Yapılan çalışmalarda APAP toksisitesinde gözlenen klinik bulgular ilaç alım süresine göre 4 aşamada değerlendirilmektedir.

Faz 1 (ilk 24 saat): Klinik bulgular non-spesifiktir. Bulantı, kusma, iştahsızlık, halsizlik sık görülen şikayetlerdir. Karaciğer enzimlerinde hafif yükselmeler oluşabilir.

Faz 2 (24-72 saat): İlk aşamadaki şikayetler nadir olarak görülebilir veya hiç görülmez. Karaciğer büyümesi ve ağrı şikayeti dikkati çeker. Bu aşamada karaciğer enzimleri (AST, ALT) değerlerinde artış gözlenir ve laboratuvar bulguları belirleyici olabilir. Protrombin süresi uzar, bilirubin seviyesinde ise yükselme gerçekleşmektedir.

Faz 3 (72-96 saat): Tedavi almayanlarda karaciğer fonksiyonunun bozulduğunun belirgin olarak belli olduğu evredir. Bulantı, kusma, iştahsızlık, halsizlik bu evrede de görülebilir. Belirgin bir şekilde AST, ALT seviyeleri ve serum bilirubin konsantrasyonu artar ve protrombin süresi uzar. Karaciğer biyopsisinde nekroz odakları görülebilir ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına bağlı proteinüri ve hematüri oluşmaktadır (Erfidan 2016).

Faz 4: Bu evrede karaciğer hasarı düzelmiş olur ya da ölümlerle sonuçlanır. İyileşen kişilerin 3 ay içinde karaciğer fonksiyonu fiziksel sınırlarına dönmektedir (Black 1980, Laskin ve ark. 1995, Salgia ve Kosnik 1999).

İntoksikasyon tedavisinde, ilk olarak solunum ve dolaşım fonksiyonları desteklenmektedir. APAP toksisitesinde de bu fonksiyonlar sağlandıktan sonra aktif kömür (1gr/kg) ve N-Asetil Sistein (NAC) tedavisi uygulanır. Aktif kömür uygulaması APAP'ı adsorbe ederek gastrointestinal emilimine engel olur, ilk 4 saat içerisinde uygulandığında APAP'ın emilimini azaltmakta, ilk 30 dakika ve 2 saat içerisinde uygulandığında ise tedavide daha etkili olmaktadır. NAC ile beraber uygulandığında NAC'ın emilimini azalttığı için NAC verilmeden 1-2 saat önce uygulanmalıdır (Erfidan 2016).

NAC tedavisi ise APAP toksisitesinde ise en sık kullanılan yöntemdir. NAC hücre içindeki oksidan-antioksidan dengenin bozulması durumunda kullanılan bir serbest radikal tutucusudur. NAC tedavisinin etkili olmasında kullanılan dozun miktarı, ne zaman verildiği ve verilme yolu çok önemlidir. NAC uygulaması; APAP toksisitesinde glutatyon gibi zararlı metabolitleri detoksifiye ederek, doku oksijenizasyonunu artırarak, ortamdan serbest radikalleri uzaklaştırarak ve karaciğerde mikrosirkülasyonu kan akımını artırarak toksik maddeleri uzaklaştırma gibi çeşitli yollarla etkili olmaktadır. APAP alındıktan sonraki ilk 8 saat içerisinde uygulandığında hepatoksisite ve ölüm nadir olarak görülmektedir (Mersin ve ark. 2009, Köseoğlu ve Ersoy 2014).

1.5. Karaciğerde İlaçların Biyotransformasyonu

İlaç metabolizması birçok organda gerçekleşede en büyük metabolik kapasiteye sahip olan organ karaciğerdir. Bir ilacın karaciğerde metabolize

edilebilirliğinin göstergesi hepatic klerensdir. Hepatic klerens (KL_H) karaciğer tarafından metabolize edilen veya safraya itrah edilerek birim zamanda ilaçtan temizlenen kan hacmi olarak tanımlanmaktadır (Kesim ve ark. 2001).

Hepatic kan akımı (Q_H), hepatic portal ve hepatic arteriyel kan akımlarının toplamıdır. $E_H=(C_a-C_v)/C_a$ ile gösterilir. C_a arteriyel, C_v venöz ilaç konsantrasyonunu göstermektedir.

Karaciğerde ilacın hepatic klerensi ölçümünde proteine bağlanması ve kan akımının etkisinde önemlidir. Karaciğerde ilk geçişinde atılabilen ilaçlar hepatic kan akımındaki değişikliklere duyarlıdır. (Rodighiero 1999).

İlacın metabolize edilebilmesi için hücre membranını geçmesi gerekir ve hücre membranını sadece bağlı olmayan ilaç molekülü geçebilmektedir. Plazma proteinlerinin çoğu karaciğerde sentezlenmektedir. Karaciğer hastalıklarında ilaçların proteinlere bağlanmaları etkilenir ve bağlanma kapasiteleri düşer. Böylelikle bağlanmadaki değişiklikler serbest ilaç fraksiyonunu artırırken, dağılımı ve atılımını etkilemektedir. İlaçlar hepatic atılma oranlarına ve plazma proteinlerine bağlanma oranlarına göre yüksek ekstraksiyonlu ($E>0.7$), orta ekstraksiyonlu ($E=0.3- 0.7$) ve düşük ekstraksiyonlu ($E<0.3$) ilaçlar olarak ayrılırlar (Tablo 1).

Ekstraksiyon Oranları		
Düşük (<0.3)	Orta (0.3-0.7)	Yüksek (>0.7)
Karbamazepin	Aspirin	Alprenolol
Diazepam	Kinidin	Kokain
İndometasin	Kodein	Dezipramin
Naproksen	Nifedipin	Lidokain
Nitrazepam	Nortriptilin	Meperidin
Fenobarbital		Morfin
Fenitoin		Nikotin
Prokainamid		Nitrogliserin
Salisilik asid		Pentazosin
Teofilin		Propoksifen
Valproik Asid		Propranolol
Varfarin		Verapamil

Tablo 1. Bazı ilaçların ve metabolitlerin hepatic ekstraksiyon oranları (Kortunay ve Bozkurt 1997).

Düşük hepatik ekstraksiyonlu ilaçların karaciğerde eliminasyon hızı yavaştır ve karaciğer kan akımındaki değişikliklerden fazla etkilenmezler. Yüksek hepatik ekstraksiyonlu ilaçlarda hepatik klirens, hepatik kan akım hızındaki değişimlerden etkilenmektedir ve ilk geçişte eliminasyon oranları yüksektir. Biyoyararlanımları bireyler arasında önemli değişiklik göstermektedir. Bireyler arasında birçok ilacın farmakokinetiklerindeki değişkenlikler karaciğerdeki kan akımı ve metabolik kapasite tarafından belirlenmektedir. Bu parametreler karaciğer hastalıkları, ilaç metabolize eden enzimlerin genetik farklılıkları, enzim indüksiyonu ve inhibisyonu gibi durumlardan etkilenmektedir. Karaciğerde bir ilaç başka bir ilacın metabolize olma oranını azaltması, enzim inhibisyonuna ve ilacın karaciğerdeki kan akımını azaltmasında bağlıdır (Kortunay ve Bozkurt 1997).

1.5.1. Sitokrom P450 Enzim Sistemi

Birçok memeli ve böceklerde bulunan, hemoprotein ailesine ait Sitokrom P450 enzimi, ilaç ve kimyasal maddeleri (pestisit, poliaromatik hidrokarbonlar v.b.) metabolize etmesinin yanında reaktif oksijen türlerinin üretiminde de rol oynamaktadır. Hepatositlerin santrlobüler bölgesindeki hücrelerde yoğun olarak bulunur (Kurutaş ve Kılınç 2003). Çoğu ilaç karaciğerde metabolize edilir ve bu olayda sitokrom P450 enzim sistemi etkilidir. Karaciğerde ilaçlar Faz I ve Faz II yollarıyla metabolize olmaktadır. Faz I enzimleri redüktazlar, oksidazlar, hidrolazlar, Faz II enzimleri ise transferazlardan oluşmaktadır. İlaçları metabolize eden enzimlerde en aktif rolü sitokrom P450 enzimi gerçekleştirir. Sık kullanılan ilaçların %90'nının metabolize olmasında sitokrom P450 süperfamilyasında bulunan CYP1, CYP2, CYP3 enzimleri görevlidir. Faz II enzimlerinden biri olan glukoronil transferazlarında ilaç metabolizması açısından önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir (Kortunay ve Bozkurt 1997).

1.6. APAP ile Oluşturulan Karaciğer Toksisitesinde Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

1.6.1. Oksidatif Stres

Serbest radikaller, organizmada sürekli olarak oluşturulurken diğer yandan da antioksidan sistemin etkisiyle ortadan kaldırılmaktadırlar. Serbest radikaller ve antioksidan sistem arasındaki bu denge oksidatif denge olarak tanımlanmaktadır. Bu denge sağlandığında vücudumuz serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Dengenin bozulması durumunda yani antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması veya serbest radikallerin oluşumunun artması ile oksidatif denge serbest radikallere doğru kaymaktadır. Bu tablo sonucunda oksidatif stres olarak tanımlanan olay gerçekleşmektedir (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin 2002, Serafini ve Del Rio 2004).

Bazı durumlarda ise az miktarda üretilen serbest radikaller organizmaya yararlı olabilmektedir. Örnek olarak bakterilerin nötrofiller tarafından oksijen radikalleriyle öldürülmesi gösterilebilir. Bunun yanında serbest radikallerin artması ile oluşan oksidatif stres protein, lipid, karbonhidrat, DNA ve enzimlere zarar vermektedir (Nordberg ve Arnér 2001, Sorg 2004).

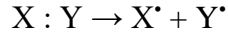
Oksidatif stresin en önemli nedenlerini, serbest radikallerin reaktif oksijen türleri (ROT); süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), peroksil radikali (ROO^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturmaktadır (Özcan ve ark. 2015).

1.6.2. Serbest Radikaller

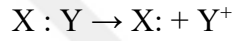
Yüksek enerjili yapıda olan bu bileşiklerin son yörüngelerinde bir veya birden daha fazla çiftleşmemiş elektron bulunmaktadır. Dış orbitallerinde bulunan çiftlenmemiş elektronlar reaktivlik sağlayarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi yapıları zarara uğrattırır. Bu zararların yaşlanma, kalp damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, bağışıklık sisteminin zayıflaması gibi çeşitli sorunlara yol açtığına dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock 1998).

Serbest radikaller genel olarak üç yolla meydana gelirler.

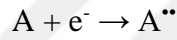
- ❖ Kovalent bağlı molekülün homolitik kırılması sırasında bağ yapısında bulunan ortak elektronların her biri bölünen molekülün atomları üzerinde kalarak bölünmesidir.



- ❖ Radikal özellikte olmayan bir molekülün elektron kaybetmesi veya heterolitik bölünmesidir. Bu reaksiyonda elektron kaybı sırasında dış orbitalde eşlenmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşmaktadır



- ❖ Radikal özellikte olmayan normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi veya transferiyle son yörüngesinde eşlenmemiş elektron oluşuyorsa radikal oluşum gerçekleşmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1990).



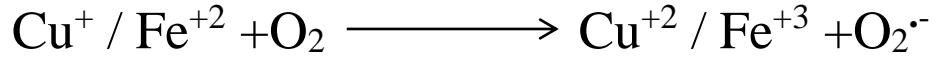
Serbest radikal bileşikleri elektriksel olarak katyon, anyon veya nötral yapıda bulunurlar. Serbest radikallerin oluşumunda, Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+3} gibi bazı geçiş metalleri de önemli rol oynamaktadır (Aydın 2011, Tablo 2).

Radikaller	Non- radikaller
Süperoksit, $O_2^{\bullet-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, OH^{\bullet}	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, RO_2	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, O^{\bullet}
Hidroperoksit, HO_2	Peroksinitrit, $ONOO^{\bullet}$
Nitrik oksit, NO	Hidroperoksid, $L(R)OOH$

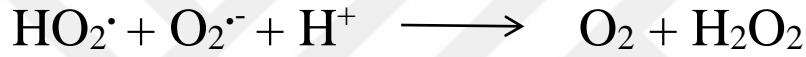
Tablo 2. Bazı serbest radikaller (Halliwell 1994).

1.6.2.1. Serbest Radikal Türleri

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$); Hemen hemen bütün aerobik hücrelerde oksijen molekülü, çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali anyonuna ($O_2^{\cdot-}$) dönüşmektedir.

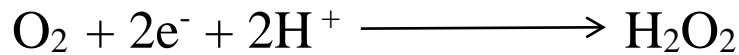
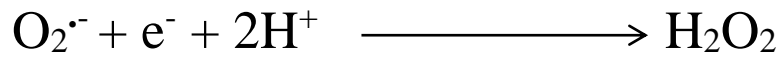


Geçiş metallere otoksidasyonu reaksiyonunda süperoksit radikali meydana gelebilmektedir. Hem oksitleyici hemde indirgeyi özellikleri olan süperoksit radikalının en önemli özelliklerinden biri hidrojen peroksitin kaynağı olmasının yanında geçiş metallere de indirgeyebilmesidir (Aydın 2011).



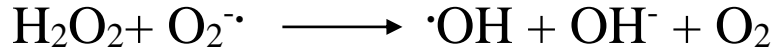
Mitokondrial elektron transport zinciri reaksiyonları, Fagositik hücrelerdeki “solunum patlaması” (respiratuar burst) ile, endoplazmik retikulumdaki sitokrom P-450 enzim sistemi süperoksit radikalının başlıca kaynaklarıdır (Kuyvenhoven ve Meinders 1999).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2); Oksijen molekülünün çevresindeki moleküllerden iki elektron veya süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması sonucunda peroksit oluşur ve peroksit 2 hidrojen atomuyla birleşerek Hidrojen Peroksit (H_2O_2) meydana getirmektedir (Aydın 2011).



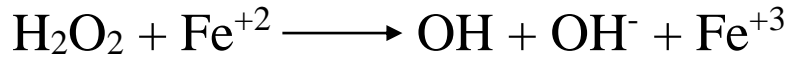
Serbest bir radikal olmayan hidrojen peroksit süperoksitle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikalının oluşumunu sağlamaktadır. Bu reaksiyona Haber-Weiss denmektedir. Katalizörlü ve katalizörsüz gerçekleşen bu reaksiyon katalizör yokluğunda oldukça yavaş gerçekleşmektedir.

Haber-Weiss reaksiyonu;



Fe^{+2} ve diğer geçiş elementlerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşmaktadır.

Fenton reaksiyonu;



Hidrojen peroksit birçok bileşigi oksitleyebilmektedir. Fenton reaksiyonuyla proteinlerde, tiyol içeren bileşiklerde, fosfolipidlerde, karbonhidratlarda ve DNA'da hasar oluşturabilmektedir (Winterbourn 1995).

Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$); Yarılanma ömrü çok kısa olduğundan ROT'un en güçlü radikalidir (Halliwell ve Gutteridge 1990). Fe^{+2} elementinin varlığında hidrojen peroksitle etkileşmesinden (Fenton reaksiyonu), ve Fe^{+2} varlığında süperoksitin hidrojen peroksitle ile etkileşmesinde (Haber-Weiss) $\cdot\text{OH}$ radikalini oluşmunda etkili olurlar. Fenton reaksiyonu, Haber-Weiss reaksiyonları ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşmaktadır (Cheeseman ve Slater 1993, Halliwell 1999, Sorg 2004).

Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$); Moleküler oksijenin enerji almasıyla oluşan singlet oksijenin yapısında çiftlenmemiş elektronu olmadığından gerçek bir radikal değildir. Delta ve Sigma olmak üzere ikiye ayrılan singlet oksijen, Sigma'ya göre Delta şeklinin daha düşük enerjili olduğu belirtilmiştir (Gürsoy 2005).

Nitrik Oksit (NO); Histamin, muskarinik gibi çeşitli resöptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden nitrik oksit sentazın (NOS) etki etmesi sonucunda sentezlenmektedir. Süperoksit dismutaz (SOD) ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucunda peroksinitriti oluşturmaktadır. Yarılanma ömrü kısa olan peroksinitrit de dokulara zarar vererek oksidatif etkisini göstermektedir (Halliwell 1994, Aydın 2011).

1.6.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

1.6.3.1. Biyolojik Kaynaklar

Solunum patlaması sırasında oluşan süperoksit, H_2O_2 ve hidroksil radikalleri bakteri ve fagosite edilmiş mikroorganizmaları ortadan kaldırmaktadır. Fakat bu radikaller organizmada aşırı miktarda oluşmaları durumunda savunma sistemini baskırlar ve hücrelere zarar verirler.

Antineoplastik ajanlar (doxorubin, adriksimicin), sigara, çevresel etmenler, alkol ve uyuşturucular, radyasyon, aktive olmuş fagositler, stres (streste artan katekolaminin oksidasyonu sonucu serbest radikal üretiminin gerçekleşmesi) örnek olarak gösterilebilir.

1.6.3.2. İntraselüler Kaynaklar

Hücrelerdeki en büyük serbest oksijen radikali kaynağı olan mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki elektron sızıntısı sonucu oksijenin bir kısmının süperoksit radikalini oluşturması, endoplazmik retikulum ve nükleer membranlarda sitokromların oksidasyonu sonucunda serbest radikallerin oluşumu ve çeşitli enzimlerin (ksantin oksidaz, aldehit oksidaz, flavoprotein dehidrogenaz, aminoasit oksidaz) katalitik döngüsünde H_2O_2 gibi çeşitli serbest radikalleri meydana getirmeleri, geçiş metallerinde serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırarak H_2O_2 , süperoksit ve hidroksil radikalini sentezini katalizlemesi, toksik maddelerin hücrede çeşitli etkilerle serbest radikal oluşumunu artırması, fagositik hücrelerin uyarılmasıyla plazma membranında bulunan araşidonik asidin serbest kalarak enzimatik oksidasyonlarla çeşitli serbest radikal ana ürünlerini meydana getirmesi olarak sıralanabilir (Aydın 2011).

1.6.4. Serbest Radikallerin Organik Moleküller Üzerine Etkileri

1.6.4.1. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin etkisiyle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve oksoaldehit açığa çıkar, hücrede oluşturdukları hasarlar kanser, yaşlanma gibi birçok hastalığın oluşumunda etkili olmaktadır (Thornalley ve Vasák 1985).

1.6.4.2. Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı olan biyomoleküller lipidlerdir. Serbest radikallerin lipitler üzerine yaptığı en önemli etkisi, uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkımı oldukça zararlı olan lipid peroksidasyonu olarak tanımlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu zincirleme olarak devam etmektedir. Hücre membranlarındaki serbest yağ asidi radikali (L·) moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (LOO·) oluşmaktadır ve lipit peroksil radikalleri diğer doymamış yağ asitlerini etkilemesiyle yeni lipit radikallerinin oluşmasını sağlar. Bu reaksiyonda ortaya çıkan hidrojen atomunu kendine bağlayarak lipid peroksitlere (LOOH) dönüşmektedir. Üç veya üçten daha fazla çift bağ bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) ise lipid peroksit şiddetini belirlemede kullanılır. Lipit peroksidasyonu, direk olarak hücre membranına zarar verirken diğer hücre bileşenlerini ise dolaylı olarak zarara uğratan geri dönüşümü olmayan bir olaydır. Böylelikle doku hasarlarına ve birçok hastalığa sebep olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1990, Aydın 2011).

1.6.4.3. Protein Metabolizması Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin etkilerine karşı doymamış yağ asitlerine göre daha az hassas olan proteinlerin, serbest radikallerin sebep olduğu hasarlardan ne ölçüde etkileneceğini proteinin aminoasit kompozisyonu belirlemektedir. Sülfür ve doymamış bağ içeren moleküllerin serbest radikaller ile kimyasal reaksiyona girmesi oldukça yüksektir. Proteinler üzerinde serbest radikal hasarı sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşmaktadır. Serbest radikaller yapılarında fazla

miktarda disülfid bağı bulunan albümin ve immünoglobulin G'nin yapılarını bozarak görevlerini yerine getirmelerine engel olmaktadır. Bu reaksiyonların sonucunda da enzim aktivitelerinde azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı ve gen transkripsiyonundaki değişiklikler oluşmaktadır (Van Der Vliet ve ark. 1994, Seto ve ark. 2009).

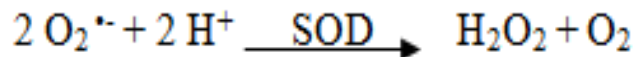
1.7. Antioksidanlar

Antioksidan maddeler, canlıda varolan proteinleri, lipidleri, karbonhidratları ve DNA gibi okside olabilen maddelerin oksidasyonunu engeller ya da geciktirir bu olay antioksidan savunma olarak tanımlanmaktadır (Mates ve ark. 1999). Antioksidan maddeler organizmada antioksidan enzimlerle ve enzimatik olmayan antioksidanlarla, baskılayıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etkileriyle reaksiyon hızını azaltarak, biyolojik moleküllerdeki hasarı onararak serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak, serbest radikalleri toplayıp, kararlı hale getirerek etki göstermektedir (Özel ve Birdane 2014).

Canlılardaki savunmayı sağlayan antioksidanlar bazen yeterli olmayabilir böyle durumlarda eksojen antioksidan savunuculara gerek duyulmaktadır. Antioksidan savunmada süperoksid dismutaz, katalaz vb. enzimlerin devreye girmesi enzimatik antioksidan savunma, tokoferol, askorbik asit vb. maddeler görev alıyorsa enzimatik olmayan savunma olarak tanımlanmaktadır (Valko ve ark. 2007).

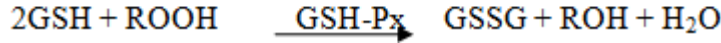
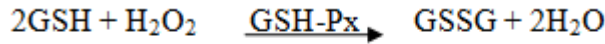
1.7.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar

Süperoksid dismutaz (SOD); Oksijen kullanımını yüksek olan dokularda aktivitesi fazla olan SOD enzimi, $O_2^{\cdot-}$ serbest radikalini H_2O_2 ve moleküler oksijene katalize eden enzimdir. Enzimin fizyolojik görevi süperoksit düzeyini düşük tutmak ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmektir. İnsanda iki tipi bulunmaktadır; sitozolde bulunan dimerik, kofaktörü bakır (Cu) ve çinko (Zn) olan izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, kofaktörü mangan (Mn) içeren (Mn SOD) izomerlerdir (Valko ve ark. 2006).



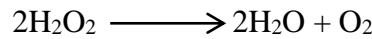
Membranı geçemeyen süperoksit radikali reaksiyon sonucunda membranı geçebilen hidrojen peroksit'e dönüşür. Geçiş metallere varlığında hidrojen peroksit Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikale dönüşmektedir. Normal metabolizma esnasında hücreler tarafından üretilen yüksek miktardaki süperoksit radikali SOD enzimi düşük tutulmaktadır (Rigo ve ark. 1977). SOD aktivitesi artığında oluşan toksik etkili H_2O_2 birikmesi katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin etkisiyle suya dönüştürülerek kontrol edilmektedir.

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) H_2O_2 'nin indirgenmesinden sorumlu, lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişimini engelleyici, eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px, antioksidanlarla beraber solunum patlaması esnasında serbest radikal peroksidasyonunun oluşturduğu fagositik hücrelerde hasar oluşmasını engellemektedir.

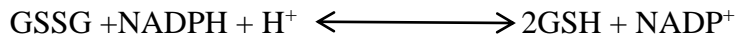


Reaksiyonlar sonucunda oksidatif stresin göstergesi olan oksitlenmiş glutatyon disülfid (GSSG) oluşmaktadır. Antioksidan savunmanın etkinliğini gösterebilmesi için oksitlenmiş glutatyon tekrar indirgenmiş şekle GSH dönüşmesi gerekmektedir (Aydın 2011, Özel ve Birdane 2014).

Katalaz (CAT); H_2O_2 'nin suya (H_2O) ve oksijene (O_2) parçalanmasını sağlayarak hidroksil radikalinin oluşmasını engellemektedir (Valko ve ark 2007).



Glutatyon redüktaz (GR); Glutatyon redüktaz enzimi, hidrojen peroksitin detoksifikasyonu reaksiyonunda oluşan GSSG'nin tekrar kullanılabilmesi için NADPH varlığında tekrar redükte glutatyon'a çevirerek antioksidan aktiviteyi sağlamaktadır (Hermes-Lima ve ark. 2001).



Mitokondriyal sitokrom oksidaz; Solunum zincirinin son enzimi olan Mitokondriyal sitokrom oksidaz, süperoksidin (O_2^-) detoksifikasyonunda rol oynar. Aşırı miktarda süperoksid üretimi gerçekleştiğinde antioksidan enzimlerle beraber süperoksidin oluşturacağı zararı engellemektedir.

1.7.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar

C vitamini (askorbik asit); güçlü indirgeyici özelliği bulunan askorbik asit etkili bir antioksidandır. Ortamdaki süperoksitle, hidroksille, hidroperoksille ve lipid peroksil radikalleriyle tepkimeye girdiğinde temizlenmelerini sağlar. Antioksidan özelliğiyle lipid peroksidlerin sulu ortamda çözülmesini sağlayarak zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır. C vitamini'nin antioksidan yada prooksidan olarak davranmasını askorbat ve geçiş metallerinin yoğunluğu belirlemektedir. Vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarında düşük konsantrasyonda katalizör veya prooksidan olarak etki ettiği, yüksek konsantrasyonda ise etkili antioksidan özelliğiyle kendini göstermektedir (Özel ve Birdane 2014).

E vitamini (Tokoferol); E vitamini, lipid peroksidasyonu ve zincir reaksiyonlarını engelleyerek organizmayı oksidanların zararlarından korumaktadır. Ayrıca GSH-Px ile kombine çalışmalarında vitamin E peroksidlerin oluşumuna engel olurken GSH-Px da ortamdaki peroksidleri yok etmektedir (Masella ve ark. 2005).

