

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE KARBON TETRAKLORÜR İLE KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULMASI ÜZERİNE VİTAMİN E VE N-ASETİLSİSTEİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Ümit Şenol GÖKSU
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Dinç EŞSİZ

2012-KARS

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

**FARELERDE KARBON TETRAKLORÜR İLE KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULMASI ÜZERİNE VİTAMİN E VE N-ASETİLSİSTEİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ecz. Ümit Şenol GÖKSU
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Dinç EŞSİZ**

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından
desteklenmiştir. Proje No: 2011-VF-29**

2012-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Ümit Şenol GÖKSU**'nun Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "**Farelerde Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulması Üzerine Vitamin E ve N-Asetilsisteinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması**" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy...*b.c.k.g.*.....ile kabul edilmiştir.

20.10/2012

	Adı Soyadı	İmza
Başkan:	Doç. Dr. Dinç EŞSİZ	<i>[Signature]</i>
Üye :	Yard. Doç. Dr. Turgay DEPREM	<i>[Signature]</i>
Üye :	Yard. Doç. Dr. Murat BAYEZİT	<i>[Signature]</i>

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun *02.10/2012* tarih ve ...*90*.../...*173*... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

[Signature]
Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL
Sağlık Bilimleri
Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
RESİMLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
TEŞEKKÜR	VII
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Genel Bilgiler	4
2. MATERYAL ve METOT	14
2.1. Materyal	14
2.1.1. Deney Hayvanları	14
2.1.2. Kullanılan Kitler	14
2.1.3. Kullanılan Alet ve Gereçler	14
2.1.4. Kullanılan Kimyasallar	15
2.2. Metot	16
2.2.1. Deney Planı	16
2.2.2. Histopatolojik İncelemeler	17
2.2.3. Biyokimyasal İncelemeler	18

2.2.3.1. Total Bilurubin Miktarının Belirlenmesi	18
2.2.3.2. AST Aktivitesinin Belirlenmesi	19
2.2.3.3. ALT Aktivitesinin Belirlenmesi	20
2.2.3.4. Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi	21
2.2.3.5. Total Oksidan Seviyelerinin (TOS) Belirlenmesi	22
2.2.4. İstatistiksel Analizler	23
3. BULGULAR	24
3.1. Histopatolojik Bulgular	24
3.2. Biyokimyasal Bulgular	29
4. TARTIŞMA	38
5. SONUÇ	43
6. ÖZET	44
7. SUMMARY	46
8. KAYNAKLAR	48
9. ÖZGEÇMİŞ	59

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- ¹O₂** : Singlet (tekil) Oksijeni
ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6 sulphonic acid)
ALT : Alanin Aminotransferaz Enzimi
AST : Aspartat Aminotransferaz Enzimi
CAT : Katalaz Enzim
CCl₃ : Triklorometil
CCl₃O₂: Triklormetilperoksi Radikali
CCl₄ : Karbon Tetraklorür
GR : Glutasyon Redüktaz
GSH : Glutasyon
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂ : Hidrojen Peroksit
HE : Hematoksilen-Eosin
MDA : Malondialdehit
NAPQI: N-Asetil-p-benzokinonelmin
NAS : N-Asetilsistein
NO[·] : Nitrik oksit
NOS : Nitrik Oksit Sentetaz
O₂⁻ : Süperoksit Anyon Radikali
OD : Optik Dansite
OH[·] : Hidroksil Radikali
ROO^{*} : Peroksil Radikali
SOD : Süperoksit Dismutaz
SSSS : Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu
TAK : Total Antioksidan Kapasite
TBP : Tokoferol Bağlayıcı Protein
TOS : Total Oksidan Seviye
Vit E : E Vitamini

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1: Karbon tetraklorür'ün genel yapısı	6
Şekil 1.2: E vitamini'nin genel yapısı	8
Şekil 1.3: N-Asetilsistein'nin genel yapısı	13
Şekil 3.1: Deney gruplarında yapılan Total Bilurubin (mg/dl) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	31
Şekil 3.2: Deney gruplarında yapılan AST (U/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	32
Şekil 3.3: Deney gruplarında yapılan ALT (U/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	33
Şekil 3.4: Deney gruplarında yapılan plazma TAK (mmol/L Trolox equivalent/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	34
Şekil 3.5: Deney gruplarında yapılan plazma TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	35
Şekil 3.6: Deney gruplarında yapılan karaciğer dokusu TAK ($\mu\text{mol Trolox equivalent/g doku}$) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	36
Şekil 3.7: Deney gruplarında yapılan karaciğer dokusu TOS ($\text{nmol H}_2\text{O}_2$ equivalent/g doku) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	37

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1.1: Karaciğer'in Genel Görünüşü	4
Resim 3.1: Normal karaciğer, hepatositler ve vena sentralisler (oklar). (H.E. x10). (Grup I).	26
Resim 3.2: Normal karaciğer, hepatositler ve vena sentralis (ok). (H.E. x20). (Grup VII).	26
Resim 3.3: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz (oklar). (H.E. x4). (Grup II).	27
Resim 3.4: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz. Nekrotik hepatositlerin sitoplazmaları normal hepatositlere göre daha eozinofilik. Çekirdeklerde piknozis (kısa ok) ve karyoreksis (uzun ok) (H.E. x4). (Grup IV).	27
Resim 3.5: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz. Periasiner merkezli nekrozların birleşerek portal aralık (Glisson üçgeni) (ok) etrafında bir kuşak oluşturmaları. (H.E. x4). (Grup VI).	28
Resim 3.6: İlaç uygulaması sonucu vena sentralis (uzun ok) etrafında gelişen masif nekroz. Sağlam kalan hepatosit adacığı (kısa ok). (H.E. x10). (Grup VIII).	28

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1: Araştırmada kullanılan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.	16
Tablo 2.2: Total Bilurubin Ölçüm Analizi	19
Tablo 2.3: Total Antioksidan Kapasite (TAK) aktivite analizi	21
Tablo 2.4: Total Oksidan Seviye (TOS) aktivite analizi	22
Tablo 3.1: CCl ₄ ve CCl ₄ 'e toksikasyonuna karşı koruyucu olarak kullanılan Vit E ve N-asetilsistein uygulanan farelerde meydana gelen hepatosellüler nekrozun semi-kantitatif analizi (Mean±SE).	25
Tablo 3.2: Serum total bilirubin, AST, ALT, TAK ve TOS seviyeleri ile karaciğer dokusu TAK ve TOS seviyeleri analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.	30

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca bana her türlü desteğini esirgemeyen baőta danışman hocam sayın Doç. Dr.Din EŞSİZ olmak üzere Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı ğretim yeleri sayın Prof.Dr. Abdullah DOğAN'a, sayın Doç.Dr. Asım KART'a; sayın Yrd.Doç.Dr. Murat BAYEZİT'e; sayın Yrd.Doç.Dr. Oktay ÖZKAN'a, sayın Yrd.Doç.Dr. Ayőe KANICI'ya, sayın Dr. Dinçer ERDAğ'a, sayın Arő. Gör. Dr. Pınar AKSU'ya, Biyokimya Anabilim Dalı ğretim yesi sayın Doç. Dr. Onur ATAKİŐİ ve çalışma arkadaőlarına, Ondokuzmayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı ğretim yesi Doç. Dr. Mahmut SÖZMEN'e teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalıőmam süresince yanımda olarak her türlü desteği sağlayan eőim Arzu GÖKSU'ya ve aileme teşekkür ederim.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Günümüzde, birçok sayıda biyolojik hasarın ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli bir rolünün olduğu düşünülmektedir (Halliwell, 1987; Köşkeroglu, 1998). Serbest radikaller organizmada normal olarak çeşitli metabolik yollarla oluşabildiği gibi, bazı dış etkenlerin etkisi ile de oluşabilmektedir. Bu dış etkenlerden birisi de karbon tetraklorürdür (CCl₄).

CCl₄, renksiz, berrak ve uçucu bir sıvıdır (ATSDR, 2005). Endüstriyel bir çözücü olarak özellikle kuru temizleme sanayii olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahiptir (Ozturk, 2003; Tirkey, 2005). CCl₄'ün düşük dozu karaciğer hücrelerinde yağ dejenerasyonuna yol açarken, yüksek dozunun karaciğer hücrelerinde nekroz oluşturduğu bildirilmektedir (Sanlı, 1988).

DeneySEL olarak karaciğer fonksiyonlarında hasar oluşturmayı amaçlayan pek çok araştırmacı CCl₄'ü kullanmıştır (Fujiwara, 1988).

CCl₄, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan zararlı bileşiklerin artışına yol açmakla birlikte, bu bileşiklere karşı koruyucu etkiye sahip olan enzimlerinde azalmasına neden olmaktadır. CCl₄'ün bu etki mekanizması, sitokrom P450 (CYP) enzimi ile biyotransformasyonu sonucu daha toksik olan triklorometil ve triklorometil peroksit (CCl₃•/CCl₃O₂) veya N-asetil-p-benzokinonelinin (NAPQI) serbest radikallerine dönüşmesi ile ortaya çıkmaktadır (Edwards, 1993). Karaciğerde hepatonefrotoksisitenin özellikle sitokrom P450 2E1 enzim aktivitesiyle gerçekleştiği ileri sürülmektedir (Elsisi, 1993).

CCl₄ solunum, sindirim ve deri yoluyla vücuda girer ve emildikten sonra en çok yağ dokusunda birikir (Splettstoesser, 2002).

Serbest radikaller; biyokimyasal redoks tepkimeleri sonucu ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çok az bir süre için çiftlenmemiş bir elektron bulunduran atom ya da moleküllerdir. Süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH\cdot$), singlet (tekil) oksijeni (1O_2) ve nitrik oksit ($NO\cdot$) gibi radikal türlerini içermektedir. Bu radikal türleri çok reaktif olup, hücre yapılarıyla kolayca reaksiyona girme yeteneğindedirler. Bu radikal türleri ilk olarak vücutta savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılırlar. Eğer bu reaktif oksijen türleri, antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmazsa, lipid peroksidasyonuna bağlı olarak hücrelerde yapısal hasarlar ortaya çıkabilir. Antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ile glutatyon (GSH), vitamin A, C ve E gibi enzim olmayan antioksidanları kapsamaktadır (Kılınç, 1985).

E vitamini, uzun yıllardan beri güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle üzerinde en fazla çalışılan ve terapötik gücünden faydalanılan bir ajandır. E vitamini, antioksidan aktivitesi nedeniyle vücutta oluşan peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize eder, ayrıca lipidlerin parçalanma reaksiyonu zincirini engeller ve serbest radikallerin etkinliğini durdurur (Harrison, 2003; Kozampassi, 2003; El-Demerdash, 2004).

E vitamini, doymamış yağ asitleri ile yağ içeren diğer hücre ve organellerinin membranlarına yerleşerek oksidatif hasarı önlerler ve böylece hücre membranının geçirgenliğini arttırırlar (Comporti, 1985; Sokol, 1989; Kayaalp, 2002; Jordao, 2004; Frank, 2005).

Antioksidan özelliğe sahip maddeler arasında yer alan diğer önemli ajanlardan biriside N-Asetilsisteindir. N-Asetilsistein, mukolitik bir etkiye sahip olmakla birlikte antioksidan etkili bir maddedir (Stewart, 1997).

N-Asetilsistein vücutta glutatyon oluşumunu uyaran etkin metabolitlerine dönüşür ve bu şekilde akciğer ile karaciğerde glutatyonun öncül maddesini oluşturarak glutatyon sentezini başlatır. N-Asetilsistein ve glutatyon özellikle

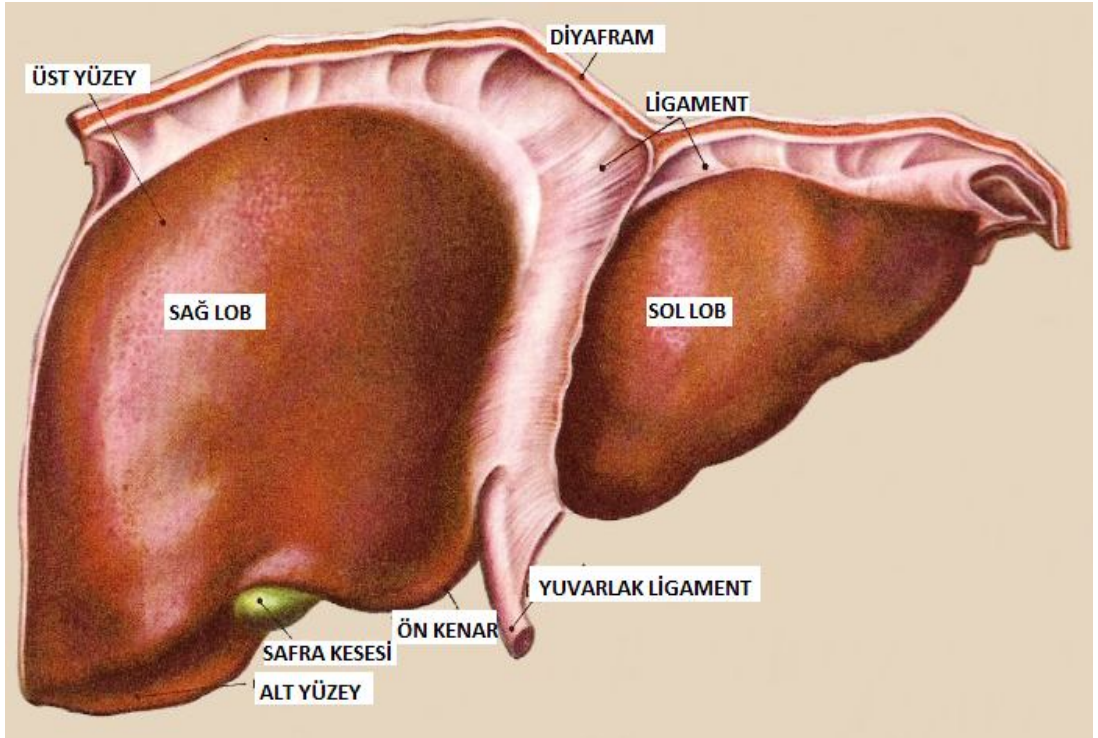
akciğerde bazı enfeksiyon durumlarında, sigara dumanı ve diğer zararlı maddelerin solunmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini en aza indirerek hücreler üzerinde koruyucu bir etki gösterir (Meyer, 1995; Aydoğdu, 2005).

Bu çalışmada, CCl₄'e bağlı olarak oluşan karaciğer hasarına karşı E vitamini ve N-Asetilsisteinin koruyucu etkisi araştırılarak, elde edilen sonuçların deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

1.2. Genel Bilgiler

Karaciğer, deriden sonra vücudun en büyük organı ve aynı zamanda en büyük bezi olup, yaklaşık olarak 1,5 kg ağırlığındadır. Vücutta diyaframın altında abdominal boşlukta bulunur. Sağ ve sol lob olmak üzere anatomik olarak iki ayrı loba ayrılmıştır. Karaciğer; hepatik arter ve portal venin sağ ve sol kolları tarafından beslenmektedir. Hepatik arter oksijen bakımından zengin olan kanı karaciğere taşırken, portal ven sindirim sisteminin kapiller yatağından besin maddeleri bakımından zengin kanı karaciğere taşır. Karaciğer hücreleri 20-30 mikron çapındaki hepatositlerdir (Aslan, 2005; Aytekin, 2006).

Karaciğer, yaşam için gerekli olan çok sayıda fonksiyona sahiptir. Aminoasitler, karbonhidratlar, lipitler, vitaminler ve mineraller gibi birçok makromolekülü alır, işler ve depolar. Ayrıca, karaciğer ilaçlar ve toksinler gibi birçok eksojen kaynaklı bileşiklerin detoksifikasyonunda da görev alır (Aslan, 2005).



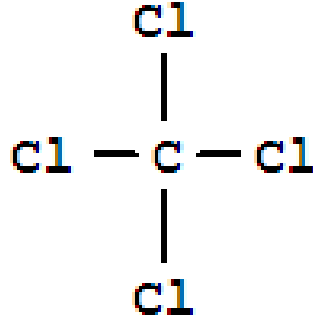
Resim 1.1: Karaciğer'in Genel Görünüşü (Aslan, 2005).

Besinlerle birlikte vücuda değişik yollarla alınan doğal bileşikler dışında ki maddeler ksenobiyotikler olarak adlandırılmaktadır. İlaçlar, besin katkı maddeleri, hava ve su kirleticileri, tarım ve endüstriyel kaynaklı kimyasallar gibi çok sayıda maddeler ksenobiyotikler arasında yer almaktadır. Vücuda giren ksenobiyotikler değişmeden vücuttan atılabildikleri gibi kendiliğinden ya da bazı enzimler aracılığıyla da metabolize edilerek atılmaktadırlar. Ksenobiyotiklerin bazı enzimler vasıtasıyla vücutta uğradıkları değişikliklere biyotransformasyon adı verilmektedir. Biyotransformasyon esnasında bazı ksenobiyotikler etkisiz bileşikler haline dönüşürken, bazıları biyolojik olarak daha etkili toksik bileşiklere dönüşmektedir. Biyotransformasyon karaciğerde başlıca mikrozomal enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir (Gürdol, 2006).

Karaciğer; anatomik olarak vücuttaki konumu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü gibi nedenlerden dolayı çok sayıda toksik madde ve ilaçlara sıkça maruz kalmaktadır. Karaciğerde hasar oluşturan ve aynı zamanda çeşitli patolojik değişikliklere neden olan 600'den fazla madde bulunmaktadır. Bunlardan birisi de karbon tetraklorür (CCl_4) 'dür (Zimmerman, 1978; Robbins 2000) . Karbon tetraklorür deneysel olarak karaciğer hasarının oluşturulmasında çok yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir (Recknagel, 1967; Slater, 1982). Karaciğerdeki bu hasarın oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan serbest radikaller tarafından meydana geldiği bilinmektedir (Sherlock, 1987; Foulis, 1988).

CCl_4 'e bağlı karaciğer hasarında lipit peroksidasyonu oldukça önemli bir yer tutmaktadır (Marta Gassó, 1996; Nadkarni, 1998). Çünkü bu hasara bağlı olarak karaciğer fibrozisi ve siroz ortaya çıkabilir. Karaciğer fibrozisi; ekstrasellüler matriks komponentlerinin artmasına bağlı olarak gelişmektedir. Ekstrasellüler matriksin yapımı ve yıkımı arasındaki denge ortaya çıkan oksijen radikalleri ile potent profibrojenik mediyatörlerinde aktivite göstermesine bağlı olarak bozulmaktadır. Yapılan çok sayıda çalışma karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ve fibrozisin olduğunu göstermiştir (Shimizu, 2001; Shimizu, 2003; Liebert, 2005).

Karbon tetraklorür (CCl_4) renksiz, berrak ve uçucu özelliğe sahip sıvı bir maddedir (ATSDR, 2005). CCl_4 , stabilitesi oldukça güçlü olan bir madde olup, yaklaşık olarak 50 yıla yakın bir yarılanma ömrüne sahiptir (Carbon tetrachloride toxicity, 1995). Endüstriyel alanlarda yağ, vernik ve parafin gibi maddelerin çözdürülmesi ile yangın söndürmede kullanılan maddelerin ve böcek ilaçlarının yapısına katılmaktadır. Kullanım alanları dikkate alındığında, CCl_4 'ün kullanıldığı veya üretildiği tesislerde çalışan işçiler ve tesis çevresinde yaşayan insanlar ile kuru temizleme sektöründe çalışan ve böcek ilaçlaması yapan kişilerin CCl_4 'e maruz kalma riski oldukça yüksektir (Farrell, 1998).



Şekil 1.1: Karbon tetraklorür'ün genel yapısı (Anon 1, 2012)

CCl_4 oral olarak, solunum ve deri yoluyla vücuda girer. En hızlı emilim oral yolla olur. Vücutta en çok yağ dokusunda birikir. Vücutta biriken CCl_4 'ün % 4'ü akciğere ulaşır ve solunum yoluyla dışarı atılır. Vücutta protein ve hücre içi moleküllerle etkileşimi sonucu meydana gelen ürünler ise idrar ve dışkı yoluyla atılır (Carbon tetrachloride toxicity, 1995).

Oral olarak vücuda alınan CCl_4 ile meydana gelen zehirlenmelerde ortaya çıkan ilk belirtiler; baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, görme bulanıklığı, uyuma hali ve bilinç kaybıdır. CCl_4 'ün emilimden birkaç gün sonra karaciğerde yağlanma ve bunu takiben karaciğer hasarı oluşur. Karaciğer hücrelerinde meydana gelen nekroz sonucu aspartat aminotransferaz (AST) ve aldolaz enzim düzeylerinde artış gözlenir. Protrombin oluşum süresi uzar (Mayer, 1997).

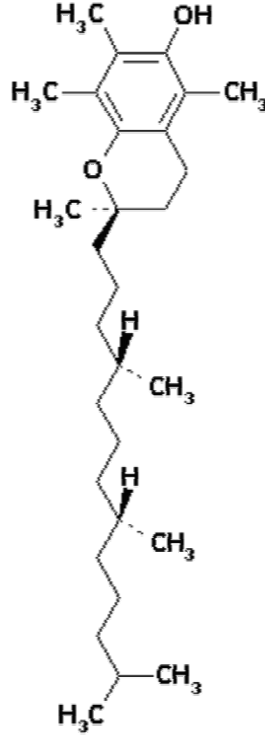
Uzun süreli maruz kalınması durumunda ve düşük miktarlarda (45-100 ppm) CCl_4 solunması; huzursuzluğa, aşırı hareketliliğe ve bağırsaklarda düzensiz kasılmalara neden olur. CCl_4 'e maruz kalma süresi birkaç haftayı geçtiğinde ciltte kuruma ile kabarık kırmızı lekeler, tırnaklarda kırılma ve kuruma meydana gelir. Solunmadığı sürece semptomlar azalır (Mayer, 1997).

CCl_4 ilk olarak karaciğerde sitokrom P-450 enzimi aracılığıyla triklorometil (CCl_3) serbest radikale dönüşür (Halliwell, 1984; Södergen, 2000). Oluşan CCl_3 ise oksijenle birleşerek CCl_3O_2 (triklorometilperoksi) radikalini meydana getirir. Bu radikaller hücre membranında bulunan yağ asitleriyle reaksiyona girerek, lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Ayrıca, lipid ve proteinlere bağlanarak hücre membranını bozarlar. Buda karaciğerde hasara yol açar (Sheweita, 2001; Kumar, 2005). Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen lipid dekompozisyonuna bağlı olarak endoplazmik retikulumun yapısı bozulur. Lipoprotein üretimi durduğu için hücre içi lipid yoğunluğu artmaya başlar. Plazma geçirgenliğinin artması, hücrelerin şişerek ölümüne neden olur (Kumar, 2005). Hepatik hasarı, hücre içi enzimlerin hızlıca kan dolaşımına girmesi ve perisantral nekroz oluşumu takip eder (Muriel, 2001).

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri çeşitli yollarla toksisite oluşturmakta ve buna bağlı olarak hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Antioksidanlar ise serbest radikallerin bu zararlı etkilerini inhibe etmektedirler. Antioksidanlar; serbest radikalleri bağlayıp kararlı hale dönüştürerek, zincir kırıcı etkisiyle serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak veya hızını azaltarak, onarıcı etkileri nedeniyle lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşan biyolojik hasarları önleyerek, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etki gösterirler (Aslan, 1998; MacDonald-Wicks, 2003; El-Demerdash, 2004).

E vitamini, önemli ölçüde antioksidan özelliğe sahip olup yağda çözünerek, ince bağırsaktan emilir ve kan yoluyla karaciğere iletilir (MacDonald-Wicks, 2003; Jordao, 2004; Frank, 2005). Yağda çözünebilir en önemli zincir kırıcı

antioksidandır. Hücre sinyali ve gen ekspresyonunda da rol alır. Çalışmalar göstermektedir ki kanda E vitamini seviyesinin yüksek olması kalp rahatsızlıkları ve kanser gibi hastalıkların riskini önemli ölçüde azaltmaktadır (Kayaalp, 2002; Frank, 2005).



Şekil 1.2: E vitamini'nin genel yapısı (Anon 2, 2012)

Cilt yaşlanmasına ve ışığın deri üzerindeki yıpratıcı etkisine karşı daha güçlü bir korunma oluşturmada E vitamini ve kombinasyonları önemli bir role sahiptir (Evelson, 1997; Thiele, 1997). Güneş ışınları ve diğer ışık kaynakları ile ozon tabakasının bu tip sakıncalı etkilerine karşı E vitamini önemli bir antioksidan madde olarak kabul edilmeye başlanmıştır (Steiner, 1993). Deri yanıkları ve operasyon yaraları dahil çeşitli tipteki yaralanmalarda E vitamininin iyileşme sürecine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Wen, 1997). Alfa-tokoferollerin deri (Morreale, 1997), mide, mesane, kolon, karaciğer (He, 1997), akciğer (Money, 1997), meme ve prostat kanseri (Sigounas, 1997) gibi deneysel olarak oluşturulan veya spontan olarak meydana gelen tümörlerin gelişmesini geciktirici hatta iyileştirici bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan en aktif olanı α -tokoferoldür (Champe, 1997). α -tokoferol plazmadaki E vitamininin % 80-90'ını oluşturmaktadır ve dokudaki major E vitamini formudur. Bunun sebebi α -tokoferolün LDL içinde yeniden bağlanması tokoferol bağlayıcı protein (TBP) ve γ -tokoferolün karaciğerde daha çabuk yıkımlanmasıdır. Bu yüzden α -tokoferol üzerinde daha çok odaklanılmıştır ve E vitamininin suplemantasyonun major formudur. α -tokoferol kanda γ -tokoferol'den 4-10 kat fazladır (Jiang, 2002; Frank, 2005).

E vitamini doğada çok yaygın olarak bulunan bir vitamindir. Bitkisel yağlar E vitamini bakımından oldukça zengindir (Champe, 1997). Ayrıca hububat tanelerinin yağ fraksiyonları, pamuk yağı, soya yağı, mısır yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlar ile bunlardan elde edilen margarinlerde bol miktarlarda bulunmaktadır (Kayaalp, 2002). E vitamini bitkisel kaynaklardan başka karaciğer ve yumurta gibi hayvansal kaynaklarda da bulunur (Champe, 1997).

Günlük olarak canlılar tarafından tüketilen besin maddelerinin önemli bir kısmını oluşturan hububat türleri de E vitamini bakımından zengindir (Kayaalp, 2002). Günlük gereksinim vücut büyüklüğüne, kişinin fizyolojik durumuna, hatta beslenmede bulunan uzun zincirli yağların oranına göre değişmektedir (Kayaalp, 2002). E vitamini için günlük olarak tavsiye edilen miktar erkeklerde 10 mg, kadınlarda ise 8 mg'dır (Champe, 1997).

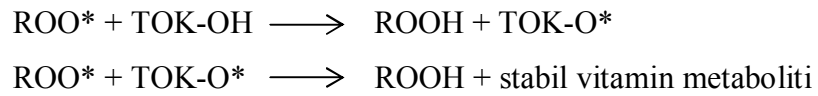
Çok yüksek dozda E vitamini alınımı kalp yetmezliği ve mortaliteyi önemli ölçüde arttırmaktadır. E vitamini eksikliği ise eritrosit ömrünün azalmasına, hemolitik anemi, yaygın ödem oluşumu ve üst solunum yolunda kanser oluşumuna neden olmaktadır (Kayaalp, 2002; Frank, 2005).

Hipertansiyon ve kardiyovasküler rahatsızlıklar antioksidanlar bakımından yetersiz beslenme ile ilişkilendirmekte ve özellikle E vitamininin eksikliği üzerinde durulmaktadır (Galley, 1997; Karlsson, 1997).

E vitamininin antioksidan etkisi peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesine bağlıdır Harrison, 2003; (Kozampassi, 2003; El-Demerdash, 2004). Yani oksijeni bağlayarak, oksijenin etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerde doymamış yağ asitleri (lineoleik asit ve araşinodik asit gibi) kendiliğinden ya da oksidan metabolitlerinin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipit peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (Kayaalp, 2002; Frank, 2005). Serbest oksijen radikallerinin oluşmasına yol açan bu olay zinciri sonrasında hücre membranında meydana gelen lipit peroksidasyonunu önleyen ve ortaya çıkan serbest radikalleri nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamindir. Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutation, peroksidaz ve beta karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir.

Bütün hücre membranlarının lipitleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. Alfa-tokoferol bu yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikallerin bu etkisini önler. E vitamini, hücre ve organellerin membran lipitleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Bu şekilde membran stabilitesini sağlar (Sokol, 1989; Kayaalp, 2002).

E vitamini lipit peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendisine ait bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO*) transfer etmek suretiyle aşağıdaki gibi iki basamakta bu olay zincirini gerçekleştirir (Kayaalp, 2002).



E vitamininin bir diğer işlevi de A vitaminin bağırsaklardan emilimini ve dokulardaki düzeyini arttırmasıdır. Bu durum büyük bir olasılıkla, A vitaminin oksidasyonla kaybının azalmasına bağlıdır (Kayaalp, 2002).

N-Asetilsistein'in glutatyonun öncül maddesi olarak bilinmesi, bu maddenin serbest radikal süpürücü etkisinden faydalanma fikrini doğurmuştur. İlk kez 1963 yılında Sheffner, mukolitik tedavi amacıyla sistein'in farklı türevlerini klinik

çalışmalarda kullanmıştır. L-sistein'in sodyum tuzu olan N-Asetilsistein'in doğal sistein'den daha az irritatif olması ve daha az toksik olmasının yanında daha fazla sülfidril grubu içermesi N-Asetilsistein'in klinik uygulamalarda daha etkili olacağı fikrini ortaya çıkarmıştır.