A vitamini (β - Karoten); A vitamini'nin metabolik ön maddesi olan β - Karoten, singlet oksijeni baskılama, süperoksid radikalini temizleme ve direk olarak peroksid serbest radikallerini dokulara hapsederek antioksidan savunmada görev aldığı belirtilmiştir (Özel ve Birdane 2014).

GSH; antioksidanlar arasında önemli bir yere sahip olan glutatyon, hücrede sitozol, nükleus, mitokondride bulunur ve karaciğerde sentezlenen bir tripeptittir. Hücre içerisinde depolanabilen GSH'ın bir kısmı indirgenmiş olarak (tiyol), bir kısmında okside GSSG şeklinde bulunur. Hücrede gerçekleşen oksidatif stres miktarını GSH/GSSG oranı yansıtmaktadır (Valko ve ark. 2007).

GSH ve indirgenmiş formunda bol miktarda tiyol grubu bulunmaktadır. Oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreyi korumaktadır (Aydilek ve Aksakal

2003). GSH-Px ve glutatyon transferaz gibi oksidatif strese karşı detoksifikasyon görevi yapan enzimlere kofaktör olarak reaksiyona katılmaktadır (Masella ve ark. 2005).

Ürik asit; hidrofilik yapıda olan hidroksil, süperoksit, peroksil radikallerini temizlemektedir. Geçiş metalleri olan Bakır (Cu^{+2}) ve demir (Fe^{+3}) iyonlarıyla bağ kurarak vitamin C'nin oksidasyonunu engellemektedir (Cereser ve ark. 2001).

Melatonin; Antioksidan özelliği yapısındaki pirol halkasından kaynaklanan melatonin direkt antioksidan etkiyle $\text{HO}\cdot$, H_2O_2 , HOCl , $\text{NO}\cdot$, $\text{ONOO}\cdot$ gibi oksidatif strese neden olan serbest radikallerin detoksifikasyonunu sağlayarak zararlarını engellemektedir GSH-Px'i uyarır ve H_2O_2 'nin suya çevrilmesini katalizler. Yaşlanma ile birlikte üretimi azalmaktadır (Özel ve Birdane 2014).

1.8. Ozon Gazı (O_3)

1.8.1. Ozon Gazının Tarihçesi

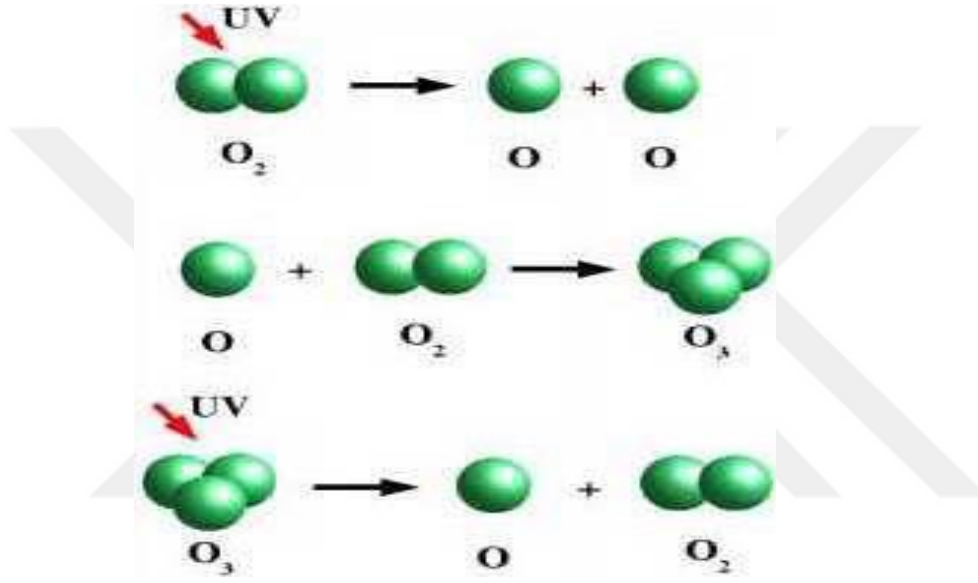
Ozon, Yunanca'da "koklamak" anlamında kullanılan "ozein" sözcüğünden gelmektedir. İlk kez 1840 yılında Alman kimyacı Christian Friedrich Schönbein tarafından bulunmuştur. İlk kez tıbbi amaçla kullanımı 1880 yılında Dr. John Harvey Kellogg tarafından gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Stratosfer tabakasında bulunan ozon gazı güneşten gelen ultra viyole (UV) ışınları emerek biyolojik dengenin devam etmesinde önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir (Bocci 2006a, Bocci 2006b, Nogales ve ark. 2008).

1.8.2. Ozon Gazının Özellikleri ve Oluşum Mekanizması

Üç oksijen atomundan oluşan Ozon (O_3), oksijen molekülüne (O_2) göre daha kararsız yapılı bir moleküldür. Keskin kokulu ve renksiz bir gaz olan ozon, keşfedildikten sonraki ilk zamanlarda dezenfeksiyon amacıyla kullanılmıştır. İlk kez 1860 yılında Monaco şehrindeki su arıtma tesisinde dezenfeksiyon amacıyla kullanılmıştır. Dezenfeksiyonda kullanılmasının sebebi ise güçlü okside edici özelliğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bakterileri, virüsleri öldürür tüm mikroorganizmaları ve toksinleri de okside edebilme özelliğine sahip olup fenoller,

pestisitleri, deterjanları, kimyasal atıkları ve aromatik bileşikleri de etkili bir şekilde nötralize edebilir (Bocci 2004, Yıldız ve Yangılar 2014).

Doğal Ozon gazının oluşumu sırasında yüksek enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Havadaki oksijen molekülü yüksek enerjiyle atomlarına ayrışırken bir taraftan da kararsız atomların bir başka oksijen molekülüyle hızla birleşmesi sonucu ozon oluşmaktadır. Yani ozon, UV radyasyonun değişik frekanslarında bir taraftan oluşurken öbür taraftan yok olmaktadır (Yıldız ve Yangılar 2014, Şekil 5).



Şekil 5. Ozon molekülünün oluşumu (Yıldız ve Yangılar 2014).

1.8.3. Ozon Tedavisi ve Etki Mekanizması

Ozon tedavisinde doz ayarlaması, düşük dozda başlanarak (her ml kan için 10 ug/mL gaz) bu konsantrasyonun yavaş yavaş artırılması şeklinde yapılmaktadır. Bu tedavi yöntemi ile akut ya da kronik toksisite oluşturulmadan tedavide olumlu sonuçlar elde edilmektedir (Bocci 2007).

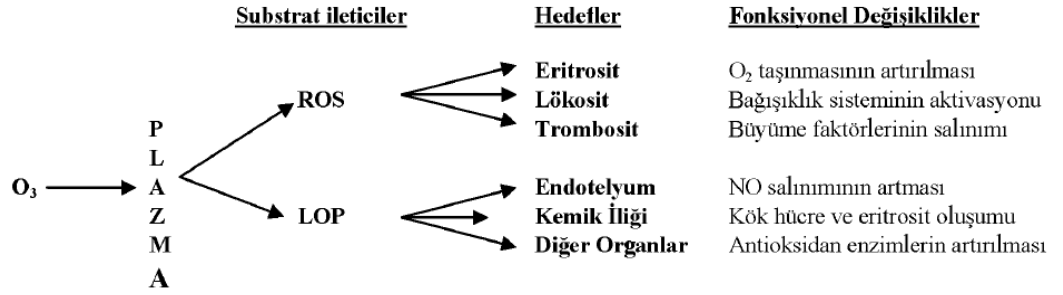
Ozonun terapötik doz aralığı konsantrasyonu 10-80ug/mL olarak belirlenmiştir. Bu oranların eritrosit ve lökosit fonksiyonları üzerinde olumsuz etkisi bulunmamaktadır (Tylicki ve ark. 2004, Bocci 2006b, Bocci 2007, Li ve ark. 2007).

Belirli bir miktarda oksijen /ozon karışımı olarak uygulanan ozon tedavisi topikal, intravenöz, intramuskuler, intraartiküler, intraplevral, intrarektal, intradiskal yollarla vücut boşluklarına veya dolaşım sistemine uygulanmaktadır (Bocci 2006a).

1974 yılında Wolff tarafından uygulanan klasik ozon tedavisi yöntemini; bir miktar kanı (50-270 mL) vücudun dışına alarak dayanıklı bir şişe içerisinde 5-10 dakika kan ile ozon/oksijen karışımının temasını gerçekleştirdikten sonra tekrar aynı kişiye verilmesi olarak tarif etmiştir. Bu yöntem majör otohemoterapi olarak tanımlanmıştır. Reaktif bir molekül olan ozon, tıbbi amaçlı kullanırken karışımdaki oksijen miktarı %95'den az, ozonun ise %5'ten fazla olmaması gerekir. Ozona dayanıklı malzeme kullanılmalı ve hiçbir zaman saf olarak verilmemelidir. Çünkü ozon hava ile temasa geçtiğinde toksik etkili nitrojen dioksit (N_2O_2) oluşmaktadır (Bocci 2006a, Travagli ve ark. 2007).

Ozon uygulandıktan sonra organizmadaki etkileri bakıldığında; hücre metabolizmasını aktive ettiği, bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiği, eritrosit metabolizmasını uyararak hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini artırması sonucu dokulardaki oksijen miktarını artırdığı, serbest radikallerin seviyelerini düşürmesi olarak sayılabilir (Bocci 2006b, Li ve ark. 2007, Nogales ve ark. 2008).

Ozon terapi organizmada oksidatif etki oluşturarak antioksidan enzim sistemlerini harekete geçirir. Kanda çözünen ozon, çoklu doymamış yağ asitleri, ürik asit, askorbik asit ve albumin gibi antioksidanlar ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek tamamı nötralize olur. Başta H_2O_2 olmak üzere, (ROS) ve (LOP)'u (lipoperoksil, hidroperoksitler gibi) ortaya çıkarmaktadır. Bu serbest radikallerin artmasına cevap olarak vücut savunmasında görevli olan antioksidanların (SOD, CAT, GSH-Px) aktivasyonunun artması organizmanın hastalıklara karşı cevap oluşturmasını sağlayan kan hücrelerinin aktivasyonu sağlamaktadır (Güzel ve ark. 2011, Tablo 3).



Tablo 3. Medikal ozon uygulaması sonrası ortaya çıkan temel biyolojik etkiler (Bocci 2006b).

Ozon terapi, lökositler tarafından sitokinlerin (interferon ve interlökin) salınımını sağlayarak bağışıklık sistemini uyarmaktadır (Nogales ve ark. 2008). Aynı zamanda; dekübitis, termik travmalar, lumbal disk hernileri, diyabetes mellitus, arteriosklerozis, purulent ve iyileşmeyen yaralar ve detoksifikasyonda etkilidir (Bocci 2006b, Nogales ve ark. 2008, Lu ve ark. 2010).

1.9. L-Karnitin ve Tarihçesi

İnsan vücudundaki kimyasal bileşimlerin özelliklerini ve dağılımlarını araştıran, günümüzde de gelişmekte olan bilimlerden biri olan tanımlayıcı biyokimya L-karnitin keşfinde de önemli bir yere sahiptir. 1905 yılında kas dokusundan izole edilmiş olup, L-karnitin Latince et anlamında kullanılan carnis adını almıştır (Harmeyer 2002, Umutlu 2012, Tuna 2014).

Hemen hemen 20 yıl sonra 1927 yılında L-karnitin hidrosil (OH) grubunda β-pozisyonunda olduğunu belirtmişlerdir. İlk kez 1935 yılında detaylı bir makale yayınlanmıştır. L-karnitin biyolojik önemiyle ilgili veriler 1948 yılında un kurdu larvalarıyla yapılan vitamin çalışmasında keşfedilmiştir. Bu deneyde larvaların, 9 çeşit B vitamininin bulunduğu tuzlu bir ortamda yetişkin insekte gelişim ve metamorfizmi ciddi oranda bozulmuştur. Daha sonra ortama karaciğer preperatlarının eklenmesiyle bu gelişimin önemli derecede iyileştiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada araştırmacılar karaciğer eksraktındaki bulunan bu aktif yapıyı vitamin B_T olarak nitelendirmişlerdir. Un kurdunun ismini kısaltarak T (Tenebrio molitor) harfini, bulunan biyolojik maddenin diğer bir vitamin B olduğunu

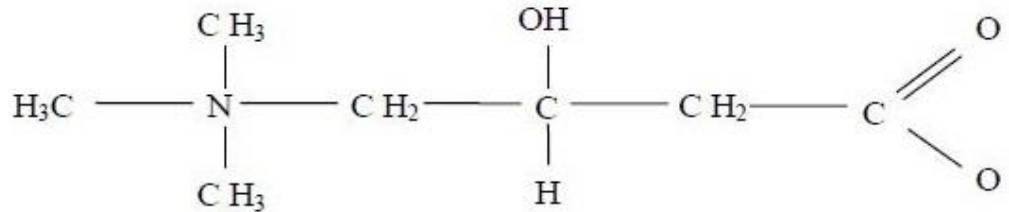
belirtmede ise B harfini kullanmışlardır. 1952 yılında besleyici bir element olarak tanımlanan bu madde un kurtlarının gelişiminde gerekli olduğu belirlenmiş ve L-karnitin ile benzer özellikte olduğu belirtilmiştir (Bremer 1983, Tuna 2014).

Mitokondri organelinde 1958 yılında yapılan çalışmalarda yağ yakımının artırdığı ve yağ asitleri oksidasyonunda önemli bir role sahip olduğu saptanmıştır. 1962 yılında ise L-karnitin iki enantiyomerden oluşan doğal formunun L-karnitin olduğu belirtilmiştir (Zeyner ve Harmeyer 1999). 1962 yılında ilk kez L-karnitin D ve L olmak üzere iki formda karşımıza çıkmaktadır. Doğal formu olan L formu ise fizyolojik L-karnitin adını almıştır. L-karnitin eksikliğinden ortaya çıkan primer rahatsızlıkların teşhisleriyle ilgili ilk araştırmalar 1973 yılında yapılmıştır. Günümüzde hala etki mekanizması ile ilgili çalışmalar devam etmekte olup 1980'li yıllardan sonra ticari olarak kolaylıkla ulaşılabilen bir ürün olmuştur (Tuna 2014).

1.9.1. L-Karnitin Yapısı ve Özellikleri

L-karnitin (3-hidroksi-4-N-trimetil aminobutirik asit), aldığımız besinleri enerjiye dönüştürebilen, polar bir yapıya sahip, beyaz renkte olup suda çözülen termostabil (200°C) bir maddedir. L-karnitin görevleri itibariyle vitaminlerle benzerlik gösterebilir vücudumuzda az miktarlarda üretilmesinden dolayı vitaminler sınıfında yer almamaktadır (Bremer 1983, Shigenaga ve ark 1994).

Asimetrik karbon atomu özelliği taşımasından dolayı D ve L olmak üzere iki forma sahiptir. Metabolik olarak sadece L formu aktif olduğundan dokularda sadece L formu sentezlenmektedir (Da Torre ve ark. 1991, Şekil 6).



Şekil 6. L-karnitin (L-3- hidroksi 4-N-trimetilamino bütirat) (Zeyner ve Harmeyer 1999).

L-karnitinin piyasada çeşitli türevleride bulunmaktadır bunlar; L-karnitin kristalize, L-karnitin L-tartrat, karnitin magnezyum sitrat ve asetil-L-karnitindir. L-

karnitinin bu çeşitleri genelde gıda, ilaç ve çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır (Taşbozan 2005). L-karnitinin büyük bir kısmı diyetle alınıp iskelet kası içerisinde depolanmaktadır (Rebouche 2004, Yavuz 2013). Vücutta beyin, böbrek ve karaciğerde lizin ve metiyonin amino asitlerinin dönüşümüyle oluşmaktadır (Krajcovicova-Kudlackova ve ark 2000, Hoppel 2003).

D formu doğada saf halde bulunmayıp kimyasal sentez sonucunda organizmada üretilmektedir. L-karnitinin internal tuz oluşturabilme özelliği ve betain benzeri yapıda olmasından dolayı önemli düzeyde su tutabilme yeteneğine sahiptir. Zwitterionik yapıya sahip olan bu molekülün asit ve bazik grupları arasındaki molekül uzaklığı lesitin ki ile benzerlik göstermektedir. L-karnitinin bu kimyasal özelliği açıl-L-karnitinlerin neden lipit membranından hızla geçebildiğini açıklamaktadır (Zeyner ve Harmeyer 1999). Doğal aminoasit olarak kabul edilen L-karnitin, glukoz oksidasyonu ve serbest yağ asidi metabolizmasında önemli bir yere sahiptir (Bremer 1983). Yinede L-karnitin tanınmasıyla ilgili bazı farklılıklar vardır. L-karnitin yağ asitlerinden enerji elde edilmesinde görevli olan B grubu vitaminleri ile ilişkili, aminoasit ve vitamin benzeri bir besleyici element olarak tanımlanmaktadır. Başka bir tanımlamada ise; serbest L-karnitin ve açıl-L-karnitinler olarak canlı metabolizmasında bulunurlar ve enerji üretimi için zorunlu kuaterner bir amonyum bileşiğidir (Umutlu 2012).

1.9.2. L-Karnitinin Doğadaki Kaynakları

Yetişkin sağlıklı insanlarda plazmada ki L-karnitin referans değerleri 38-44 $\mu\text{mol/L}$ aralığındadır. L-karnitin düzeyindeki bozukluklar insan sağlığında olumsuz etkilere neden olmaktadır (Reuter ve ark 2008).

Doğada sadece L formu bulunmakla beraber D formu yalnızca laboratuvar ortamında kimyasal olarak üretilmektedir. Bir diğer formu olan D-L formu ise bu iki formun %50'sini içermektedir. Yapılan araştırmalardaki verilere göre D formunun, L-karnitin yağ asitlerini sitoplazmadan mitokondriye taşımasında görev yapan karnitin translokaz enzimini inhibe ederek vücutta yağlardan enerji elde edilmesine engel olduğu belirtilmiştir.

L-karnitin doğadaki besinlerde değişik oranlarda bulunmaktadır. Doğadaki bitkisel ve hayvansal besinlerde ki L-karnitin miktarının bitkisel besinlere oranla hayvansal besinlerde daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bitkisel ve hayvansal yağlarda L-karnitin bulunmamaktadır. Vücutta ki biyosentezi karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve iskelet kasında gerçekleşmektedir. İskelet ve kalp kaslarında ise daha yüksek oranda bulunmaktadır (Taşbozan 2005, Tablo 4).

Bitkisel Kaynaklı Besinler	L-karnitin (mg/kg)	Hayvansal Kaynaklı Besinler	L-karnitin (mg/kg)
Mısır	5	Balık Unu	120
Arpa	7	Et Unu	150
Buğday Kepeği	15	Kan Unu	10
Buğday Unu	5	Tüy Unu	120
Yulaf	5	Balık İskelet Unu	90
Soya Fasulyesi Unu	12	Et Kemik Unu (%40)	100
Üzüm Tohumu Unu	5	Plasma Proteini	15
Ayçiçeği Tohumu Unu	5		
Pamuk Tohumu Unu	20		
Fındık Unu	10		

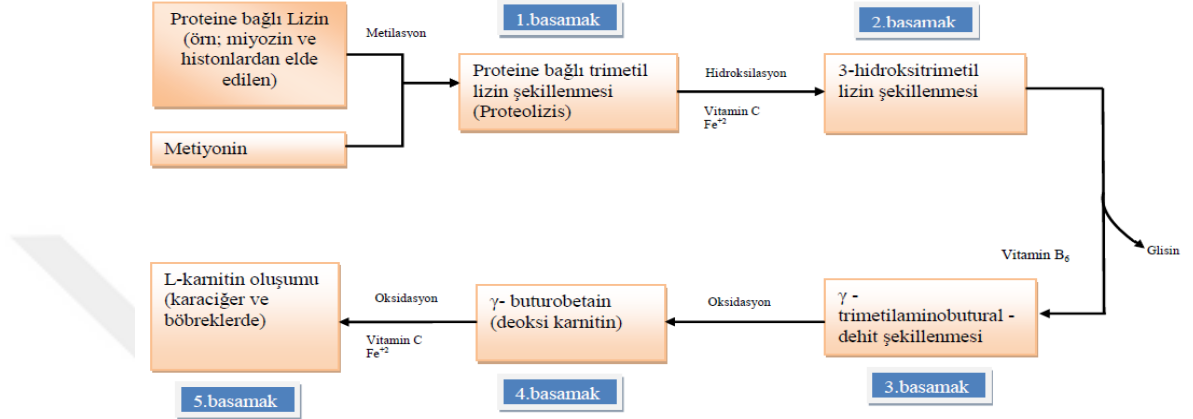
Tablo 4. Bazı besinlerin ham maddelerinde bulunan doğal L-karnitin içerikleri (Taşbozan 2005).

1.9.3. L-Karnitin Biyosentezi

Vücudumuz L-karnitin ihtiyacının yaklaşık olarak %75'inin yediğimiz besinlerden geri kalan %25'ini ise organizmamızda biyosentezle üretimi gerçekleşmektedir.

İlk olarak karaciğer ve böbrekte sentezlenen L-karnitin daha sonra diğer dokulara taşınmaktadır. Metil grupları metiyoninden, karbon zincirleri ve nitrojeni ise L-lisinden gelmektedir. Sentezi için lisin ve metiyoninin yanında C vitamini, demir (Fe^{+2}), B₆ vitamini ve niasine ihtiyaç duyulur. Bunların eksikliğinde ise L-karnitin sentezi olumsuz etkilenmektedir (Kelly 1998, Umutlu 2012). L-karnitin son basamağı karaciğer, böbrek ve beyinde gerçekleşmektedir. Çünkü bu basamağın oluşabilmesi için gerekli olan enzim bütirobotain hidroksilaz sadece buradaki dokularda mevcuttur.

L-karnitinin insanlardaki üretimi oranı 0,16 mg/kg ile 0,48 mg/kg vücut ağırlığı/gün arasında değişkenlik göstermektedir. Böylelikle yetişkin olan bireylerde 11-34 mg/gün oranlarında L-karnitin sentezi gerçekleşmektedir. Sağlıklı kişilerde vejeteryanlarda dahil olmak üzere böbrekten süzülen L-karnitinin %95'i geri emilerek eksikliği önlenmektedir (Umutlu 2012, Şekil 7).



Şekil 7. L-karnitin biyosentezindeki reaksiyon aşamaları (Umutlu 2012).

L-karnitin sentezi 5 basamakta gerçekleşmektedir.

1. Basamak; Reaksiyonun ilk ürünü 6-N-trimetil lizindir ve bu ürün lizinin N-metilasyonu ile şekillenmektedir. Bu reaksiyonda S-adenozil-metiyonin bir metil grubu vericisidir. Miyozinde bulunabilen Trimetil Lizin başlangıçta proteine bağlıdır ve proteoliz esnasında lizozomlara salınmaktadır.

2. Basamak; İkinci reaksiyon ürünü 3-hidroksi-6-N-trimetil lizindir. 6-N-trimetil lizinin C₃'ünün hidroksilasyonu ile sitoplazmada gerçekleşir ve bu reaksiyonda vitamin C ve demir (Fe^{+2}) gerektirilmektedir.

3. Basamak; Bu basamağın oluşması için Vitamin B₆'ya gerektirilmektedir. Glisinin ayrılmasıyla üçüncü reaksiyon ürünü γ -trimetil-aminobüturaldehit oluşmaktadır ve bu ürün deoksi L-karnitin olarak adlandırılmaktadır.

4. Basamak; Aldehitin oksidasyonu ile L-karnitinin ön maddesi karboksil grubu γ -butürobetain (deoksi L-karnitin) dördüncü reaksiyon ürünü oluşmaktadır.

5. Basamak; Deoksi L-karnitin oksidasyonu sonucunda son reaksiyon ürünü olan L-karnitini oluşturmaktadır. Bu reaksiyonda Vitamin C ve Fe^{+2} 'e gerek duyulmaktadır (Harmeyer 2002).

1.9.4. L-karnitin Emilimi

Diyetle birlikte 200-500 mg/kg dozlarda alınan L-karnitin birçok hayvanın plazmasındaki L-karnitin seviyesini artırdığı belirlenmiştir (LaCount ve ark. 1995). Oral yolla alınan l-karnitin dozunun %54-87'si emildikten sonra kan plazmasındaki konsantrasyonunda artış meydana gelmektedir (Umutlu 2012). Organizmada L-karnitin taşınma kapasitesi glukoz ve aminoasitlerle oranla daha düşüktür. Diyetle alınan L-karnitin aktif transport ile ince bağırsağın duodenum ve jejunumdan kısmında aktif ve pasif emilimi gerçekleşirken burada lümeninde bulunan hücreler tarafından asetile edip %80'ini serbest %20'sini ester şeklinde kana geçmektedir.

Böbrek tubülüslerindeki geri emilen miktarı besinlerle alınan miktarına, organizmadaki ihtiyaca ve plazma L-karnitin konsantrasyonuna göre belirlenmektedir. İhtiyaç duyulan miktarın %90'ından fazlası tubüllerde geri emilir ve vücutta kullanıldıktan sonra tamamen metabolize edilmeyen kısmı süt ve idrarla çok az bir bölümü de feçesle dışarı atılmaktadır (Çitil 2002). Organizmada metabolize edilemeyen L-karnitin portal dolaşımdan karaciğere oradanda tekrar kana geçmektedir. L-karnitin esterler şeklinde bulunan kısımda karaciğerden safraya geçmektedir (Umutlu 2012).