N-Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-Sistein'in N-Asetillenmiş turevi olup mukolitik olarak kullanılan antioksidan bir ajandır (Yu, 1994; Stewart, 1997). Yapısında bulunan sülfidril grubu ile glikoprotein içerisindeki disülfit bağlarını koparma özelliğinden dolayı mukoid ve mukopürülan sekresyonlar üzerine mukolitik etki göstermektedir. Solunum yollarında biriken yoğun balgamın yapışkanlığını azaltarak balgamı su gibi akıcı bir kıvama getirir. Balgamın çözünmesine yardımcı olur. Bronşiyal sekresyonların atılımına ve solunumu kolaylaştırarak akciğer fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur (Goodman&Gilmous; Ziment, 1988).

Sistein yüksek protein içeriği olan yiyeceklerde bulunurken, NAS (N-Asetilsistein) besinlerde bulunmaz. NAS son dönemlerde bir cilt desteği olarak da adını duyurmaya başlamıştır. Ayrıca NAS'ın kendisi de çok güçlü bir antioksidandır. Hücrelerde güneş, sigara, alkol gibi çevresel faktörlerin yarattığı serbest radikallere bağlı hasarların iyileştirilmesinde önemli görev yapar (Van Zandwijk, 1995).

Sistein'in ürtiker (kurdeşen), nefes almada zorluk, mide bulantısı, kusma, hazımsızlık, ishal, ağız iç yüzeyinin iltihaplanması, ateş, baş dönmesi, kulak çınlaması, burun akıntısı gibi yan etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Doz aşımında da mide bulantısı ve kusma vakaları ortaya çıkar (Ziment, 1988).

NAS, karaciğerde intrasellüler glutatyon S-transferaz aktivitesini arttırarak ve doğrudan hareket etkileriyle serbest oksijen radikallerini, hidroksil radikallerini ve hipoklorik asiti, esas indirgeyicisi olarak temizleyerek hepatositlerin reaktif oksijen molekülleri üretimini baskılar ve karaciğeri oksidatif strese karşı korur. Bu aktiviteler NAS'ın; antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojenik ve antimutajenik etkilerinin bir göstergesidir. Antioksidan etkisinin glutatyon sentezini stimüle etme özelliğinden kaynaklandığına inanılmaktadır. Buda hepatositlerde reaktif oksijen molekülleri

üretimini baskılayarak, karaciğeri oksidatif strese karşı korurlar ve değişik seviyelerdeki oksidatif stresi toksik bir etki yapmadan azaltırlar (Moldeus, 1994; Meyer, 1995; Nakano, 1996; Gurer, 1998; Vendemiale, 2001; Duran, 2004; Aydoğdu, 2005). Yine NAS, nitrik oksit'i stabilize ederek serbest radikaller tarafından oluşturulan doku hasarına karşı koruyucu etki de gösterir (Moldeus, 1986; Stamler, 1989).

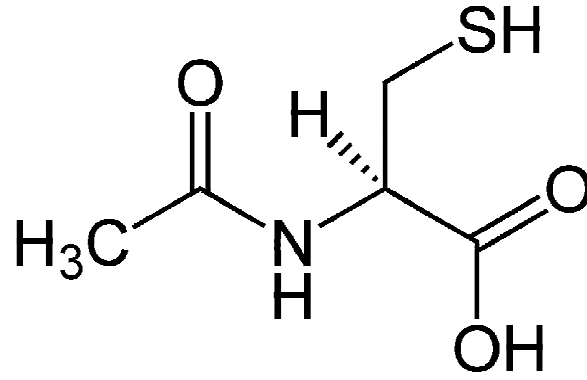
NAS'ın faydalı etkilerinin diğer nedenleri arasında, sitokin üretiminin düzenlenmesi ve karaciğer kan akımının artırılması sayılabilir (Jones, 1998).

NAS'ın antiinflamatuvar özelliği, sitokinlerin salınımını baskılayarak adezyon moleküllerinin serbest kalmasından ve nükleer faktör kappa B'yi inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Köksel, 2004).

NAS, parasatamol, mantar, CCl₄, karbonmonoksit ve kloroform zehirlenmelerinde antidot olarak da kullanılmaktadır (Tran, 2001; Dargan, 2003; Özbek, 2005).

N-Asetilsistein, asetaminofenin doz aşımına bağlı olarak oluşan hepatotoksisitede karaciğerde glutatyon seviyesini koruyarak ya da glutatyon seviyesini arttırarak etkisini gösterir. Glutatyon, hepatotoksik olduğu bilinen asetaminofenin ara metabolitini inaktif hale dönüştürür. Doz aşımı sonucu primer metabolik yolu (glukoronit ve sülfat konjugasyon) satüre olduğu için bu ara metabolit düzeyinde artış meydana gelmektedir. Asetil sistein etkisini bu ara metaboliti ana madde haline dönüştürerek ya da metabolitin konjügasyonu için sülfidril vererek gösterebilir. Deneysel çalışmalar N-Asetilsisteinin ve sülfidril içeren diğer droglarının kullanılmasının bu ara metabolitin inaktivasyonu üzerine direkt etkisinin olduğunu göstermiştir (Goodman&Gilmous; Vale, 1995).

N-Asetilsistein tedavi edici olarak; endotel disfonksiyonunun, inflamasyonun, fibrozisin ve kıkırdak erezyonunun azaltılması ile transplantasyon sürelerinin uzatılması amacıyla da kullanılmaktadır (Zafarullah, 2003).



Şekil 1.3: N-Asetilsistein'in genel yapısı (Anon 3, 2012)

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Araştırmanın deneysel kısmı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Hayvanları Ünitesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı, Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

2.1.1. Deneysel Hayvanları

Araştırmada Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneysel Yere Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Çalışmada 30 ± 2 gr ağırlığında 4 aylık, 63 adet Swiss albino erkek fare kullanıldı. fareler her grupta 7 hayvan bulunacak şekilde 9 gruba ayrıldı. Deneysel hayvanları 21 ± 2 °C sıcaklıkta standart fare kafeslerinde barındırıldı. Deneysel süresince farelere su ve fare yemi ad libitum verildi.

2.1.2. Kullanılan Kitler

ALT Kiti (TML TR90125, 2012)

AST Kiti (TML TR90141, 2012)

Total Bilurubin Kiti (TML TR90171, 2012)

Total Oksidan Kapasite Kit (REL ASSAY, 2012)

Total Antioksidan Kapasite Kit (REL ASSAY, 2012)

2.1.3. Kullanılan Alet ve Gereçler

Otomatik pipetler (SOCOREX, 10-100 µl ve 100-1000 µl)

Distile su cihazı (NÜVE, NS 104)

Spektrofotometre (SHIMADZU, UV-1201).

Hassas terazi (SHIMADZU, AUX 220)

Vorteks (IKA, MS 3 basic)
Manyetik karıştırıcı ısıtmalı (JEIO TECH, TM-14S)
Işık mikroskobu (Olympus, BX51)
Santrifüj cihazı (Hettich, MIKRO 120)
Homojenizatör (BioSpec Tissue-Tearor 9853G-07)
Soğutmalı santrifüj (NÜVE, NF 800)

2.1.4. Kullanılan Kimyasallar

Vitamin E (Evigen[®] ampul)
N-Asetilsistein (Asist[®] ampul)
CCl₄ (Sigma-Aldrich 319961-500ml)
0.1 M Fosfat Tamponu (pH: 7,4; 18,93g NaCl, 3,075g Na₂HPO₄.2H₂O, 2,075g NaH₂PO₄.2H₂O 250ml hazırlandı).

2.2. Metot

2.2.1. Deney Planı

Fareler her grupta 7 hayvan olmak üzere 9 ayrı gruba ayrıldı. Farelere fare pelet yemi ve su *ad libitum* olarak verildi. İlk gruba kontrol grubu olarak herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruptaki hayvanlara ise sadece zeytinyağında çözdürülen (1/3 v/v) karbontetraklorür diğer gruplarla aynı zamanda 7. gün tek doz 1 ml/kg intraperitoneal uygulandı. Üçüncü ve Dördüncü gruplara N-asetil sistein 100 mg/kg/gün periton içi yolla 7 gün verildi. Beşinci ve Altıncı gruplara Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla yolu ile 7 gün verildi. Yedinci ve sekizinci gruplara N-asetil sistein 100 mg/kg/gün periton içi yolla beraber Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla yolu ile kombine şekilde 7 gün verildi. Dördüncü, altıncı ve sekizinci gruplara son proanthocyanidin uygulamasından 1 saat sonra zeytin yağında çözdürülen (1/3 v/v) karbon tetraklorür tek doz 1 ml/kg intraperitoneal uygulandı (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Araştırmada kullanılan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.

Gruplar	Yapılan Uygulamalar
Grup I	Kontrol (Herhangi bir uygulama yapılmadı)
Grup II	CCl ₄ çalışmanın 7. gününde 1ml/kg c.a. tek doz CCl ₄ i.p.uygulandı.
Grup III	N-Asetilsistein 100 mg/kg/gün periton içi yol ile 7 gün uygulandı
Grup IV	N-Asetilsistein 100 mg/kg/gün periton içi yol ile 7 gün uygulandı ve son uygulamadan 1 saat sonra 1ml/kg c.a. tek doz CCl ₄ i.p. uygulandı.
Grup V	Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla 7 gün uygulandı
Grup VI	Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla 7 gün uygulandı ve son uygulamadan 1 saat sonra 1ml/kg c.a. tek doz CCl ₄ i.p. uygulandı.
Grup VII	N-Asetilsistein 100 mg/kg/gün damar içi yol ile ve Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla 7 gün uygulandı
Grup VIII	N-Asetilsistein 100 mg/kg/gün damar içi yol ile ve Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla 7 gün uygulandı ve son uygulamadan 1 saat sonra 1ml/kg c.a. tek doz CCl ₄ i.p. uygulandı.
Grup IX	Zeytinyağı çalışmanın 7. gününde 1ml/kg c.a. tek doz i.p.uygulandı.

Son uygulamadan 24 saat sonra farelere servikal dislokasyon yapıldıktan sonra heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazmalar biyokimyasal analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-30 °C'de) saklandı.

Alınan plazma örneklerinde, Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) aktiviteleri ile Total Antioksidan Kapasite (TAK), Total Oksidan Kapasite (TOK) ve Total bilirubin düzeyleri spektrofotometrik yöntemle belirlendi.

Kan alımından sonra hayvanların sistemik nekropsileri yapılarak karaciğer doku örnekleri alındı. Karaciğer doku örneklerinin bir kısmı %10'luk formol solüsyonunda tespit edildi ve geri kalan kısımları TAK ve TOK ölçümü için PBS ile yıkandıktan sonra cam tüplere (10 ml) alınarak analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-30 °C'de) saklandı.

Histopatolojik inceleme için alınan doku örneklerinden parafin blokları hazırlandı. Parafin bloklardan alınan kesitler HE ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi.

TAK ve TOK seviyelerini belirleme için alınan doku örnekleri PBS ile 5 kat sulandırılarak buz üzerinde 12.000 rpm'de 2 dakika süre ile homojenizatör (BioSpec Tissue-Tearor 9853G-07) kullanılarak homojenize edildi. Ardından homojenizatlar 15000 rpm'de +4 derecede 10 dk santrifüj edilerek süpernatantlar alındı. Bu süpernatantlardan doku TAK ve TOK düzeyleri spektrofotometrik yöntemle belirlendi.

2.2.2. Histopatolojik İncelemeler

Alınan karaciğer örnekleri %70'lik alkolde hazırlanan %10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerin ardından hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı ve Hematoksilen-Eosin (H.E.) ile boyanarak

ışık mikroskopunda (Olympus BX51; Olympus Optical Co., Osaka, Japonya) değerlendirildi. Gerekli görülen olgulardan mikroskopik resimler çekildi.

Karaciğer hasarının değerlendirilmesinde polimorf ve mononükleer yangı hücresi infiltrasyonu, bulanık şişkinlik ve hidropik dejenerasyon, vakuoler dejenerasyon, balonumsu dejenerasyonların şiddeti ve yaygınlığı dikkate alındı. Yine, deney gruplarında görülen karaciğer yüzey alanındaki hepatosellüler nekrozun yaygınlığı 0: normal; 1: minimal; 2: hafif; 3: orta; 4: belirgin; 5: şiddetli şeklinde semi-kantitatif olarak değerlendirildi (Tablo 3.1).

2.2.3. Biyokimyasal İncelemeler

Plazma örneklerinde Total bilirubin, AST ve ALT düzeyleri Total Bilurubin Assay Kit (TML TR90171), AST Assay Kit (TML TR90141) ve ALT Assay Kit (TML TR90125) kullanılarak ve bildirdikleri metoda göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plazma ve karaciğer dokusundaki antioksidan ve oksidan miktarı Total Antioxidant Status (TAS) Assay Kit ve Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (Erel, 2004).

2.2.3.1. Total Bilurubin Miktarının Belirlenmesi

Total bilirubin miktarının ölçümü TML marka Total Bilurubin TR90171 kiti kullanılarak üretici firma tarafından önerilen metoda göre spektrofotometre ile yapıldı (Tablo 2.2).

Reaktif 1:

Sulfanilik asit 28,9 mmol/L

Hidroklorik asit 165 mmol/L

Dimetilsülfoksit 7 mol/L

Reaktif 2:

Sodyum nitrit 43 mmol/L

Standart: BIEN-4050

Mikroplate içerisine aşağıdaki oranlarda maddeler konuldu ve 555 nm dalga boyunda Optik Dansiteleri (OD) spektrofotometrede ölçüldü.

Tablo 2.2: Total Bilurubin Ölçüm Analizi

	Örnek Körü	Örnek	Kalibratör Körü	Kalibratör
Rekatif 1	160 µl	160 µl	160 µl	160 µl
Örnek	20 µl	20 µl	-	-
Kalibratör	-	-	20 µl	20 µl
Karıştırıldıktan sonra 5 dk inkubasyon yapıldı ve birinci optik dansiteleri (OD1) ölçüldü.				
Kalibratör 2	-	40 µl	-	40 µl
Karıştırıldıktan sonra 5 dk inkubasyon yapıldı ve ikinci optik dansiteleri (OD2) ölçüldü.				

Total Bilurubin Sonuçların Hesaplanması;

Total Bilurubin (mg/dl) = [(OD2 Örnek) - (OD1 Örnek Körü)] / x [(OD2 Kalibratör) - (OD1 Kalibratör Körü)] x n
n: Kalibratör konsantrasyonu

2.2.3.2. AST Aktivitesinin Belirlenmesi

IFCC'nin önerdiği yöntemle göre AST'nin kinetik olarak tespiti spektrofotometre ile yapıldı (Expert Panel on enzyme of the IFCC, 1976).

Kullanılan Reaktifler

Reaktif 1:

Tris buffer (pH 7,8) 88 mmol/L

L-Aspartate 260 mmol/L

LDH ≥1500 U/L

MDH ≥900 U/L

Reaktif 2:

A-Ketoglutarate 12 mmol/L

NADH 0,24 mmol/L

AST ölçüm prosedürü: Dört hacim reaktif 1, bir hacim reaktif 2 ile karıştırıldı. Okuma işlemine geçilmeden önce distile su ile spektrofotometre sıfırlandı. Reaktif 1'den 1000 µl küvete kondu ve üzerine 100 µl örnek plazma eklendi ve karıştırıldı, 1 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra numuneler spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda 3 dk boyunca dakika başına değişen optik dansiteleri ölçüldü ($\Delta OD/dak.$).