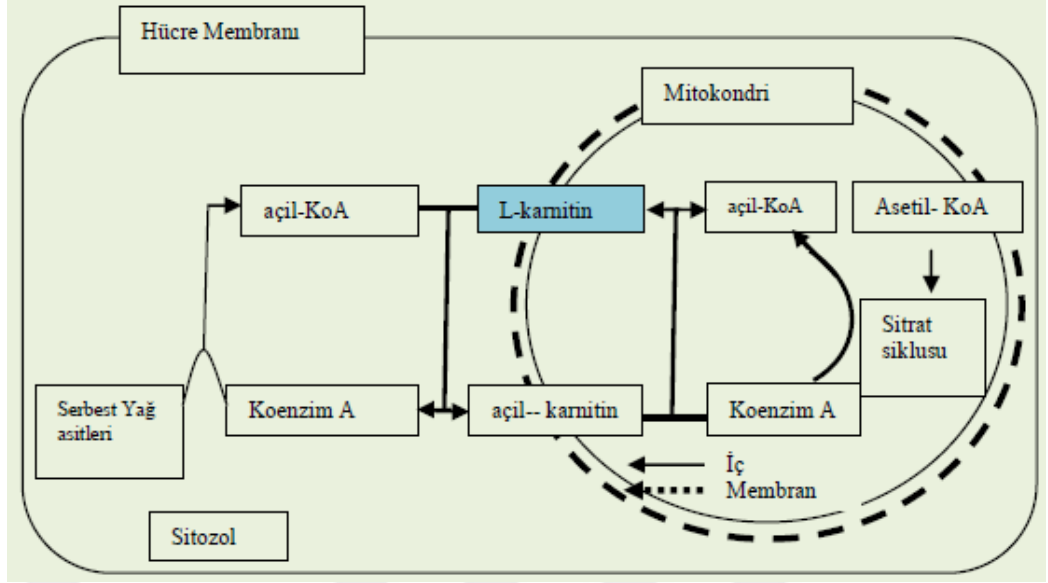
1.9.5. L-karnitin Metabolik Görevleri

L-karnitin organizmada metabolik işlevler üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bunlardan biri; uzun zincirli yağ asitlerini mitokondri içine enerji kaynağı olan asil karnitinler olarak taşımak ve β oksidasyonu sağlamaktır. Aynı zamanda mitokondride orta ve kısa zincirli yağ asitlerinin metabolize olması sonucunda ortaya çıkan serbest KoA brikimini ile oluşabilecek toksik etkileri engellemektir (Calabrese ve ark 2012). Bunların yanında organizmada toksik etki oluşturan glutamin ve amonyak gibi organik asitlerin beyindeki seviyelerini azaltarak beyni amonyak toksisitesinden korumakta, bağışıklığı desteklemekte, sperm hareketliliğini

artırmada, mitokondride ATP üretiminin gerçekleşebilmesi için moleküllerin taşınmasında görev almaktadır (Taşbozan ve Gökçe 2007).

1.9.5.1. Uzun Zincirli Yağ Asitlerinin Mitokondriye Taşınması

Mitokondri organelinin iç zarını geçemeyen uzun zincirli yağ asitleri L-karnitine bağlanarak geçmektedirler. Böylelikle L-karnitin sitoplazmada bulunan uzun zincirli yağ asitlerini oksidasyona uğrayacakları yer olan mitokondri organelinin içine taşınmalarına yardımcı olmaktadır. Böylelikle mitokondri içerisine taşınan besinlerden organizma için gerekli olan ATP üretimi gerçekleşmektedir. Burada enerji üretiminin gerçekleşebilmesi için mitokondri organelinin iç ve dış zarında bulunan 3 enzim görev yapmaktadır. İskelet ve kalp kasının dış mitokondri zarında bulunan, L-karnitin-palmitoil transferaz I (KPT I) enziminin etkisiyle açil-KoA (yağ asidi+CoA)'dan açil-L-karnitin elde edilmektedir. Bir sonraki basamakta ise L-karnitin; açil-l-karnitin translokaz (KT) enziminin yardımıyla oluşan açil-l-karnitini mitokondrinin iç zarına taşınmasını sağlar. Mitokondrinin iç zarında bulunan L-karnitin-palmitoil transferaz II (KPT II) enzimide burada açil-KoA oluşumunda görevlidir. Açil-KoA'nın β -oksidasyon reaksiyonu boyunca metabolizasyonu sonucunda son ürün olarak propiyonil KoA ve asetil KoA meydana gelmektedir (Umutlu 2012, Şekil 8).



Şekil 8. Sitozolden mitokondri içerisine aktif yağ asitlerinin taşınmasında görev alan L-karnitin fonksiyonu (Umutlu 2012).

1.9.5.2. Kısa ve Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Mitokondriden Taşınması

Açıl-L-karnitinler tarafından kısa ve orta zincirli formda olan yağ asitlerinin mitokondri içerisinden transferleri gerçekleşmektedir. Böylelikle enerji üretimi için gerekli olan serbest haldeki KoA'ların ve mitokondride fazla miktarda bulunan asetil ve açıl gruplarının taşınması sağlanmaktadır. Bu döngüde, belirli ilaçların kullanımları L- karnitin miktarının tükenmesine yol açabilmektedir (Demircan 2012).

1.9.5.3. KoA Havuzunun Tamponu ve Açıl Gruplarının Detoksifikasyonu

Karbonhidrat, yağ ve aminoasitlerin yıkılması sonucu mitokondri içerisinde asetil-KoA oluşumu gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonda oluşan asetil-KoA'nın birikmesi katabolizma reaksiyonlarını engelleyerek belirli bir konsantrasyonda toksik etkiler oluşturmaktadır. L-karnitinin görevlerinden biride fazla miktarda oluşan asetil gruplarının detoksifikasyonunu sağlamak ve serbest KoA'nın artışını engelleyerek asetil-KoA/KoA dengesinin korumaktır. Bu işlem esnasında KoA serbest kalırken l-karnitin asetil gruplarıyla bağlanır ve asetil grupları böbreklere taşınarak atılımı gerçekleşir. Daha sonra mitokondri içerisindeki asetil KoA/KoA oranı serbest KoA ya dönüşür ve KoA karbonhidrat metabolizmasında kullanılmaktadır. Asetil-KoA'nın mitokondri içerisinde birikmesi nükleotit transkolaz fonksiyonunu

engellenmektedir. Bu yüzden mitokondri içerisindeki artmış asetil-KoA/KoA oranının dengede olması ATP'nin mitokondriden taşınmasına destek olmaktadır (Bilge 2014).

1.9.5.4. Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri

Mitokondri içinde bulunan asetil KoA'nın azalması sonucu piruvat dehidrogenaz (PDH) kinaz aktivitesinde azalma görülmektedir. Bu azalmanın etkisiyle piruvat dehidrogenaz daha aktif olur ve glukoz oksidasyonunda artış beklenir. PDH kinaz, PDH enzim kompleksinde bulunan görevli 2 regülatör enzimden biridir ve PDH aktivitesini kontrol etmektedir. Enerjinin karbonhidrat ya da lipitlerden sağlanacağını asetil-KoA/KoA oranı belirlemektedir. Asetil-KoA/KoA oranındaki azalma PDH enzimini aktive ederken, Asetil karnitin aracılığıyla peroksizomalde malonil-KoA transferaz üretimi artarak uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine ulaşmaları engellenir. Malonil-KoA ise KPT I enzimini baskılar ve yağ asidi oksidasyonunu kontrol altında tutmaktadır (Yavuz 2013).

1.9.5.5. Protein Metabolizmasına Etkileri

Piruvat, yağ asitleri ve aminoasitlerden elde edilen asetil-KoA geri dönüşebilir bir şekilde mitokondrinin iç zarında bulunan L-karnitin asetiltransferaz (KAT) enzimi tarafından asetil-L-Karnitin ve KoA'ya dönüştürülmektedir. Bu reaksiyon yağ asidi oksidasyonu ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün devam etmesini sağlar ve serbest KoA'ları yenilemektedir. Oluşan asetil grupları sterol, yağ asitleri ve keton cisimciklerinin sentezinde rol alırlar (Kerner ve ark. 2011).

L-karnitin tükenmesi ile insülin aracılı glikoz kullanım yolları, lipit metabolizması, dallanmış zincirli aminoasit yıkımının düzenlenmesi ve tüm organizmanın protein dengesi olumsuz etkilenebilir (Hoppel 2003). Aynı zamanda karnitin; löysin, valin, izolöysin gibi dallanmış aminoasitlerin oksidasyonunu uyarmada görev yapmaktadır. Bu aminoasitlerin mitokondriye girişi arttığında hemen dallanmış asil-L-karnitinler oluşmakta ve asil-L-karnitin yoluyla mitokondri ve peroksizom dışına taşınmalarında ve katabolizmalarında rol almaktadır. Çünkü löysin katabolizmasıyla oluşan izovaleril-KoA, L-karnitin eksikliğinde

mitokondrinin dışına taşınmasının aksaması sonucu birikimi gerçekleşir. Bu birikim sonucunda da izovalerik asidemi gibi metabolik değişiklikler oluşabilmektedir (Hoppel 2003, Yavuz 2013).

1.9.5.6. L-Karnitin ve Antioksidan Savunma

L-karnitin ve türevleri üzerine yapılan araştırmalarda güçlü bir antioksidan oldukları belirtilmiştir. Aynı zamanda beta oksidasyonu için uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine taşınmasına yardımcı olmaktadır. Beta oksidasyonu sonucunda oluşan asetil CoA ise trikarboksilik asit siklüsüne girer. Bu siklusta ise birçok oksijen molekülü tükenmekte ve ATP üretimi gerçekleşmektedir. Böylelikle siklusun sonunda oksijen molekülü ATP üretimi için kullanıldığından H₂O'ya indirgenen oksijen konsantrasyonu azalmakta ve oluşabilecek reaktif oksijen türlerinin oluşumu engellenmektedir (Demircan 2012).

Antioksidan etkinin önemli bir göstergesi bileşiğin indirgeme kapasitesidir. L-karnitin ise farklı konsantrasyonlarda indirgeme gücüne sahiptir ve etkili bir H₂O₂ ve O₂•⁻ süpürücüsüdür. İnsanın karaciğer hücresi kültüründe yapılan çalışmada H₂O₂ ile indüklenen ROT artışını engellediği belirtilmiştir. Karnitinlerin antioksidan özelliğe sahip olmalarının yanında serbest radikal süpürücü etkileriyle; prooksidan olarak görev yapan demir ile şelat yaparak lipid preoksidasyonunu önlediği, serbest radikal geçişini azalttığı, serbest radikallere karşı membranı sağlamlaştırarak hücreleri hasardan koruduğu ve mitokondrial hasarı önleyerek enerji üretimini arttırdığı, lipid, protein ve DNA' yı oksidatif hasarlardan koruduğu belirtilmiştir (Gülçin 2006, Li ve ark. 2012, Tuna 2014).

L-karnitin, antioksidan özelliğinin dolaylı enzimatik olmayan antioksidanlardan GSH, vitamin E, askorbik asit'in aktivasyonlarını düzenlediği aynı zamanda enzimatik antioksidanlardan ise GP_x, GR, SOD, CAT enzimleri peroksidatif bozunmaya karşı koruduğu ve aktivasyonlarını düzenlediği bildirilmiştir (Koeck ve Kremser 2003, Gómez-Amores ve ark. 2006).

Aldehidik lipid peroksidasyon ürünleri hücre zarında bulunan iyon taşıyıcı proteinlerin bütünleşmesini engellemektedir. Örneğin; oksijen radikallerine maruz

kalan koroner arterlerin hücre zarı sodyum pompalarının tahrip oldukları belirtilmiştir (Elmoselhi ve ark. 1994). Organizma içerisinde bulunan alfa tokoferol, askorbik asit ve L-karnitin güçlü antioksidan bileşiklerdir. Bu özelliklerinden dolayı lipit peroksidasyonunu inhibe ettikleri aynı zamanda oksidatif stresin neden olduğu kronik hastalıkları önlemede de fayda sağladıkları ifade edilmiştir (Balercia ve ark. 2005).

L-karnitin; hücre yapısı için önemli olan fosfolipidlerin sentezini artırarak hücre hasarlarının onarımına yardımcı olmaktadır (Kashiwagi ve ark. 2001). Gençlere oranla yaşlı ratlarda lipit peroksidasyonunun artması sonucu antioksidan özelliklere sahip olan SOD, GSH ve CAT enzimleri ve vitamin C, vitamin E' nin azaldığı; fakat L-karnitin ilave edildiğinde ise artış göstermeleri bu görüşü desteklemektedir (Schnackenberg ve Wilcox 2001, Gülçin 2006).

L-karnitin ilavesi yaşlı ratlarda gençlere oranla daha belirgin etkiler oluşturmaktadır. Bunun en önemli nedeni ise karnitin miktarının yetersiz sentezlenmesidir. Bu nedenle ilave olarak verilen karnitinin yaşlı ratlarda yetersiz olan karnitin ihtiyacının karşılanması için genç ratlara oranla daha hızlı emilmektedir. Genç ratlarda ise karnitin konsantrasyonu normal koşullarda yeterli seviyede olduğundan yaşlı ratlarla karşılaştırıldığında emilimine karşın atılımı daha hızlı gerçekleşmektedir (Kalaiselvi ve Pannerselvam 1998).

Yapılan bir araştırmada L-karnitin ve lipoik asit tek ve kombine şekilde verilerek yaşlı ve genç rat gruplarında beyin dokusundaki GP_x ve GR aktivitelerine etkileri yönünden karşılaştırılmıştır; yapılan katkıların sinerjik etkili olarak yaşlı gruplardaki antioksidan enzimlerde küçük ama önemli bir artış gösterdiği fakat genç gruplarda gözlenmediği belirtilmiştir (Muthuswamy ve ark. 2006).

Yapısında iki ya da daha fazla -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S- ve -O- gibi fonksiyonel grup içeren bileşikler metal şelasyon yapmaları yönünden daha aktiftirler (Yuan ve ark. 2005, Gülçin 2006). Antioksidan özelliği bulunan L-karnitinin serbest Fe ve Cu gibi metallerle şelat yapma özellikleri önem taşımaktadır. L-karnitin -OH, karboksil grupları ve Fe⁺²'yi bağlamaktadır (Gülçin 2006).

1.9.5.7. Metabolizmada L-Karnitin Eksikliği

L-karnitin eksikliğinde yetişkinlerde, çocuklarda ve gençlerde spesifik olmayan bazı belirtiler gözlense de detaylı araştırıldığında çabuk yorgunluk ve bitkinlik, fiziksel hareketlilikte düşüş, yağ metabolizmasında düzensizlik, dokularda fazla miktarda yağ depolanması, enfeksiyonlara karşı direncin azalması, kandaki yağ düzeylerinde artış gibi etkiler tespit edilmektedir (Taşbozan 2005).

1.9.6. L-Karnitinin Kullanıldığı Alanlar

L-karnitin insan ve hayvan vücudunda bir miktar üretilmektedir. Yağ ve karbonhidrat metabolizmasında, kalp ve kasların uygun fonksiyonlarını gerçekleştire bilmelerinde gerek duyulmaktadır. Ayrıca L-karnitin bağışıklık sisteminde, geriatric yorgunlukta, diyabet, yaşlanmayı yavaşlatmada, kronik böbrek yetmezliğinin tedavisinde, diyetle, dengeli beslenme ve obezite araştırmalarında, sperm hareketliliğini artırıcı özelliğinin bulunmasından dolayı infertilitede, ilaç etkileşimlerinden kaynaklanan l-karnitin miktarının azalmasını önlemek gibi birçok çalışmada kullanılmaktadır (Costell ve ark. 1989, Malone ve ark 1999, Vesela ve ark. 2001, Taşbozan 2005, Crentsil 2010).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığı'nın 2016-042 sayılı izni ile yapıldı. Çalışmamızda toplam 56 adet olmak üzere 4-6 aylık, ortalama 190-250 gr ağırlığında, dişi Wistar Albino Rat kullanıldı. Bu ratlar, resmi olarak deney hayvanları üretme ve satma yetkisi bulunun Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Ünitesinden temin edildi. Hayvanlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 25°C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilerek ad-libitum olarak beslendi. Hayvanlar ağırlıklarına göre her bir grupta 7 rat olmak üzere toplam 8 gruba ayrıldı.

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Aletler

Spektrofotometre

Vorteks (Velp scientifica, ZX3, Italy)

Hassas terazi (Precisa, 205A SCS, Switzerland)

Derin dondurucu (Arçelik, 2560, Türkiye)

Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)

Ayarlanabilir otomatik pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, Ependorf, Varipette, Germany)

Otoanalizör

Homojenizatör

Su Banyosu

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler

Hayvan kafesi

Rad yemi

1.5 mL'lik ependorf mikro santrifüj tüpleri

Otomatik pipet uçları

Gastrik tüp

Steril enjektör (5, 10 mL) (Hayat)

Asetaminofen

Ozon Gazı

L-Karnitin

NaCl

2.2. Metod

Ratlar 8 gruba ayrılarak her grupta 7 hayvan bulunacak şekilde 4 kontrol ve 4 deney grubundan oluşmaktadır. Grup I'e sadece oral yolla %0,9 NaCl verilen, Grup II'ye intraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) verilen, Grup III'e intraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen, Grup IV'e intraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) ve İntraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen, Grup V'e (2. Kontrol) N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilen, Grup VI'ya N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra intraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) verilen, Grup VII'ye N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra intraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen, Grup VIII'e N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra İntraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) ve intraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen olmak üzere 8 grup oluşturuldu.

Çalışmada kullanılan gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu;

1: Kontrol Grubu (n=7) : Sadece oral olarak %0.9 NaCl verilen

2: Ozon (O₃) Grubu (n=7): İntraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) verilen

3:L-karnitin Grubu (n=7): İntraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen

4:Ozon (O₃) ve L-karnitin Grubu (n=7): İntraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) ve İntraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen

5: Asetaminofen Grubu (2. Kontrol): N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturulan

6: Asetaminofen ve Ozon (O₃) Grubu (n=7): N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra intraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) verilen

7: Asetaminofen ve L-karnitin Grubu (n=7): N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra intraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen

8. Asetaminofen, Ozon (O₃) ve L-karnitin Grubu (n=7): N-acetyl-p-aminophenol (1gr/kg) oral yolla tek doz verilerek karaciğer hasarı oluşturularak ve 1 saat sonra İntraperitoneal yolla O₃ (0.7 mg/kg) ve İntraperitoneal yolla L-karnitin (500mg/kg) verilen

Çalışma sonunda hayvanlara bir gece boyunca besin verilmedi ve çalışmada kullanılmak için gerekli olan kan ve doku (karaciğer) numuneleri hayvanın yaşamına etik kurallara uygun bir şekilde servikal omur dislokasyonu ile son verilerek alındı. Alınan kan ve doku örnekleri ölçüm yapılana kadar -80°C'de muhafaza edildi. Aynı zamanda da patolojik incelemeler için %10'luk formol içerisinde doku örnekleri alındı ve saklandı. Uygun koşullarda muhafaza edilen kan örneklerinden ALT, AST, GGT, TAS, TOS, MDA karaciğer dokusunda ise TAS, TOS, MDA analizi yapıldı. Ayrıca karaciğer dokusundan %10'luk formol içerisine alınan doku örneklerinden patolojik incelemeler yapıldı.

2.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

DeneySEL aşamanın sonunda 0.4 mL/kg pentobarbital sodyum ile anestezi altına alınan hayvanlardan kan örnekleri intrakardiyak olarak alındı. Kan örneklerinin bir kısmı serum elde etmek için jelli tüplere, kalan kısmı ise plazmalarının çıkarılması için heparinli tüplere alındı. Jelli tüplere alınan kan örnekleri hiç bekletilmeden soğutmalı santrifüjde +4°C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmek suretiyle serum örnekleri çıkarıldı. Yine heparinli tüplere alınan kan örnekleri de +4°C'de 3000 rpm'de, 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Hazırlanan serum ve plazma örneklerinin analizleri yapıncaya kadar -20°C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

2.2.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Kan örneklerinin alınmasını takiben; karaciğer dokuları alındı. Alınan karaciğer dokularının bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Kalan doku örnekleri ise laktatlı ringer solüsyonu ile yıkandıktan sonra polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi ve analizlere kadar -20°C'daki derin dondurucuda saklandı.

Analizlerin hemen öncesinde analizlerde kullanılan kitlerin prosedürüne uygun şekilde karaciğer doku örneklerinden bir miktar tartılarak üzerine ağırlığının 9 katı fosfat tampon çözeltisi ilave edilerek (1/10 oranında) homojenizatör yardımı ile homojenize edildi. Daha sonra homojenize edilen doku örneklerinden santrifüj yardımıyla ayrılan homojenatlar polietilen tüplere alındı.

2.2.3. Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değişikliklerin Belirlenmesi

Bütün deney hayvanlarından alınan karaciğer örnekleri %10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerin ardından hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı ve Hemotoksilen-Eosin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

2.2.4. MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

Tiyobarbitürk asit (TBA) ile plazmanın 100°C'de inkübasyonu ile lipid peroksidasyonun (LPO) sekonder bir ürünü olan malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin spektrofotometrede 532 nm'de ölçümü ile LPO nmol/mL olarak belirlenir (Placer ve ark 1966). Standart eğri çizimi için 1,1,3,3 tetra etoksipropan kullanıldı. 1 gr karaciğer dokusuna 9 mL PBS (Phosphate Buffer Saline) ilave edilerek dokular homojenize edildi. Daha sonra 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üste kalan homojenizatlar ölçümlerde kullanılmak üzere başka tüpe alınarak saklandı.

2.2.5. TOS Test Kiti

Testin Prensi: Örnekte bulunan antioksidanlar ferröz iyon-o-dianisididine komplekslerini ferrik iyona oksitlerler. Bu esnada ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (Erel 2005).

Testin Yapılışı: Kit içeriğinde yer alan standart 2 solüsyonundan 50 µL alınarak 10 ml deiyonize su ile karıştırılarak vortekslendi. Daha sonra bu ilk solüsyondan 50 µL alınarak yeniden 10 ml deiyonize suyla karıştırılıp vortekslendi. Bu şekilde standart 2 solüsyonu deiyonize su ile 40.000 kez dilue edilmiş oldu. Sonuç olarak hazırlanan solüsyonun konsantrasyonu 20 mikromolar H₂O₂ oldu.

1. 75 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
2. 500 µL Reagent 1
3. 30 sn sonra 530 nm dalga boyunda ilk absorbans
4. 25 µL Reagent 2
5. 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
6. 530 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Sonuç} = [\Delta \text{ABS Örnekle} / \Delta \text{ABS Standart 2}] \times 10 \mu\text{mol/L} [\text{Standart 2 değeri}]$$

$$\Delta \text{Örnek Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{Standart 2'nin Absorbansı} = (\text{Std 2'nin 2. Absorbansı} - \text{Std 2'nin 1. Absorbansı})$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 10 \mu\text{mol/L}$$

Değerler µmol H₂O₂ Equiv. / L cinsinden verildi.

2.2.6. TAS Test Kiti

Testin Prensi: Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid) radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre koyu mavi-yeşil rengini kaybetmektedir. Bu yöntemin esası hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS⁺ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (Erel 2004).

Testin Yapılışı:

1. 30 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
2. 500 µL Reagent 1
3. 30 sn sonra 660 nm dalga boyunda ilk absorbans
4. 75 µL Reagent 2
5. 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
6. 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar elde edildi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Örnekte})]}{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Std 2})]}$$

$\Delta \text{ABS Std 1} = (\text{Standart 1'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 1'in 1. Absorbansı})$

$\Delta \text{ABS Std 2} = (\text{Standart 2'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 2'in 1. Absorbansı})$

$\Delta \text{Örnek Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$

Sonuçlar Trolox equivalent / L cinsinden verildi

2.2.7. Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Ölçümü

2.2.7.1. GGT, AST, ALT düzeylerinin belirlenmesi

Otoanalizör ile ölçümleri yapıldı.

2.2.8. Asetaminofenin Hazırlanması

Atabay Kimya Sanayi ve Ticaret Anonim şirketinden temin edilen APAP Distile suda çözündürülerek uygulamaya hazır hale getirildi. Hayvan kilolarına göre ayarlanan asetaminofen yeteri miktarda suda çözülerek verildi.

2.2.9. Ozon Gazının Hazırlanması

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Bulunan Ozon cihazından Ozon (oksijen miktarı %95, ozon %5) temin edildi.

2.2.10. L-Karnitin Hazırlanması

5 mL'lik bir ampul: 1g L-karnitin iç tuz 0.014 mL %10'luk hidroklorik asit ve enjeksiyonluk su (sigma-tau) hazır preparat kullanıldı.

2.2.11. İstatistiksel Analiz

İstatistik hesaplamalarda one-way ANOVA testi kullanılarak gruplar arası istatistiksel fark belirlendi. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post-hoc Tukey HSD testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata ($X \pm SEM$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterdi. Tüm hesaplamalar SPSS® (SPSS 18.0, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Karaciğer Dokusundaki Histopatolojik Bulgular

Bütün gruplara ait karaciğer dokularının Hematoksilen&Eosin (H&E) ile boyanan kesitlerinde yapılan histolojik incelemeler sonucunda;

Kontrol grubundaki ratların karaciğer dokularından alınan kesitlerin histopatolojik incelemelerinde hepatositlerde hasar, karaciğer dokusunda kanama ve nekroz oluşumuna ait herhangi bir bulguya rastlanmazken 3 olguda minimal düzeyde periportal inflamasyon (Resim 1) ve 4 olguda ise orta düzeyde vasküler konjesyon tespit edildi.

Ozon kontrol grubunda yapılan incelemelerde hepatositlerde hasar, karaciğer dokusunda kanama ve nekroz oluşumuna ait herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Olguların birinde minimal düzeyde periportal inflamasyon izlenirken diğer olgularda izlenmediği, 2 olguda ise orta düzeyde vasküler konjesyon dikkati çekerken diğer olgularda saptanmadığı (Resim 2) gözlemlendi.

L-karnitin verilen grupta, kontrol ve ozon verilen gruba benzer şekilde karaciğerde hücre hasarı (Resim 2), kanama ve nekroz oluşumuna ait bir patolojik bulgu gözlenmedi. 2 olguda bazı alanlarda yer yer minimal düzeyde periportal inflamasyon ve 4 olguda da vasküler konjesyon (Resim 3) varlığı saptandı.