Sonuçların Hesaplanması;

$$AST \text{ aktivitesi (U/L)} = (\Delta OD/dak.) \times 1746$$

2.2.3.3. ALT Aktivitesinin Belirlenmesi

IFCC'nin önerdiği yönteme göre AST'nin kinetik olarak tespiti spektrofotometre ile yapıldı (Expert Panel on enzyme of the IFCC, 1976).

Kullanılan Reaktifler

Reaktif 1:

Tris buffer (pH 7,8) 110 mmol/L

L-Alanine 600 mmol/L

LDH ≥ 1500 U/L

Reaktif 2:

A-Ketoglutarate 16 mmol/L

NADH 0,24 mmol/L

ALT ölçüm prosedürü: Reaktif 1'den 1000 µl küvete kondu üzerine 100 µl örnek plazma eklendi son olarak Reaktif 2'den 100 µl eklendi ve karıştırıldı, 1 dk inkübasyona bırakıldı. Okuma işlemine geçilmeden önce distile su ile spektrofotometre sıfırlandı. İnkübasyondan sonra numunelerin spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda 3 dk boyunca dakika başına değişen optik dansiteleri ölçüldü ($\Delta OD/dak.$).

Sonuçların Hesaplanması;

$$ALT \text{ aktivitesi (U/L)} = (\Delta OD/dak.) \times 1746$$

2.2.3.4. Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi

Erel (2004) tarafından bildirilen kolorimetrik yöntem ile spektrofotometrede ölçüldü (Tablo 2.3) (Erel, 2004).

Kit İçeriği;

Reaktif	1:	Test tamponu (50 ml)
Reaktif	2:	Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6 sulphonic acid)] radikal solüsyonu (10 ml)
Standart	1:	0.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu
Standart	2:	1.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu (10 ml).

Tablo 2.3: Total Antioksidan Kapasite (TAK) aktivite analizi

	Absorbans 1 (660 nm)	Absorbans 2 (660 nm)
Std1	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 1 Standart 1'in ilk absorbansı ölçüldü	Std1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, 2. Absorbans ölçüldü
Std 2	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı ölçüldü	Std 2 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, 2. Absorbans ölçüldü
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 30 µl örnek Örneğin ilk absorbansı ölçüldü	Ör 1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, 2. Absorbans ölçüldü

Sonuçların Hesaplanması;

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})]}{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]}$$

$$\Delta \text{ Standart 1'in absorbansı} = (\text{Std 1'in ikinci absorbansı} - \text{Std 1'in ilk absorbansı})$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin absorbansı} = (\text{Std 2'in ikinci absorbansı} - \text{Std 2'in ilk absorbansı})$$

$$\Delta \text{ Örneğin absorbansı} = (\text{Örneğin ikinci absorbansı} - \text{Örneğin ilk absorbansı})$$

2.2.3.5. Total Oksidan Kapasitelerinin (TOK) Belirlenmesi

Erel (2005) tarafından bildirilen kolorimetrik yöntem ile spektrofotometrede ölçüldü (Tablo 2.4.) (Erel, 2005).

Kit İçeriği;

Reaktif 1: Test tamponu (50 ml x1 ml)
 Reaktif 2: Prokromojen solüsyonu (10 ml x 1 ml)
 Standart 1: Kör solüsyonu (deiyonize su)
 Standart 2: Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H₂O₂Equiv./L, 10 ml x1 ml).

Standart solüsyon hazırlanması: Stok solüsyondan 50 µl alındı ve 10 ml deiyonize su ile vortexte karıştırıldı. Bu solüsyondan da 50 µl alındı ve 10 ml deiyonize su ile vortexte karıştırıldı. Bu şekilde standart iki stok solüsyonu 40 000 kat sulandırılmış oldu ve elde edilen çalışma solüsyonunun yoğunluğu 20 mikromolar H₂O₂ Equiv./L olarak elde edildi. Bu çalışma solüsyonu günlük olarak hazırlandı.

Tablo 2.4: Total Oksidan Kapasite (TOK) aktivite analizi

	Absorbans 1 (530 nm)	Absorbans 2 (530 nm)
Std 2	500 µl reaktif 1 + 75 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı ölçüldü	Std 2 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, 2. Absorbans ölçüldü
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 75 µl örnek Örneğin ilk absorbansı ölçüldü	Ör 1 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, 2. Absorbans ölçüldü

Sonuçların Hesaplanması;

$$T = [(\Delta\text{Abs Örnekte}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20 \text{ (Std 2 değeri)}$$

$$\Delta\text{Abs Örnekte} = \text{Örneğin ikinci absorbansı} - \text{örneğin ilk absorbansı}$$

$$\Delta\text{Abs Std2} = \text{Standart 2'nin ikinci absorbansı} - \text{standart 2'nin ilk absorbansı}$$

$$\text{Std 2 değeri} = 20 \text{ } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Equiv./L}$$

2.2.4. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmadan elde edilen veriler, ortalama değer \pm ortalama değerin standart hatası “Mean \pm SE” şeklinde verildi. Verilerin istatistiksel analizleri için SPSS istatistiksel analiz programı kullanıldı (Windows versiyon 10.0). Verilere tek yönlü varyans analiz yapıldı ve gruplar arasındaki istatistiksel fark Duncan testi ile tespit edildi. Yapılan istatistiksel analizler sonucu elde edilen P değerlerinin <0.05 olması durumunda fark önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Histopatolojik Bulgular

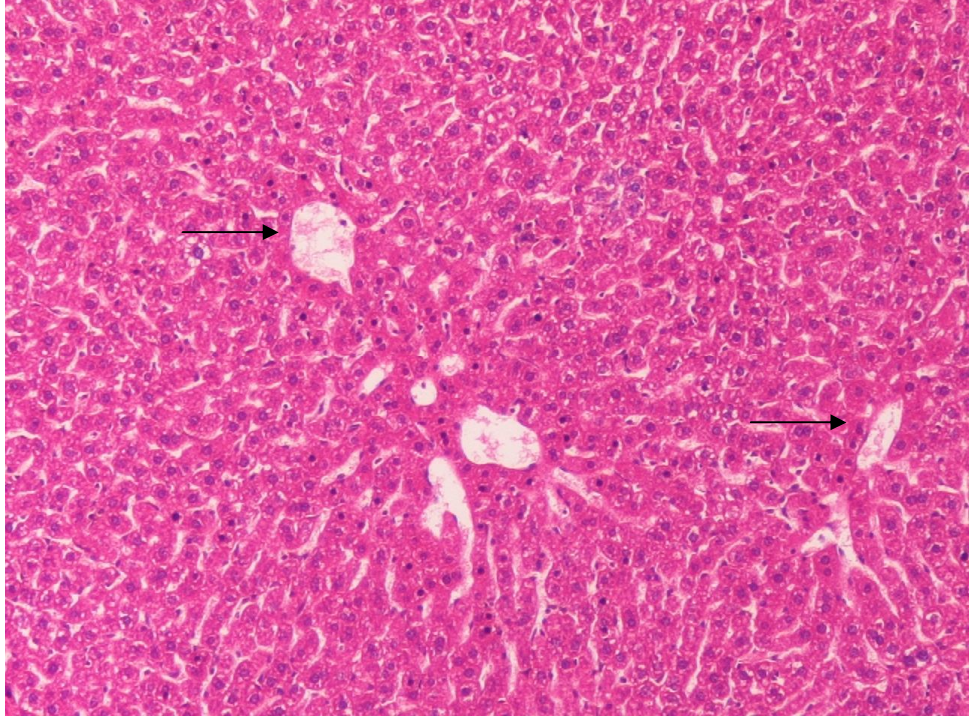
Bütün gruplardaki farelerden alınan karaciğer örneklerindeki karaciğer nekrozları semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Materyal ve metotta bildirilen kriterlere göre karaciğer hasarı derecelendirildi (Tablo 3.1).

Birinci Grupta (kontrol grubu) bulunan bütün fare karaciğerlerinin normal olduğu tespit edildi. Yine 3., 5., 7. ve 9.cu gruplardaki fare karaciğerlerinin normal oldukları görüldü (Resim 1, 2). Diğer yandan, Grup 2, 4, 6 ve 8'de bulunan farelerin karaciğerlerinde şiddetli ve yaygın karaciğer nekrozları tespit edildi (Resim 3, 4, 5, 6). Bu nekrozların yaygın koagülatif tipte ve genelde vena sentralislerin etrafında, periasiner (sentrilobüler, zon 3) yerleşimli oldukları dikkati çekti. Nekrotik bölgelerin dışında kalan hepatositlerde ise sınırlı ya da yaygın bulanık şişkinlik, vakuoler, hidropik nadiren de balonumsu tipte dejenerasyonun bulunduğu tespit edildi. Nekrotik bölgelerde heterofil lökositlerin bulunduğu, bazen de bunlara monosit infiltrasyonlarının eşlik ettiği görüldü. Bazı bölgelerde nekroz odaklarının genişleyerek diğer nekroz odakları ile birleştiği dikkati çekti (Resim 3, 5). Karaciğer parankiminde bulunan bazı nekrotik bölgelerde nadiren fibrotik reaksiyonun geliştiği görüldü. Bu fibrotik bölgelerde genelde mononükleer lökosit infiltrasyonlarının bulunduğu belirlendi. Bu yangısal infiltrasyonlara bazen de heterofil lökositlerin eşlik ettiği tespit edildi. Diğer yandan, kontrol grubu ve koruyucu madde uygulanan gruplarda bulunan fare karaciğerlerindeki karaciğer nekrozlarının bulunmadığı Grup 2, 4, 6, ve 8'de bulunan fare karaciğerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Yine, Grup IV, Grup VI ve Grup VIII'de tespit edilen karaciğer nekrozlarının Grup II'ye göre biraz daha azalmış olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

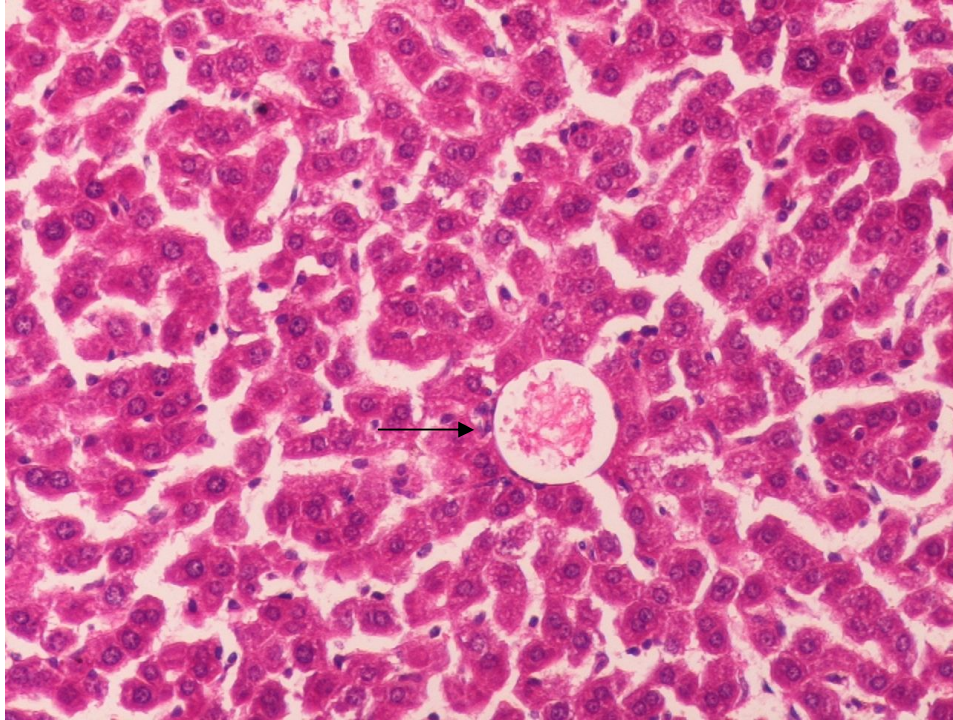
Tablo 3.1: CCl₄ ve CCl₄'e toksikasyonuna karşı koruyucu olarak kullanılan Vit E ve N-Asetilsistein uygulanan farelerde meydana gelen hepatosellüler nekrozun semikantitatif analizi (Mean±SE).

Gruplar (<i>n</i> =7?)	Karaciğer Nekrozu **
Grup I	0
Grup II	3,57*
Grup III	0
Grup IV	3,14*
Grup V	0
Grup VI	3,21*
Grup VII	0
Grup VIII	3,14*
Grup IX	0

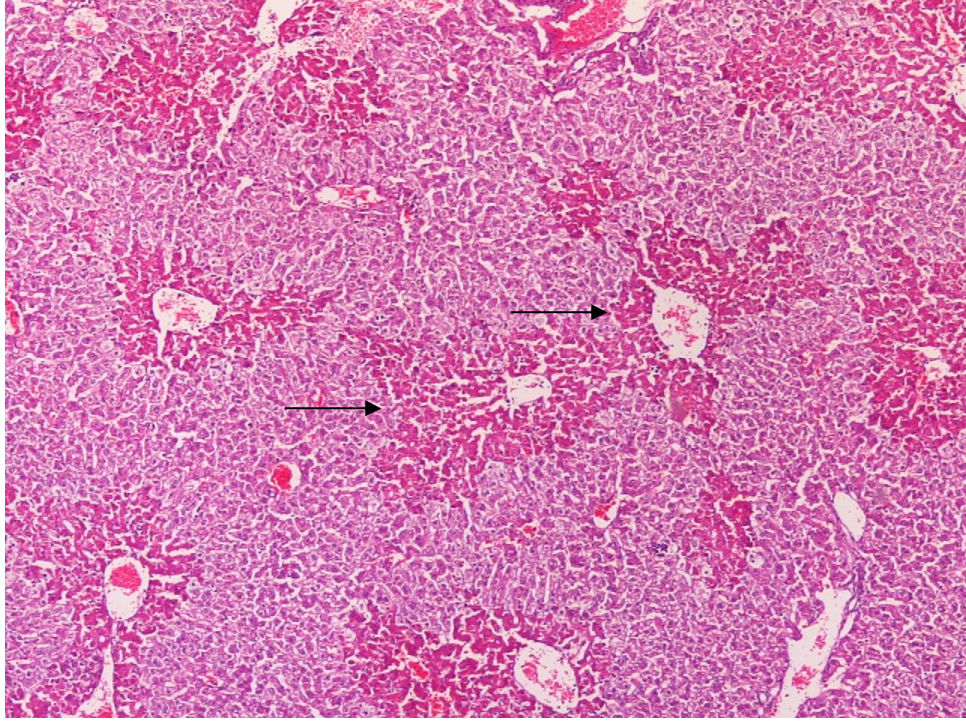
*Kontrol grubuna göre önemli ($P < 0.05$); ** 0: normal karaciğer; 1: minimal; 2: hafif; 3: orta; 4: belirgin; 5: şiddetli karaciğer nekrozu.