Ozon_L-karnitin'in beraber verildiği kontrol grubundaki ratların karaciğer dokularının incelenmesinde yalnızca ozon ve yalnızca L-karnitin verilen gruba benzer şekilde karaciğerde kanama ve nekroz izlenmezken tüm karaciğer dokusunda orta derecede vasküler konjesyon dikkati çekti (Resim 4). İncelemelerde 2 olguda minimal düzeyde periportal enflamasyon gözlenirken kontrol, yalnızca ozon ve yalnızca L-karnitin verilen gruplardan farklı olarak 3 olguda hafif derecede hepatosit hasarı tespit edildi.

APAP kontrol grubuna ait karaciğer dokularında genel olarak yaygın olan orta ve şiddetli düzeyde hücresel hasar gözlemlendi. Yaygın ve şiddetli düzeyde hepatosit hasarı olan olguların ikisinde periportal nekroz varlığı (Resim 5) ve

intrahepatik kanama alanları (Resim 6). Tüm olgularda değişken seviyelerde vasküler konjesyon saptanırken hiçbir olguda periportal enflamasyon gözlemlenmedi.

APAP_ozon verilen grup, APAP kontrol grubu ile kıyaslandığında yaygın şiddetli düzeyde hücrel hasar oluşan yerlerin periportal alandan düzelmeye başladığı, periportal enflamasyon oluşmadığı ve hiçbir olguda nekroz gelişmediği tespit edildi (Resim 7-8). APAP kontrol grubuna benzer şekilde hepatositlerde yer yer fokal yer yer yaygın yerleşim gösteren; hafif, orta ve şiddetli düzeyde hücrel hasarlar, tüm olgularda değişken derecelerde vasküler konjesyon ve 2 olguda kanama alanları gözlemlendi.

APAP_L-karnitin verilen grup, APAP kontrol grubu ile kıyaslandığında orta seviyede yaygın hücrel hasar olan yerlerin periportal alandan düzelmeye başladığı belirlendi (Resim 9). APAP kontrol grubuna benzer şekilde karaciğer dokusunda vasküler konjesyon, kanama, yaygın nitelikte orta ve şiddetli seviyede hücrel hasarlar tespit edilmesine rağmen belirgin periportal enflamasyon izlenmedi. APAP_ozon grubundan farklı olarak tüm olgularda değişken yaygınlıkta kanama alanlarına ek olarak yaygın nitelikte ve şiddetli düzeyde hücrel hasar olan olguda fokal periportal nekroz varlığı belirlendi. Kontrol grubundan farklı olarak ise kanama alanları, hücrel hasar, vasküler konjesyon ve fokal periportal nekroz alanları varlığı dikkati çekti.

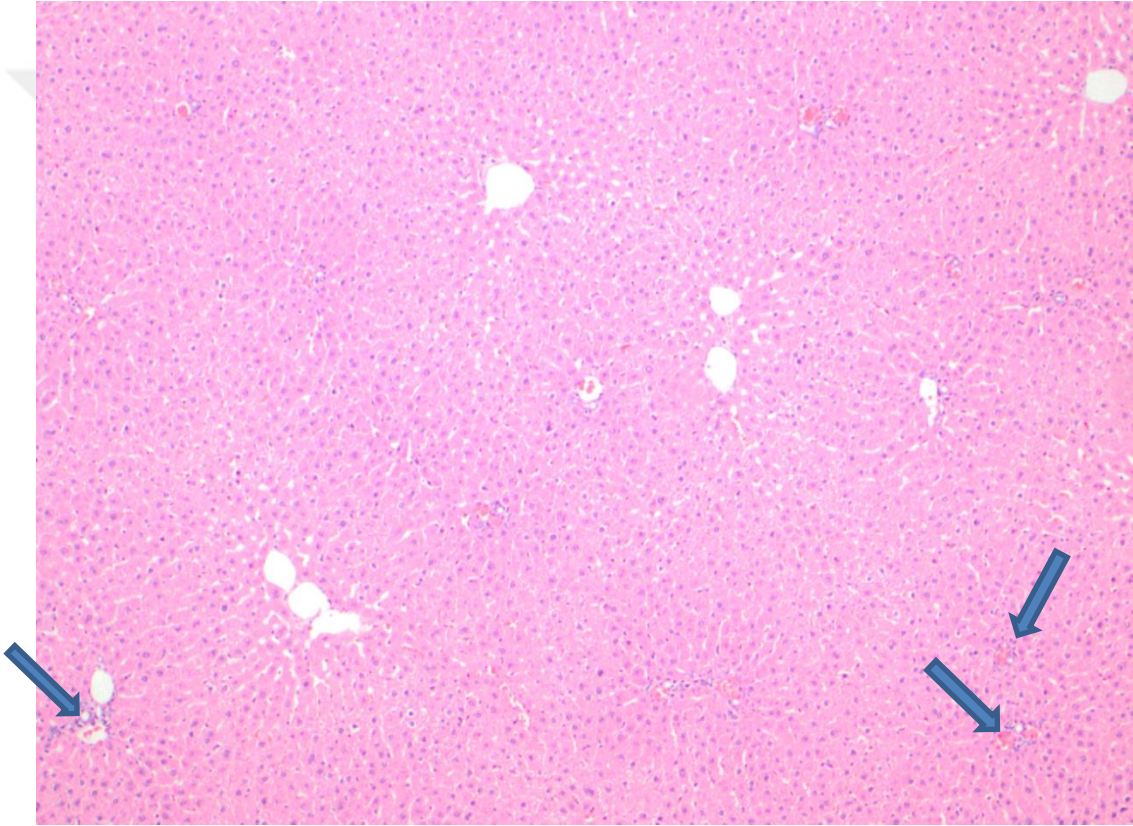
APAP_ozon_L-karnitin verilen grup, kontrol APAP grubuyla kıyaslandığında hafif şiddette fokal hücrel hasar oluşan olguda hasarın periportal alandan düzelmeye başladığı dikkat çekti (Resim 11). APAP kontrol grubuna benzer şekilde bazı olgularda karaciğer dokusunda vasküler konjesyon ve 2 olguda kanama alanları tespit edildi. Bununla birlikte hücrel hasar oluşmayan olgu ile orta yaygınlıkta hücrel hasar izlenen hepatositlerin bulunduğu olguda fokal periportal nekroz varlığı saptanırken karaciğerlerin tümü göz önünde bulundurulduğunda belirgin periportal enflamasyon varlığı izlenmediği gözlemlendi.

APAP_ozon_L-karnitin grubunda, APAP_ozon grubuna benzer şekilde periportal enflamasyon izlenmemiş olup hücrel hasar, vasküler konjesyon ve

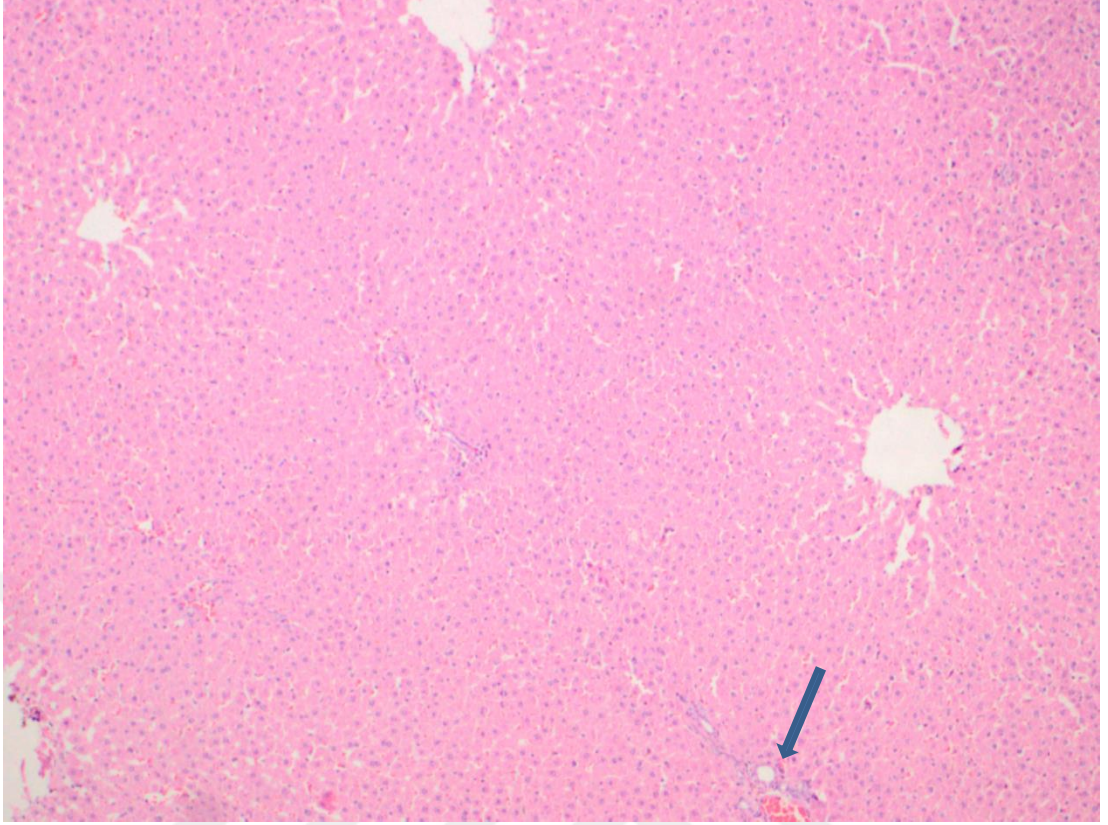
kanama varlığı dikkat çekerken farklı olarak fokal periportal nekroz varlığı tespit edilmiştir.

APAP_ozon_L-karnitin grubunda, APAP_L-karnitin grubuna benzer şekilde periportal enflamasyon izlenmemiş olup hücresel hasar, vasküler konjesyon, kanama ve fokal periportal nekroz varlığı gözlenmiştir.

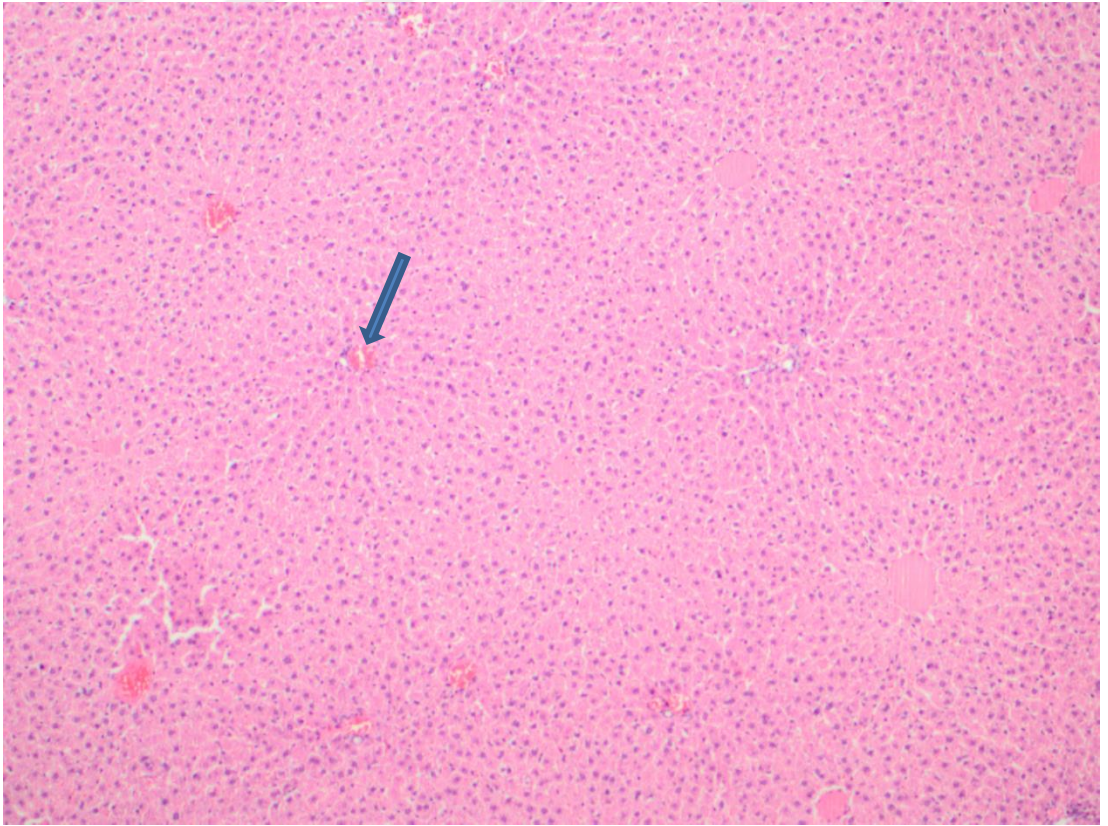
APAP_ozon_L-karnitin grubunda, kontrol grubundan farklı olarak farklı olarak yer yer kanama odakları, hücresel hasar, vasküler konjesyon ve fokal periportal nekroz alanları izlenmiştir.



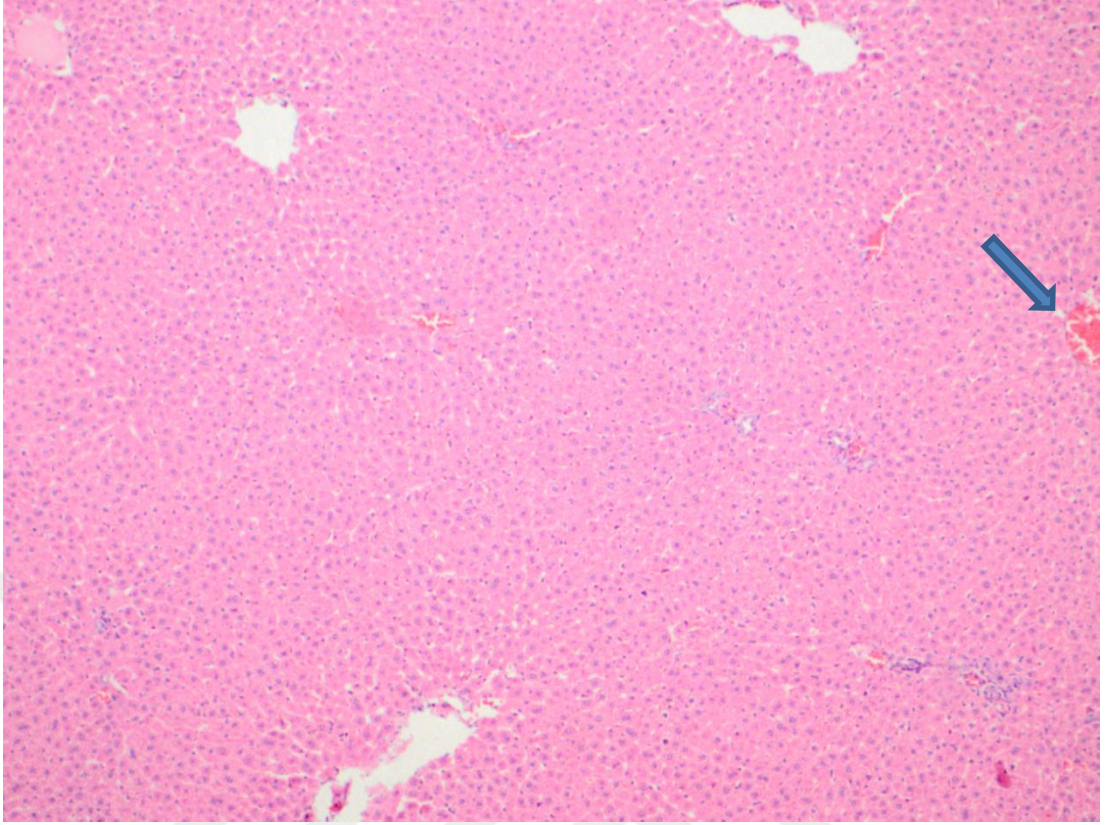
Resim 1. Grup 1: morfolojik limitlerde karaciğer dokusu, mavi ok portal triad (H&E, 100x)



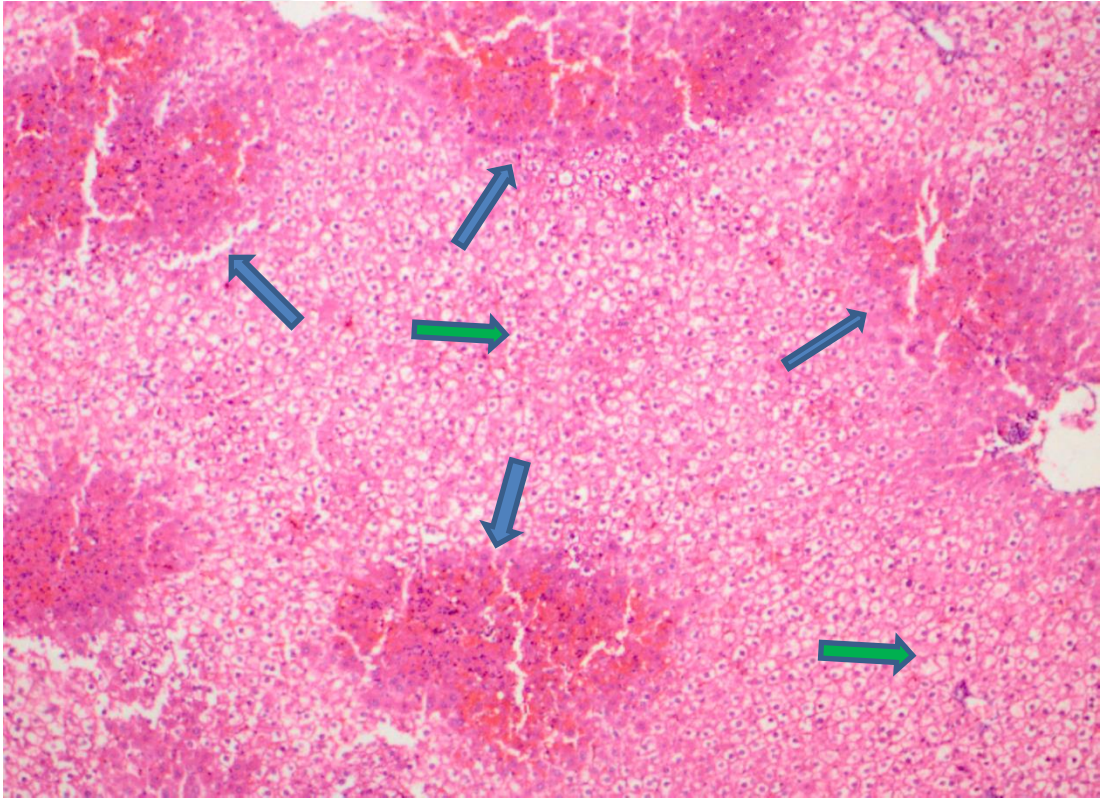
Resim 2. Grup 2: Ozon grubu portal alan mavi ok (H&E, 100x)



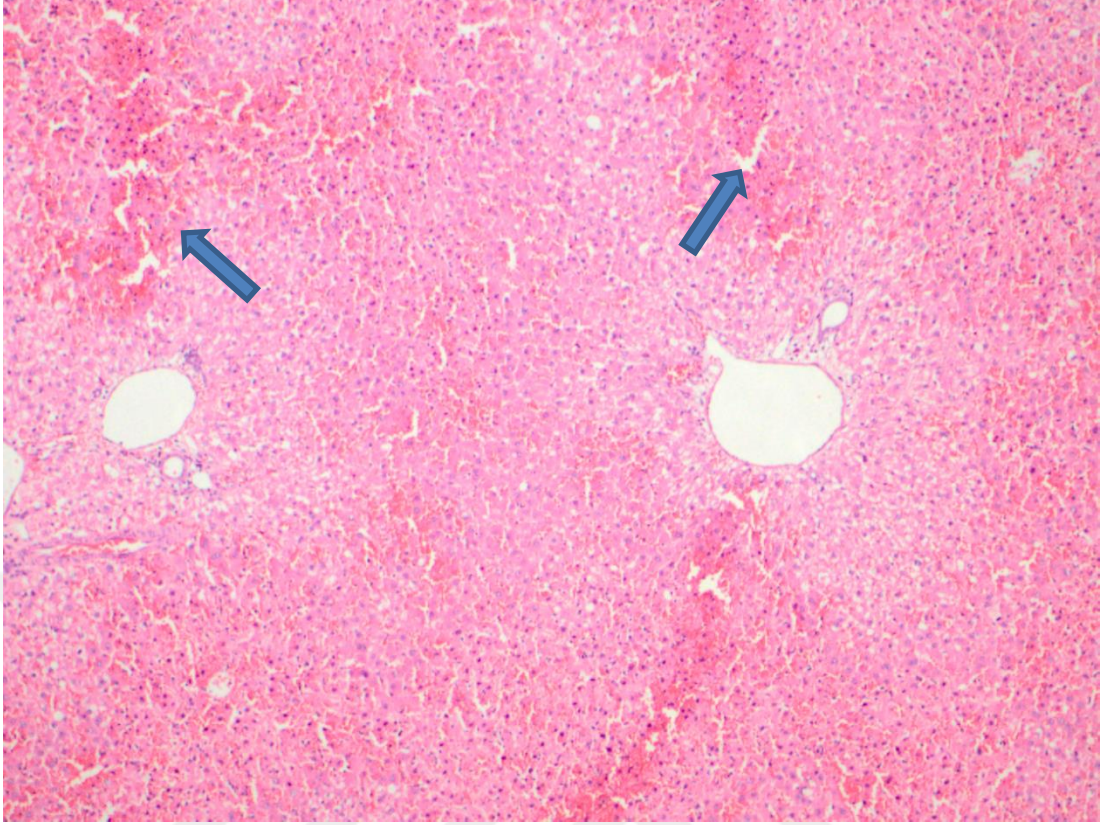
Resim 3. Grup 3: L-karnitin konjesyone damarlar mavi ok (H&E, 100x)



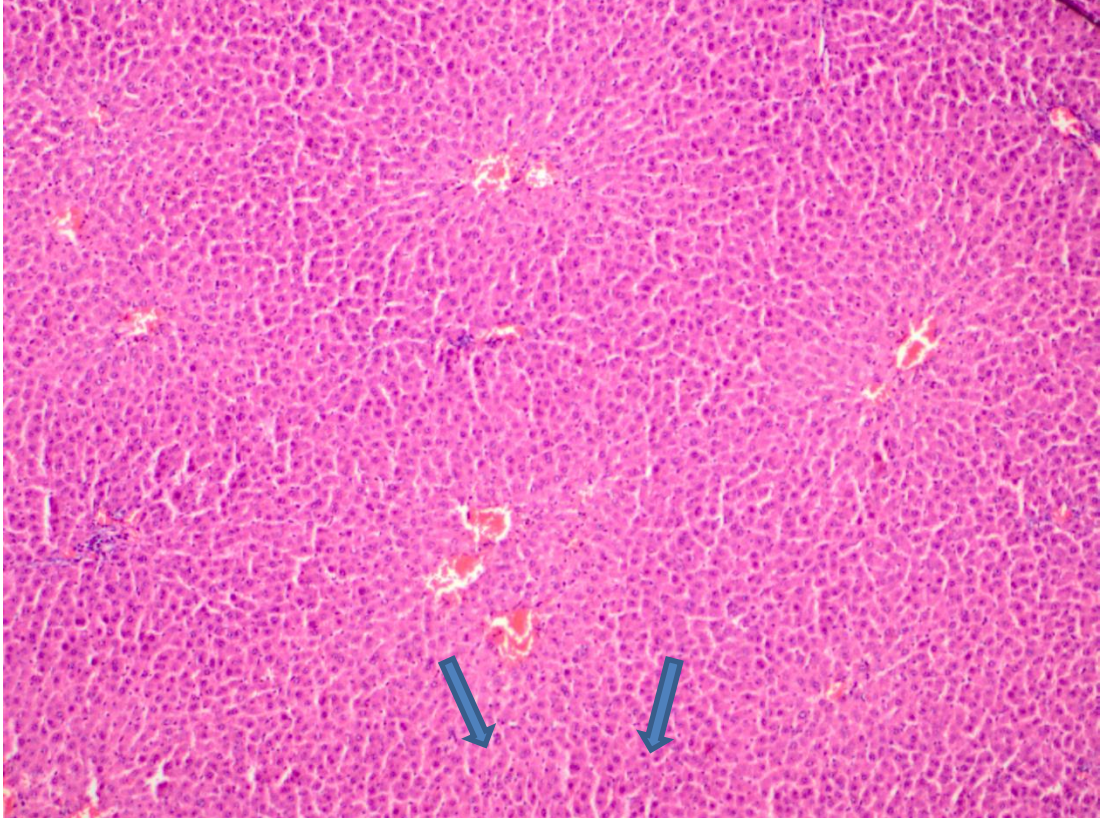
Resim 4. Grup 4: Ozon_L-karnitin konjesyone damarlar mavi ok (H&E, 100x)