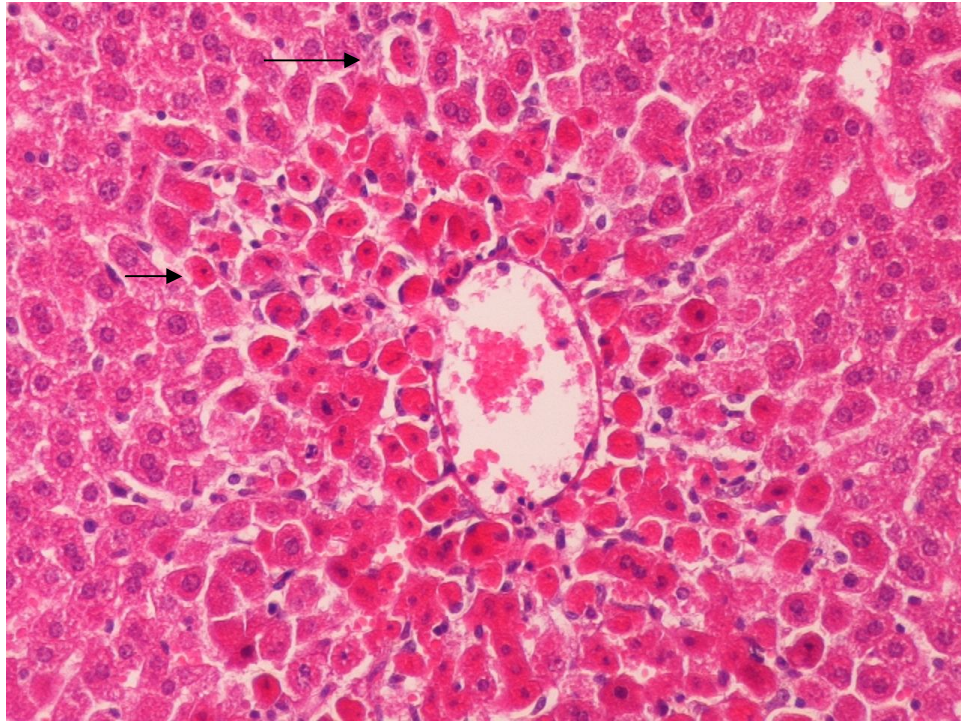
Resim 3.1: Normal karaciğer, hepatositler ve vena sentralisler (oklar). (H.E. x10). (Grup I).



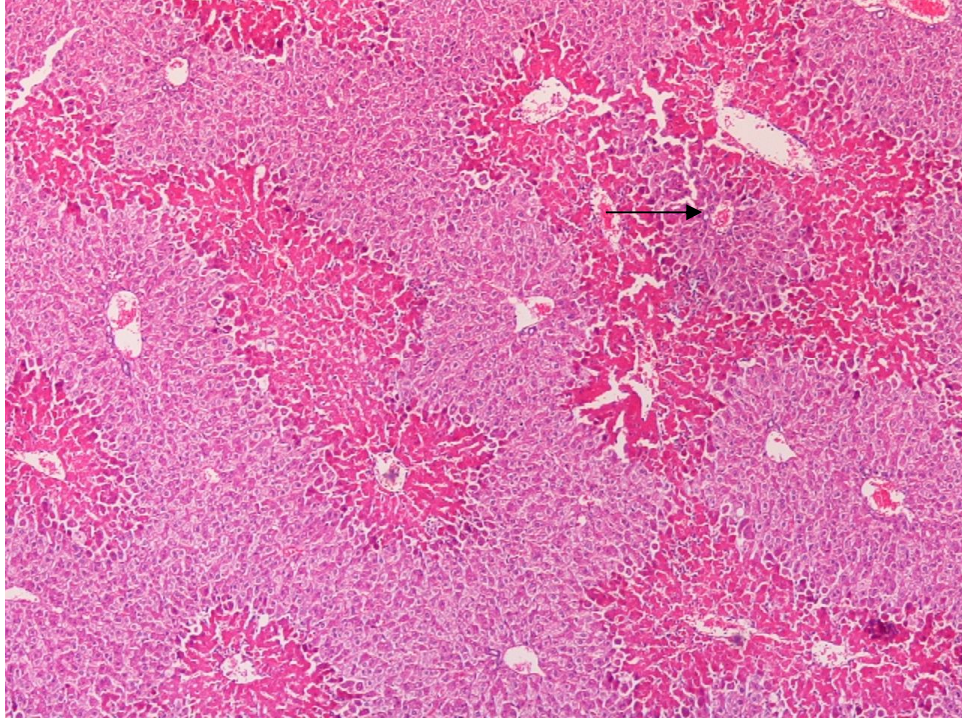
Resim 3.2. Normal karaciğer, hepatositler ve vena sentralis (ok). (H.E. x20). (Grup VII).



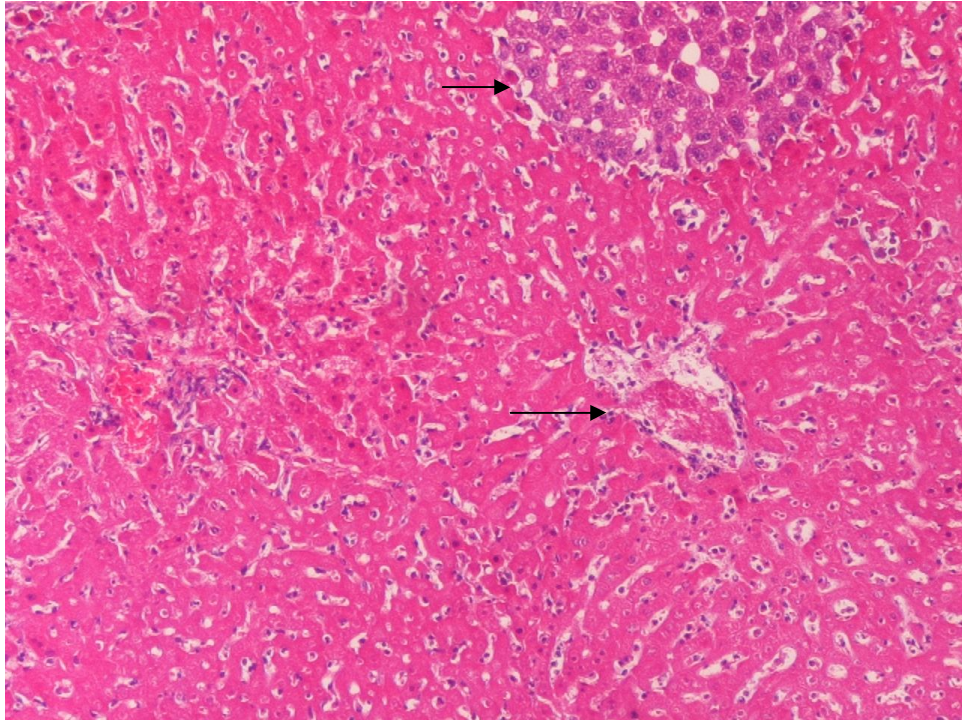
Resim 3.3: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz (oklar). (H.E. x4). (Grup II).



Resim 3.4: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz. Nekrotik hepatositlerin sitoplazmaları normal hepatositlere göre daha eozinofilik. Çekirdeklerde piknozis (kısa ok) ve karyoreksis (uzun ok) (H.E. x40). (Grup IV).



Resim 3.5: Vena sentralisler etrafında yaygın hepatosellüler nekroz. Periasiner merkezli nekrozların birleşerek portal aralık (Glisson üçgeni) (ok) etrafında bir kuşak oluşturmaları. (H.E. x4). (Grup VI).



Resim 3.6: İlaç uygulaması sonucu vena sentralis (uzun ok) etrafında gelişen masif nekroz. Sağlam kalan hepatosit adacığı (kısa ok). (H.E. x10). (Grup VIII).

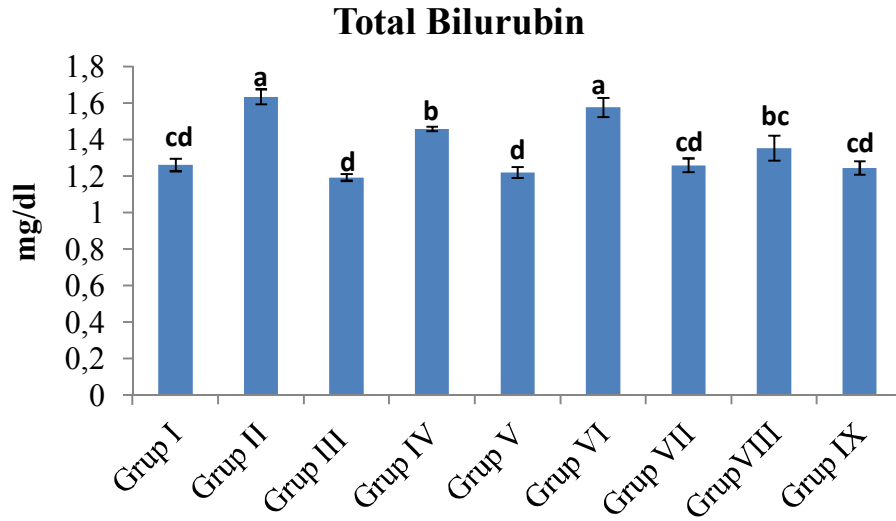
3.2. Biyokimyasal Bulgular

Biyokimyasal parametreler deney gruplarından alınan kan ve karaciğer dokusunda çalışıldı. Alınan kan numuneleri santrifüj edilerek plazmaya ayrıldı. Plazmada total bilirubin, AST, ALT, total antioksidan kapasite ve total oksidan kapasite değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yine deney gruplarından alınan karaciğer örneklerinde homojenize edildikten sonra total antioksidan kapasite ve total oksidan kapasite değerleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

Tablo 3.2: Serum total bilirubin, AST, ALT, TAK ve TOK seviyeleri ile karaciğer dokusu TAK ve TOK seviyeleri analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

Grup	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Total Bilurubin (mg/dL)	1,262±0,034 ^{cd}	1,635±0,042 ^a	1,194±0,019 ^d	1,460±0,013 ^b	1,220±0,030 ^d	1,577±0,052 ^a	1,260±0,038 ^{cd}	1,355±0,069 ^{bc}	1,245±0,036 ^{cd}
AST (U/L)	669,00±511,7 ^c	6176,28±774,8 ^a	379,42±109,2 ^c	5285,00±644,2 ^a	1486,14±855,1 ^{bc}	5360,14±696,3 ^a	2886,0±813,3 ^b	5286,00±758,4 ^a	882,57±744,6 ^{bc}
ALT (U/L)	412,42±370,5 ^b	4737,85±801,1 ^a	126,85±62,2 ^b	4139,28±621,3 ^a	1071,57±673,9 ^b	4203,14±692,2 ^a	1739,00±784,7 ^b	4010,00±770,5 ^a	1220,57±778,9 ^b
Plasma TAK (mmol Trolox eq/L)	0,920±0,07 ^a	0,359±0,05 ^c	0,941±0,06 ^a	0,673±0,04 ^b	0,667±0,06 ^b	0,605±0,05 ^b	0,672±0,06 ^b	0,634±0,12 ^b	0,734±0,03 ^{ab}
Plasma TOK (µmol H ₂ O ₂ eq /L)	6,894±1,01 ^b	28,733±8,08 ^a	5,422±0,71 ^b	16,677±7,57 ^{ab}	7,748±1,29 ^b	15,920±3,84 ^{ab}	6,763±0,72 ^b	13,095±4,90 ^b	7,272±2,11 ^b
Doku TAK (µmol Trolox eq/g)	2,535±0,60 ^{ab}	1,015±0,10 ^d	1,87±0,25 ^{bcd}	1,255±0,15 ^{cd}	2,02±0,20 ^{bc}	1,27±0,10 ^{cd}	1,82±0,20 ^{bcd}	1,67±0,20 ^{bcd}	3,11±0,35 ^a
Doku TOK (nmol H ₂ O ₂ eq/g)	23,975±1,55 ^b	107,7±39,55 ^a	28,26±5,35 ^b	54,78±21,80 ^b	25,96±2,45 ^b	46,01±11,20 ^b	29,635±2,55 ^b	32,77±5,35 ^b	30,14±1,65 ^b

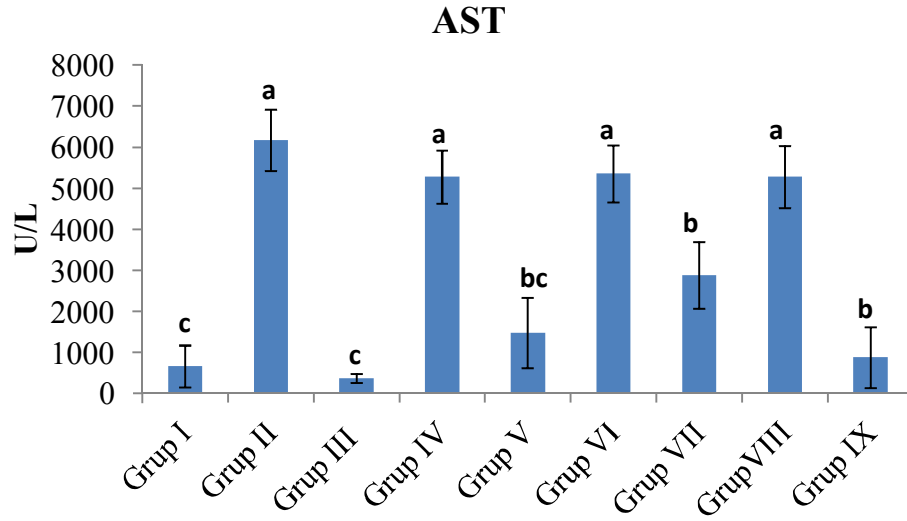
Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b,c ve d} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b,c,d} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.1: Deney gruplarında yapılan Total Bilurubin (mg/dl) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