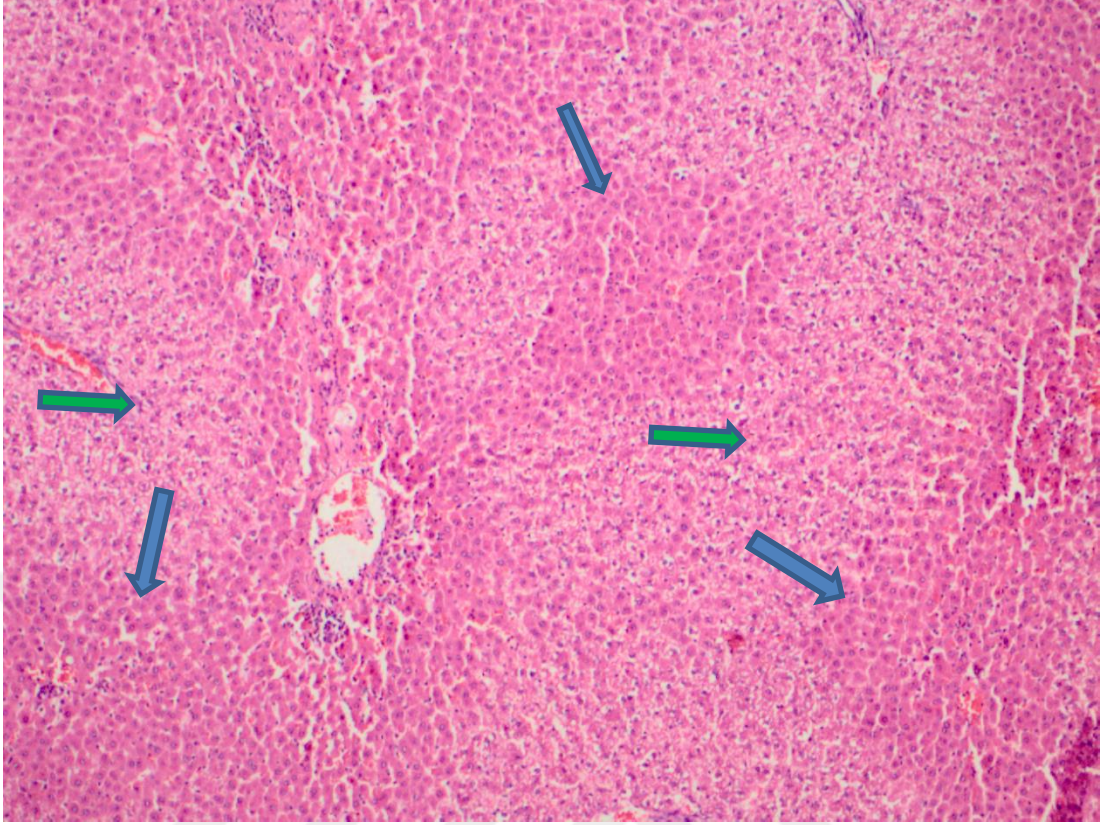
Resim 5. Grup 5: APAP toksisitesi grubu kanama ve nekroz (mavi ok), hepatosit hasarı (yeşil ok) (H&E, 100x)



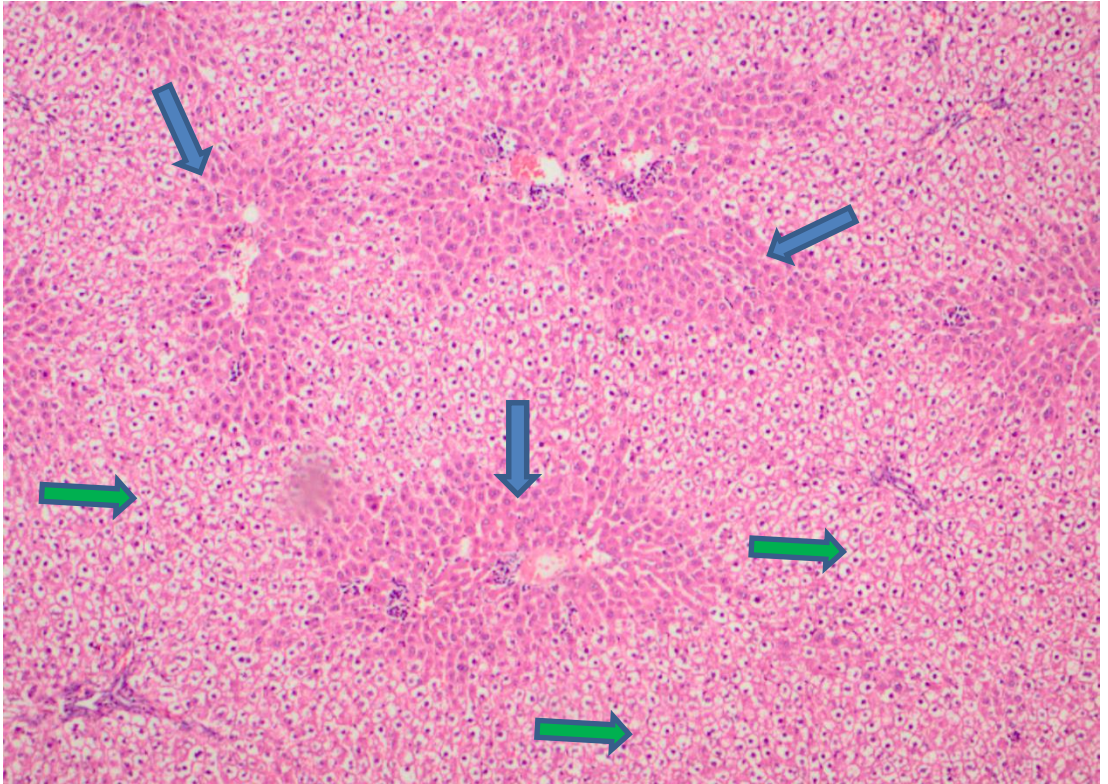
Resim 6. Grup 5: APAP toksisitesi grubu kanama ve nekroz (mavi ok) (H&E, 100x).



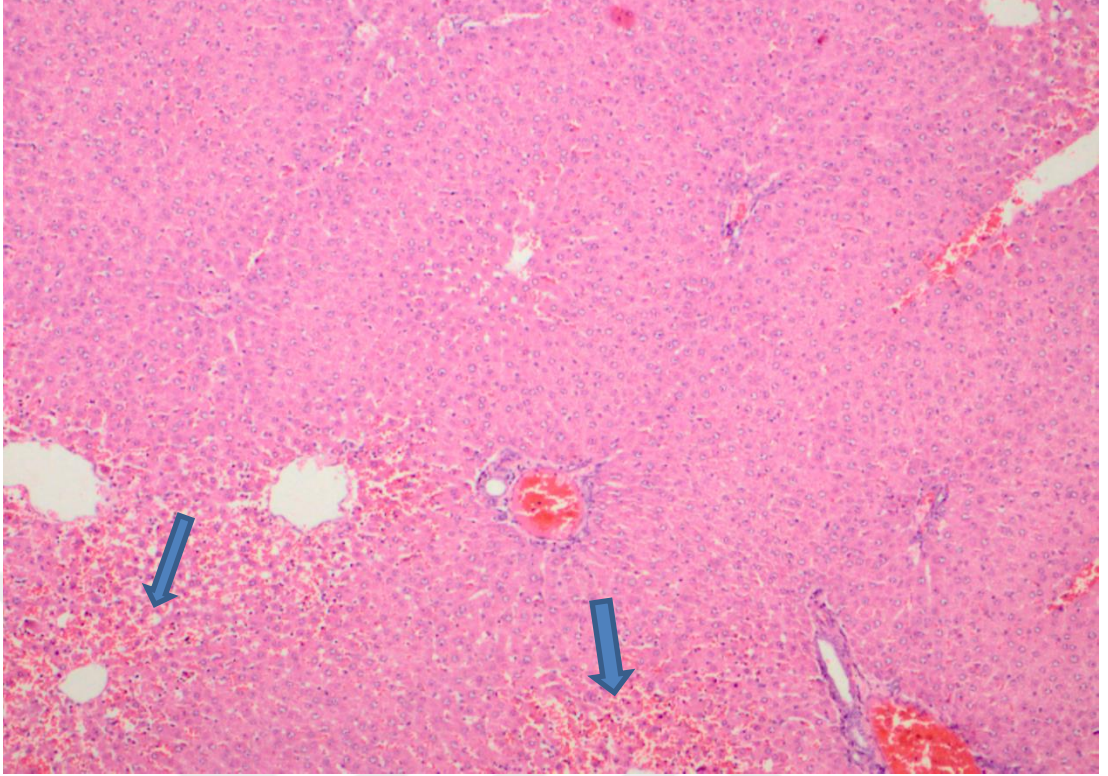
Resim 7. Grup 6: APAP_Ozon grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu alanlar (H&E, 100x) enflamatuar hücrelerin olduğu alanlar (mavi ok)



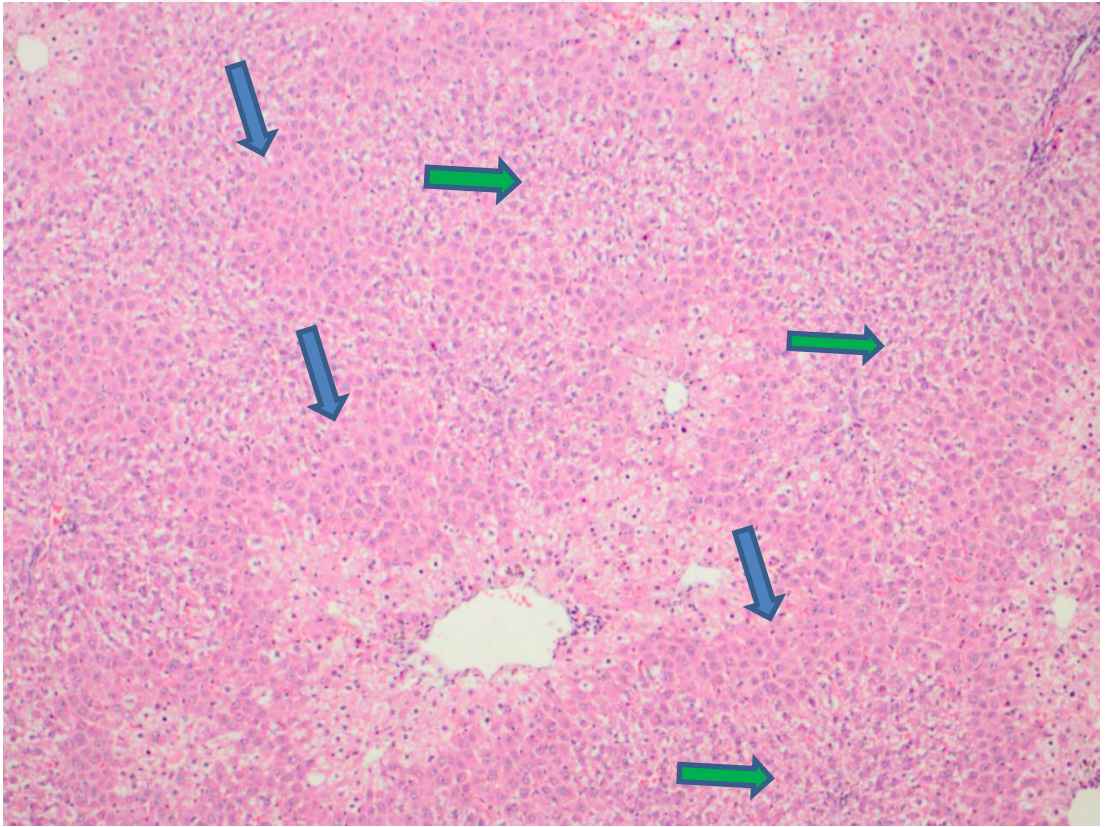
Resim 8. Grup 6: APAP_Ozon grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu (mavi ok) ve devam ettiği alanlar (yeşil ok)(H&E, 100x)



Resim 9. Grup 7: APAP_L-karnitin grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu (mavi ok) ve devam ettiği alanlar (yeşil ok)(H&E, 100x)

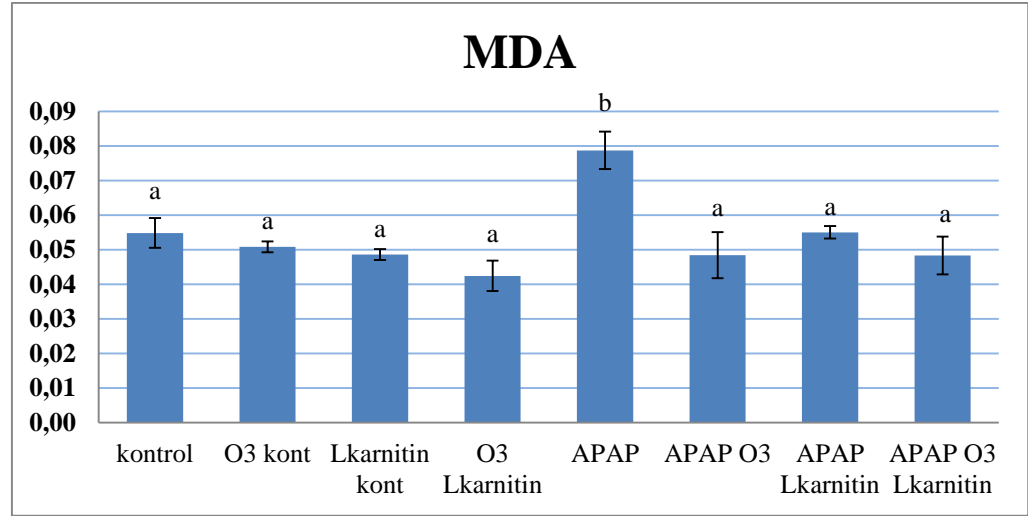


Resim 10. Grup 8: APAP_Ozon_L-karnitin grubu, kanama alanları (mavi ok)(H&E, 100x)



Resim 11. Grup 8: APAP_ozon_L-karnitin grubu, hasarın rejenerasyona başlamış olduğu (mavi ok) ve devam ettiği alanlar (yeşil ok)(H&E, 100x)

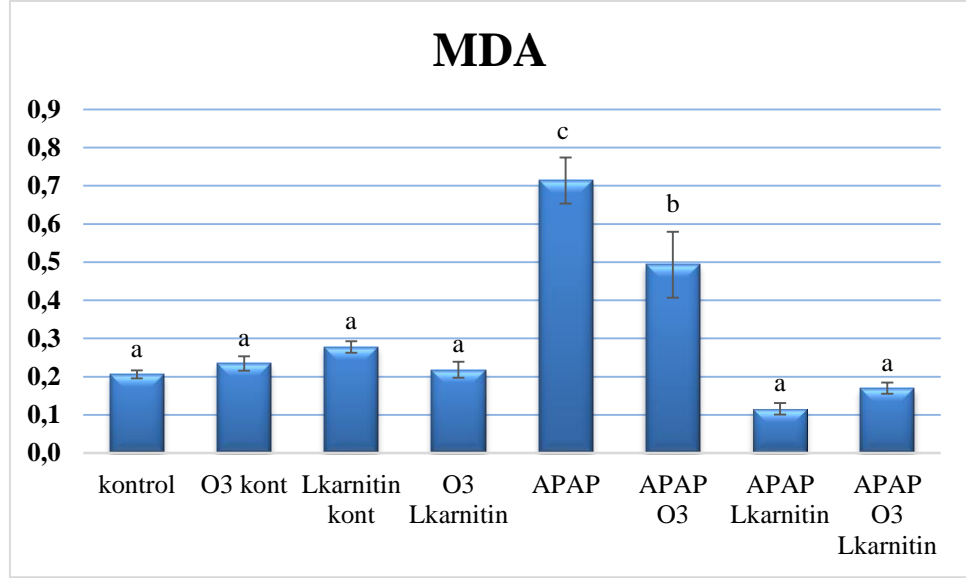
3.2. MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler



Şekil 9. Grupların serum MDA düzeylerinde belirlenen değişiklikler.
a,b: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların kan serumlarına ait MDA düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 9’da gösterildi.

Serum MDA düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre yalnızca APAP uygulanan gruptaki MDA düzeyinin istatistiksel olarak yükseldiği tespit edildi ($p < 0.05$). APAP_ozon grubunda ise APAP grubuna kıyasla MDA düzeyinin belirgin düzeyde ($p < 0.001$) değerinin düştüğü, APAP_L-karnitin grubunda ise önemli düzeyde azaldığı ($p < 0.05$), APAP_ozon_L-karnitin beraber uygulandığı grupta ise önemli düzeyde ($p \leq 0.001$) değerinin düştüğü belirlendi. Ancak APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerinin uygulandığı grupların kontrol grubuna kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı değişiklik tespit edilmedi ($p > 0.05$, Şekil 9).

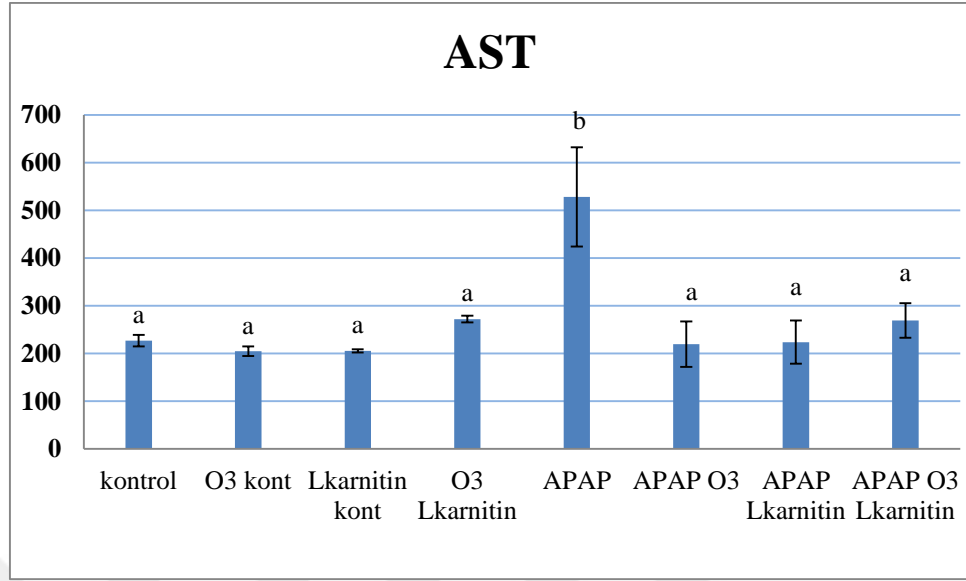


Şekil 10. Grupların doku MDA düzeylerinde belirlenen değişiklikler a,b,c: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait MDA düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 10'da gösterildi.

Doku MDA düzeyleri gruplar arasında kıyaslandığında ise kontrol grubuna göre APAP verilen grubun MDA düzeyinin belirgin şekilde yükseldiği tespit edildi ($p < 0.001$). APAP_ozon grubunda ise anlamlı düzeye azaldığı ($p < 0.05$), aynı zamanda APAP_L-karnitin ve APAP_ozon_L-karnitin uygulanan gruplarda ise önemli düzeyde doku MDA ($p < 0.001$) değerinde düşüş olduğu belirlendi. Ancak APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerinin uygulandığı grupların kontrol grubuna kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı değişiklik tespit edilmedi ($p > 0.05$, Şekil 10).

3.3.Grupların AST Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler



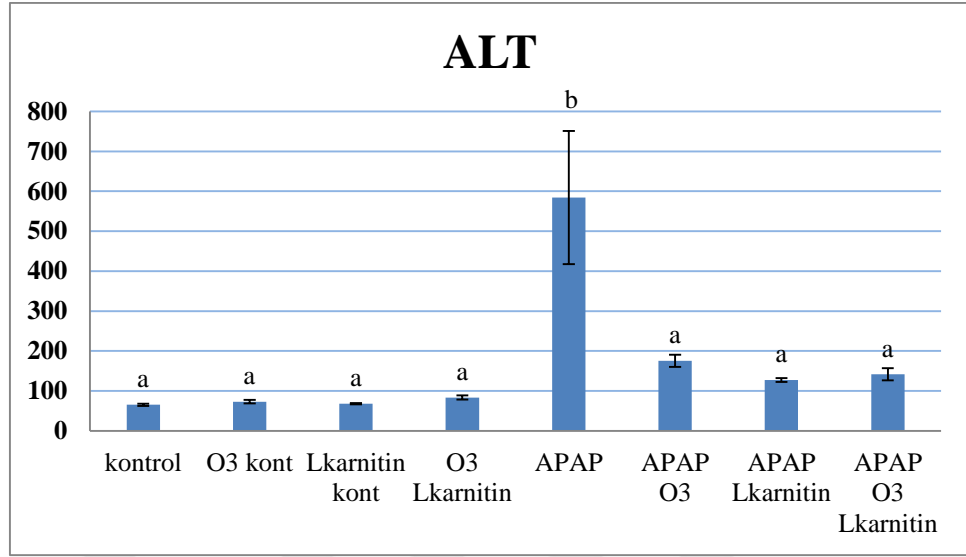
Şekil 11. Grupların AST düzeylerinde belirlenen değişiklikler

a,b,c: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait AST düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 11’de gösterildi.

Serum örneklerinin AST seviyeleri APAP kontrol grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p \leq 0.001$). APAP_ozon birlikte uygulanan grubun AST düzeyinin ise yalnızca APAP verilen gruba kıyasla önemli bir azalış gösterdiği ($p \leq 0.001$), APAP_L-karnitin ve APAP_ozon_L-karnitin uygulanan grupların kontrol AST düzeylerinin ise APAP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalış gösterdiği tespit edildi ($p < 0.05$, Şekil 15). Ancak APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_l-karnitin maddelerinin uygulandığı grupların kontrol grubuna kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 11).

3.4.Grupların ALT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler



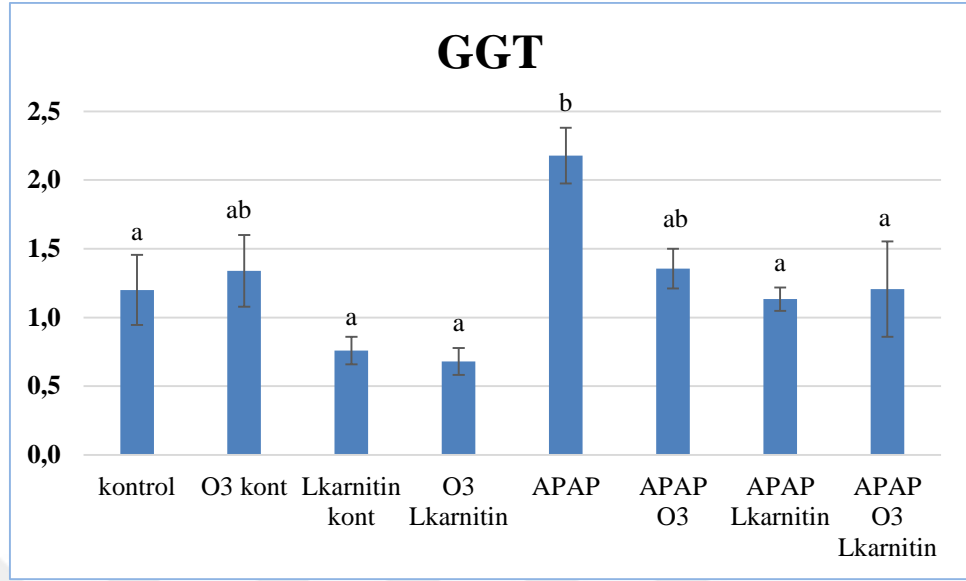
Şekil 12. Grupların ALT düzeylerinde belirlenen değişiklikler

a,b: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait ALT düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 12’de gösterildi.

Serum örneklerinin ALT düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında APAP kontrol grubunun kontrol grubuna göre belirgin düzeyde artış ($p < 0.001$) gösterdiği belirlendi. APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin gruplarının ise APAP grubuna kıyasla belirgin düzeyde azaldığı tespit edildi ($p \leq 0.001$, Şekil 15). Ancak APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerinin uygulandığı grupların kontrol grubuna kıyasla ALT düzeylerinde anlamlı farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 12).

3.5. Grupların GGT Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler



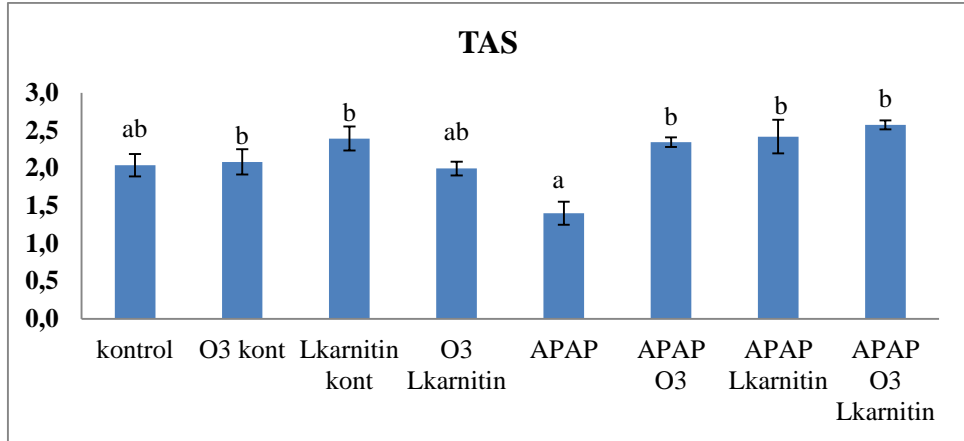
Şekil 13. Grupların GGT düzeylerinde belirlenen değişiklikler

a,b,ab: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait GGT düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 13'te gösterildi.

Serum örneklerinin GGT düzeylerindeki değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında APAP kontrol grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseliş ($p < 0.05$) olduğu belirlendi. APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerin verildiği gruplar APAP kontrol grubuna göre kıyaslandığında anlamlı derece azalış ($p < 0.05$) gösterdiği, ancak kontrol grubuna göre belirgin farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 13).

3.6. Grupların TAS Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler

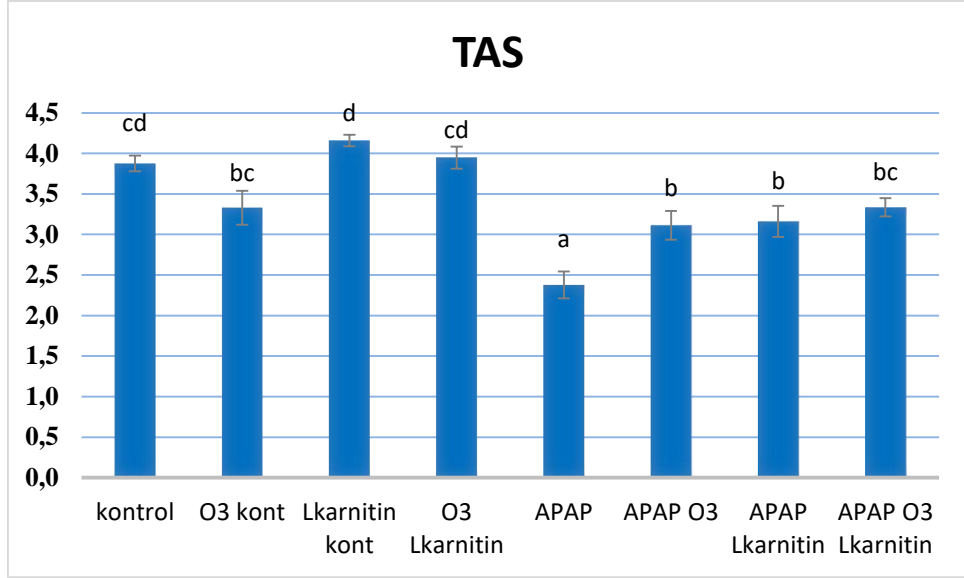


Şekil 14. Grupların serum TAS düzeylerinde belirlenen değişiklikler

a,b,ab: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların kan serumuna ait TAS düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 14’de gösterildi.