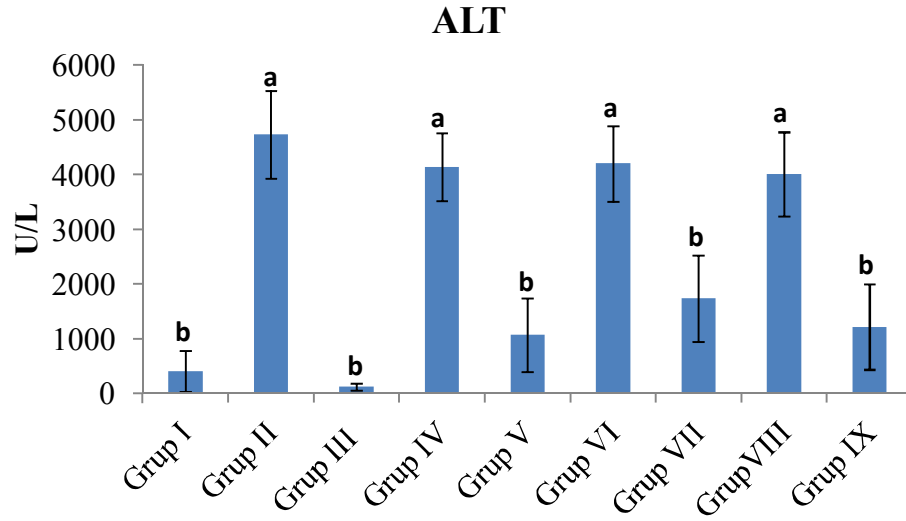
Total bilirubin düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CCl_4 verilen grupta istatistiksel olarak önemli ölçüde bir artışın olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Ayrıca, CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında Total Bilurubin seviyesinde istatistik açıdan önemli bir düşüş, Vitamin E + CCl_4 uygulanan grupta ise istatistiksel açıdan önemli olmayan bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.1).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b,c} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.2: Deney gruplarında yapılan AST (U/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

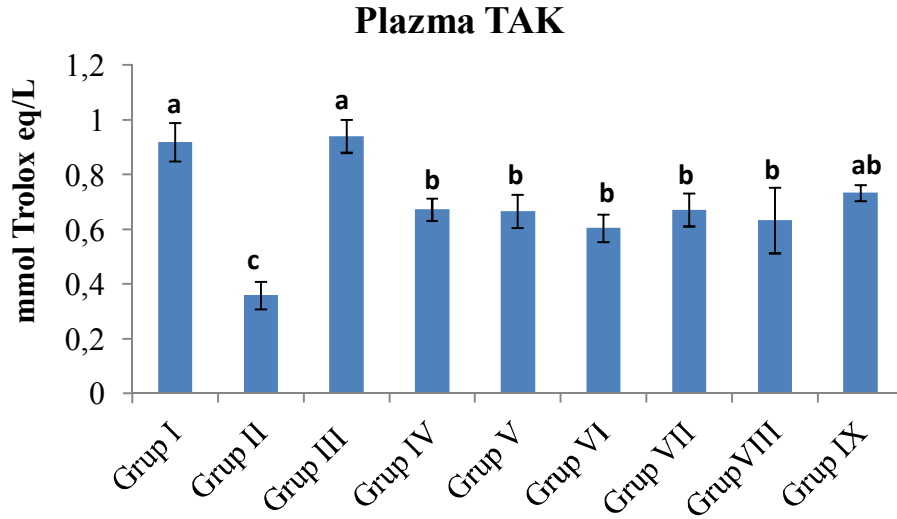
Karaciğer AST seviyesinde kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana geldiği görülmüştür ($p < 0,05$). CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 , Vit E + CCl_4 ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında karaciğer AST seviyesinin istatistik açıdan önemli olmasa da belirli bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.2).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.3: Deney gruplarında yapılan ALT (U/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

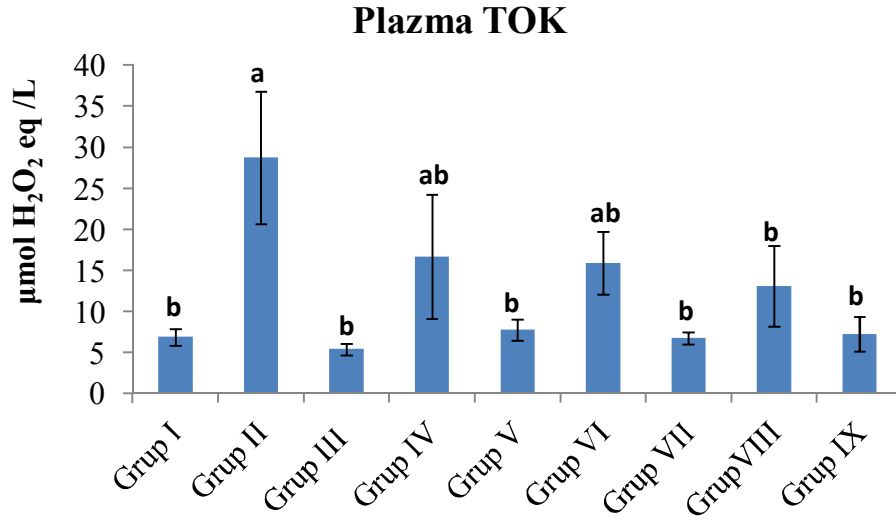
Karaciğer ALT seviyesinde kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana geldiği görülmüştür ($p < 0,05$). CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 , Vit E + CCl_4 ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında karaciğer ALT seviyesinin istatistik açıdan önemli olmasa da belirli bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.3).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b,c} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.4: Deneş gruplarında yapılan plazma TAK (mmol/L Trolox equivalent/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

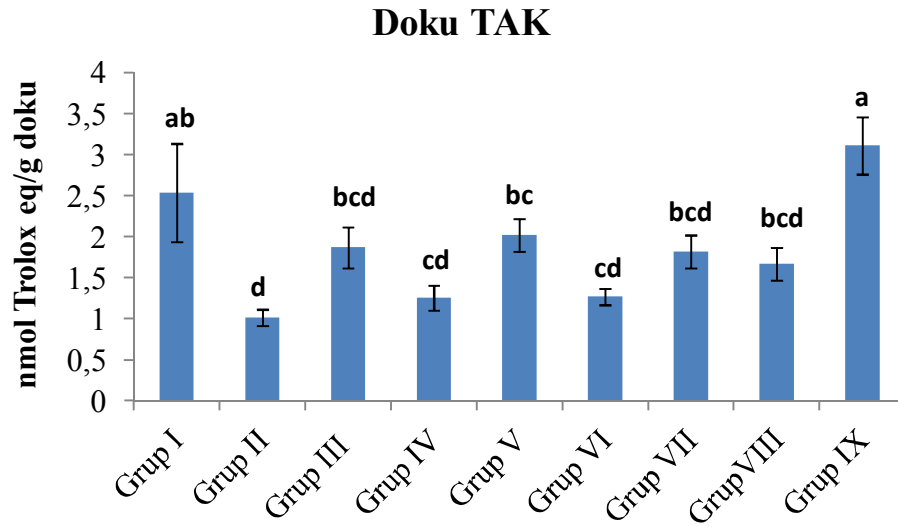
Plazma total antioksidan kapasinde (TAK), kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir düşüşün meydana geldiği görülmüştür ($p < 0,05$). CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 , Vit E + CCl_4 ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında plazma total antioksidan kapasinde istatistik açıdan önemli bir artış gözlenmiştir (Şekil 3.4).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.5: Deney gruplarında yapılan plazma TOK ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

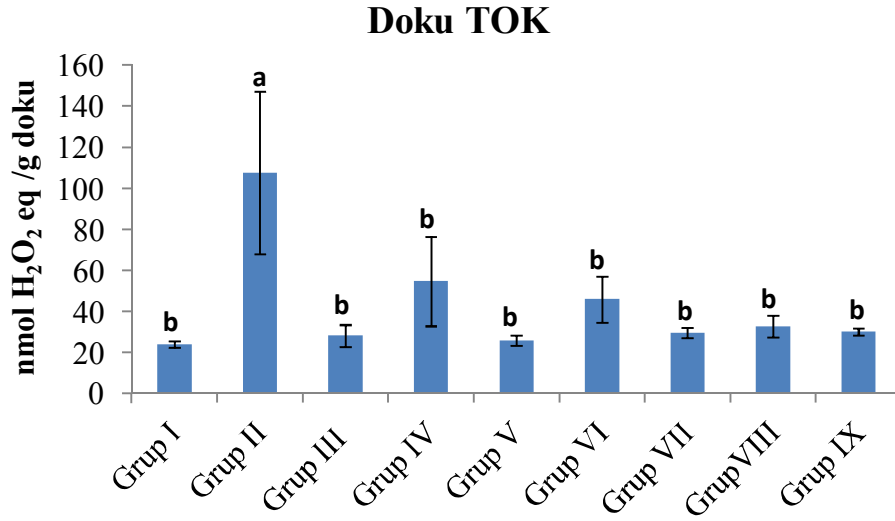
Plazma total oksidan kapasinde (TOK), kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana geldiği görülmüştür ($p < 0,05$). CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 , Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında plazma total oksidan kapasitesinde istatistik açıdan önemli olmasa da belirli bir düşüş, N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan grup karşılaştırıldığında ise istatistik açıdan önemli bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.5).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b,c,d} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.6: Deney gruplarında yapılan karaciğer dokusu TAK ($\mu\text{mol Trolox equivalent/g doku}$) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

Doku total antioksidan kapasitesinde (TAK), kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan grupta TAK seviyesinde istatistiksel açıdan önemli ölçüde bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. CCl_4 uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl_4 , Vit E + CCl_4 ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl_4 uygulanan gruplar karşılaştırıldığında doku total antioksidan kapasitesinde (TAK) istatistik açıdan önemli olmasa da belirli bir artış gözlenmiştir (Şekil 3.6).



Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. ^{a,b} harfleri gruplar arasında fark olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

Şekil 3.7: Deney gruplarında yapılan karaciğer dokusu TOK (nmol H₂O₂ equivalent/g doku) analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar.

Doku total oksidan kapasitesinde (TOK), kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan grupta TOK seviyesinde istatistiksel açıdan önemli ölçüde bir artmanın olduğu tespit edilmiştir. CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein + CCl₄, Vit E + CCl₄ ve N-Asetilsistein + Vit E + CCl₄ uygulanan gruplar karşılaştırıldığında doku total oksidan kapasitesinde (TOK) istatistik açıdan önemli bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.7).

4. TARTIŞMA

Bu çalışma ile N-Asetilsistein ve vitamin E'nin tek başlarına ve birlikte kullanımının Swiss albino farelerde CCl₄'ün karaciğerde yol açtığı hasarı önemli ölçüde engellediği yapılan histopatolojik ve biyokimyasal analizler ile ayrıntılı bir şekilde gösterildi.

Karbon tetraklorür (CCl₄) deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında en fazla kullanılan kimyasal maddelerden biridir (Recknagel, 1989). CCl₄, oksijen radikalleri oluşturmakta ve hücrelerde özellikle karaciğerde lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır. CCl₄'ün dokularda hasar oluşturma mekanizması, CCl₄'ün sirokom P450 enzimi aracılığıyla triklorometil (CCl₃) ve triklorometil peroksit (CCl₃O₂) serbest radikallerine dönüşümü sonrası başlayan lipit peroksidasyonu ile ortaya çıkan oksidatif hasar olarak açıklanmaktadır (Aranda, 2010).

Yapılan çalışmalarda CCl₄ uygulanmış sıçanlarda oksidatif stres ve karaciğer kupffer hücrelerinin inaktivasyonunun, karaciğer fibrozisinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Hepatik fibrozis, çok sayıda hücrel ve moleküler sürecin dâhil olduğu ilerleyici bir patolojik durumdur. (Muriel, 2003). Deneysel çalışmalarda, CCl₄'ün karaciğer dokusunda koagülatif nekroz, ağır fibroz, mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, yağ dejenerasyonu ve dejeneratif nodüler şekillenme gibi klasik siroz bulgularına neden olduğu gözlemlenmiştir (Kus, 2005). Omur ve ark.; yaptıkları çalışma ile CCl₄'e bağlı olarak karaciğerde toksik etki meydana geldiğini saptamışlardır (Omur, 2005).

Gasso ve ark.; CCl₄ uygulanan deney hayvanlarının karaciğerindeki hasarın derecesini patolojik bulgularla tespit etmişlerdir. CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarına bağlı olarak meydana gelen oksidatif stresteki artış, karaciğer fibrozunun ve sirozun gelişimine katkıda bulunabileceğini saptamışlardır (Gassó, 1996).

Çalışmamızda, birinci grupta (kontrol grubu) bulunan bütün fare karaciğerlerinin normal olduğu tespit edilmiştir. Yine üçüncü grup (N-Asetilsistein), beşinci grup (vitamin E), yedinci grup (N-Asetilsistein+vitamin E) ve dokuzuncu grup (zeytin yağı) farelerin karaciğerlerinin normal olduğu görülmüştür (Resim 1, 2). Diğer yandan, ikinci grup (CCl₄), dördüncü grup (N-Asetilsistein+ CCl₄), altıncı grup (vitamin E+ CCl₄) ve sekizinci grup (N-Asetilsistein+vitamin E+ CCl₄)'ta bulunan farelerin karaciğerlerinde şiddetli ve yaygın karaciğer nekrozları tespit edilmiştir (Resim 3, 4, 5, 6). Bu nekrozların yaygın koagülatif tipte ve genelde vena sentralislerin etrafında, periasiner (sentrilobüller, zon 3) yerleşimli oldukları dikkati çekti. Nekrotik bölgelerin dışında kalan hepatositlerde ise sınırlı ya da yaygın bulanık şişkinlik, vakuoler, hidropik nadiren de balonumsu tipte dejenerasyonun bulunduğu tespit edilmiştir. Nekrotik bölgelerde heterofil lökositlerin bulunduğu, bazen de bunlara monosit infiltrasyonlarının eşlik ettiği görülmüştür. Bazı bölgelerde nekroz odaklarının genişleyerek diğer nekroz odakları ile birleştiği dikkati çekti (Resim 3, 5). Karaciğer parankiminde bulunan bazı nekrotik bölgelerde nadiren fibrotik reaksiyonun geliştiği gözlenmiştir. Bu fibrotik bölgelerde genelde mononükleer lökosit infiltrasyonlarının bulunduğu belirlenmiştir. Bu yangısal infiltrasyonlara bazen de heterofil lökositlerin eşlik ettiği tespit edilmiştir.

Total bilirubin düzeyi ile ALT ve AST enzim aktiviteleri hepatosit nekrozunun derecesini tespit etmede oldukça önemlidir. Total bilirubin düzeyi ile ALT ve AST miktarı hasar görmüş hepatositlerden seruma salınmaktadır ve yüksek düzeyleri hepatosellüler hasarı göstermektedir. Göker ve Özmen; kuru ısırgan otu yaprağının, sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan lipit peroksidasyonu üzerine inhibe edici etkisini incelemişlerdir. Karbon tetraklorür verilen sıçanlarının plazma ALT ve AST enzim düzeyleri, ısırgan otu ile birlikte karbon tetraklorür verilen gruptaki sıçanlar ile kıyaslandığında bu değerlerin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan; yine bu iki grupta ölçülen karaciğer glutatyon ve karaciğer lipit peroksit düzeyleri kıyaslandığında, ısırgan otu ile birlikte karbon tetraklorür verilen gruptaki sıçanların, karbon tetraklorür verilen gruptaki sıçanlara göre anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür (Göker, 2009).

Hong ve ark.; yaptıkları bir çalışmada CCl₄ uyguladıkları ratların AST, ALT ve total bilirubin değerlerinde önemli bir artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir (Hong, 2009). Yine, Aranda ve ark.; CCl₄ uyguladıkları ratların AST, ALT ve total bilirubin değerlerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Aranda 2010).