Serum TAS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında; APAP verilen grubun serum TAS düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamda azalma olduğu ($p < 0.05$) belirlendi. APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerinin verildiği gruplar APAP kontrol grubuna göre kıyaslandığında ise serum TAS ($p < 0.001$) değerinde belirgin düzeyde artış olduğu, fakat kontrol grubuna göre ise belirgin farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 14).

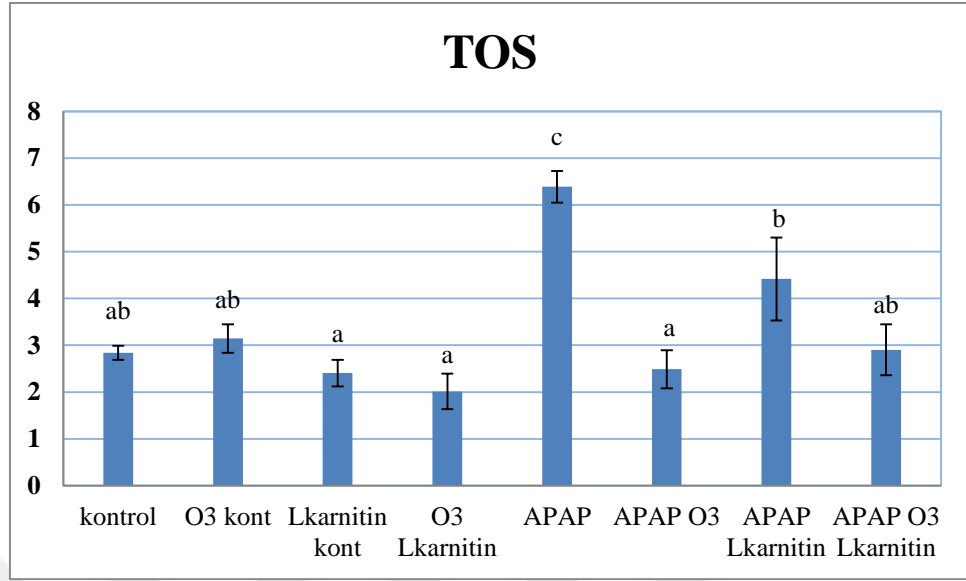


Şekil 15. Grupların doku Total Antioksidan düzeylerinde belirlenen değişiklikler a,b,bc,cd: $p < 0.001$.

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait TAS düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 15’de gösterildi.

Doku TAS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında; APAP uygulanan grubun doku TAS düzeyleri kontrol grubuyla kıyaslandığında belirgin düzeyde azaldığı ($p < 0.001$) saptandı. APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddelerinin verildiği gruplar yalnızca APAP verilen grupla kıyaslandığında ise doku TAS düzeylerinin önemli düzeyde arttığı ($p < 0.05$), fakat kontrol grubuna göre ise belirgin farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 15).

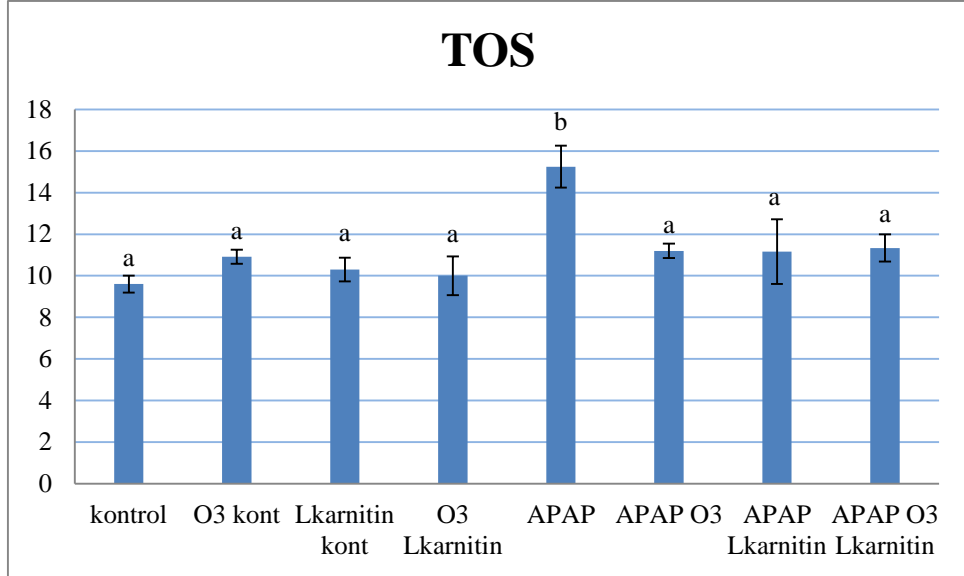
3.7. Grupların TOS Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler



Şekil 16. Grupların serum Total Oksidan düzeylerinde belirlenen değişiklikler
a,b,c,ab: $p < 0.001$

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların kan serumuna ait TOS düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 16'da gösterilmiştir.

Serum TOS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında karşılaştırıldığında yalnızca APAP uygulanan grubun TOS düzeyinin kontrol grubuna göre belirgin düzeyde yükseliş ($p < 0.001$) gösterdiği belirlendi. APAP_ozon ve APAP_ozon_L-karnitin verilen grupların TOS düzeylerinin APAP uygulanan gruba kıyasla belirgin düzeyde ($p < 0.001$) değerinde azalış olduğu, APAP_L-karnitin grubunda ise anlamlı düzeyde azalma ($p < 0.05$) olduğu belirlendi. Fakat APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin maddeleri verilen grupların total oksidan düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi ($p > 0.05$, Şekil 16).



Şekil 17. Grupların doku Total Oksidan düzeylerinde belirlenen değişiklikler a,b: $p < 0.001$

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların karaciğer dokularına ait TOS düzeylerinde belirlenen değişimler Şekil 17’de gösterilmiştir.

Doku TOS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler gruplar arasında kıyaslandığında sadece APAP verilen grubun TOS düzeyinin kontrol grubuna göre belirgin düzeyde artış ($p < 0.001$) olduğu saptandı. APAP_ozon, APAP_L-karnitin, APAP_ozon_L-karnitin uyguladığımız grupların doku TOS düzeylerinin APAP uygulanan gruba kıyasla önemli düzeyde ($p < 0.05$) değerinde azalma olduğu, fakat kontrol grubuna göre anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 17).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Organizmaya giren ve toksik etki gösteren alkol, kimyasallar, kansorejen maddeler ve ilaçlar karaciğer tarafından antioksidan sistem aracılığıyla vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Vücutta detoksifikasyon gibi bağımsız birçok olayın meydana geldiği bir organ olan karaciğer, barındırdığı özel enzim sistemleri yardımıyla birçok fonksiyonun gerçekleştiği hayati bir organdır (Eren ve ark. 2004). APAP'ın sebep olduğu karaciğer hasarında serum ALT değerindeki hızlı artış hasarın önemli bir habercisidir. Karaciğer enzimlerinden olan serum AST ve ALT enzim seviyelerinde gerçekleşen artış ise başka doku ve organ hasarlarında da görülebildiği için ALT değerindeki artışın önemli olduğu belirtilmiştir (Meyer ve Harvey 1994). Literatür araştırmalarımızda Wu ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada APAP ile oluşturdukları toksikasyonda karaciğer enzimlerinden AST, ALT seviyelerinde artışın oluştuğunu gözlemişlerdir. Yapılan bir başka deneysel çalışmada da APAP ile indüklenen karaciğer hasarında serum AST, ALT ve serum neopterin değerlerini karşılaştırmak üzere Wistar sıçanlarda oluşturulan araştırmada, kontrol grubuna kıyasla toksikasyon grubunda AST ve ALT değerlerinde artış olduğunu fakat serum neopterin düzeyindeki artışın ise daha belirleyici olduğunu ifade etmişlerdir (Gul ve ark. 2012). Fareler üzerinde yapılmış olan bir araştırmada da APAP'ın 300 mg/kg ve üzerindeki dozlarda alındığında karaciğer nekrozuna sebep olduğu bildirilmiştir (Douidar ve ark. 1985).

APAP'ın büyük bir kısmı karaciğerde zararsız metabolit olan sülfat ve glukronid konjugatlarına dönüşmesi sonucu safra ve idrarla atılmaktadır. %5 inden daha az bir miktarda değişmeden organizmadan direk idrarla uzaklaşmaktadır. Geriye kalan %5-15 arasında olan miktar ise sitokrom P450 sistemi ile NAPQI' ya dönüşmektedir. Organizmaya giren APAP karaciğerde gerçekleşen biyotransformasyon yardımıyla detoksifiye edilebilmektedir. Aşırı dozda alınımının organizmada toksik metabolit olan NAPQI'yu artırdığı, antioksidan enzim sistemini baskıladığı ve hidrojen peroksit, süperoksit gibi oksidanların düzeylerinde yükselmeler oluşturduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda fazla miktarda biriken NAPQI, atılımında etkin rol alan GSH depolarını tüketmektedir. Karaciğer, APAP'ın organizmaya yüksek dozlarda alınması durumunda toksik etkisini ortadan

kaldırmada yetersiz kalarak toksikasyon oluşmasını önleyememektedir. Oluşan bu toksik etkinin organizmada enzim sistemini bozulduğu, doku hasarı, iyon konsantrasyonunda değişiklikler, hatta ölümlerle sonuçlanan tablolar ortaya çıkardığı ifade edilmiştir (Bertolini ve ark. 2006).

APAP'ın aşırı dozda alınması durumunda karaciğerde toksisite olduğu ve bunu ROS ve nitrojen türleri aracılığıyla gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Farelerde 300 mg/kg APAP ile oluşturulan deneysel çalışmada toksikasyon oluşun dozun, NO seviyesini artırdığı ve nitrozin oluşumunda etkili olduğu bildirilmektedir. Aynı zamanda antioksidan savunmada görevli olan GSH seviyesinde de değişiklikler oluşturduğunu gözlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda oluşan karaciğer toksikasyonunun ROS ve nitrojen türlerinin etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (James ve ark. 2003a). Karaciğerde ortaya çıkan hasar mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalar kesinlik kazanmamakla beraber daha çok oksidatif hasar üzerinde yoğunlaşmıştır (Eren ve ark. 2004).

Güçlü okside edici özelliğinden dolayı, ilk keşfedildiği yıllarda dezenfeksiyon amacıyla kullanılmasının yanında ilerleyen yıllarda bakteri, virüs gibi mikroorganizmaların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmada da kullanılan ozon, üç oksijen atomu içeren ve oluşabilmesi için yüksek miktarda enerjiye ihtiyaç duyulan renksiz ve keskin kokulu bir gazdır. Ozon tedavisinde uygun doz kullanımı için doz ayarlamasının düşük dozdan başlayarak bu konsantrasyonun yavaş yavaş artırılması şeklinde uygulanması tedavide başarılı sonuçlar oluşturduğunu gözlemişlerdir. Ozon terapi uygulamasından sonra organizmada çeşitli reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonların ise organizmada oluşabilecek zararlara karşın savunma sistemini güçlendirdiği, dokulardaki oksijenlenmeyi artırmasının yanında oksidatif etki oluşturarak antioksidanların savunmada harekete geçişini hızlandırdığı ifade edilmiştir. Ozon terapinin oksidatif mekanizmasındaki etkisine bakılmak üzere yapılan çalışmada; ozon terapi uygulandıktan 10 dakika sonra plazmadaki TAS değerinin azaldığı ve bu düşüşten 1 dakika sonra ise hızlı bir şekilde artış göstererek 20 dakika sonra ozon terapinin uygulandığı ilk seviyesine döndüğü; bunuda eritrositlerin ozon uygulamasına rağmen antioksidanları rejenere ederek gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Bocci 2004, Bocci 2006b). Antioksidan sistem

üzerinde etkili olan ozonun; glutatyon, katalaz ve süperoksit gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunda etkili olduğu belirtilmiştir. Glikolizi harekete geçirerek, oksijenin hemoglobinden ayrılmasına yardımcı olabilmektedir. Ayrıca, acetylcoenzyme-A'nın oluşumunu artırarak metabolik detoksifikasyona yardımcı olduğu bilinmektedir. Hücrelerde bulunan taşıma sistemlerinin aktivasyonunu sağlayarak metabolizmayı hızlandırarak savunmayı güçlendirdiği saptanmıştır. Bunların yanında eritrosit esnekliğini artırarak arteryal oksijen basıncını arttırmaya yardımcı olur ve retikulo- endotelial sistemi uyararak doku hasar mekanizması üzerine olumlu etki gösterdiği bildirilmektedir. APAP'ın uyardığı oksidatif stres karaciğerin yanında organizmanın çeşitli yerlerinde de hasarlar oluşturabilmektedir. Bu durumu yine GSH baskılanması ve lipid peroksidasyon seviyesindeki artış ile oluşturduğu bildirilmiştir. Metabolizmanın antioksidan enzim sistemine destek olmak amacıyla uygulanan yöntemler arasında olan ozon terapi bunlardan biridir. Tıpta kullanılan ozon gazı uygulaması ozon terapi olarak nitelendirilmektedir. Bu tedavi yöntemi GSH-Px, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimleri aktifleştirerek ve ROS gibi serbest elektron çifti bulunduran iyonları ortadan kaldırarak metabolizmayı oluşabilecek hasara karşı korumasının yanında bu tedavi yönteminin deri ülseri, peritonit ve enfeksiyonlu yaraların tedavisi gibi farklı hastalıklarda da etkili olduğu ifade edilmektedir (Kutlubay ve ark. 2010).

Çalışmamızda APAP dozu 1gr/kg olarak belirlendi ve oral gavaj ile uygulandı. APAP ile oluşturulan toksik hepatit grubunun serum AST, ALT, GGT düzeylerinin kontrol grubuna göre kıyaslamalarında serum AST seviyesinin önemli düzeyde arttığı ($p \leq 0.001$), ALT seviyesinin belirgin düzeyde yükseldiği ($p < 0.001$), GGT seviyesinde ise anlamlı düzeyde ($p < 0.05$) yükselişin olması karaciğerde hasar geliştiğini işaret etmektedir. Ozon uygulamasında ise serum AST, ALT seviyelerinin toksisite grubuna kıyasla belirgin düzeyde ($p \leq 0.001$) değerinde düşüş, GGT düzeyinde ise anlamlı derecede düşüşün ($p < 0.05$) olduğu belirlendi. APAP_Ozon_L-karnitin uygulamasında ise ALT düzeyinin APAP grubuna kıyasla belirgin düzeyde azaldığını ($p \leq 0.001$), AST ve GGT düzeylerinde de anlamlı derecede azalışın ($p < 0.05$) olduğunu saptadık. Gul ve ark. (2012) de, deneysel çalışmalarında ratlara oral gavaj ile 1 g/kg APAP sıcak distile su ile ekstre edilerek verilmiş ve ozon uygulamasının tedavi edici etkisine bakmak üzere 1 saat sonra i.p. yolla (0.7 mg /

kg.) ozon uygulanmıştır. Çalışmalarının sonucunda toksikasyon grubunda serum AST, ALT seviyelerinde kontrol ve tedavi gruplarına göre anlamlı düzeyde artışın olduğu, Ozon terapi uygulanan grupta ise AST, ALT seviyelerinin düştüğünü ($p<0.05$) rapor etmişlerdir. APAP'ın sebep olduğu karaciğer hasarında serum ALT düzeyinin hızla yükselmesinin çok önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir (Black 1980). Brüss ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada karaciğer transaminaz enzimlerinin sürekli yükselmesi sebebiyle hastaneye başvuran vakada yapılan kan tahlilleri, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemi gibi uygulanan tıbbi işlemler sonucunda artmış AST, ALT seviyelerinin karaciğer hasarını işaret ettiğini belirtmişlerdir. Elmhdwi ve ark. (2014) çalışmalarında, erkek albino sıçanlarda 400 mg/kg APAP ile oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda karaciğer enzimlerinden AST, ALT, GGT düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Cihan ve ark. (2011), radyoterapi uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarında ozon terapinin koruyucu etkisine bakılmak üzere oluşturdukları deneysel çalışmalarında AST, ALT düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiği, ozon terapi uygulamasının ise bu parametreleri toksikasyon grubuna kıyasla düşürdüğünü gözlemişlerdir. Akyüz ve ark. (2013), APAP'ın karaciğerde oluşturduğu toksikasyon tedavisinde ozon terapinin koruyucu etkisini ve ozon terapi uygulamasını antioksidan özellikli taurin ile kıyaslamak üzere oluşturdukları deneysel araştırmalarında; toksikasyon oluşan bütün gruplardaki karaciğer enzim seviyelerinin (ALT, AST) istatistiksel olarak belirgin şekilde yükseldiğini, tedavi grubunda ise ozon-taurin uygulamasının ALT seviyesini düşürdüğünü ve yalnızca ozon terapi uygulamasının ise tedavide daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçta toksik dozda alınan APAP'ın karaciğerde oksidatif hasar mekanizması üzerinden toksikasyon oluşturduğu ve ozon uygulamasının ise tedavide etkili olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada da Li ve ark. (2007), karbon tetraklorür'le oluşturdukları karaciğer hasarında, ozon uygulamasının ise toksikasyon grubuna kıyasla AST, ALT değerlerini normal seviyede tuttuğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki transaminaz düzeylerinin literatürdeki araştırmalarla uyumlu olduğu, APAP_ozon ve APAP_Ozon_L-karnitin uyguladığımız grupların toksikasyon grubuna kıyasla serum AST, ALT, GGT seviyelerinin düşmesi ve kontrol grubuna kıyaslandığında belirgin bir farkın olmayışı doku hasarını azalttığını düşündürmektedir. Bunuda

kullandığımız ozonun karaciğer enzimlerinin kan dolaşımına geçişlerini engelleyerek enzim düzeylerini düşük seviyede tuttuğu, böylelikle de hayvanlarda bozulan karaciğer fonksiyonlarını iyileştirerek oluşan hasar ve inflamasyonları azaltabileceği, APAP_ozon_L-karnitin uygulamasının ise antioksidan savunmayı güçlendirerek karaciğer dokusunu oksidatif stresin zararlarından koruyabileceği kanaatine varıldı.

Yüksek dozda APAP alımından kaynaklanan karaciğer hasarının nedenleri üzerinde yapılan çalışmalarda kesin olmamakla beraber daha çok oksidatif hasar üzerinde durulmaktadır. APAP'ın neden olduğu hasar mekanizmasında reaktif metaboliti olan NAPQI'nun aşırı birikiminin GSH depolarını tüketmesinin sonucunda GSH'ın azalması, aktifleşen serbest radikallerin etkilerinin artması, lipid peroksidasyonu ve bunlara ek olarak antioksidan savunma sisteminin zayıflamasının etkili olduğu öne sürülmektedir. Organizmada hasar geliştiğinin önemli bir belirteci olan MDA'nın lipid peroksidasyonu sonucunda arttığı yapılan çalışmalarda ifade edilmektedir. Literatür araştırmalarımızda asetaminofenle oluşturulan karaciğer toksikasyonunda MDA düzeyinde artışın olduğu bildirilmiştir (Aktaş ve ark. 2013). Literatürdeki bilgilere paralel olarak, Elmhdwi ve ark. (2014), APAP kullanarak oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda, toksikasyon grubundaki MDA düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Toksik grubun karaciğer dokusunda nekroz gelişen alanlar ve dejenerasyon gibi değişiklikler oluştuğuda belirtilmektedir. Aytaç ve ark. (2010), elli adet erkek Sprague-Dawley sıçan ile oluşturdukları deneysel çalışmada i.p. yolla verilen 800 mg/kg APAP ile oluşturdukları hepatotoksisitede, APAP uygulamasının toksikasyon oluşturduğu bütün grupların MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını belirtmişlerdir. Gul ve ark. (2012), deneysel çalışmalarında APAP kullanarak oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda MDA düzeyinde yükselişin olduğunu, tedavi protokolünde olan ozon uygulamasının ise MDA düzeyini toksikasyon grubuna göre düşürdüğünü bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda ise ozonun antioksidan seviyeyi artırmak suretiyle oksidatif stresi azaltarak tedavide etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer bir sonuca varılan başka bir çalışmada da 1 g/kg APAP vererek oluşturdukları nefrotoksisitenin tedavisinde ip. yolla 0.7 mg/kg ozon terapi uygulamasında, APAP verildiğinde böbreğin fonksiyonlarının bozulmasının yanında MDA düzeyinde de önemli bir artışın oluştuğu, ozon tedavisinin ise MDA düzeyini düşürdüğünü bildirmişlerdir (Demirbag ve ark. 2010).

Guven ve ark. (2008), distal yemek borusuna kostik (% 15 NaOH) damlatarak oluşturdukları kostik özefagus yanıklarında i.p. yolla 1 mg/kg ozon uygulayarak oluşturdukları çalışmada, Kostik özefagus yanığında MDA düzeyinde artışı oluştuğunu, tedavide uygulanan ozon terapinin ise bu düzeyi dūřürdüđünü ifade etmişlerdir. Kroner arter hastalarında operasyon sonrası ortaya çıkabilecek reperfüzyon hasarında oksijen ve ozon uygulamasının etkilerini araştırılmak üzere yapılan deneysel çalışmada, ozon terapi uygulanan grubun MDA düzeyinin kontrol ve oksijen tedavisi uygulanan gruba göre anlamlı derecede dūřtüđü, fakat iskemi tedavisinde ozon uygulamasının yeterli düzeyde etkili olmadığı bildirilmiştir (Tanyeli ve ark. 2012). Yapılan başka bir çalışmada da Wister albino sıçanlarda rektal yolla %4 asetik asit vererek oluşturdukları Akut distal kolitte, sepsis gelişen grubun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı ($p<0.001$), ozon uygulanan grubun MDA düzeyinin ise sepsis gelişen gruba kıyasla belirgin düzeyde dūřtüđü ($p<0.001$) bildirilmiştir (Aslaner ve ark. 2016). Literatürdeki çalışmalarla uyumlu olan çalışmamızda, APAP ile oluşturduğumuz toksikasyon grubundaki serum MDA ($p<0.05$) ve doku MDA ($p<0.001$) düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak yükseldiği, ozon uygulamasının ise toksikasyon grubuna göre doku MDA ($p<0.05$) düzeyini anlamlı düzeyde azaltırken serum MDA düzeyini ise belirgin düzeyde dūřürdüđünü ($p<0.001$), gözlemledik. Çalışmamızda APAP_Ozon_L-karnitin beraber uyguladığımız grubun doku MDA ($p<0.001$) ve serum MDA düzeylerinin toksikasyon grubuna kıyasla belirgin düzeyde azaldığını ($p\leq 0.001$) aynı zamanda kontrol grubuna göre ise belirgin bir farklılığın oluşmadığını gözlemledik ($p>0.05$). Diđer çalışmalarla hemfikir olduğumuz konu; APAP ile indüklenen karaciğer hasarında serum ve doku MDA düzeyindeki yükselişlerin, lipid peroksidasyonu ve oksidan seviyelerindeki artışın savunma sistemini zayıf dūřürmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Uyguladığımız ozon ve ozon_L-karnitin tedavilerinin ise savunma sistemini güçlendirerek serum ve doku MDA düzeylerini dūřürdükları ve organizmayı oksidatif stresin zararlarına karşı korudukları kanaatindeyiz.

Besinlerin oksijen molekülünü kullanarak enerjiye dönüşmeleri esnasında reaktif moleküller olan serbest radikaller oluşmaktadır. Organizmamızı serbest radikallerin zararlarına karşı koruma da ise antioksidan sistem görev yapmaktadır.

Bazı olaylarda antioksidan sistem organizmayı serbest radikallerin zararlarına karşı korumada yetersiz kalmasından ötürü denge bozularak oksidanlar tarafına kayması ile doku ve hücrelerde hasarlar oluşur ve oksidatif stresin sebep olduğu hastalıklar kendini göstermektedir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, antioksidan savunma sistemini oluşturarak organizmayı oksidatif hasarlara karşı korurlar (Özcan ve ark. 2015). Oksidanlar ve antioksidanların serumdaki konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir, fakat bu fazla zaman alan ve karmaşık bir yöntem olduğu için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları ifade etmede toplam antioksidan ölçümü (TAS), oksidanları ifade etmede ise toplam oksidan ölçümü (TOS) oluşturulmuştur (Erel 2004, Erel 2005).

APAP'ın aşırı dozda alınmasından kaynaklanan karaciğer toksikasyonunda; GSH antioksidanı, biriken reaktif NAPQI metabolitinin metabolizmadan detoksifikasyonunu gerçekleştirmektedir. Karaciğerde oluşan hasar mekanizmasında ise biriken NAPQI'nun GSH depolarını tüketerek hasar oluşumunu başlatmada rol aldığı ileri sürülmektedir (Hinson ve ark. 2010). Toplumumuzda alkol kullanımının yaygın olmasının yanında APAP kullanımında belirgin düzeyde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Kronik alkol vakalarında aşırı dozda APAP kullanımının GSH depolarını düşürmesinin yanında karaciğer nekrozuna hatta hücre ölümüne sebep olduğu belirtilmiştir (Lauterburg 2002). Ozonun antioksidan özelliğini sergileyerek organizmada antioksidan enzimlerden GPx, SOD, CAT düzeylerini artırarak savunma sistemini güçlendirdiği ve oksidatif stresin olumsuz etkilerine karşı bariyer görevi üstlendiği bildirilmiştir (Bocci 1996, Bocci 2006b). Yeni doğmuş Sprague-Dawley cinsi ratlar üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada ratlara inhale yolla karbondioksit gazı uygulayarak bağırsak inflamasyonu oluşturulmuştur. Ozon uygulamasının oksidatif stres, antioksidan enzimler ve doku hasarına yönelik etkisini gözlemlenmek üzere yapılan çalışmada, ozon uygulamasının hasar oluşan gruba göre doku MDA düzeyini düşürdüğü ve SOD, GSH-PX enzimlerini ise aktifleştirdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda ozon uygulamasının antioksidan savunmayı güçleştirdiği, dokuda hasar oluşumunu azaltarak tedavide etkili olduğu bildirilmiştir (Güven ve ark. 2009). Gültekin ve ark. (2013), yaptıkları deneysel çalışmada radyasyon maruziyetinin karaciğer ve ileum dokularında hasar oluşturmasının yanında doku MDA düzeyini belirgin şekilde yükselttiği, SOD aktivasyonunu ise

düşürdüğü saptanmıştır. Ozon uygulamasının ise tedavi grubunda olumlu etki göstererek hasar oluşan gruba nispeten dokularda MDA düzeyini düşürdüğü, SOD seviyesini ise belirgin düzeyde artırdığı belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda ozon tedavisinin antioksidan savunmayı güçlendirerek organizmayı oksidanların zararlarından koruduğu ve radyasyonun sebep olduğu organ hasarını iyileştirmede etkili olduğu bildirilmiştir. Gul ve ark. (2012), APAP ile oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda antioksidan özelliğe sahip ozonun, ozon tedavisi uygulanan grupta doku SOD, GP_x aktivitelerini kontrol ve toksikasyon oluşan gruba kıyasla anlamlı düzeyde yükselttiği, aynı zamanda APAP uygulamasının karaciğer dokusunda MDA düzeyini artırmasının yanında parankimde hasarlar oluşturduğu belirtilmiştir. Çalışmada elde edilen veriler ışığında APAP ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda ozonun oksidatif stresi azalttığı ve savunma mekanizmasını güçlendirdiğini belirtmişlerdir. Akyüz ve ark. (2013), çalışmalarında APAP'ın karaciğerde mitokondri organelinin zar bütünlüğünü dejenere ettiği ve sinuzoidal dilatasyon oluşturduğu gözlenmiştir. Diğer gruplara oranla ozon tedavisinin uygulandığı grupta hasarın daha az olduğu belirtilmiştir. Literatür araştırmamızda bir başka çalışmada yine APAP ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda, toksikasyon oluşan gruptaki ratların GSH seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir (Lauterburg ve ark. 1983). 1 g/kg APAP ile oluşturulan böbrek toksisitesinin tedavisinde ip. yolla 0.7 mg/kg ozon uygulamasında, APAP uygulamasının böbreğin fonksiyonlarını bozmasının yanında toksikasyon grubunda antioksidan enzimlerden SOD, GSH-Px aktivitelerini azalttığı, ozon uygulamasının ise bu parametreleri yükselttiği bunun yanında histolojik incelemede de böbrek dokusunda düzelmenin görüldüğünü saptamışlardır (Demirbag ve ark. 2010). Martínez-Sánchez ve ark. (2005) te, diyabetik ayak şikayeti oluşan hastalarla ilgili çalışmalarında; ozon tedavisi uygulanan ve antibiyotik tedavisi alan hastalar karşılaştırılmıştır. Ozon tedavisi uygulanan hastaların antibiyotik tedavisi alan hastalara göre yara iyileşmelerinin daha hızlı olduğu ve taburculuk sürelerinin ise kısaldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda ozon uygulanan hastaların antioksidan enzim düzeyleri artmış ve kan şekeri düzeylerinin daha iyi kontrol edilebildiğini bildirmişlerdir. Clavo ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada tümör dokusuna otoheterapi yöntemiyle ozon uygulayarak tümör dokusundaki oksijen düzeylerini araştırmışlardır. Çalışma yaş ortalaması 64

olan bayan ve erkek olmak üzere 18 kişide bir hafta boyunca 3 doz uygulanmıştır. Deneysel sonucunda hipoksik tümörlerin çoğunda oksijen düzeyinin arttığını belirlemişlerdir. Varılan sonuçlar doğrultusunda ozon terapinin radyoterapi ve kemoterapiye destek tedavi olarak uygulanabileceği görüşünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmaların sonuçlarıyla paralel olmakla beraber, karaciğer toksikasyonu oluşturduğumuz APAP grubunda doku TAS ($p<0.001$) ve serum TAS düzeylerinin azalmasına ($p<0.05$) karşın doku ve serum TOS düzeylerinde belirgin düzeyde yükselmenin ($p<0.001$) meydana geldiğini tespit ettik. Uyguladığımız APAP_ozon ve APAP_ozon_L-karnitin tedavilerinin ise toksikasyon grubuna göre doku TAS ($p<0.05$) ve serum TAS düzeylerini artırdığını ($p<0.001$), doku TOS ($p<0.05$) ve serum TOS düzeylerini ($p<0.001$) ise düşürdüğünü belirledik. Ayrıca APAP uygulamasının kontrol grubuna göre doku MDA ($p<0.001$) ve serum MDA ($p<0.05$) düzeylerini artırmasının yanında parankim hücrelerde hasar oluşturduğunu ve APAP_ozon ve APAP_ozon_L-karnitin uygulamalarının ise toksikasyon grubuna göre doku MDA ve serum MDA düzeylerini düşürdüğünü, histopatolojik verilerimizde ise bu hasarların düzelmeye başladığını gözlemledik. Diğer çalışmalarla benzer özellikte olan çalışmamızdaki istatistiksel verilerimiz (serum AST, ALT, GGT, MDA, TAS, TOS ve doku MDA, TAS, TOS) mikroskobik verilerimizle uyum halindedir. Elde ettiğimiz istatistiksel veriler ve literatürdeki bilgiler ışığında organizmaya APAP aşırı dozda alındığında; GSH seviyesinin düşmesi, zararlı NAPQI metabolitinin aşırı birikimi, serbest radikallerin artması gibi etkilerin antioksidan savunmayı oksidanların lehine çevirerek doku hasarında etkili olduğunu ve uyguladığımız ozon ve ozon_L-karnitin tedavilerinin ise APAP ile oluşturduğumuz karaciğer toksikasyonunda etkili olduklarını; bunuda eritrositlerdeki GSH düzeyini yükselterek detoksifikasyon kapasitesini artırmaları ve antioksidan savunma mekanizmasını aktifleştirerek oksidanların zararlarına karşı karaciğeri koruduklarını düşünmekteyiz.

Çeşitli etki mekanizmasına sahip olan L-karnitin, son yıllarda farklı alanlarda özellikle alternatif tıpta, lipid metabolizmasına etkisi dolayısıyla diyet uygulamalarında, bağışıklık sisteminde ve sportif destek amaçlı olarak da birçok çalışmada denenmektedir. Vücudumuzda az miktarda üretilen L-karnitin D ve L olmak üzere iki formda karşımıza çıkmaktadır. Büyük bir miktarı diyetle alınmakta

ve hayvansal besinlere oranla bitkisel besinlerde daha fazla bulunmaktadır. Sentezinde lizin ve metiyonin aminoasitlerinin yanında C vitamini, demir, B₆ vitamini ve niasine ihtiyaç vardır. Lipit metabolizmasında uzun zincirli yağ asitlerin mitokondriye taşınmasına yardımcı olmasının yanında kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin metabolizması sonucunda oluşan aşırı miktardaki serbest KoA brikiminin oluşturacağı toksik etkileri de engellemektedir. Karbonhidrat metabolizmasında ise enerjiyi ihtiyacını karbonhidratlardan karşılayarak uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye ulaşımını engeller ve organizmayı yağ asidi oksidasyonunun etkilerine karşı korur. Karnitinler antioksidan özelliklerin dolayı ROS artışını engellemektedir. Serbest radikal süpürücü etkileriyle lipit peroksidasyonunun etkilerine karşı hücreyi korumakta, serbest radikalların hücre membranında ortaya çıkardıkları etkileri azaltmak için membranı güçleştirmekte ve enerji üretiminin olumsuz etkilenmemesi için mitokondride de hasar oluşumunu da engellemektedir. Aynı zamanda DNA'yı da oksidatif etkilere karşı koruduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Kurt ve El 2011).

Çalışmamızda APAP ile karaciğer toksikasyonu oluşturduğumuz grubun kontrol grubuna kıyasla serum AST ve ALT düzeylerinde belirgin düzeyde artışın ($p \leq 0.001$), GGT düzeyinde ise anlamlı yükselişin ($p < 0.05$) olması karaciğerde hasar geliştiğini işaret etmektedir. L-karnitin uygulamasında ise serum AST ve GGT seviyelerinin toksikasyon grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı ($p < 0.05$), ALT düzeyinde ise belirgin düzeyde azalmanın ($p \leq 0.001$) meydana geldiğini tespit ettik. APAP_Ozon_L-karnitin uygulamasında ise ALT düzeyinin APAP grubuna kıyasla belirgin düzeyde azaldığını ($p \leq 0.001$), AST ve GGT düzeylerinde de anlamlı derecede azalışın ($p < 0.05$) olduğunu saptadık. Yapar ve ark. (2007), APAP kullanarak oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda 500 mg/kg L-karnitin uygulamasının tedavi edici etkisini araştırmak üzere yaptıkları deneysel çalışmada, toksik hepatitin olduğu gruptaki serum AST, ALT seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla belirgin düzeyde yükseldiğini, tedavi grubunda ise serum AST ve ALT düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak APAP'ın karaciğerde hasar oluşturduğu ve bu toksikasyonun tedavisinde kullanılan L-karnitin oksidatif stresi azaltarak karaciğer toksikasyonunda etkili olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada da yine Arafa (2009), ratlarda APAP ile oluşturduğu karaciğer

toksikasyonunda toksisite oluşan gruptaki serum AST, ALT düzeyinin belirgin şekilde yükseldiğini, L-karnitin uygulamasının ise tedavi grubunda serum AST ve ALT seviyelerini azalttığını rapor etmişlerdir. (Aktaş ve ark. 2013) te, çalışmada ise ip yolla 300 mg/kg dozda APAP verilerek oluşturulan toksik hepatit grubundaki ratlarda serum AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek, L-karnitin uygulanan tedavi grubunda ise bu değerlerin toksisite oluşan gruba kıyasla belirgin düzeyde düşük olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda; oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitin uygulamasının lipid peroksidasyonunu önleyebileceği ve oksidatif stresin etkilerini azaltarak karaciğer hasarının önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Literatürde belirtilen başka deneysel çalışmalarda da APAP intoksikasyonunda serum AST, ALT konsantrasyonlarında artışın olduğunu belirtmişlerdir (Şener ve ark. 2005, Küpeli ve ark. 2006). Literatürdeki bilgiler ışığında APAP ile oluşturulan hepatotoksistide vanilik asidin etkisi araştırmak üzere oluşturdukları deneyde karaciğer enzimlerinden serum AST, ALT, GGT seviyelerinin arttığını gözlemişlerdir (Raja ve Deepa 2010, Aktaş ve ark. 2013). Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerde karaciğer hasar belirteçleri olan serum AST, ALT, GGT sonuçlarımızın diğer çalışmalarla benzer nitelikte olduğunu gözlemledik. L-karnitin ve ozon_L-karnitin uyguladığımız grupların serum AST, ALT, GGT seviyelerinin toksikasyon grubuna kıyasla düzeylerinde düşüşün olması ve kontrol grubuna kıyasla belirgin bir farkın olmayışının oluşan doku hasarını azalttığı bunuda oksidanların zararlarına karşı hücreyi koruyarak gerçekleştirdiklerini düşündürmektedir.

APAP'ın dokuda hasar oluşturmasının altında yatan etmenlerden birinde lipid peroksidasyonu olduğu ileri sürülmektedir. APAP'ın karaciğerde toksisite oluşturduğuna dair yapılan literatür taramalarında MDA düzeyinin de arttığı bildirilmiştir (Yapar ve ark. 2007). Yapılan başka bir çalışmada da yine APAP ile oluşturulan hepatotoksistide karaciğer dokusu MDA düzeyinde artışın meydana geldiğini gözlemişlerdir (Terneus ve ark. 2008). Hsu ve ark. (2008) de, deneysel çalışmalarında APAP kaynaklı akut karaciğer hasarında Ganoderma amboinense ekstraktının etkisini araştırmak üzere oluşturdukları çalışmada serum AST, ALT seviyelerinde ve doku MDA düzeyinde artışların oluştuğunu bildirmişlerdir. Benzer sonuçlara varılan başka çalışmalarda da APAP kaynaklı akut karaciğer hasarında

AST, ALT, ALP ve MDA düzeylerinin yükseldiğini belirlemişlerdir (Kanbur ve ark. 2009, Girish ve ark. 2009). Literatürlerdeki bu sonuçlarla uyumlu olan çalışmamız; APAP'ın aşırı dozda alımından kaynaklanan karaciğer toksikasyonunda serum ve doku MDA düzeylerinin yüksek çıkmasını serbest radikallerle oluşan lipid peroksidasyonun etkilerinde kaynaklandığını belirtebiliriz. Bu sonuçlar karaciğer toksikasyonunda oluşan doku hasarının serbest radikallerin ve oksidatif stresin etkilerinden kaynaklanabileceğini akla getirmektedir.

Aktaş ve ark. (2013), APAP uygulayarak oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda APAP uygulamasından 5 dakika sonra tek doz ip yolla 500 mg/kg L-Karnitin uygulanan çalışmada, ratlardan 24 saat sonra alınan doku örneklerinde toksisite oluşan grubun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre yükseldiği, tedavi grubunda ise önemli derecede düştüğü görülmüştür. Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın hem oluştuğu bölgedeki dokulara hemde uzak bölgedeki dokulara zarar verdiğini bildirmişlerdir. Tedavi sonra MDA düzeyindeki düşüşün ve oluşan karaciğer hasarının düzelmeye başlamasında tedavide L-karnitin uygulamasının lipid peroksidasyonunu önlemesinden ve oksidatif stresin etkilerini azaltmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Literatür taramalarımızda siklofosamid ilacıyla oluşturulan karaciğer hasarında doku MDA düzeyinin arttığı, L-karnitin uygulamasının ise MDA düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir (Çetinkaya ve ark. 2009). Canbaz ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada L-karnitin lipid peroksidasyonunun zararlarını engelleyerek serum MDA seviyesini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Çalışmamızda tedavi grubunda olan APAP_ozon_L-karnitin uygulanan grubun doku MDA ($p < 0.001$) ve serum MDA düzeylerinin toksikasyon grubuna kıyasla belirgin düzeyde düştükleri ($p \leq 0.001$), APAP_L-karnitin uygulamasında ise doku MDA ($p < 0.001$) değeri belirgin düzeyde azalırken, serum MDA değerinde önemli düzeyde azaldığını ($p < 0.05$) tespit ettik. Elimizdeki verilerin ışığında APAP_ozon_L-karnitin, APAP_L-karnitin uygulamalarımızın APAP hepatotoksitesinde serum ve doku MDA düzeyini düşürdükleri; bunuda lipid peroksidasyonunu azaltarak ve antioksidan savunma mekanizmasını aktifleştirerek gerçekleştirdikleri sonucuna varıldı.

Yapar ve ark. (2007), APAP ile oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda antioksidan olan GSH aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla toksikasyon grubunda azaldığını gözlemişlerdir. L-karnitin uygulanan grubun toksikasyon oluşan gruba kıyasla GSH düzeyinde artış meydana geldiğini belirtmişlerdir. Benzer bir çalışma olan Aktaş ve ark. (2013), çalışmasında da toksikasyonun olduğu grupta tam kan GSH seviyesinin kontrol grubuna göre düştüğünü, L-karnitin uygulanan grupta ise anlamlı olarak yükseldiğini belirtmişlerdir. APAP'ın toksikasyon oluşturacak dozda alındığında karaciğerde GSH düzeyini azalttığı ifade edilmektedir (Çetinkaya ve ark. 2009, Palani 2010). Alshabanah ve ark. (2010), doxorubicin antibiyotiğiyle oluşturdukları hepatotoksistide L-karnitin uygulamasının ratların karaciğerlerindeki antioksidanların aktivitelerini (GSH, SOD, CAT, GR) toksikasyon grubuna kıyasla yükselttiği belirtilmiştir. Farklı cinsten hayvan türleri üzerinde yaptıkları çalışmadan elde ettikleri (Sundaram ve Panneerselvam 2006) verilerin sonuçlarına destek olan benzer bir çalışmada Tastekin ve ark (2007)' de yapmışlardır. Tastekin ve ark (2007), deneysel araştırmalarında artrit oluşturdukları Sprague-Dawley cinsi ratlara alfa lipoik asit ve karnitin uygulamalarının lipid peroksidasyonunu azalttığını, GSH seviyesi ile GSH-Px aktivitesini ise artırdığını belirtmişlerdir.

Bizde APAP ile oluşturduğumuz karaciğer toksikasyonu çalışmamızda toksikasyon oluşturduğumuz grubun kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamda doku TAS ($p < 0.001$) düzeyinde belirgin düzeyde düşüş, serum TAS düzeyinde önemli düzeyde azalma ($p < 0.05$), doku ve serum TOS düzeylerinde ise belirgin düzeyde artış ($p < 0.001$) olduğunu tespit ettik. APAP_L-karnitin ve APAP_ozon_L-karnitin uyguladığımız grupların toksikasyon grubuna kıyasla doku TAS ($p < 0.05$) ve serum TAS ($p < 0.01$) değerlerinde artış olduğu, APAP_L-karnitin uygulamasının ise doku ve serum TOS düzeylerini toksikasyon grubuna göre anlamlı düzeyde düşürdüğünü ($p < 0.05$), APAP_ozon_L-karnitin grubunda da doku TOS ($p < 0.05$) değerinde önemli düzeyde, serum TOS değerinde ise belirgin düzeyde ($p < 0.001$) düşüşün meydana geldiğini gözlemledik. Çalışmamızın sonuçlarından ve literatürdeki araştırmalardan elde edilen bilgiler ışığında; APAP ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda organizmada artan serbest radikallerin ve reaktif NAPQI metabolitinin GSH depolarını tükettiği ve bu tükenmenin etkisiyle antioksidan

savunma sisteminin zayıflamasıyla ortaya çıkan oksidatif hasarın önüne geçilemediğini düşünmekteyiz.

Yapılan başka iki çalışmada ise APAP intoksikasyonunda GSH seviyesinde azalma görüldüğünü bildirmişlerdir (Şener ve ark. 2005, Küpeli ve ark. 2006). Araf ve ark. (2009) da, APAP ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda L-karnitin uygulamasının GSH seviyesini artırdığını belirtmişlerdir.

Kalaiselvi ve Panneerselvam (1998), L-karnitin antioksidan özelliğinden dolayı antioksidan enzimleri aktifleştirerek serbest radikalleri süpürdüğünü ve hücreleri oksidanların zararlarından koruduğunu ifade etmişlerdir.

Yine başka bir çalışmada da Thangasamy ve ark. (2009) da, yaşlı ratlara L-karnitin uygulamasının hücredeki GSH, SOD, CAT düzeylerini artırmasının yanında lipid peroksit düzeyini azaltarak protein, lipid, DNA gibi büyük molekülleri oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun zararlarından koruduğunu bildirmişlerdir.

Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda APAP_L-karnitin ve APAP_Ozon_L-karnitin uygulamasının GSH depolarının tükenmesinin önüne geçtiğini, antioksidan özelliklerinden dolayı savunmada görevli olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları aktifleştirdiği, ROS'un, lipid peroksidasyonunun ve oksidatif hasarın etkilerinden karaciğeri koruyabileceği kanaatine varıldı.

APAP ile deneysel olarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş denekleri içeren çalışmalarda; hayvanların karaciğerlerinde nekroz, sinuzoidal dilatasyon, kuppferin yıldız hücrelerinde aktivasyon artışı, hücrelerde hipertrofi gözlemlenmiştir (Lauterburg 2002, Ito 2003). Bir başka çalışmada da; sinuzoidal dilatasyon, santrül hücre hasarı (McCuskey 2006), mitokondri organelinin zar bütünlüğünde dejenerasyon, sinuzoidal dilatasyon, sitoplazmada vakuol oluşturduğu bildirilmiştir (Akyüz ve ark. 2013). Benzer bir çalışmada da Gul ve ark. (2012) ratlara yüksek dozda APAP uyguladıklarında karaciğer dokularında lökosit infiltrasyonu, sinuzoidal dilatasyon, nekroz, yer yer kanamanın olduğu odaklar tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ozon uygulamasının ise dokularda gelişen bu bulguların tedavisinde etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Başka çalışmalarda da benzer şekilde APAP ile hepatotoksisite oluşturulmuş hayvanların karaciğerlerinde sinüzoidal dilatasyon, nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir (Terneus ve ark. 2008, Wu ve ark. 2008). Laskin ve ark. (1995), çalışmalarında APAP'ın aşırı dozda alımının karaciğer dokusunda sentrilobüler hepatik nekroz oluşturduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir araştırmada da Aktaş ve ark. (2013), APAP ile oluşturdukları karaciğer hepatotoksisitesinde dokuların mikroskopik incelemeleri sonucunda, diğer araştırmalarla örtüşen sinüzoidal dilatasyon, dokuda hasarın oluşumu, mononükleer hücre infiltrasyonunu gibi bulgular elde edildiği belirtilmiştir. L-karnitin uygulamasının ortaya çıkan bu doku değişikliklerini aza indirdiğini ortaya koyan araştırmalar tespit edilmiştir (Yapar ve ark. 2007, Arafa 2009, Aktaş ve ark. 2013).

Yapılan çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da APAP kontrol grubundaki karaciğer dokularının mikroskopik incelemelerinde genel olarak yaygın olan orta ve şiddetli düzeyde hücresel hasarlar gözlemlendi. Yaygın ve şiddetli düzeyde hepatosit hasarı olan olguların ikisinde periportal nekroz varlığı (Resim 5) ve intrahepatik kanama alanları (Resim 6), tüm olgularda değişken seviyelerde vasküler konjesyon saptandı. APAP ile oluşturduğumuz karaciğer toksikasyonunda doku ve serum MDA düzeylerindeki artış mikroskopik sonuçlarımızla uyumlu olup doku hasarının oksidatif stresten kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Mikroskopik verilerimizle uyum halinde olan istatistiksel verilerimizin ışığında karaciğer dokusunda meydana gelen bu hasarlara yönelik APAP_ozon uyguladığımız grupta hepatositlerde yer yer fokal, yer yer yaygın yerleşim gösteren; hafif, orta ve şiddetli düzeyde hücresel hasarlar, tüm olgularda değişken derecelerde vasküler konjesyon ve 2 olguda kanama alanları belirlendi. Yaygın şiddetli düzeyde hücresel hasar oluşan yerlerin periportal alandan düzelmeye başladığı gözlenirken hiçbir olguda periportal enflamasyon oluşmadığı ve hiçbir olguda nekroz gelişmediği tespit edildi (Resim 7-8).

APAP_L-karnitin verilen grupta karaciğer dokusunda vasküler konjesyon, kanama, yaygın nitelikte orta ve şiddetli seviyede hücresel hasarlar tespit edilmesine rağmen belirgin periportal enflamasyon izlenmedi ve orta seviyede yaygın hücresel hasar olan yerlerin periportal alandan düzelmeye başladığı belirlendi (Resim 9).

APAP_Ozon grubundan farklı olarak tüm olgularda değişken yaygınlıkta kanama alanlarına ek olarak yaygın nitelikte ve şiddetli düzeyde hücresele hasar olan olguda fokal periportal nekroz varlığı belirlendi.

APAP_ozon_L-karnitin grubunda bazı olgularda karaciğer dokusunda vasküler konjesyon ve 2 olguda kanama alanları tespit edildi. Bununla birlikte hücresele hasar oluşmayan olgu ile orta yaygınlıkta hücresele hasar izlenen hepatositlerin bulunduğu olguda fokal periportal nekroz varlığı saptanırken karaciğerlerin tümü göz önünde bulundurulduğunda belirgin periportal enflamasyon varlığı izlenmediği ve hafif şiddette fokal hücresele hasar oluşan olguda hasarın periportal alandan düzelmeye başladığı dikkat çekti (Resim 11). APAP_ozon_L-karnitin grubunda, APAP_ozon grubuna benzer şekilde periportal enflamasyon izlenmemiş olup hücresele hasar, vasküler konjesyon ve kanama varlığı dikkat çekerken farklı olarak fokal periportal nekroz varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, APAP ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde Ozon, L-karnitin ve Ozon_L-karnitin tedavilerinin karaciğer dokusundaki nekroz ve kanama odaklarını azalttığını, periportal enflamasyonu engellediğini ve rejenerasyonlar oluşturduğunu; bunu da ozon uygulamasının hepatositlerin içindeki GSH seviyesini artırarak hücrelerin detoksifikasyon kapasitesini artırmasından kaynaklandığı kanaatine varıldı. Aynı zamanda uyguladığımız Ozon, L-karnitin ve Ozon_L-karnitin maddelerinin antioksidan özelliklere sahip olmaları neticesinde serbest radikallerin zararlarına karşın organizmayı korudukları ve oksidatif stresi baskılayarak antioksidan mekanizmayı aktifleştirdiklerini düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

Acar Ö: Sıçanlarda Siklofosamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2015.

Ajith TA, Hema U, Aswathy MS: Zingiber officinale roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2267-2272, 2007.

Akşit H, Akşit D, Bildik A, Kara H, Yavuz Ö, Seyrek K: Deneysel karaciğer intoksikasyonunda N-Asetil sistein'in glutatyon metabolizması ve lipid peroksidasyonuna etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 62: 1-5, 2015.