Bizim çalışmamızda da, total bilirubin düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CCl₄ verilen grupta istatistiksel olarak önemli ölçüde bir artışın olduğu görülmüştür (p<0.05). Ayrıca, CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein+CCl₄ ve N-Asetilsistein+Vit E+CCl₄ uygulanan gruplar karşılaştırıldığında total bilirubin seviyesinde istatistiksel açıdan önemli bir düşüş, vitamin E uygulanan grupta ise istatistiksel açıdan önemli olmayan bir düşüş gözlenmiştir. Bu da bize N-Asetilsisteinin koruyucu etkisinin Vitamin E'ye göre daha fazla olduğunu göstermektedir.

Yine çalışmamızda, karaciğer AST ve ALT seviyelerinde kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana geldiği görülmüştür (p<0.05). CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein+CCl₄, Vit E+CCl₄ ve N-Asetilsistein+Vit E+CCl₄ uygulanan gruplar karşılaştırıldığında karaciğer AST ve ALT seviyelerinde istatistiksel olarak önemli olmasa da nispeten bir düşüş gözlenmiştir.

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak, malondialdehit (MDA) düzeyi önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. CCl₄ oluşturduğu serbest radikallerle, lipit peroksidasyonunu indüklemekte ve MDA düzeylerinde artışa sebep olmaktadır (Wang, 2005; He, 2006; Arezzini, 2003; Lin, 2006).

Aydoğdu ve ark., sıçanlara böbrek iskemi/reperfüzyon hasarına karşı N-Asetilsistein'in koruyucu etkisini araştırmışlardır. İskemi/reperfüzyon oluşturulan grupta; üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. Hem böbreklerde hem de plazmada malondialdehit düzeyinin arttığı, glutatyon düzeyinin azaldığı, histopatolojik incelemelerde ise nekroz bulgularında artma izlenmiştir. N-

Asetilsistein uygulanan grupta, hem plazma hem de böbrek malondialdehit düzeyinde azalma ve glutasyon düzeyinde artış elde edilmiştir. Böbreklerin histopatolojik incelenmesinde nekroz ve kast bulgularında azalma tespit edilmiştir. Sonuç olarak; böbrek İ/R hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığı ve bu hasara karşı N-Asetilsistein verilmesinin koruyucu rol oynadığı kanısına varmışlardır (Aydoğdu, 2005).

Akdoğan ve ark.; asetaminofen tarafından oluşturulan karaciğer hasarına karşı koruyucu olarak N-Asetilsistein'in etkisini incelemiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, asetaminofen grubunda serum aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Asetaminofen uygulaması kontrol grubuna göre karaciğer malondialdehit (MDA) derişimini anlamlı olarak artırırken, redükte glutasyon (GSH) derişimini, anlamlı olarak azaltmıştır. N-Asetilsistein uygulaması ise, karaciğer MDA derişiminde azalmaya, GSH derişiminde artmaya neden olmuştur. Hepatik arjinaz aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmezken, nitrik oksit sentetaz (NOS) aktivitesinin göstergesi olarak karaciğer nitrit derişimleri Asetaminofen uygulanan grupta tüm gruplara göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak; Asetaminofen uygulamasının karaciğer hasarına neden olduğu, lipit peroksidasyonu ve nitrik oksit (NO) oluşumunu artırdığı, N-Asetilsisteinin ise oksidatif ve nitrozatif stres bağlamında koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur (Akdoğan, 2010).

Çalışmamızda, karaciğer ve plazma total antioksidan kapasitelerinde (TAK), kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan grupta istatistiksel olarak önemli bir düşüşün meydana geldiği görülmüştür. CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein+CCl₄, Vit E+CCl₄ ve N-Asetilsistein+Vit E+CCl₄ uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında plazma total antioksidan kapasitelerinde istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana geldiği gözlenmiş, ancak karaciğer dokusunda istatistiksel olarak önemli olmasa da nispeten bir artışın olduğu tespit edilmiştir.

Yine, karaciğer ve plazma total oksidan kapasitelerinde (TOK), kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan grupta istatistiksel açıdan önemli bir artışın meydana

geldiği görölmüştür. CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein+CCl₄ ve Vit E+CCl₄ karşılaştırıldığında plazma total oksidan kapasitelerinde istatistiksel olarak önemli olmasa da belirli bir düşüşün olduğu, ancak N-Asetilsistein+Vit E+CCl₄ uygulanan grupta istatistik açıdan önemli bir düşüşün olduğu gözlenmiştir. Karaciğer dokusunda ise CCl₄ uygulanan grup ile N-Asetilsistein+CCl₄, Vit E+CCl₄ ve N-Asetilsistein+Vit E+CCl₄ uygulanan grupların kendi aralarında karşılaştırıldığında doku total oksidan kapasitelerinde (TOK) istatistiksel olarak önemli bir düşüşün meydana geldiği gözlenmiştir.

5. SONUÇ

Çalışmamızda sonuç olarak, CCl₄'ün hem histopatolojik hemde biyokimyasal veriler ışığında karaciğerde hasar oluşturduğu tespit edilmiştir. Karaciğerde oluşan hasarın azaltılmasında koruyucu olarak N-Asetil sistein ve Vitamin E'nin birlikte kullanılmasının karaciğerdeki hasarı tek başlarına kullanımından daha fazla azalttığı hem histopatolojik hemde biyokimyasal veriler ile tespit edilmiştir. Bu bulgular ışığında N-Asetil sistein ve Vitamin E'nin birlikte kullanılmasının diğer karaciğer hastalıklarından korunmada etkili olarak kullanılabileceği düşünülebilir. Ayrıca, hem bu çalışmadan elde edilen bulguların doğrulanması hem de iki maddenin birlikte kullanılması ile karaciğer üzerinde toksik etkisi olan diğer maddelere karşı koruyucu etkilerinin ortaya konulabilmesi açısından yeni detaylı çalışmalar gerekmektedir.

6. ÖZET

Bu çalışmada N-Asetilsistein ve vitamin E'nin tek başlarına ve birlikte kullanımının Swiss albino farelerde CCl₄'ün karaciğerde yol açtığı hasara karşı koruyucu etkileri incelendi.

Çalışmada 3 aylık, 63 adet Swiss albino erkek fare kullanıldı. Fareler her grupta 7 hayvan olmak üzere 9 gruba ayrıldı. Farelere pelet yem ve su ad libitum olarak verildi. İlk gruba kontrol grubu olarak herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruptaki hayvanlara ise sadece zeytin yağında çözdürülen (1/3 v/v) karbontetraklorür diğer gruplarla aynı zamanda 7. gün tek doz 1 ml/kg intraperitoneal uygulandı. Üçüncü ve Dördüncü gruplara N-asetil sistein 100 mg/kg/gün periton içi yolla 7 gün verildi. Beşinci ve Altıncı gruplara Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla yolu ile 7 gün verildi. Yedinci ve sekizinci gruplara N-asetil sistein 100 mg/kg/gün periton içi yolla beraber Vitamin E 100 mg/kg/gün kas içi yolla yolu ile kombine şekilde 7 gün verildi. Dördüncü, altıncı ve sekizinci gruplara son proanthocyanidin uygulamasından 1 saat sonra zeytin yağında çözdürülen (1/3 v/v) karbontetraklorür tek doz 1 ml/kg intraperitoneal uygulandı. Son uygulamadan 24 saat sonra farelere servikal dislokasyon yapıldıktan sonra heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Kan alımından sonra hayvanların sistemik nekropsileri yapılarak karaciğer doku örnekleri alındı. Doku örneklerinde histopatolojik inceleme için alınan kesitler HE ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Plazma örneklerinde, Total bilirubin, TAK ve TOS seviyeleri, ALT ve AST aktiviteleri ile karaciğer dokusunda TAK ve TOS seviyeleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi.

Çalışmada kontrol grubu ile CCl₄ ile toksikasyon yapılan grup karşılaştırıldığında; plazma Total bilirubin, TOS seviyesi, ALT ve AST aktivitesi ile doku TOS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($P < 0,05$); plazma ve doku TAK seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($P < 0,05$) tespit edildi. Aynı zamanda histopatolojik olarak nekrotik değişikliklerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($P < 0,05$) gözlemlendi. N-Asetilsistein ve N-

Asetilsistein+Vitamin E'nin birlikte kullanımı CCl₄ neden olduğu Total bilirubin düzeyindeki artışı engellemesi istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0,05$) bulundu. Yine koruyucu olarak kullanılan Vitamin E ve N-Asetilsistenin hem tek başlarına hemde birlikte kullanımlarının CCl₄'ün neden olduğu plazma TAK seviyesindeki düşüşü ve doku TOS seviyesindeki artışı engellemesi istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0,05$) bulundu. CCl₄'ün doku TOS seviyesinde neden olduğu artışın özellikle Vitamin E ve N-Asetilsisteinin birlikte kullanılması ile istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0,05$) bir şekilde azaltığı tespit edildi.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada CCl₄ ile karaciğerde oluşan hasarın azaltılmasında koruyucu olarak N-Asetil sistein ve Vitamin E'nin birlikte kullanılmasının tek başlarına kullanımından daha fazla etkili olduğu hem histopatolojik hemde biyokimyasal veriler ile tespit edildi.

7. SUMMARY

In this study, preventive effect of N-acetylcysteine and vitamin E alone and combination use were investigated on Swiss albino mice experimentally liver damage caused by CCl₄.

This study, 3 months, 63 Swiss albino male mice were used. Mice were divided into 9 group to 7 animals in each group. Mice were given pellet feed and water ad libitum. Group I as the control group did not receive and medication. Group II was administered i.p. CCl₄ in olive oil (1ml/kg, single dose) as well as other groups in seventh days. Group III and IV were administered N-Acetylcystein (100mg/kg/d, i.p.) seven days. Group V and VI were administered Vitamin E (100mg/kg/d, i.m.) seven days. Group VII and VIII were administered N-Acetylcystein (100mg/kg/d, i.p.) and Vitamin E (100mg/kg/d, i.m.) seven days. Group IV, Group VI and Group VIII were administered i.p. CCl₄ in olive oil (1ml/kg, single dose) after 1 hour last drug application. Group IX was received single dose olive oil (1ml/kg) i.p. route on seventh day. Cervical dislocation were performed to mice 24 hours after the last application and then blood samples were taken by intracardiac route. At the end of the study, in plasma samples Total bilirubin levels, AST and ALT enzyme activity, in plasma and liver tissue samples total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) levels, on liver tissue samples histopathological analyses were performed.

In this study, the group of intoxication with CCl₄ experiment compared with the control group, plasma total bilirubin, TOS level, the level of ALT and AST activity and tissue TOS statistically significant increase ($P < 0.05$), a statistically significant decrease in plasma and tissue levels of TAC ($P < 0.05$) were detected. It is also a statistically significant ($P < 0.05$) increase in histopathological changes was observed. Administration of N-acetylcysteine, and N-acetylcysteine + Vitamin E significantly restored total bilirubin levels compared to Group II. However, vitamin E and N-acetylcysteine used alone or both as a preservative, statistical significance

($P < 0.05$) prevents to ccl4 caused by decrease in plasma TAC levels and increase in tissue TOS levels .

In conclusion, in this study, reduction of the liver damage with CCl 4, as a preservative with the use both of N-acetyl cysteine and vitamin E is more effective than the use of alone by biochemical and histological data were determined.

8. KAYNAKLAR

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): Toxicological Profile for Carbon Tetrachloride. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. 2005.
2. Akdoğan, E.K., Erdoğan, H., Gündoğdu, E. ve Saraç, G.: Asetaminofen İle Uyarılan Karaciğer Toksisitesinin İncelenmesi: N-Asetilsisteinin Olası Koruyucu Rolü. Danışman: Doç. Dr. Derya Aldemir. XII. Öğrenci Sempozyumu Çalışma Grubu Raporları 12.2. 27-28 Mayıs 2010.
3. Anonim 1. Carbon tetrachloride structure. Erişim Adresi: [http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_tetrachloride], Erişim Tarihi: 10.08. 2012.
4. Anonim 2. Vitamin E structure. Erişim Adresi: [<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:VitaminEstructure.png>], Erişim Tarihi: 10.08. 2012.
5. Anonim 3. N-Acetylcysteine structure. Erişim Adresi: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:%28R%29-N-Acetylcysteine_Structural_Formulae.png], Erişim Tarihi: 10.08. 2012.
6. Aranda, M., Albendea, C.D., Lostalé, F., López-Pingarrón, L., Fuentes-Broto, L., Martínez-Ballarín, E., Reiter, R.J., Pérez-Castejón, M.C. and García, J.J.: In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline. J Pineal Res. 49: 78-85. 2010.

7. Arezzini, B., Lunghi, B., Lungarella, G., Gardi, C.: Iron Overload Enhances The Development Of Experimental Liver Cirrhosis In Mice. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 35: 486-495. 2003.
8. Aslan, R., Dundar, Y.: Nitric Oxide As A Biophysiological Component And Radical Metabolite. Hay Aras Ens Derg. 1-2: 35-8. 1998.
9. Aslan, R., Dündar, Y., Eryavuz, A., Tekerli, M., Fidan, A.F.: G6PD, Malondialdehyde and Some Blood Parameters in Lambs. Relation to Environment. Indian Vet J. 82(1,2): 145-7. 2005.
10. Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalçın, Ö.: Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında N-Asetilsisteinin etkileri. Fırat Tıp Dergisi. 10: 151-155. 2005.
11. Aytekin, Y., Solakoğlu, S.: Temel Histoloji. s: 332-347. 2006.
12. Carbon tetrachloride toxicity. National Acedemics Pres. Environmental Medicine. case study 8: 249-266. 1995.
13. Champe, P.C., Harvey, R.A.: Biyokimya. Nobel tıp kitabevleri ltd. sti. 2: 340. 1997.
14. Comporti, M.: Biology Of Disease Lipit Peroxidation And Cellular Damage InToxic Liver Injury. Lab. Đnvest. 53: 599-623. 1985.
15. Dargan, P.I. Ones, A.L.: Management of paracetamol poisoning. Trends Pharmacol Sci. 24: 154-7. 2003.

16. Duran, A., Kafalı, M.E., Şahin, M., Köylü, Ö., Gökalp, A., Arslan, U., Toy, H.: Tavşanlarda oluşturulan deneysel sepsis modelinde düşük doz NAC tedavisinin etkinliği. Selçuk Tıp Dergisi. 20: 140-149. 2004.
17. Edvwards, M.J., Keller, B.J., Kauffman, F.C.: The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. Toxicol Appl Pharmacol. 119: 275-279. 1993.
18. El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Kedwany, F.S., Baghdadi, H.H.: Cadmium-Induced Changes In Lipid Peroxidation, Blood Hematology, Biochemical Parameters And Semen Quality Of Male Rats: Protective Role Of Vitamin E And β -Carotene. Food and chemical toxicology. 42: 1563-1571. 2004.
19. Elsisı, A.E.D, Earnest, D.L., Sipes, I.G.: Vitamin A potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: Enhanced lipid peroxidation without enhanced biotransformation. Toxicol Appl Pharmacol. 119: 289-294. 1993.
20. Erel, O.: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin. Biochem. 38: 1103-11. 2005.
21. Erel, O.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin. Biochem. 37: 277-285. 2004.
22. Evelson, P., Ordonez, C.P., Llesuy, S., Boveris, A.: Oxidative Stress And In Vivo Chemiluminescence In Mouse Skin Exposed to UVA Radiation. J Photochem Photobiol B. 38: 215-9. 1997.
23. Expert Panel on enzyme of the IFCC. Clin. Chim. Acta. 70. F19. 1976.

24. Farrell, G.C.: Liver Disease Caused by Drugs, Anesthetics and Toxins, "Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease". 2.cilt. Feldman, M., Sleisenger. M.H. (Editörler). WB Saunders Company. Pennsylvania. Philadelphia. 1998.
25. Foulis, P.R., Sandford, B.H., Gottfried, M.: Drug induced morphologic changes in the liver. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 18: 215-228. 1988.
26. Frank, J.: Beyond Vitamin E Supplementation: An Alternative Strategy To Improve Vitamin E Status. *Journal of Plant Physiology.* 162: 834-843. 2005.
27. Fujiwara, K., Oka, Y., Ogata, I., Ohta, Y., Sato, Y., Masaki, N., Takatsuki, K., and Oka, H.: Exchange Blood Transfusion for Acute Hepatic Failure: Its Limited Availability Depending on the Type of Injury in Rats. *International Society for Artificial Organs.* 12(3): 227-233. 1988.
28. Galley, H.F., Thornton, J., Howdle, P.D., Walker, B.E., Webster, N.R.: Combination Oral Antioxidant Supplementation Reduces Blood Pressure. *Clin Sci Cloch.* 92: 361-5. 1997.
29. Gassó, M., Rubio, M., Varela, G., Cabré, M., Caballería, J., Alonso, E., Deulofem, R., Camps, J., Giménez, A., Pajares, M., Parés, A., Mato, J.M., Rodés, J.: Effects of Sadenosylmethionine on lipid peroxidation and liver fibrogenesis in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *J Hepatol.* 25: 200-205. 1996.
30. Goodman & Gilman.: *The Pharmacological Basis Of Therapeutics.* 554. Macmillan Publishing Co. Inc. 6th Ed. 1980.

31. Göker, B., Özmen, R.: Sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulanmasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*. 23: 77-80. 2009.
32. Gurer, H., Ozunes, Neal R., Spitz, D.R., Ercal, N.: Antioxidants effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead exposed rats. *Toxicology*. 120: 181–189. 1998.
33. Gürdol, F., Ademoğlu, E.: *Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri*. 1. Baskı. 817-827. 2006.
34. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*. 1; 219(1): 1-14. 1984.
35. Halliwell, B.: Oxidants and human disease: Some new concepts. *FASEB J*. 1: 358-364. 1987.
36. Harrison, S.A., Torgerson, S., Hayashi, P., Ward, J., Schenker, S.: Vitamin E And Vitamin C Treatment Improves Fibrosis In Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *The American Journal of Gastroenterology*. 98(11): 2485-90. 2003.
37. He, Y., Root, M.M., Porkers, P.S., Campbell, T.C.: Effects Of Carotenoid-Rich Food Extracts On The Development Of Preneoplastic Lesions In Rat Liver Antioxidant Status. *Nurt Cancer*. 27: 238-44. 1997.
38. Hong, R.T., Xu, J.M., Mei, Q.: Melatonin ameliorates experimental hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *World J Gastroenterol*. 15: 1452-1458. 2009.

39. Jiang, Q., Lykkesfeldt, J., Shigenaga, M.K., Shigeno, E.T., Christen, S., Ames, B.N.: γ - Tocopherol Supplementation Inhibits Protein Nitration And Ascorbate Oxidation In Rats With Inflammation. *Free Radical Biology & Medicine*. 33(11):1534-1542. 2002.
40. Jones, A.L.: Mechanism of action and value of Nacetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *J Toxicol Clin Toxicol*. 36: 277–285. 1998.
41. Jordão, A.A. Jr., Chiarello, P.G., Arantes, M.R., Meirelles, M.S., Vannucchi, H.: Effect Of An Acute Dose Of Ethanol On Lipid Peroxidation In Rats: Action Of Vitamin E. *Food and chemical toxicology*. 42: 459-464. 2004.
42. Karlsson, J., Ranneberg, R., Semb, B.: Vitamins Q And E, Extracorporal Circulation And Hemolysis. *Mol Cell Biochem*. 173 (1,2): 33-41. 1997.
43. Kayaalp, O.: *Tıbbi Farmakoloji*. 91: 1484-1489. 2002.
44. Kılınç, K.: Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*. X: 60-89. 1985.
45. Kotzampassi, K., Paramythiotis, D., Tsiakitzis, K., Kourounakis, A.P., Tzitzikas, J., Metaxas, G., Kourounakis, P.N., Harlaftis, N., Eleftheriadis, E.: The Impact Of α -Tocopherol On Radiation-Induced Liver Injury. *Nutrition Research*. 23: 103-109. 2003.
46. Köksel, O., Tamer, L., Özdülger, A., Erçil, M., Ercan, B., Kanık, A.: Oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarında görülen nitrik oksit metabolitlerinin artışı üzerine N-Asetilsistein'in etkisi. *T Klin J Med Sci*. 14: 323-327. 2004.

47. Köşkeroğlu, İ.Ş.: Oral Mukozada Oluşturulmuş Yumuşak Doku Defektinin İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine E Vitamini ve Selenyumun Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması. Doktora Tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1998.
48. Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N.: Pathologic Basic of Disease. 7.Ed. Elsevier. Saunders. China. 2005.
49. Kus, I., Ogeturk, M., Oner, H., Sahin, S., Yekeler, H., Sarsilmaz, M.: Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats: a light microscopic and biochemical study. Cell Biochem Funct. 23: 169-174. 2005.
50. Liebert, J.J., Matlawska, I., Bylka, W., Murias, M.: Protective effect of aquilegia vulgaris (L) on APAP-induced oxidative stress in rats. J.of Ethnopharmacology. 97: 351-358. 2005.
51. Lin, W.C., Lin, W.L.: Ameliorative Effect Of Ganoderma lucidum On Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis In Rats. World J Gastroenterol. 14: 12(2): 265-2770. 2006.
52. MacDonald-Wicks, L.K., Garg, M.L.: Vitamin E Supplementation In The Mitigation Of Carbon tetrachloride Induced Oxidative Stress In Rats. Journal of Nutritional Biochemistry. 14: 211-218. 2003.
53. Mayer, B., Hemmens, B.: Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. TIBS. 22: 477-481. 1997.
54. Meyer, A., Buhul, R., Kampf, S., Magnussen, H.: Intravenous N-acetylcysteine and lung glutathione of patients with pulmonary fibrosis and normal. Am J Resp Crit Care Med. 152: 1055-1060. 1995.

55. Moldeus, P., Cotgreave, I.A., Berggren, M.: Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration*. 50: 31-42. 1986.
56. Moldeus, P., Cotgreave, I.A.: N-acetylcysteine. *Methods Enzymol*. 234: 482–492. 1994.
57. Money, L.A.: Contribution Of Genetic And Nutritional Factors To DNA Damage In Heavy Smokers. *Carcinogenesis*. 18: 503-9. 1997.
58. Morreale, M., Livrea, MA.: Synergistic Effect Of Glycolic Acid On The Antioxidant Activity Of Alpha-Tocopherol And Melatonin In Lipit Bilayers And In Human Skin. *Biochem Mol Biol Int*. 42: 1093-102. 1997.
59. Muriel, P., Alba, N., Perez-Alvarez, V.M., Shibayama, M., Tsutsumi, V.K.: Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipit peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comparative Biochemistry and Phyiysiology Part C*. 130: 219-226. 2001.
60. Muriel, P., Escobar, Y.: Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *J Appl Toxicol*. 23: 103-108. 2003.
61. Nadkarni, G.D., Souza, N.B.: Hepatic antioxidant enzymes and lipit peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats. *Biochem Med and Met Biol*. 40: 42-5. 1988.
62. Nakano, H., Boudjema, K., Jaeck, D., Alexandre, E., Imbs, P., Chenard, M.P., Nagasaki, H., Kumada, K., Wolf, P., Cinqualbre, J.: Amelioration of hepatocellular integrity and inhibition of sinusoidal oxidative stress by N-acetylcysteine pretreatment in cold ischemia reperfusion injury of rats liver. *Eur Surg Res*. 25: 245-255. 1996.

63. Omur, K., Hıdır, P., Kus, M.A., Akpolat, N., Ogeturk, M., Kus, İ.: The Effects of Melatonin on The Increased HSP70 Immunoreaction in The Liver Induced by Experimental Carbon Tetrachloride Toxicity. *Toxicol Ind Health*. 6: 249-254. 2005.
64. Ozbek, H., Tuncer, I., Dulger, H., Ugras, S., Bayram, I., Turkdogan, K., Uygan, I.: E Vitamini, n-asetil sistein, penisilin-G ve Urtica dioica 'nin phalloidin toksisitesi üzerine etkisi. *Van Tıp Dergisi*. 12: 16-21. 2005.
65. Ozturk, F., Ucar, M., Ozturk, I.C., Vardi, N., Batcioglu, K.: Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats. *Urology*. 62: 353-356. 2003.
66. Recknagel, R., Glende, E.A., Dolak, J.A., Waller, R.I.: Mechanism of carbontetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther*. 43: 139-154. 1989.
67. Recknagel, R.O.: Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev*. 19: 145-208. 1967.
68. Robbins, S.L., Cotran, R.S., Kumar, V.: *Basic Pathology*. 6th Ed. Philadelphia. WB Saunders Company. 516-519. 2000.
69. Sherlock, S. and Dooley, J.: *Diseases of the Liver and Biliary System, Hepatic Cirrhosis*. 9th Ed. London. Blackwell Scientific Publications. 371-384. 1987.
70. Sheweita, S.A., El-Gabar, M.A., Bastavy, M.: Carbon tetrachloride changes the activity of cytochrome P450 sytem in the liver of male rats: role of antioxidants. *Toxicology*. 169: 83-92. 2001.
71. Shimiziu, I.: Antifibrogenic therapies in Chronic HCV infection. *Current Drug Targets Infectious Disorders*. 1(2): 227-240. 2001.

72. Shimiziu, I.: Impact of estrogens on the progression of liver disease. *Liver International*. 23 (1): 63-69. 2003.
73. Sigounas, G., Anagnostou, A., Steiner, M.: D α -Tocopherol Induces Apoptosis In Erythroleukemia, Prostate, And Breast Cancer Cells. *Nutr Cancer*. 28: 30-5. 1997.
74. Slater, T.F.: Biochemical implications of current studies on vitamin E. *Ann N Y Acad Sci*. 393: 496-500. 1982.
75. Sokol, R.J.: The Coming Of Age Of Vitamin E. *Hepatology*. 9: 649-653. 1989.
76. Södergen, E.: Lipit peroxidation in vivo. Uppsala University. Uppsala. 61s. 2000.
77. Splettstoesser, W.D., Werner, S.P.: Oxidative stress in phagocytes 'The Enemy Within'. *Microscopy Research And Technique*. 57: 441-455. 2002.
78. Stamler, J., Mendelsohn, M.E., Amarante, P., Smick, D., Andon, N., Davies, P.F., Cooke, J.P., Loscalzo, J.: N-acetylcysteine potentials platelet inhibition by endothelium-derived relaxing factor. *Circ Res*. 65: 789-795. 1989.
79. Steiner, M.: Vitamin E: More Than Antioxidant. *Clin Cardiol*. 16: 16-8. 1993.
80. Stewart, S., Ryan, C., Poropat, S.: Managing patients with acute myocardial ischemia and reperfusion injury with N-acetylcysteine. *Dimens Crit Care Nurs*. 16(3): 122-31. 1997.
81. Şanlı, Y.: Veteriner Farmakoloji. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. No: 412. Ankara. 1988.

82. Thiele, J., Traber, M.G., Tsang, K.: In Vivo Exposure To Ozone Depletes Vitamins C And E And Induces Lipid Peroxidation In Epidermal Layers Of Skin. *Free Radic Biol Med.* 23: 385-91. 1997.
83. Tirkey, N., Pilkhwal, S., Kuhad, A., Chopra, K.: Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbontetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol.* 5: 2. 2005.
84. Tran, A., Tréluyer, J.M., Rey, E., Barbet, J., Ferracci, G., d'Athis, P., Vincent, J., Pons, G.: Protective effect of stiripentol on acetaminophen-Induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 170: 145-152. 2001.
85. Vale, J.A., Proudfoot, A.T.: Paracetamol (acetaminophen) poisoning. *Lancet.* 346(8974):547-52. 1995.
86. Van Zandwijk, N.: N-acetylcysteine for lung cancer prevention. *Chest.* 107(5):1437-41. 1995.
87. Vendemiale, G., Grattagliano, I., Caruso, M.L., Serviddio, G., Valentini, A.M., Pirrelli, M., Altomare, E.: Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat. Effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol.* 175:130-9. 2001.
88. Wang, H., Wei, W., Wang, N.P., Gui, S.Y., Wu, L., Sun, W.Y., Xu, S.Y.: Melatonin Ameliorates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Fibrogenesis In Rats Via Inhibition Of Oxidative stress. *Life Sciences.* 77: 1902–1915. 2005.

89. Wen, Y., Doyle, M.C., Harrison, R.F., Feely, J.: The Effect Hormone Replacement Therapy On Vitamin E Status In Postmenopausal Women. *Maturitas*. 26(2): 121-4. 1997.
90. Yu, B.P.: Cellular defences against damage from oxygen species. *Physiol Rev*. 74: 139-62. 1994.
91. Zafarullah, M., Li, W.Q., Sylvester, J., Ahmad, M.: Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 60: 6-20. 2003.
92. Ziment, I.: Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. *Biomed Pharmacother*. 42(8): 513-9. 1988.
93. Zimmerman, H.I. : Direct (toxipathic) hepatotoxins: Haloalkanes and elemental phosphorus. In: *Hepatotoxicity*, pp. 198-219. New York: Appleton Century-Crofts. 1978.

9. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Ümit Şenol
Soyadı : GÖKSU
Doğum yeri ve tarihi : Arpaçay/KARS, 1980
Medeni durumu : Evli
Askerlik durumu : Yaptı
İletişim adresi ve tlf. : Kars Devlet Hastanesi KARS
Tel: 0505 2640229

II. Eğitimi

Lisans : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (1999-2003)
Orta öğretim : Kars Anadolu Lisesi (1995-1998)
İlk okul : Kars Anadolu Lisesi (1992-1995)
Yabancı dil : İngilizce

III. Ünvanlar

Eczacı / Sağlık bakanlığı : 2004

IV. Mesleki Deneyimi

Sağlık Bakanlığı : Ardahan Devlet Hastanesi (Aralık 2004 – Ekim 2011)
Kars Devlet Hastanesi (Ekim 2011- Eylül 2012)