Aktaş Ö, Eskiocak S, Özgün GS, Yalçın Ö, Süt N: Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda l-karnitinin etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(4): 475-482, 2013.

Akyüz S, Karabuğa B, Konca E, Kurular D, Tuç Ö: Ozon terapi parasetamol hepatotoksisitesinin önlenmesinde dost mu, düşman mı?. *Türk Farmakoloji Derneği 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi*, 142, 2013.

Alshabanah OA, Hafez MM, Al-Harbi MM, Hassan ZK, Al Rejaie SS, Asiri YA, Sayed-Ahmed MM: Doxorubicin toxicity can be ameliorated during antioxidant L-carnitine supplementation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(6): 428-433, 2010.

Arafa HMM: Carnitine deficiency: a possible risk factor in paracetamol hepatotoxicity. *Arch Toxicol*, 83: 139-150, 2009.

Aslaner A, Çakır T, Tekeli SÖ, Avcı S, Doğan U, Tekeli F, Soylu H, Akyüz C, Koç S, Üstünel İ, Yılmaz N: Medical ozone treatment ameliorates the acute distal colitis in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 31(4): 256-263, 2016.

Aydın H: Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. *Trakya Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne*, 2011.

Aytaç E, Seymen P, Saygılı S, Genç H, Uzun H, Özbay G, Altuğ T, Seymen HO, Sarıyar M: Evaluation of oxidative stress in experimental acetaminophen induced hepatotoxicity: Effect of darbepoetin administration. *Nobel Med*, 6(3): 56-61, 2010.

Balercia G, Regoli F, Armeni T, Koverech A, Mantero F, Boscaro M: Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertility and sterility*, 84(3): 662-671, 2005.

Battal D: Postmortem Rat Serum Ve Dokularında Parasetamol Dağılımı Ve Stabilitésinin Araştırılması. *Çukurova Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana*, 2009.

Bayram Y, Türkay C: Akut Karaciğer Yetmezliği, *Güncel Gastroenteroloji* 14/3, 2010.

Bernal W, Wendon J, Rela M, Heaton N, Williams R: Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*, 27(4): 1050-1055, 1998.

Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S: Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 12(3-4): 250-275, 2006.

Bessem JGM, Vermeulen NPE: Paracetamol (Acetaminophen)-induced toxicity: Molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(1): 55-138, 2001.

Bilge M: L-Karnitin Verilen Sıçan Karaciğer Dokularında Antioksidan Enzim Aktivitelerinin ve Oksidan Parametrelerin Araştırılması. *Gazi Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara*, 2014.

Black M: Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 78(2): 382-392, 1980.

Bocci V: Does ozone therapy normalize the cellular redox balance?. *Medical Hypotheses*, 46, 150-154, 1996.

Bocci V: Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation*, 13(1): 3-11, 2004.

Bocci VA: Can ozonotherapy be performed if the biochemistry of the process cannot be controlled?. *Archives of Medical Research*, 38: 584-585, 2007.

- Bocci VA:** Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Archives of medical research, 37: 425-435, 2006a.
- Bocci V:** Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. Toxicology and applied pharmacology, 216: 493-504, 2006b.
- Bremer J:** Carnitine-Metabolism and Functions. Physiological reviews, 63(4): 1420-1480, 1983.
- Brodie BB, Axelrod J:** The fate of acetanilide in man. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 94(1): 29-38, 1948.
- Bromer MQ, Black M:** Acetaminophen hepatotoxicity. Clinics in Liver Disease, 7(2): 351-367, 2003.
- Brunt EM:** Nonalcoholic Steatohepatitis: Definition and Pathology. Seminars In Liver Disease, 21(1): 3-16, 2001.
- Brüss M, Homann J, Molderings GJ:** Dysferlinopathy as an extrahepatic cause for the elevation of serum transaminases. Med Klin, 99(6): 326-329, 2004.
- Calabrese V, Cornelius C, Dinkova-Kostova AT, Iavicoli I, Di Paola R, Koverech A, Cuzzocrea S, Rizzarelli E, Calabrese EJ:** Cellular stress responses, hormetic phytochemicals and vitagenes in aging and longevity. Biochim Biophys Acta, 1822: 753-783, 2012.
- Canbaz H, Akca T, Tataroglu C, Caglikulekci M, Dirlik M, Ayaz L, Ustunsoy AB, Tasdelen B, Aydin S:** The effects of exogenous L-carnitine on lipid peroxidation and tissue damage in an experimental warm hepatic ischemia-reperfusion injury model. Current therapeutic research, 68(1): 32-46, 2007.
- Cereser C, Guichard J, Drai J, Bannier E, Garcia I, Boget S, Parvaz P, Revol A:** Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to red blood cells and cultured fibroblasts. Journal of Chromatography B, 752(1): 123-132, 2001.
- Cheeseman KH, Slater TF:** An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin, 49(3): 481-493, 1993.
- Chisari FV:** Cytotoxic T cells and viral hepatitis. Journal of Clinical Investigation, 99: (7), 1472-1477, 1997.
- Cihan YB, Gökcalp SS, Kaplan B, Köseahmetoğlu M:** Evaluation of protective effect of ozone against acute liver tissue injury induced by irradiation in rats. Türkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology, 18(2): 55-63, 2011.
- Clavo B, Pérez JL, López L, Suárez G, Lloret M, Rodríguez V, Macías D, Santana M, Hernández MA, Martín-Oliva R, Robaina F:** Ozone therapy for tumor oxygenation: a pilot study. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 1(1): 93-98, 2004.
- Costell M, O'Connor JE, Grisolia S:** Age-dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and humans. Biochemical and biophysical research communications, 161(3): 1135-1143, 1989.
- Crentsil V:** Mechanistic contribution of carnitine deficiency to geriatric frailty. Ageing research reviews, 9(3): 265-268, 2010.
- Çetinkaya A, Kantarçeken B, Bülbüloğlu E, Kurutaş EB:** The effects of L-carnitine on cyclophosphamide-induced oxidative liver and intestinal damage in rats. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 29(5): 1161-1167, 2009.
- Çitil M:** Veteriner Hekimlikte Karnitin. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 8(1): 77-82, 2002.
- Daham E:** Spontan Düşük Sonucu Elde Edilen İnsan Dişi ve Erkek Fetuslerinde 2.Trimester Süresince Karaciğer Dokusunda Meydana Gelen Histolojik Değişimler, P53 Ekspresyonu ve Apoptozis. Afyon Kocatepe Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, 2009.
- DaTorre SD, Creer MH, Pogwizd SM, Corr PB:** Amphipathic lipid metabolites and their relation to arrhythmogenesis in the ischemic heart. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 23: 11-22, 1991.
- Demirbag S, Uysal B, Guven A, Cayci T, Ozler M, Ozcan A, Kaldirim U, Surer I, Korkmaz A:** Effects of medical ozone therapy on acetaminophen-induced nephrotoxicity in rats. Renal failure, 32(4): 493-497, 2010.

- Demirbas S, Cakir E, Akgul EO, Seyrek M, Cayci T, Kurt YG, Uysal B, Aydin I, Kurt B, Yaman H, Erbil MK:** Elevated serum neopterin levels in acetaminophen-induced liver injury. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 31, 165-170, 2011.
- Demircan İB:** Histidin-Triptofan-Ketoglutarat (Htk) çözeltisine eklenen Acetyl-L-carnitin'in donör uterus'daki koruyucu etkilerinin araştırılması. Gazi Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2012.
- Demirci U:** Karaciğer Hastalıklarında Vasküler Endotel Büyüme Faktör (Vascular Endothelial Growth Factor, Vegf) Düzeyleri. Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 3. İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık tezi, İstanbul, 2006.
- Diplock A:** Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients, ILSI Europe concise monograph series, 59,1998.
- Doyon S, Klein-Schwartz W:** Hepatotoxicity despite early administration of intravenous N-acetylcysteine for acute acetaminophen overdose. *Academic Emergency Medicine*, 16, 34-39, 2009.
- Elmhdwi MF, Muftah SM, El Turni SG, Elslimani FAZ:** Hepatoprotective effect of Ecballium Elaterium fruit juice against paracetamol induced hepatotoxicity in male albino rats. *International Current Pharmaceutical Journal*, 3(5): 270-274, 2014.
- Erel O:** A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 37(2):112-119, 2004.
- Erel O:** A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38(12): 1103-1111, 2005.
- Eren M, Saltık-Temizel İ, Koçak N:** İlaça bağlı hepatotoksosite. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 47, 222-227, 2004.
- Erfidan MA:** Farelerde Parasetamol İle İndüklenen Akut Karaciğer Hasarı Üzerine Narin (Punica Granatum L.) Etkileri, Afyon Kocatepe Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, 2016.
- Ergün Y, Ergün Y:** Karaciğer sirozu ve nitrik oksit. *Arşiv*, 18: 91, 2009.
- Ersoy O:** Karaciğer enzim yüksekliğinin değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, 12(3): 129-135, 2012.
- Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ:** Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Seminars In Liver Disease*, 21(1): 17-26, 2001.
- Girish C, Koner BC, Jayanthi S, Raod KR, Rajesh B, Pradhan SC:** Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 23, 735-745, 2009.
- Gómez-Amores L, Mate A, Revilla E, Santa-María C, Vázquez CM:** Antioxidant activity of propionyl-L-carnitine in liver and heart of spontaneously hypertensive rats. *Life sciences*, 78, 1945-1952, 2006.
- Guggenheimer J, Moore PA:** The therapeutic applications of and risks associated with acetaminophen use: a review and update. *The Journal of the American Dental Association*, 142(1): 38-44, 2011.
- Gul H, Uysal B, Cakir E, Yaman H, Macit E, Yildirim AO, Eyi YE, Kaldırım U, Oztas E, Akgul EO, Cayci T, Ozler M, Topal T, Oter S, Korkmaz A, Toygar M, Demirbag S:** The protective effects of ozone therapy in a rat model of acetaminophen-induced liver injury. *Environmental toxicology and pharmacology*, 34(1), 81-86, 2012.
- Gultekin FA, Bakkal BH, Guven B, Tasdoven I, Bektas S, Can M, Comert M:** Effects of ozone oxidative preconditioning on radiation-induced organ damage in rats. *Journal of radiation research*, 54(1), 36-44. (2013).
- Guven A, Gundogdu G, Sadir S, Topal T, Erdogan E, Korkmaz A, Surer İ, Ozturk, H:** The efficacy of ozone therapy in experimental caustic esophageal burn. *Journal of pediatric surgery*, 43, 1679-1684, 2008.
- Guven A, Gundogdu G, Vurucu S, Uysal B, Oztas E, Ozturk H, Korkmaz A:** Medical ozone therapy reduces oxidative stress and intestinal damage in an experimental model of necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *Journal of pediatric surgery*, 44, 1730-1735, 2009.
- Gülçin İ:** Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences*, 78(8): 803-811, 2006.

- Gürsoy F:** Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriks Metalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi, Afyon Kocatepe Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2005.
- Güzel Ö, Yıldar E, Erdikmen DO:** Medikal ozon ve veteriner cerrahide kullanımı, İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 37(2): 177-184, 2011.
- Halliwell B, Gutteridge JMC:** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in enzymology*, 186: 1-85, 1990.
- Halliwell B:** Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the Beginning). *Free Rad Res*, 31, 261-272, 1999.
- Halliwell B:** Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52(8): 253-265, 1994.
- Harmeyer J:** The physiological role of L-carnitine. *Lohman Information*, 27: 1-8, 2002.
- Hermes-Lima M, Storey JM, Storey KB:** Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. *Cell and Molecular Response to Stress*, 2: 263-287, 2001.
- Hermes-Lima M, Zenteno-Savín T:** Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 133(4), 537-556, 2002.
- Hinson JA, Roberts DW, James LP:** Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol*, 196, 369-405, 2010.
- Hoppel C:** The role of Carnitine in normal and altered fatty acid metabolism. *American Journal of Kidney Diseases*, 41(4): S4-S12, 2003.
- Hsu CC, Lin KY, Wanga ZH, Lin WL, Yin MC:** Preventive effect of Ganoderma amboinense on acetaminophen-induced acute liver injury. *Phytomedicine*, 15, 946-950, 2008.
- Huang L, Heinloth AN, Zeng ZB, Paules RS, Bushel PR:** Genes related to apoptosis predict necrosis of the liver as a phenotype observed in rats exposed to a compendium of hepatotoxicants. *BMC Genomics*, 9: 288, 2008.
- Ito Y, Bethea NW, Abril ER, Mccuskey RS:** Early hepatic microvascular injury in response to acetaminophen toxicity. *Microcirculation*, 10(5): 391-400, 2003.
- 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 Sciences*, 88(17): 737-745, 2011.
- James LP, Mayeux PR, Hinson JA:** Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 31(12): 1499-1506, 2003.
- James LP, McCullough SS, Lamps LW, Hinson JA:** Effect of N-Acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation. *Toxicological Sciences*, 75(2): 458-467, 2003a.
- Jollow DJ, Thorgeirsson SS, Potter WZ, Hashimoto M, Mitchell JR:** Acetaminophen-induced hepatic necrosis. *Pharmacology*, 12(4-5), 251-271, 1974.
- Kalaiselvi T, Panneerselvam C:** Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, 575-581, 1998.
- Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, Silici S, Liman BC, Altınordulu Ş, Atasever A:** The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental And Toxicologic Pathology*, 61, 123-132, 2009.
- Kelly GS:** L-carnitine: Therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid. *Alternative Medicine Review*, 3(5): 345-360, 1998.
- Kerner J, Lee K, Hoppel CL:** Post-translational modifications of mitochondrial outer membrane proteins. *Free Radical Research*, 45(1): 16-28, 2011.
- Kesim SM, Şahan C, Güner E:** Hepatik ilaç metabolizması. *OMÜ Tıp Dergisi*, 18(2): 154-160, 2001.
- Kittisupamongkol W:** Liver injury from Diclofenac or Acetaminophen?. *The American Journal of Gastroenterology*, 104, 1862, 2009.
- Koeck T, Kremser K:** L-carnitine alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroxisomal status. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 35, 149-156, 2003.

- Kortunay S, Bozkurt A:** Hepatik ilaç metabolizmasının klinik yönden değerlendirilmesi. *Güncel Gastroenteroloji*, 1/2: 203-212, 1997.
- Köseoğlu H, Ersoy O:** Karaciğer hastalıklarında N-asetil sistein kullanımı. *Güncel Gastroenteroloji* 18/1, 2014.
- Krajcovicova-Kudlackova M, Simoncic R, Bederova A, Babinska K, Beder I:** Correlation of carnitine levels to methionine and lysine intake. *Physiol Res*, 49: 399-402, 2000.
- Kurt Ö, El SN:** Biyoaktif bir gıda bileşeni L-karnitin: Beslenme ve sağlık açısından önemi ve biyoyararlılığı. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(2): 97-102, 2011.
- Kurutaş EB, Kılınç M:** Pestisitlerin biyolojik sistemler üzerine etkisi. *Arşiv*, 12: 215, 2003.
- Kutlubay Z, Engin B, Serdaroğlu S, Tüzün Y:** Dermatolojide ozon tedavisi. *Dermatoz*, 1(4): 209-216, 2010.
- Kuyvenhoven JP, Meinders AE:** Oxidative stress and Diabetes Mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J Intern Med*, 10: 9-19, 1999.
- Küpeli E, Orhan DD, Yesilada E:** Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal Of Ethnopharmacology*, 103, 455-460, 2006.
- LaCount DW, Drackley JK, Weigel DJ:** Responses of dairy cows during early lactation to ruminal or abomasal administration of L-carnitine. *Journal Of Dairy Science*, 78: 1824-1836, 1995.
- Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ:** Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*; 21(4): 1045-1050, 1995.
- Laskin, DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ:** Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 21(4): 1045-1050, 1995.
- Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR:** Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, 71, 980-991, 1983.
- Lauterburg BH:** Analgesics and glutathione. *Am J Ther*, 9(3): 225-233, 2002.
- Lee WM:** Acetaminophen and the us acute liver failure study group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, 40(1): 6-9, 2004.
- 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. *Journal Of Biomedical Science*, 19(1): 32, 2012.
- Li LJ, Yang YG, Zhang ZL, Nie SF, Li Z, Li F, Hua HY, Hu YJ, Zhang HS, Guo YB:** Protective effects of medical ozone combined with traditional Chinese medicine against chemically-induced hepatic injury in dogs. *World Journal Of Gastroenterology*, 13(45): 5989-5994, 2007.
- Lu W, Li YH, He XF:** Treatment of large lumbar disc herniation with percutaneous ozone injection via the posterior-lateral route and inner margin of the facet joint. *World J Radiol*, 2(3): 109-112, 2010.
- Mahoney FJ:** Update on diagnosis, management, and prevention of Hepatitis B virus infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2): 351-366, 1999.
- Malone JJ, Schocken DD, Morrison AD, Gilbert-Barness E:** Diabetic cardiomyopathy and carnitine deficiency. *Journal Of Diabetes And Its Complications*, 13(2): 86-90, 1999.
- Martínez-Sánchez G, Al-Dalain SM, Menéndez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, Hector Álvarez , Fernández-Montequín JI, León OS:** Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *European journal of pharmacology*, 523, 151-161, 2005.
- Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C:** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16: 577-586, 2005.
- Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN:** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8): 595-603, 1999.
- McCuskey RS:** Sinusoidal endothelial cells as an early target for hepatic toxicants. *Clinical Hemorheology And Microcirculation*, 34(1,2): 5-10, 2006.
- Mersin HH, Akbaba M, Başkan E, Berberoğlu U:** N-asetilsistein sıçanlarda tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarını azaltabilir. *Ulusal Cerrahi Dergisi*, 25(4): 146-149, 2009.

- Meyer DJ, Harvey JW:** Hematologic changes associated with serum and hepatic iron alterations in dogs with congenital portosystemic vascular anomalies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8(1): 55-56, 1994.
- Muthuswamy AD, Vedagiri K, Ganesan M, Chinnakannu P:** Oxidative stress-mediated macromolecular damage and dwindle in antioxidant status in aged rat brain regions: Role of L-carnitine and DL- α -Lipoic acid. *Clinica Chimica Acta*, 368(1): 84-92, 2006.
- Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL:** Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract*, 9(4): 75-84, 2008.
- Nordberg J, Arnér ESJ:** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11): 1287-1312, 2001.
- O'grady JG, Schalm SW, Williams R:** Acute liver failure: redefining the syndromes. *The Lancet*, 342: 273-275, 1993.
- Ozkaya O, Genc G, Bek K, Sullu Y:** A case of acetaminophen (Paracetamol) causing renal failure without liver damage in a child and review of literature. *Renal failure*, 32(9): 1125-1127, 2010.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z:** Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3): 331-336, 2015.
- Özdemir S, Akın P:** Fulminan Karaciğer Yetersizliği: Etiyolojik, Klinik Ve Prognostik Özellikleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 34(1): 58-66, 2003.
- Özel GSK, Birdane YO:** Antioksidanlar. *Kocatepe Vet J*, 7(2): 41-52, 2014.
- Palani S, Raja S, Kumar SB:** Hepatoprotective and antioxidant potential of chloroxylon swietenia (Rutaceae) on acetaminophen induced toxicity in male albino rats. *Int J Pharm Tech Res*, 2(1): 162-170, 2010.
- Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC:** Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364, 1966.
- Raja B, Deepa MS:** The protective role of Vanillic acid against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacy Research*, 3(7): 1480-1484, 2010.
- Ranganathan SS, Sathiadhas MG, Sumanasena S, Fernandopulle M, Lamabadusuriya SP, Fernandopulle BMR:** Fulminant hepatic failure and paracetamol overuse with therapeutic intent in febrile children. *Indian Journal of Pediatrics*, 73(10): 871-875, 2006.
- Rebouche CJ:** Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and Acetyl-l-carnitine metabolism. *Annals New York Academy of Sciences*, 1033: 30-41, 2004.
- Reuter SE, Evans AM, Chace DH, Fornasini G:** Determination of the reference range of endogenous plasma carnitines in healthy adults. *Annals of Clinical Biochemistry*, 45: 585-592, 2008.
- Riordan SM, Williams R:** Cause and prognosis in acute liver failure. *Liver Transplantation and Surgery*, 5(1): 86-89, 1999.
- Rodighiero V:** Effects of liver disease on pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 37(5): 399-431, 1999.
- Salgia ADT, Kosnik SD:** When acetaminophen use becomes toxic: Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medicine*, 105(4): 81-90, 1999.
- Schnackenberg CG, Wilcox CS:** The SOD mimetic tempol restores vasodilation in afferent arterioles of experimental Diabetes. *Kidney International*, 59(5), 1859-1864, 2001.
- Serafini M, Del Rio D:** Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox report*, 9(3): 145-152, 2004.
- Seto SW, Lam TY, Tam HL, Au ALS, Chan SW, Wu JH, Yu PHF, Leung GPH, Ngai SM, Yeung JHK, Leung PS, Lee SMY, Kwan YW:** Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in Obese/Diabetic (+ db/+ db) mice. *Phytomedicine*, 16: 426-436, 2009.
- Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN:** Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 10771-10778, 1994.
- Sorg O:** Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality?. *CR Biologies*, 327: 649-662, 2004.
- Sundaram K, Panneerselvam KS:** Oxidative stress and DNA single strand breaks in skeletal muscle of aged rats: Role of Carnitine and lipoic acid. *Biogerontology*, 7: 111-118, 2006.

Şener G, Sehirli Ö, Cetinel Ş, Yeğen BG, Gedik N, Ayanoglu-Dülger G: Protective effects of Mesna (2-Mercaptoethane Sulphonate) against acetaminophen-induced hepatorenal oxidative damage in mice. *J Appl Toxicol*, 25: 20–29, 2005.

Tanyeli Ö, Yüksek T, Görmüş N, Ulu N, Kıyıcı A, Esen HH: The effects of medical ozone in rat heart exposed to ischemia-reperfusion injury: Experimental Study. *Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci*, 24(2):102-107, 2012.

Tastekin N, Aydogdu N, Dokmeci D, Usta U, Birtane M, Erbas H, Ture M: Protective effects of L-Carnitine and Alpha-Lipoic acid in rats with adjuvant Arthritis. *Pharmacol Res*, 56: 303-310, 2007.

Taşbozan O, Gökçe MA: L-karnitin ve akuakültürde kullanımı. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, (5-8): 694-703, 2007.

Taşbozan O: L-Karnitin ve farklı yağ seviyeleri ile hazırlanan yemlerle beslenen çipuraların (sparus aurata) büyüme performansı ve vücut kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi üzerine bir araştırma. Çukurova Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 2005.

Terneus MV, Brown JM, Carpenter AB, Valentovic MA: Comparison of s-adenosyl-L-methionine (S-AMe) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. *Toxicology*, 244(1): 25-34, 2008.

Thangasamy T, Jeyakumar P, Sittadjody S, Joyee AG, Chinnakannu P: L-carnitine mediates protection against dna damage in lymphocytes of aged rats. *Biogerontology*, 10: 163–172, 2009.

Thornalley PJ, Vašák M: Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 827(1): 36-44, 1985.

Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V: A Physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 41: 504-511, 2007.

Tucer D: Gıda Zehirlenmeleri Ve Toksik Hepatit, *Güncel Gastroenteroloji*, 19/3, 188-196, 2015.

Tuna N: L-carnitine uygulamasının ratlarda bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. Selçuk Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2014.

Tür L: Karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda *matricaria chamomilla* l.' nin karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırılması. Afyonkarahisar Kocatepe Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Afyonkarahisar, 2008.

Tylicki L, Biedunkiewicz B, Rachon D, Nieweglowski T, Hak L, Chamienia A, DebskaSlizien A, Aleksandrowicz E, Mysliwska J, Rutkowski B: No Effects of ozonated autohemotherapy on inflammation response in hemodialyzed patients. *Mediators Of Inflammation*, 13(5/6): 377-380, 2004.

Umutlu U: L- Karnitin Uygulamasının Ratlarda Bazı Lipit Parametreleri Üzerine Etkisi. Selçuk Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2012.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84, 2007.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40, 2006.

Van Der Vliet A, O'Neill CA, Halliwell B, Cross CE, Kaur H: Aromatic hydroxylation and nitration of phenylalanine and tyrosine by peroxynitrite: Evidence For Hydroxyl Radical Production From Peroxynitrite, *Febs Letters*, 339: 89-92, 1994.

Vesela E, Racek J, Trefil L, Jankovy'ch V, Pojer M: Effect of L-carnitine supplementation in hemodialysis patients. *Nephron*, 88(3): 218-223, 2001.

Winterbourn CC: Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the fenton reaction. *Toxicology Letters*, 82/83: 969-974, 1995.

Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX: Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(8): 1523-1529, 2008.

Yaman H, Isbilir S, Cakir E, Uysal B: Current issues with paracetamol induced toxicity. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 1(3): 165-166, 2011.

Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cital M: Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59: 121–128, 2007.

Yavuz H: Farklı Yağ asiti içeriğine sahip diyetle beslenen erkek ratlarda L-karnitin uygulamalarının kan ve doku antioksidan parametreleri ile bazı biyokimyasal ve metabolik değerlere etkileri, Selçuk Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 2013.

Yıldız PO, Yangılar F: Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1): 94-101, 2014.

You M, Crabb DW: Recent advances in alcoholic liver disease II. minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. *AJP Gastrointest Liver Physiol*, 287(1): G1-G6, 2004.

Zeyner A, Harmeyer J: Metabolic functions of L-Carnitine and its effects as feed additive in horses. A Review, *Archives of Animal Nutrition*, 52: 115-138, 1999.



6. ÖZGEÇMİŞ

Trabzon İlinde 1989 yılında doğdum. Trabzon'da Kendirli Köyü İlköğretim okulunda İlköğrenimimi, Ortaöğrenimimi ise Çağlayan Ortaöğretim okulunda, Lise eğitimimi Çağlayan Adnan Menderes Lisesi'nde tamamladım. 2008 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Hemşirelik bölümünü kazandım ve 2012 yılında mezun oldum. 2013 yılında Kars ili Digor ilçesi'nde Digor İlçe Hastanesine atanarak acil serviste hemşire olarak çalışmaya başladım ve halen görevime devam etmekteyim. 2013-2015 Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açtığı Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladım.