



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**SIÇANLARDA AMİODARON İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINA U VİTAMİNİ'NİN ETKİLERİ**

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

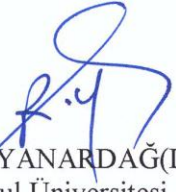
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

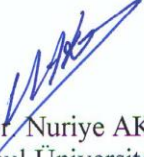
Aralık, 2013

İSTANBUL

Bu çalışma 22/01/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT
Marmara Üniversitesi
Dış Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe OGAN
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe YUSUFOĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Organik Kimya Anabilim Dalı

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 25537 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans, Yüksek Lisans ve Doktora öğrenimim sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde, yardımlarını esirgemeyen, değerli fikirlerinden ve tecrübelerinden yararlandığım, her zaman ve her aşamada yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çeşitli aşamalardaki yardımlarından, her zaman gösterdiği ilgi ve desteğinden dolayı, Sayın Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında yardımlarını aldığım ve her zaman desteklerini hissettiğim Yard. Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya ve Ar. Gör. Dr. Bertan Boran BAYRAK'a teşekkür ederim.

Doktora tez izleme komitesi üyeleri, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyeleri'nden Prof. Dr. Nuriye AKEV'e ve Marmara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyeleri'nden Prof. Dr. Ayşen YARAT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen aileme, teşekkürü bir borç bilirim.

Aralık, 2013

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	vii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. KARACİĞER	3
2.1.1. Karaciğerin Genel Yapısı.....	3
2.1.2. Karaciğerin Anatomisi ve Histolojisi.....	4
2.1.3. Karaciğerin Fonksiyonları.....	6
2.1.4. Sıçan Karaciğeri	8
2.1.5. Karaciğerde Hepatotoksisite Oluşturma Yollarının Sınıflandırılması	9
2.1.6. Deneysel Hayvan Modellerinde Karaciğer Hasarı Oluşturma Yöntemlerinde Kullanılan Maddeler.....	11
2.2. AMİODARON	11
2.2.1. Amiodaronun Farmakokinetik Özellikleri	13
2.2.2. Amiodaronun Elektrofizyolojik Özellikleri	14
2.2.3. Amiodaronun Hemodinamik Özellikleri	15
2.2.4. Amiodaron Toksisitesinin Meydana Geldiği Dokular	15
2.3. AMİODARON İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER TOKSİSİTESİ.....	16
2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR.....	22
2.4.1. Serbest Radikaller	22
2.4.2. Serbest Radikal Türleri	25
2.4.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Zararları	29
2.4.3.1. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Nükleik Asid ve DNA hasarı.....	29

2.4.3.2. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri.....	30
2.4.3.3. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerindeki Etkileri	31
2.4.3.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerindeki Etkileri	31
2.4.4. Antioksidanlar	32
2.4.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	32
2.4.4.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar	34
2.5. U VİTAMİNİ.....	37
3. MALZEME VE YÖNTEM	40
3.1. SERUM ÖRNEKLERİ VE KARACİĞER DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI	41
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER.....	41
3.3. DENEYLERDE KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER.....	42
3.4. SERUMDA ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	43
3.5. SERUMDA ALANİN AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	44
3.6. SERUMDA ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	46
3.7. SERUMDA KOLESTEROL MİKTARI TAYİNİ	47
3.8. SERUMDA TOTAL LİPİD MİKTARI TAYİNİ.....	48
3.9. SERUMDA TOTAL BİLİRUBİN MİKTARI TAYİNİ.....	50
3.10. KARACİĞER DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTARI TAYİNİ	52
3.11. KARACİĞER DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ	53
3.12. KARACİĞER DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	55
3.13. KARACİĞER DOKUSUNDA GAMA GLUTAMİL TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	57
3.14. KARACİĞER DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	58
3.15. KARACİĞER DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	59
3.16. KARACİĞER DOKUSUNDA ADENOSİN DEZAMİNAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	61
3.17. KARACİĞER DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	63
3.18. KARACİĞER DOKUSUNDA ARGİNAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	64
3.19. KARACİĞER DOKUSUNDA SODYUM-POTASYUM ATP _{AZ} AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	67
3.20. KARACİĞER DOKUSUNDA PROLİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	70
3.21. KARACİĞER DOKUSUNDA DT-DİAFORAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ... ..	73

3.22. KARACİĞER DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTARININ TAYİNİ.....	74
3.23. KARACİĞER DOKUSUNDA TROMBOPLASTİK AKTİVİTENİN TAYİNİ.....	76
3.24. KARACİĞER DOKUSUNDA FUKOZ MİKTARININ TAYİNİ	77
3.25. KARACİĞER DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTARININ TAYİNİ.....	79
3.26. KARACİĞER DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTARININ TAYİNİ	81
3.27. KARACİĞER DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTARI TAYİNİ.....	82
3.28. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	84
4. BULGULAR	85
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	95
KAYNAKLAR	115
EKLER.....	146
ÖZGEÇMİŞ.....	147

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Karaciğerin insan vücudundaki yeri ve genel insan karaciğeri görüntüsü.	3
Şekil 2.2: Karaciğerin anatomik ve histolojik yapısı.	5
Şekil 2.3: Karaciğer hücrelerinin dağılımı ve karaciğerin damarlar ile ilişkisi.	6
Şekil 2.4: Sıçan karaciğerinin hayvan modelindeki konumu.	9
Şekil 2.5: Amiodaron hidroklorürün yapısı.	12
Şekil 2.6: Amiodaron ve temel olarak bilinen metabolitleri.	14
Şekil 2.7: Amiodaronun terapötik ve yan etkilerinin vücutta dağılım şeması.	15
Şekil 2.8: Amiodaronun molekül yapısı.	16
Şekil 2.9: Amiodaronun metabolizması.	18
Şekil 2.10: Mitokondride meydana gelen enerji reaksiyonlarının solunum zinciri ile ilişkisi. ..	20
Şekil 2.11: Solunum zinciri mekanizması.	20
Şekil 2.12: Amiodaronun hücre içindeki etkileşimleri.	21
Şekil 2.13: Amiodaronun radikal haline geçmesi reaksiyonu.	22
Şekil 2.14: Reaktif oksijen türlerinin meydana geliş yolları ve makromoleküller ile etkileşimleri sonucunda meydana gelen ürünler.	26
Şekil 2.15: Guanin ile hidroksil radikalının reaksiyonu.	29
Şekil 2.16: Lipid peroksidasyonu reaksiyonları ve oluşan ürünlerin diğer moleküller ile etkileşimi.	30
Şekil 2.17: C vitamininin antioksidan rolü ve radikal ile etkileşimi.	34
Şekil 2.18: İndirgenmiş glutatyon (GSH) ve yükseltgenmiş glutatyon (GSSG).	35
Şekil 2.19: Glutatyonun antioksidan mekanizmadaki rolleri.	36
Şekil 2.20: Proteinlerin sülfidril gruplarının korunmasında glutatyonun rolü.	36
Şekil 2.21: U vitamininin kimyasal yapısı.	38

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Oksijen ve azot kaynaklı bazı serbest radikaller.....	23
Tablo 2.2: Serbest radikallerin kaynakları.	24
Tablo 4.1: Kontrol ve deney grubu hayvanların serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve alkali fosfataz (ALP) enzim aktivite değerleri.	85
Tablo 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanların serum kolesterol, total lipid ve total bilirubin değerleri.	86
Tablo 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanların glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonu (LPO) değerleri.	87
Tablo 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer laktat dehidrojenaz (LDH), gama glutamil transferaz (GGT), miyeloperoksidaz (MPO) ve paraoksonaz (PON) enzim aktivite değerleri.	88
Tablo 4.5: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer adenozin dezaminaz (ADA), ksantin oksidaz (XO) ve arginaz enzim aktiviteleri değerleri.	90
Tablo 4.6: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer sodyum-potasyum ATPaz ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ - ATPaz), prolidaz ve DT-diaforaz enzim aktivite değerleri.	91
Tablo 4.7: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer protein karbonil (PC) ve tromboplastik aktivite (TF) değerleri.	92
Tablo 4.8: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri.	93

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler

mM	:	Milimolar
μM	:	Mikromolar
nm	:	Nanometre
ns	:	Nanosaniye

Açıklama

Kısaltmalar

Açıklama

ADA	:	Adenozin dezaminaz
ALA	:	α-lipoik asid
ALP	:	Alkali fosfataz
ALT	:	Alanin aminotransferaz
ANOVA	:	Varyans analizi
ANSA	:	2-amino-4-naftol-sülfonik asid
Asc	:	Askorbik asid
AST	:	Aspartat aminotransferaz
ATP	:	Adenozin trifosfat
CAT	:	Katalaz
CoA	:	Koenzim A
DDEA	:	Didesetilamiodaron
DHLA	:	Dihidro α-lipoik asid
DNA	:	Deoksiribo nükleik asid
DNFH	:	2,4-dinitro fenil hidrazin
DT-Diaforaz	:	NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz
DTNB	:	5,5'- ditiyobis - (2-nitro benzoik asid)
EDTA	:	Etilendiamin tetraasetik asid
FAD	:	Flavin adenin dinükleotid (yükseltgenmiş hal)
FADH₂	:	Flavin adenin dinükleotid (indirgenmiş hal)
GGT	:	Gama glutamil transferaz
GPx	:	Glutasyon peroksidaz
GR	:	Glutasyon redüktaz
GSH	:	İndirgenmiş glutasyon
GSSG	:	Yükseltgenmiş glutasyon
GST	:	Glutasyon-S-transferaz
HDL	:	Yüksek dansiteli lipoprotein
HNE	:	4-hidroksi nonenal
LDH	:	Laktat dehidrojenaz
LPO	:	Lipid peroksidasyonu
MDEA	:	Mono-N-desetilamiodaron
NAD⁺	:	Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADH+H⁺	:	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid

NADP⁺	:	Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH+H⁺	:	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
MDA	:	Malondialdehid
MPO	:	Miyeloperoksidaz
PC	:	Protein karbonil
PON	:	Paraoksonaz
RAT	:	Reaktif azot türleri
RNA	:	Ribonükleik asid
ROT	:	Reaktif oksijen türleri
SD	:	Standart sapma
SOD	:	Süperoksid dismutaz
TBA	:	2-tiyobarbütirik asid
TCA	:	Trikloroasetik asid
TF	:	Tromboplastik aktivite
Tris	:	Tris (hidroksimetil) aminometan
XO	:	Ksantin oksidaz
VLDL	:	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

ÖZET

DOKTORA TEZİ

SIÇANLARDA AMİODARON İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINA U VİTAMİNİ'NİN ETKİLERİ

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Amiodaron, 2-butil-3-(3',5'-diiodo-4'- α -dietil amino etoksi benzoil)-benzofuran, günümüzde kalp ritm bozuklukları ve taşikardi gibi rahatsızlıkların önlenmesinde kullanılan bir antiaritmik ilaçtır. Bu ilaç, başta karaciğer olmak üzere, pek çok doku ve organda birikerek toksisite oluşturmaktadır. U vitamini, S-metilmetyonin sülfonyum klorür, lipid düşürücü özelliği başta olmak üzere, antiülser, antidepresan ve antioksidan gibi özelliklere de sahiptir. Bu çalışmada, amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarına U vitamininin etkisi incelendi. Çalışmamızda, 3.5-4 aylık Sprague-Dawley türü erkek sıçanlar dört gruba ayrıldı. Grup I: (kontrol grubu) 7 gün boyunca mısır yağı verilen sıçanlar; Grup II: 7 gün boyunca U vitamini (50 mg/kg) verilen sıçanlar; Grup III: 7 gün boyunca 100 mg/kg dozunda amiodaron verilen sıçanlar; Grup IV: 7 gün boyunca amiodaron verilmesinden 1 saat önce U vitamini (50 mg/kg) verilen sıçanlar. Sıçanlara amiodaron ve U vitamini gavaj yöntemi ile verildi. 8. günde bir gece aç bırakılan sıçanların, anestezi altında, kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Elde edilen serum örneklerinde, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkali fosfataz enzim aktiviteleri ile kolesterol, total lipid ve total bilirubin miktar tayinleri yapıldı. Karaciğer doku örneklerinde glutatyon ve lipid peroksidasyonu miktarları ile laktat dehidrojenaz, gama glutamil transferaz, miyeloperoksidaz, paraoksonaz, adenozin dezaminaz, ksantin oksidaz, arginaz, sodyum-potasyum ATPaz, prolidaz, DT-diaforaz ve tromboplastik aktivite tayinleri ile, protein karbonil, fukoz, heksoz ve heksozamin miktarları tayin edildi. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, amiodaron grubuna ait serum aspartat

aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkali fosfataz aktiviteleri ile kolesterol, total lipid ve total bilirubin miktarlarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış meydana geldiği gözlemlendi. Amiodaron grubuna ait karaciğer doku parametrelerinden lipid peroksidasyonu miktarları ile laktat dehidrojenaz, gama glutamil transferaz, miyeloperoksidaz, adenozin dezaminaz, ksantin oksidaz, arginaz, prolidaz ve DT-diaforaz, tromboplastik aktiviteleri, protein karbonil, fukoz, heksoz ve heksozamin miktarlarında kontrol grubuna göre artış olduğu, glutatyon miktarları ile paraoksonaz ve sodyum potasyum ATPaz aktivitelerinde ise azalma meydana geldiği saptandı. Amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile bu etkiler tersine çevrildi. Bu sonuçlara göre, amiodaron ile oluşturulan hepatotoksisitede, U vitamininin karaciğer hasarı üzerinde koruyucu bir ajan olarak etkisini gösterdiği söylenebilir.

Aralık 2013, Tezin sayfa sayısı: 165

Anahtar kelimeler: Amiodaron, Karaciğer, Toksisite, U Vitamini, Oksidatif Stres.

SUMMARY

Ph. D. THESIS

EFFECT OF VITAMIN U ON LIVER INJURY INDUCED BY AMIODARONE IN RATS

Ismet Burcu TURKYILMAZ

Istanbul University

Graduate School of Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAG

Amiodarone, 2-butyl-3-(3',5'-diiodo-4'- α -diethyl amino etoxy benzoyl)-benzofuran, is an antiarrhythmic drug that is used for prevention of the diseases like heart rhythm disorders and tachycardia nowadays. This drug shows toxic effect by accumulation specially in liver and many tissues and organs. Vitamin U, S-methylmethionine sulfonium chloride, has mainly lipid lowering, and besides antiulcer, antidepressant and antioxidant effects. The aim of this study was the investigation of the protective effect of Vitamin U on liver injury induced by amiodarone. In this study, 3,5-4 months old Sprague-Dawley male rats were randomly divided into four groups. Group I; control animals receiving corn oil for 7 days. Group II; animals receiving Vit U (50 mg/kg) for 7 days. Group III; animals receiving amiodarone (100 mg/kg) for 7 days. Group IV; animals receiving Vit U (50 mg/kg) for 7 days 1 h prior to the administration of amiodarone. Amiodarone and vitamin U were administered by gavage to rats. On the 8th day, all the animals which were fastened night over were sacrificed, blood and liver samples were taken under anesthesia. In serum samples, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase enzyme activities and cholesterol, total lipid and total bilirubin levels were determined. In liver samples, glutathione and lipid peroxidation levels and lactate dehydrogenase, gamma glutamyl transferase, myeloperoxidase, paraoxonase, adenosine desaminase, xanthine oxidase, arginase,

sodium potassium ATPase, prolidase and DT-diaphorase and thromboplastic activities, protein carbonyl content and tissue factor, fucose, hexose and hexosamine levels were measured. It was determined that serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities and cholesterol, total lipid and bilirubin levels of amiodarone group made an increase when compared with control group. In liver tissue samples of amiodarone group, it was found that lipid peroxidation levels and lactate dehydrogenase, gamma glutamyl transferase, myeloperoxidase, adenosine desaminase, xanthine oxidase, arginase, prolidase, DT-diaforase and thromboplastic activities, protein carbonyl content, fucose, hexose and hexosamine levels were increased compared to control group, glutathione levels and paraoxonase and sodium-potassium ATPase activities were decreased as compared to control group. Treatment with vitamin U reversed these effects. These results demonstrated that administration of vitamin U is a potentially beneficial agent to reduce the liver damage in amiodarone hepatotoxicity.

December 2013, The number of pages of the thesis: 165

Keywords: Amiodarone, Liver, Toxicity, Vitamin U, Oxidative stress

1. GİRİŞ

Antiaritmik ilaçlar, günümüzde ani ölüm riskini azaltarak kalp rahatsızlıklarını önlemek amacıyla yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Amiodaron, antiaritmik ilaçların III. sınıfına dahildir. Günümüzde ventriküler aritmi, paroksizmal supraventriküler taşikardi, atriyal fibrilasyon gibi aritmilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Amiodaronun yararlı etkilerinin de olduğu bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Fakat, amiodaron kullanımı, bazı durumlarda yan etkilerinden dolayı kısıtlanmış durumdadır.

Amiodaron, yapısında bir adet diiyodo benzen halkası taşıyan dietilaminoetoksi yan zinciri ile bir adet $-C_4H_9$ yan zinciri taşıyan benzofuran halkasından yapılmış olan bir ilaçtır (Kapatou ve diğ., 2010). Yapısal olarak tiroksin hormonuna benzemektedir. Molekölün deiyonize olması ile ortaya çıkan serbest iyot miktarı, günlük olarak vücuda alınması gereken miktardan çok fazla olduğu için, tiroid mekanizmasında problemler ortaya çıkmaktadır, dolayısıyla hipotiroidi veya hipertiroidi oluşma riski mevcuttur. Bununla birlikte, amiodaron, uzun bir yarılanma süresine sahiptir. Bundan dolayı, uzun süreli kullanımlarda ilaç bırakıldıktan aylar sonra bile vücutta kalabilmektedir. Bu şekilde meydana gelen ilaç birikiminden dolayı yalnızca tiroid mekanizmasında değil vücudun diğer doku ve organlarında da toksisite meydana gelir (Durukan ve diğ., 2012; Roth ve diğ., 2013). İlacın birikiminden dolayı toksisitenin meydana geldiği doku ve organlar başta karaciğer ve akciğer olmak üzere, böbrek, kalp, testis, iskelet kası, beyin, cilt ve göz olarak sıralanabilir.

Karaciğer, anatomik olarak gastrointestinal sistemdeki konumu ve ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesinde rol oynayan temel organ olmasından dolayı, toksisiteye maruz kalmaya eğilimli bir organdır. Bugün tedavi amaçlı kullanılan ilaçların birçoğu emilimlerini kolaylaştıracak şekilde lipofilik yapıya sahip olup, idrar veya safra ile atılabilmek için hidrofilik özellik kazanmak zorundadır. Bu sebepten dolayı karaciğerdeki biyotransformasyon reaksiyonlarına ihtiyaç duyulur.

Amiodaron, karaciğerde sitokrom P_{450} sistemi ile metabolize olmaktadır. Mitokondride toksisite oluşturur, oksidatif fosforilasyonun aksamasına ve böylece elektron transport

zinciri fonksiyonunun bozulmasına yol açmaktadır. Bunun sonucunda β -oksidasyon inhibe olur ve bu inhibisyon sonucunda triaçilgliserol birikimi ve mikroveziküler steatoz oluşur (Kaufmann ve diğ., 2005; Babatin ve diğ., 2008; Ishida ve diğ., 2010). Amiodaronun bu mekanizmalar ile karaciğer yağlanması ve karaciğer toksisitesine yol açmaktadır.

İsmi Latince’de ülser anlamına gelen *ulcus* kelimesinden alan U vitamini, S-metil metiyonin sülfonyum klorür, vitaminlerin normal sınıflandırma tanımlamasında girmediği halde, vitamin olarak isimlendirilmektedir. Antiülser özelliği sebebiyle yaygın bir biçimde ülser önleyici olarak birçok peptik ülser tedavisi çalışmasında kullanılmıştır. U vitamininin antiülser özelliğinin yanı sıra lipid düşürücü, hücre koruyucu antiinflamatuvar ve antidepresan özellikleri de mevcuttur.

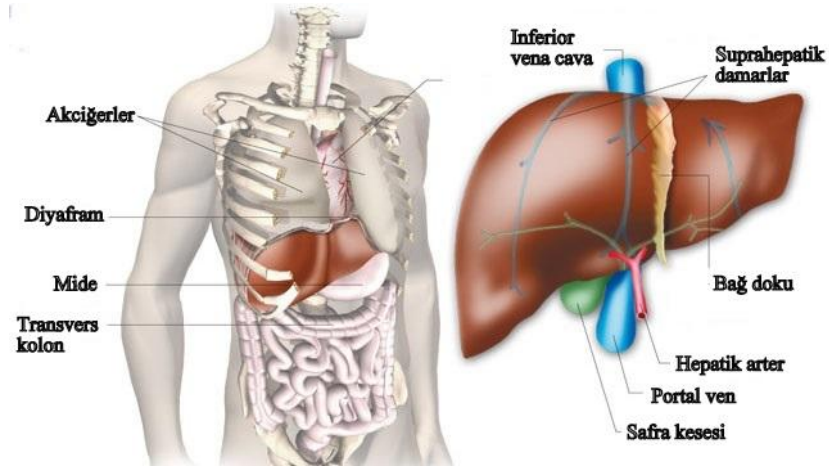
Anabilim Dalımızda yapılan bir çalışmada U vitamininin valproik asid ile oluşturulan karaciğer toksitesi üzerine koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (Sokmen ve diğ., 2012). U vitamininin amiodaron ile oluşturulan karaciğer toksitesi üzerine koruyucu özelliğini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, amiodaron ile deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda U vitamininin iyileştirici etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. KARACİĞER

2.1.1. Karaciğerin Genel Yapısı

Yumuşak ve esnek bir yapıda olan karaciğer, diyaframın altında, karnın sağ üst kısmında bulunmakta ve kaburga kemikleri tarafından korunmaktadır (Burtis, 1994) (Şekil 2.1). Diyafram sayesinde de plevra, akciğerler, perikard ve kalpten ayrılmıştır. Vücut ağırlığının yaklaşık yüzde ikisini oluşturan bir organdır.



Şekil 2.1: Karaciğerin insan vücudundaki yeri ve genel insan karaciğeri görüntüsü
(<http://www.orfamderg.org>).

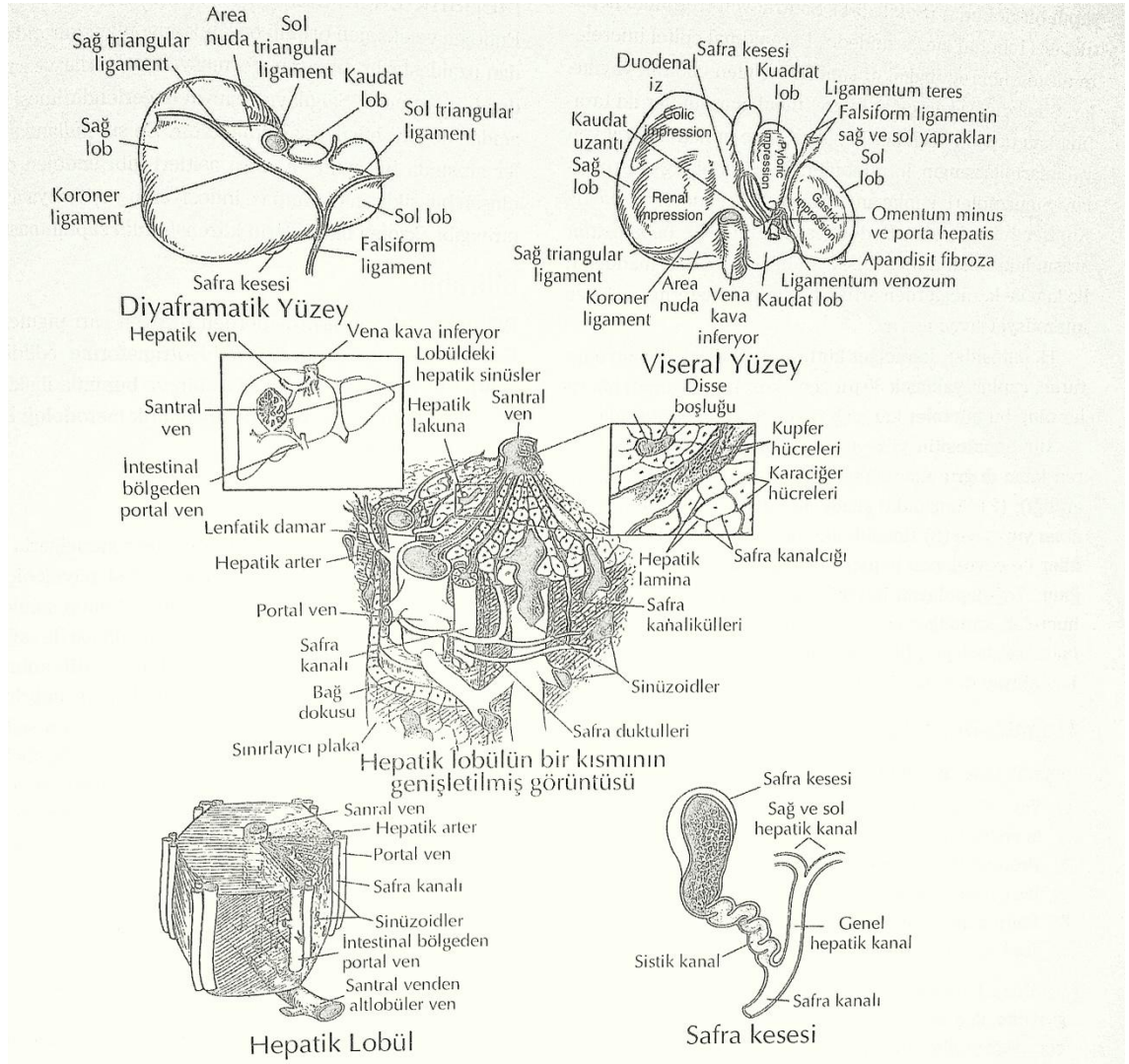
Karaciğer, intestinal sistem ile genel sirkülasyon arasında, metabolik homeostazda önemli rolü olan insülin ve glukagonun salgılandığı endokrin pankreası ile ilişkilidir. Karaciğer, sahip olduğu kanın büyük bir kısmını portal damar yoluyla intestinal sistemden, geri kalan az kısmını da hepatic arter yoluyla sağlar. Hepatic damarlar yoluyla da inferior vena kavaya boşaltır. Karaciğer, bağırsaktan alınan besinlerin ve salgılanan insülin ile glukagon adlı hormonların ilk ulaştığı organdır. Bağırsak ile safra arasında da köprü vazifesi görmesi nedeni ile de karaciğer kolesterol homeostazında önemli bir yere sahiptir.

Metabolik açıdan esnekliği ile diğer organlara göre büyük bir üstünlük gösterir, çok büyük bir metabolik ve besinsel akışa adapte olabilecek kapasitededir. Glikojen ve protein miktarları açısından gerekli değişiklikleri çok kısa bir sürede yapabilir, bundan dolayı, glikojen depolanması ve kan-glukoz dengesinin korunmasında temel organdır. Bununla birlikte, lipid, protein ve azot metabolizmasında da önemli yere sahiptir. Metabolik enerjisinin büyük kısmını yağ asidlerinin oksidasyonundan alır.

2.1.2. Karaciğerin Anatomisi ve Histolojisi

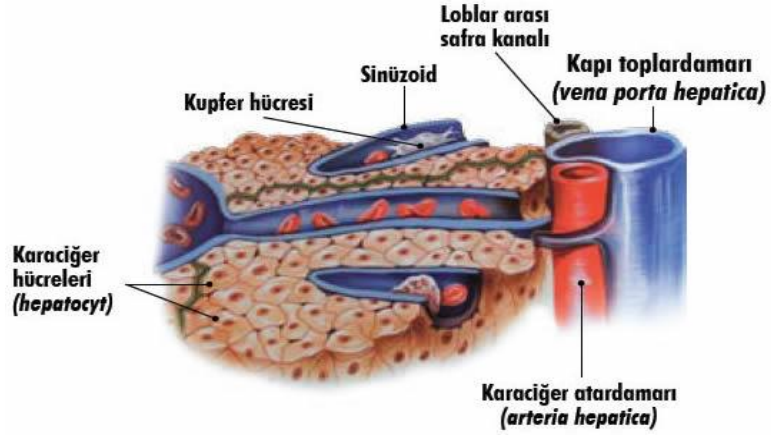
Karaciğer, Glisson kapsülü adı verilen ince bir bağ dokusu ile örtülüdür (Burroughs ve Westaby, 2005). Sağ ve sol olmak üzere iki anatomik loba ayrılmıştır. Sağ lobu sol lobundan altı kat daha büyüktür. Sağ lobun küçük segmentlerinden *kaudat lob* arka (posterior) yüzde, *kuadrat lob* ise alt (inferior) yüzde bulunur (Biolac-Sage ve diğ., 1990) (Şekil 2.2).

Karaciğer vücudun toplam kanının %15'ini içerir (Schroder ve diğ., 1985). Karaciğer, kanı iki kaynaktan sağlar: Bunlardan birincisi, *hepatik arter*, total kan akımının %25'ini sağlar ve karaciğere oksijenden zengin kanı taşır. Hepatik arter ile kan akımının otoregülasyonu, karaciğer kan akımının sabit kalmasını sağlar. İkinci kaynak olan *portal ven* ise karaciğer kan akımının geri kalan %75'lik kısmının sağlanmasında görev yapar, venöz kanı bağırsaklardan ve dalaktan getirir ve böylece ince bağırsaklardan emilen maddelerin çoğu karaciğere taşınmış olur (Yılmaz, 2010).



Şekil 2.2: Karaciğerin anatomik ve histolojik yapısı
(Saunders, 1994).

Karaciğerin en küçük yapısal birimi olan lobüllerin ortasında; hepatik arterin ve portal venin dallarından gelen ve sinüzoidlerde birbirine karışan kanı toplayan merkez bir damar yer alır. Bu merkez damara *santral ven* adı verilir. Sinüzoidler, karaciğer hücre tabakalarının her iki tarafına kan taşıyan vasküler kanallardır ve bunlar santral ven yakınlarında zengin, intralobüler, vasküler bir ağ oluştururlar (Şekil 2.3). Sinüzoidleri kaplayan hücreler ya endotelyal ya da Kupffer hücrelerdir. Endotelyal hücreler ile hepatositler arasındaki doku aralığı “Disse aralığı” olup besin maddeleri ile kan ve karaciğerden artık ürünlerin transferini sağlayan interstisyel sıvıyı içerir (Burtis, 1994).



Şekil 2.3: Karaciğer h relerinin dağılımı ve karaciğerin damarlar ile ilişkisi
(<http://www.sizinti.com.tr>).

Karaciğerin majör h re tipi olan hepatositler, çok köşeli (poligonal) h reler olup karaciğerin metabolik fabrikasıdır ve bol oksijenli kandan yararlanma derecelerine göre gruplanırlar. Terminal vasküler dallara yakın hepatositler yani “zon 1” oksijen ve sindirim ürünlerinden zengin kanla beslendiği için çabuk rejenere olur bu yüzden de karaciğer h re hasarına karşı daha dire lidirler. Zon 2 ve 3’deki hepatositler ise vasküler yapılara daha uzak oldukları için, daha az oksijen ve sindirim ürünlerini içeren kanla beslenirler ve bu nedenle bu bölgelerde karaciğer rejenerasyonu uzun sürer (Burtis, 1994; Tuncer ve Erzin 2002; Burroughs ve Westaby, 2005).

2.1.3. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğerin metabolik faaliyetleri, beyin, kas ve diğer periferel dokuların yakıt ihtiyaçlarını sağlamada hayati öneme sahiptir (Keha ve K frevio lu, 2009). Ba ırsaklar tarafından emilen bileşiklerin çoğu önce karaciğerden geçmektedir. Çünkü, bu organ birçok metabolitlerin kandaki seviyesini düzenleyebilmektedir.

Karbohidrat metabolizması

Karaciğer, yaklaşık 400 kcal e de erinde gluko u, glikojen halinde depolayabilir. Gerektiğinde, yine glikojeni parçalayarak veya glukoneojenez yolunu kullanarak kana

glukoz sağlar. Glukoz karaciğerde başlıca kastan gelen laktat ve alaninden, adipoz dokudan gelen gliserolden ve diyetle alınan glukojenik amino asidlerden sentezlenir. Bu görevlerinin yanı sıra, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkımı, galaktoz ve fruktozun glukozla dönüştürülmesi, glukozun diğer monosakkaridlere ve yağa dönüştürülmesi gibi görevleri de bulunmaktadır (Guyton ve Hall, 1996).

Lipid metabolizması

Karaciğerin, lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır. Yakıt bileşiklerinin bol bulunduğu durumda karaciğerde yağ asidleri sentezlenir, eşleştirilir ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) halinde kana salgılanır. Bu plazma lipoproteini adipoz dokuda depolanan triaçilgliserollerin en önemli kaynağıdır. Bununla birlikte uzun süreli açlık durumunda yağ asidleri karaciğerde keton cisimlerine çevrilir. Bununla birlikte endojen triaçilgliserol ve kolesterol sentezi de karaciğerde gerçekleşen reaksiyonlar arasındadır.

Protein metabolizması

Karaciğer, γ -globulinler hariç dolaşımdaki bütün proteinlerin sentezlendiği başlıca organdır. Amino asidlerin transaminasyon ve oksidatif dezaminasyon ile yıkılmaları sonucu açığa çıkan amonyak, karaciğerde üreye dönüştürülerek böbreklerden atılır.

İmmün sistem

Karaciğer, sadece beslenme ve metabolizma atıkları için bir filtre olmasının yanı sıra bağışıklık maddeleri olan globülinleri ve damar tamir grupları olan enzimleri de üretmektedir. Ayrıca bağırsaklardan gelen bakteriler, karaciğerin Kupffer hücreleri tarafından ortadan kaldırılır.

Kan depolama

Karaciğer, küçülebilen ve genişleyebilen bir yapıya sahiptir ve bu sayede kan damarlarındaki kanı depolayabilir veya bırakabilir. Sağlıklı bir vücuttaki karaciğer, toplam kanın %10'unu tutar ve vücutta kan ihtiyacı olduğu zaman depoladığı kan dolaşıma geri vererek kan ihtiyacını karşılamış olur.

Safra metabolizması

Karaciğerin önemli görevlerinden biri de safra salgısının gerçekleştirilmesidir. Safra, su ve elektrolitlere ek olarak, safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol ve bilirubin gibi birkaç ana bileşene de sahiptir. Karaciğer, safra asitlerinin kolesterolden sentezi ve safraya sekresyonu; böylece kolesterol metabolizmasının düzenlenmesi ve diyetel yağların absorpsiyonunun kolaylaştırılmasından da sorumludur.

Ksenobiyotik metabolizması

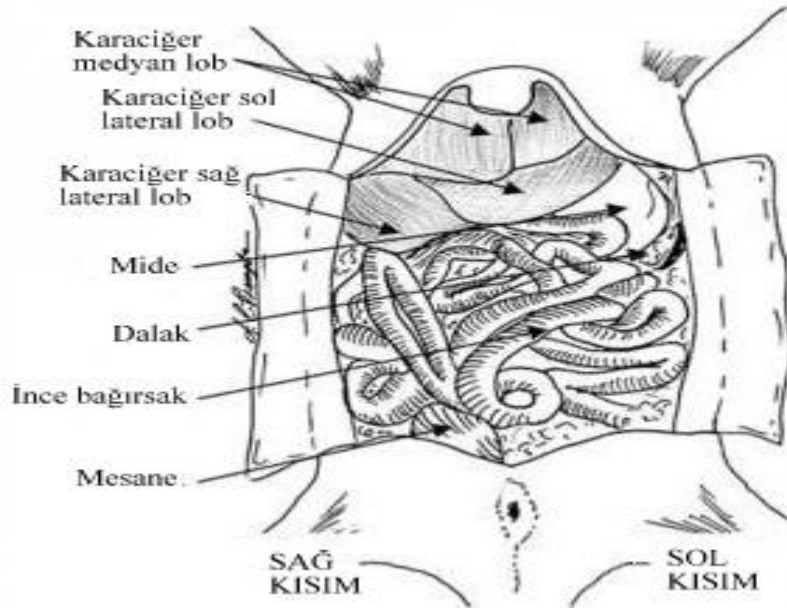
Kseno (Yunanca *xenos*), yabancı anlamına gelmektedir. Ksenobiyotik ise vücuda yabancı olan bir bileşik olarak tanımlanmaktadır ve bu tanımlamaya çeşitli ilaçlar ve toksinler girmektedir. Bugün için tedavi amaçlı kullanılan ilaçların birçoğu emilimlerini kolaylaştıracak şekilde lipofilik yapıya sahip olup, idrar veya safra ile atılabilir hale gelebilmek için hidrofilik karakter kazanabilmek zorundadırlar. Bu sebepten dolayı da karaciğerde biyotransformasyona uğrarlar. Bu biyotransformasyon reaksiyonları Faz I ve Faz II reaksiyonları olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır.

Faz I reaksiyonları yükseltgenme, indirgenme ve hidroliz gibi reaksiyonlar ile substrata aktif gruplar ilave ederek, Faz II konjugasyon reaksiyonlarına substrat hazırlarlar (Lee, 2003). Faz II reaksiyonlarında sülfat, asetat, glukuronik asid, glutatyon ve glisin gibi endojen maddeler ile konjugasyon reaksiyonları gerçekleşir, ara metabolitlerin polaritesi artırılarak böbrek veya gastrointestinal sistemden atılımı sağlanır.

2.1.4. Sıçan Karaciğeri

Sıçanlarda, karaciğer karın boşluğunda yerleşmiş olan bir organdır. Sıçanda karaciğerin en önemli görevlerinden biri kan glukoz değerinin dengelenmesidir. Sıçan karaciğeri, insan karaciğerine benzer olarak sol, orta, sağ ve kaudat olmak üzere dört ana loba ayrılır. Sıçanlarda da karaciğer kan akımının kaynağı, tıpkı insanlardaki gibi iki tanedir: hepatik arter ve portal ven. Sirkülasyon halindeki kan da karaciğerin içinden geçen “inferior vena cava” ile boşalır. Sıçanlar ile insan karaciğeri arasındaki en büyük fark ise sıçanlarda safra kesesinin bulunmayışındır. Sıçanlarda, hepatik kanal karaciğer

hilusundan çıktıktan sonra portal veni çaprazlayıp pankreas kanalları ile birleşip duodenuma bağlanır (Brzoska ve diğ. 2003; Bayramiçli, 2005) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Sıçan karaciğerinin hayvan modelindeki konumu
(<http://www.nihms.nih.gov/>).

2.1.5. Karaciğerde Hepatotoksisite Oluşturma Yollarının Sınıflandırılması

Hepatotoksisite, ilaçlar veya kimyasal maddelerle oluşturulan karaciğer hasarı olarak tarif edilmektedir (Pineiro-Carrero ve Pineiro, 2004). Hepatotoksisite oluşturma yolları sınıflandırılırken birçok faktör göz önünde bulundurulur:

- a- Toksik maddenin kaynağı ve kimyasal olarak hangi sınıfa ait olduğu
- b- Toksik maddeye maruz kalma süresi
- c- Meydana getirilen hepatik lezyonun türü
- d- Hücre yapısının gördüğü zarar
- e- Meydana gelen toksisitenin moleküler veya hücresel mekanizması.

Bu maddeler göz önünde bulundurularak, toksik karaciğer hasarı;

1- İntinsik veya idiyosinkratik

2- Akut veya kronik olmak üzere iki ana başlık altında toplanabilir.

İntinsik karaciğer hasarı, doza bağlı olarak hayvansal deney modellerinde oluşturulabilmektedir. Yeterli miktarda bu doza maruz kalan her bir insanda da karaciğer hasarı meydana gelebilmektedir. *İdiyosinkratik karaciğer hasarı*’nda ise meydana gelen reaksiyon, ilacın bilinen farmakolojik etkisi ile ilişkisiz ve muhtemel genetik yatkınlığı içermektedir. Kullanılan maddeye bağlı olarak hipersensitivite meydana gelebilir, ateşlenme, eozinofili vb. durumlar görülebilir. Bununla birlikte idiyosinkratik hasarlarda karşılaşılan diğer bir durum ise yapılan toksisite çalışmalarında bireylerde farklı farmakogenetik sonuçlar elde edilmesidir ki, böyle durumlarda kişi bu maddeyi detoksifiye edemeyebilir ya da toksik madde direkt olarak vücutta birikir. Dolayısıyla, hepatotoksisite çalışmalarında farmakogenetik mekanizmaların aydınlatılmasının, hayvan modelleri ile çalışılmasında metabolik değişikliklerin daha iyi belirlenebilmesi açısından yararlı olacağı bazı araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Kahl, 1999).

Karaciğer hasarının sınıflandırılmasında diğer bir sınıflandırma çeşidi ise oluşan hasarın akut veya kronik olması ile ilişkilidir. *Akut karaciğer hasarı*, sitotoksik veya kolestatik olabilmektedir. Sitotoksik hasar ile oluşan akut hepatitte hepatositlerde aminotransferazların aktivitesinde dikkat çekici şekilde meydana gelen artış gözlenmektedir. Kullanılan toksik maddeye göre, hepatositlerin ölümü nekroz veya apoptoz ile olabilmektedir. Oksidatif stres de ksenobiyotikler ile oluşturulan hasarlarda hücre ölümüne sebep olmaktadır. Birçok kimyasal madde, oksidatif stresin oluşumuna neden olan serbest radikallerin üretimine neden olur, böylece hepatositlerde apoptoz meydana gelir. Kolestatik karaciğer hasarında ise meydana gelen hasar “tıkanma sarılığı”na benzemektedir. Aminotransferaz aktivitelerinde artış gözlenmesiyle beraber, alkali fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT) ve bilirubin seviyelerindeki artış çok daha dikkat çekicidir (Reed, 1998; Pineiro-Carrero ve Pineiro, 2004). *Kronik karaciğer hasarı*, sitotoksik ve kolestatik olabileceği gibi, bunlara ek olarak sonucunda hepatik ven trombozu ve damar tıkaçıcı hastalıkların meydana gelebileceği vasküler lezyonlar ile de tanımlanmaktadır (Zimmerman, 1998).

2.1.6. Deneysel Hayvan Modellerinde Karaciğer Hasarı Oluşturma Yöntemlerinde Kullanılan Maddeler

Hepatotoksisitenin deneysel hayvan modellemelerinde oluşturulmasında çeşitli kimyasallar, ilaçlar ve metaller ile kullanılan yöntemler şu şekilde sıralanabilir:

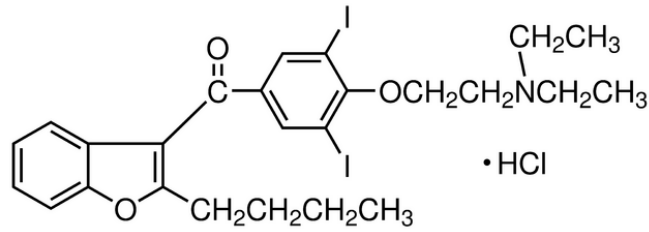
Alverin (Durakoğlu ve diğ., 2002), bazı antibiyotikler (Robles ve diğ., 2010), asetaminofen (Ghosh ve diğ., 2010; Demirbas ve diğ., 2011), azatioprin (El-Beshbishy, 2008), α -naftilisotiyosiyanat (Wu ve diğ., 2013), falloidin (Herraez ve diğ., 2009), izoniasid & rifampisin (Chen ve diğ., 2011), karbon tetraklorür (Tsai ve diğ., 2009; Eidi ve diğ., 2011), klorokin fosfat (Dattani ve diğ., 2010), lipopolisakkarit & D-galaktozamin (Zhang ve diğ., 2010), litokolik asid (Miyata ve diğ., 2010), metiyonin ve kolin eksikliği (Matsuo ve diğ., 1980), metotreksat (Tabassum ve diğ., 2010), arsenik (Majumdar ve diğ., 2011), nikel (Pari ve Amudha, 2011) vb. bazı metaller, N-nitrosodietilamin (Kumamoto ve diğ., 2013), oksidatif stres (Jamshidzadeh ve diğ., 2008; Grotto ve diğ., 2011) gibi durumlar, ometoat (Lu ve diğ., 2010) ve metil parathion (Uzunhisarcıklı ve Kalender, 2011) gibi bazı organofosfat bileşikleri, sisplatin (Kart ve diğ., 2010), sodyum florür (Abdel-Wahab, 2013), tiyoasetamid (Baskaran ve diğ., 2010) ve valproik asid (Said ve El-Agamy, 2010; Sokmen ve diğ., 2012).

2.2. AMİODARON

Amiodaron, yapısında bir adet diiyodo benzen halkası bulunduran, dietileminoetoksi yan zinciri ile bir adet $-C_4H_9$ yan zinciri taşıyan benzofuran halkasından yapılmış olan bir maddedir (Wilson ve Podrid, 1991). Sistematik adı, 2-butil-3-(3',5'-diyyodo-4'- α -dietil amino etoksi benzoil)-benzofurandır (Şekil 2.5). İlaç endüstrisinde Cordarone veya Pacerone adıyla kullanıma sunulan bu ilaç ilk üretildiği zamanlarda, antianjinal ajan olarak kullanılmaya başlanmış ve bu konuda başarıya ulaşılmıştır (Zipes ve diğ., 1984). Daha sonraki deneysel çalışmalar, amiodaronun sadece antianjinal ajan olarak

değil, supraventriküler ve ventriküler taşikardi ile kalp ritim bozuklukları gibi rahatsızlıklarda da etkili bir antiaritmik bir ilaç olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır.

Antiaritmik bir ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan amiodaron, potasyum kanallarını bloke ederek miyokardiyal repolarizasyonu uzatmaktadır. Bu etkisinden dolayı Vaughan-Williams ilaç sınıflandırmasında da *tip III antiaritmik ilaç* olarak yer almıştır (Papiris ve diğ., 2010). Fakat tip III antiaritmik ilaç olarak sınıflandırılmasına rağmen, aynı zamanda tip I, II ve IV antiaritmik ilaçların yaptıkları etkileri de meydana getirebilmektedir (Nademanee ve diğ., 1993). Amiodaron, sodyum kanallarını bloke ederek iletim hızını azaltmaktadır (tip I etkisi), yarışmasız olarak α ve β -adrenerjik reseptörleri antagonize eder (tip II etkisi), kalsiyum kanal blokeri olarak etki ederek tip IV sınıfının gösterdiği antiaritmik etkiyi de gösterebilmektedir (Vassallo ve Trohman, 2007).



Şekil 2.5: Amiodaron hidroklorürün yapısı

(<http://www.sigmaaldrich.com>).

Amiodaron, yapısında iki adet iyot molekülü bulundurmaktadır, ağırlığının % 37'sini iyot oluşturmaktadır. Her 200 mg'lık amiodaron tableti yapısında 75 mg iyot içermektedir. Normal olarak alınması gereken günlük iyot miktarının 150 μ g olması gerektiği göz önünde bulundurulduğunda, amiodaron ile alınan bu iyot miktarı çok fazla kalmaktadır.

Amiodaron, vücuda alındığında, yüksek oranda protein ve lipidlere sıkıca bağlanır, bu sayede başta adipoz dokuda yüksek miktarda olmak üzere birçok dokuda birikir (Wilson ve Podrid, 1991). Bazı literatürlerde yarılanma süresi olarak 26 günden başlayan ve 6 aya kadar uzayabilen süreler olduğu belirtilmiştir (Wilson ve Podrid, 1991). İlacın

birikimi ile birlikte ortaya çıkan toksik etkilerin hangi mekanizma ile meydana geldiği tam olarak tarif edilememekle beraber, toksisitenin oluşma yollarının araştırılması deneysel olarak günümüzde de devam etmektedir.

2.2.1. Amiodaronun Farmakokinetik Özellikleri

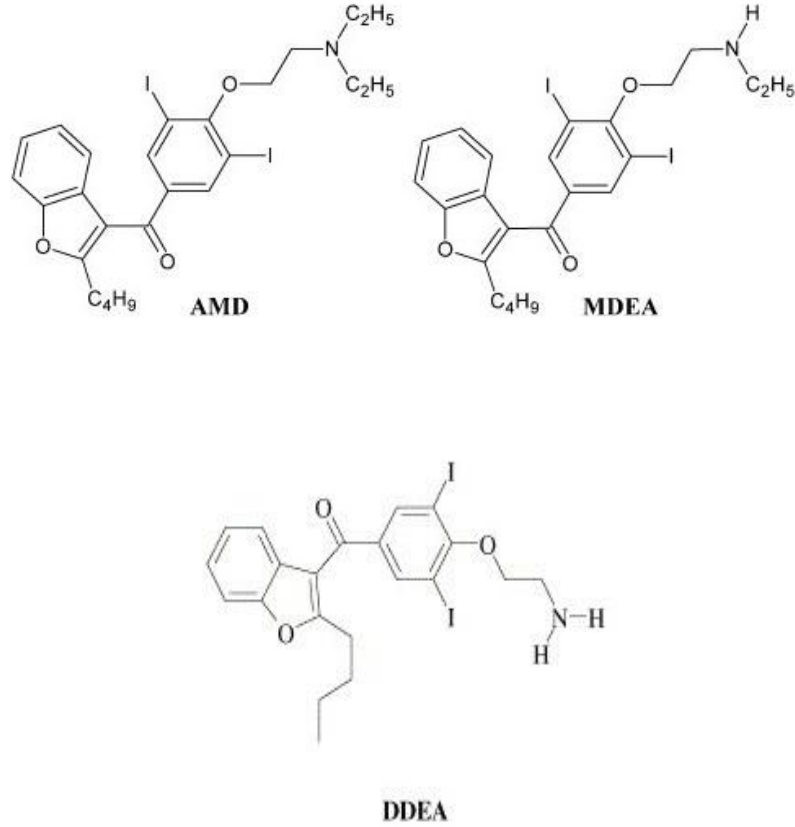
Amiodaron, yavaş bir şekilde absorbe edilmektedir, ilaç vücuda alındığı andan itibaren dört-beş saat sonra, vücutta pik seviyeye ulaşmaktadır. Kullanıcılardaki biyoyararlanım ise düşük olarak belirlenmiştir ve yiyeceklerle beraber alınması önerilmektedir (Babatin ve diğ., 2008).

Amiodaron, portal sisteme ulaşmadan önce, intestinal mukoza hücrelerinde dealkilasyon reaksiyonuna uğramaktadır. Sirkülasyon esnasında, tümüyle proteinlere bağlanmaktadır (Larroz ve diğ., 1984). Vücutta amiodaronu en yoğun olarak alan dokular, karaciğer ve akciğer ile adipoz dokulardır. Amiodaronun dokularda tam anlamıyla etkisini gösterebilmesi için alması gereken hal olarak bilinen *kararlı hal* durumuna geçişi, ilacın alınmaya başlanmasından itibaren birkaç gün ile birkaç haftayı bulabilmektedir (Pourbaix, ve diğ., 1985). Bu kararlı hal durumunda iken bu dokularda bulunma oranı plazmaya göre 100 ile 1000 kat şeklinde değişkenlik göstermektedir (Haffajee ve diğ., 1983, Maggioni ve diğ., 1983).

Hastaya verilecek olan ilaç dozunun hastaya spesifik olarak belirlenmesi gerekliliği, ilacın antiaritmik etkisine tam anlamıyla ulaşılabilmesinde meydana gelebilecek olası gecikmeler ve ilacın kullanımının bırakılmasından sonra belirli bir süre sonra bile yan etkilerinin devam etmesi gibi değişken farmokinetik özellikler göstermesi, klinik anlamda önemli sonuçlar meydana getirmektedir.

İnsanlarda, amiodaronun iki adet temel metaboliti vardır (Şekil 2.6):

- Hepatositlerde sitokrom P₄₅₀ CYP3A izozimleri tarafından oluşturulan mono-N-desetilamiodaron (MDEA)
- di-N-desetilamiodaron (DDEA) (Gill ve diğ., 1992, Shayeganpour ve diğ., 2006).



Şekil 2.6: Amiodaron ve temel olarak bilinen metabolitleri

(<http://www.hindawi.com>).

Bununla birlikte, bazı literatürlerde amiodaronun metabolitleri olarak amiodarone-EtOH ve n-3-hidroksibutil-N-desetilamiodaron belirtilmiştir ancak bu iki metabolit, insan serumunda saptanmamıştır ve biyolojik anlamda bir önemi olup olmadığı henüz bilinmemektedir (Latini ve diğ., 1984).

2.2.2. Amiodaronun Elektrofizyolojik Özellikleri

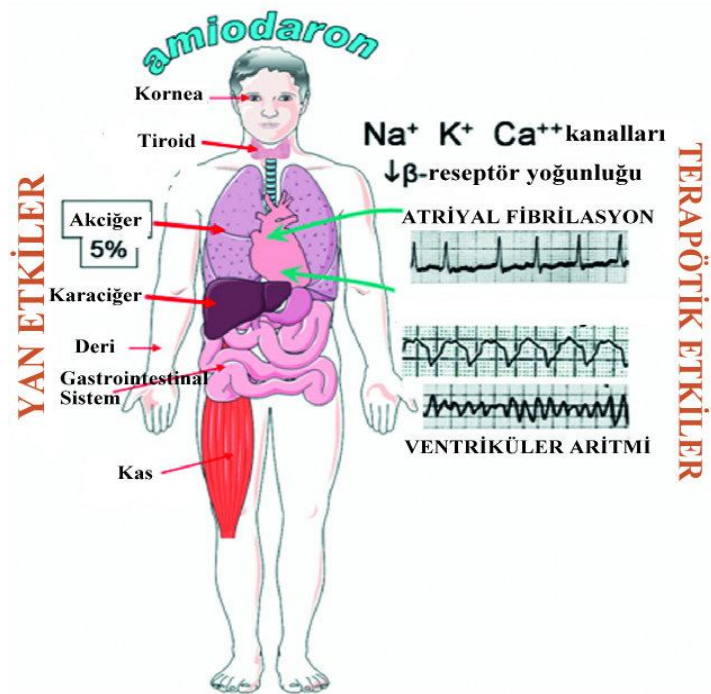
Amiodaron, kalp kası dokularında repolarizasyonu uzatmaktadır. Kanal inaktivasyonu yeteneği ile sodyum kanallarını bloke edici etkisi mevcuttur. İlacın aynı zamanda antifibrilasyon özelliği de vardır (Singh ve Williams, 1970; Goupil ve Lenfant, 1976; Yabek ve diğ., 1985).

2.2.3. Amiodaronun Hemodinamik Özellikleri

Amiodaron, sistemik ve koroner resistansı artırma etkisiyle düz kasları gevşetmektedir, koroner kan akışını hızlandırmaktadır, kalp kası oksijen tüketimini de azaltmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından amiodaronun yarışmasız alfa ve beta antagonisti özelliği olduğu da belirtilmiştir (Charlier ve diğ., 1968).

2.2.4. Amiodaron Toksisitesinin Meydana Geldiği Dokular

Amiodaron toksisitenin meydana geldiği dokular başta karaciğer olmak üzere, akciğer, tiroid bezleri, böbrek, testis, göz, kas gibi doku ve organlar ile gastrointestinal sistem olarak tanımlanmaktadır. İlacın terapötik ve yan etkilerinin vücuttaki dağılımı Şekil 2.7’de gösterilmektedir.

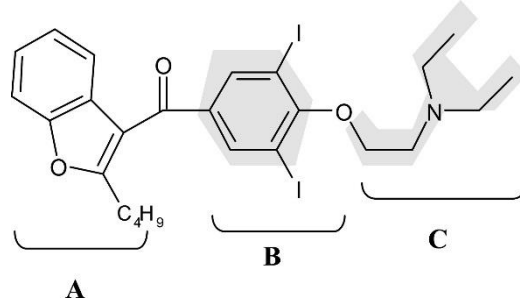


Şekil 2.7: Amiodaronun terapötik ve yan etkilerinin vücutta dağılım şeması
(Kapatou ve diğ., 2010).

2.3. AMİODARON İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER TOKSİSİTESİ

Amiodaronun karaciğerde meydana getirdiği toksisite birçok nedene bağlıdır. Bu yolların hepsi birbiriyle ilişkilidir. Bu yollar, amiodaronun molekül yapısı, metabolize edildiği enzim sistemini ve ayrıca mitokondride gerçekleşen solunum zinciri ile serbest yağ asitlerinin β -oksidasyonunu inhibe etmesi olarak sayılabilmektedir.

Amiodaronun, dokularda birikerek toksik etki oluşturmada yapısal faktörlerin de yer aldığı bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Halliwell, 1997).



Şekil 2.8: Amiodaronun molekül yapısı

(<http://ajplung.physiology.org>).

A yapısı, amiodaronun benzofuran halkası ve butil yan zincirini, B yapısı diiyodobenzen halkasını, C yapısı ise dietilamino bağlantısını belirtmektedir (Şekil 2.8). Karaciğerde meydana gelen toksisitenin sebebinin benzofuran halkası olduğu, benzofuran halkası taşımayan amiodaron analoglarının karaciğerde toksisite oluşturmadıkları Spaniol ve diğ. (2001) tarafından belirtilmiştir. Benzofuran halkasının hidrofobik özellikte olması moleküle, henüz iyonize hale geçmeden önce membrandan kolayca geçebilme olanağını sağlar. Buna ek olarak, B yapısında yer alan halojen grubu yani iki iyod molekülü, amiodaronun biyolojik ve farmakolojik özelliklerini ve lipofilik özelliğini arttırmaktadır. Böylece amiodaron, membrandan daha da kolay bir şekilde geçebilir. C yapısı ise amiodaronun hidrofilik kısmını oluşturur, böylece amiodaron iyonize hale geçtiğinde, molekülün membranda tutunmasını ve membranöz değişikliklerin oluşmasını sağlar (Şekil 2.8).

Sitokrom P₄₅₀ sistemi, dışardan alınan ilaç ve kimyasal maddeleri metabolize eden sistemdir. Bu enzimler, hepatositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Karaciğer

dışında bağırsaklar, böbrekler, akciğer ve beyinde, büyük ölçüde de hücrelerin düz endoplazmik retikulumunda yer alırlar. Sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi, “hem” içeren proteinlerdir ve en yüksek miktarda karaciğerde bulunurlar. 450 rakamı, “hem” grubu içeren pigmentlerin, karbonmonoksit bağlanmasından sonra absorbe ettiği ışığa ait dalga boyunun nanometre olarak en yüksek değerini ifade etmektedir (Yüksel, 2001).

Bu enzimler, hidroksilasyon, dealkilasyon, deaminasyon, N-oksidasyon ve sulfoksidasyon gibi oksidatif tepkimeleri katalize ederler. Gerçekleştirilen reaksiyon çeşitlerine göre Faz I ve Faz II enzimleri olmak üzere genel bir sınıflandırma yapılmaktadır. Faz I enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar redoks reaksiyonları başta olmak üzere, hidroksilasyon ve demetilasyon gibi reaksiyon çeşitleridir. Bu reaksiyonlar sayesinde xenobiyotikler, metabolizma olmaları sırasında gerçekleşecek olan ikinci reaksiyon grubuna yani Faz II reaksiyonlarına hazırlanmış olurlar. Faz II reaksiyonlarını katalizleyen enzimler, glukuronat ve sülfat konjugasyonu ile asetilasyon reaksiyonlarını gerçekleştirirler (Yüksel, 2001).

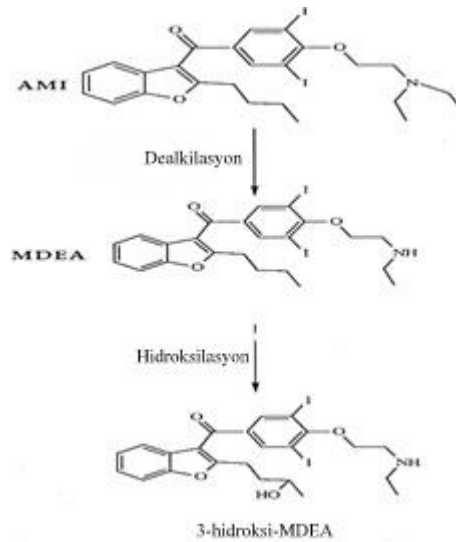
Her dokuda sitokrom P₄₅₀ enzimlerinin dağılımını ve gen ifadelerini oluşturan düzenekler, kendine özgü olup genetik olarak belirlenirler. İnsanlarda, şimdiye kadar saptanmış olan 12 adet sitokrom P₄₅₀ gen ailesi vardır. Saptanabilmiş olan gen sayısı ise 50 kadardır. Enzimler, amino asit sıralamasındaki benzerliklere göre gruplandırılırlar. Bu gen ailelerinden yalnızca 3 tanesi ilaçların metabolizmasından sorumludur. Bunlar;

- 1- Sitokrom P₄₅₀ 1 (CYP 1)
- 2- Sitokrom P₄₅₀ 2 (CYP 2)
- 3- Sitokrom P₄₅₀ 3 (CYP 3)

Alt gruplar büyük harflerle gösterilir ve bu gruplarda her bir enzim ayrı ayrı sayılarla gösterilir: CYP3A4. Tek bir hepatosit değişik P₄₅₀ enzimlerini içerebilir. Bir enzimin birden fazla ilacı metabolize edebileceği gibi, bir ilaç birden fazla enzim sayesinde de metabolize edilebilir (Yüksel, 2001).

Amiodaron, sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi tarafından CYP3A4 alt grup enzimleri ile metabolize edilmektedir. Bu sistem tarafından meydana getirilen metabolizma reaksiyonları beş adettir: N-dealkilasyon (N-deetilasyon), hidroksilasyon, O-dealkilasyon, deiyodinasyon ve glukuronidasyon. N-dealkilasyon, amiodaronun

insanlarda gerçekleşen metabolizmasındaki en önemli reaksiyondur (Trivier ve diğ., 1993; Soyama ve diğ., 2002). Dealkilasyon ile oluşan metabolitlerden biri olan mono-N-desetilamiodaron (MDEA), amiodaron ile bazı farmakolojik ve toksikolojik özellikleri paylaşmaktadır. Amiodaron tedavisinin uzun süreli devam etmesi halinde, oluşan elektrokardiyografik değişikliklerin bu metabolit ile ilişkili olabileceği bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Kharidia ve Eddington, 1996; Kodama ve diğ., 1999). N-dealkilasyon ile oluşan diğer metabolit di-desetilamiodarondur (DDEA). Hem MDEA hem de DDEA'un solunum zincirinin güçlü inhibitörleri olduğu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunda önemli rol oynadıkları Zahno ve diğ. (2011) tarafından yapılan çalışmada ortaya konulmuştur (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Amiodaronun metabolizması

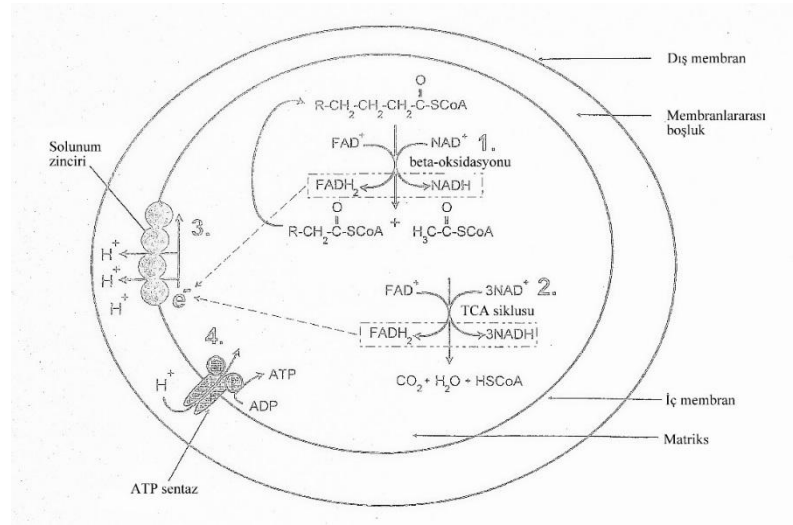
(<http://dmd.aspetjournals.org>).

Karaciğerde amiodaron ile meydana gelen toksisitenin çeşidi ise mitokondriyel hepatotoksisite olarak isimlendirilmektedir. Mitokondride hepatotoksisite oluşmasının nedenleri, karaciğerin enerji metabolizması açısından incelendiğinde, β -oksidasyonu ve solunum zincirinin inhibe edilmesi olarak sıralanabilir.

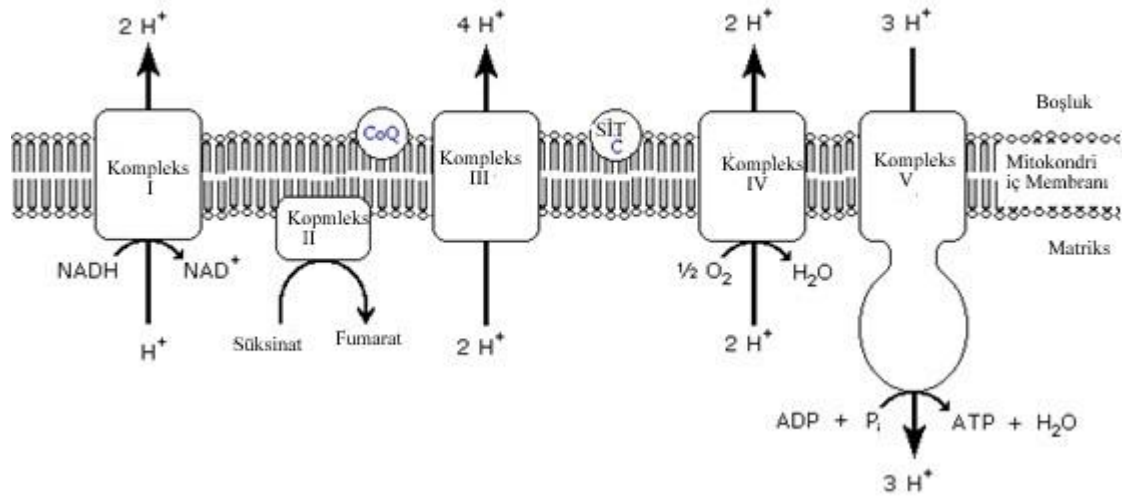
Normal şartlar altında bir hepatosit mitokondrisi, enerji kaynağı olarak kullandığı ATP'nin üretimi açısından, serbest yağ asidlerinin metabolize edildiği β -oksidasyon

yolunu kullanmaktadır. Hepatosit mitokondrisinin glukozun hidrolizi gibi bazı metabolik yollara göre β -oksidasyonu daha çok tercih etmesinin nedeni ise mitokondrinin ihtiyacı olan ATP'nin üretiminin β -oksidasyonda daha fazla olmasıdır (Darnell ve diğ., 1990). Kısa (4-6) ve orta (6-14) zincirli yağ asitleri, mitokondri membranını hiçbir engele takılmadan geçebilirken, uzun (14-18) zincirli yağ asitlerinin mitokondri membranını geçebilmeleri için özel transport sistemine ihtiyaçları vardır. Uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye transportu, sitosolde yağ asidinin koenzim A ile esterleşme reaksiyonu ile başlar, ardından mitokondri matriksine membran translokaz enzimleri ile transportları gerçekleşir. Mitokondri matriksine girişleri gerçekleştikten sonra iki durum gerçekleşebilir. Birincisi, bütün yağ asitleri koenzim A tiyoesterleri şeklinde β -oksidasyona girmesidir. İkinci yol ise yağ asitlerinin triaçilgliserol şeklinde depo edilmesidir (Fromenty ve Pessayre, 1995).

Her β -oksidasyonunda, elektronlar NAD^+ ve FAD moleküllerine aktarılır, sonuçta NADH ve FADH_2 oluşur. Her bir asetil CoA, TCA siklusuna girer ve bu siklusun sonunda ise üç mol NADH ve bir mol FADH_2 oluşur. Bu iki metabolik yolun sonucunda oluşan NADH ve FADH_2 'ler, elektronlarını moleküler oksijene aktarırlar. Bu aktarımın sonucunda su oluşurken aynı zamanda elektron aktarımı sırasında çıkan enerji sayesinde ATP sentezi de gerçekleşmiş olur. NADH ve FADH_2 'nin oksidasyonu neticesinde, elektronlar, mitokondri iç membranında meydana gelen solunum zincirinde yer alan protein komplekslerine adım adım aktarılır. Solunum zincirinde elektron transportu süresince, protonlar membranlar arası boşluğa pompalanmaktadır, böylece membranın iç kısmına göre bir konsantrasyon gradienti ve elektriksel potansiyel oluşur. ATP'nin sentezi için, protonların mitokondri iç membrana doğru oluşturdıkları bu elektrokimyasal gradient gereklidir (Stravitz ve Sanyal, 2003; Rolo ve diğ., 2012) (Şekil 2.10 – Şekil 2.12).



Şekil 2.10: Mitokondride meydana gelen enerji reaksiyonlarının solunum zinciri ile ilişkisi (Stravitz ve Sanyal, 2003).

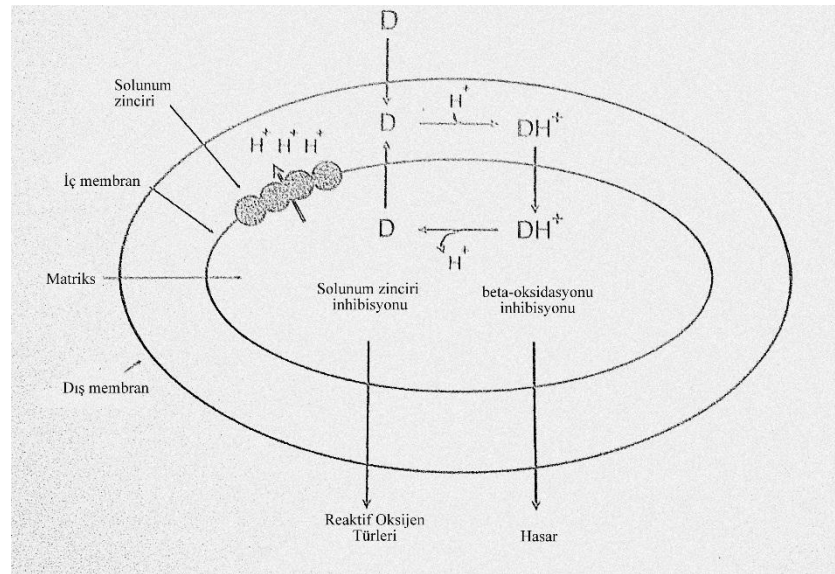


Şekil 2.11: Solunum zinciri mekanizması (<http://www.theoneclickgroup.co.uk>).

Amiodaron gibi katyonik amfifilik ilaçlar, β -oksidasyonun ve solunum zincirinin inhibisyonuna neden olurlar. Amiodaron, nötr bir halde hücreye ulaşır. Ancak, mitokondri dış membranından geçtiği anda, iç ve dış membran arasında yer alan boşluğun asidik alan olması, ilacın protonlanmasına ve dolayısıyla bu yeni haliyle elektrokimyasal olarak mitokondri matriksine geçmeye zorlanır. Matriksin dış ortama göre alkali olması sebebiyle, proton serbest kalır. Amiodaronun tekrar nötr hale gelmesi

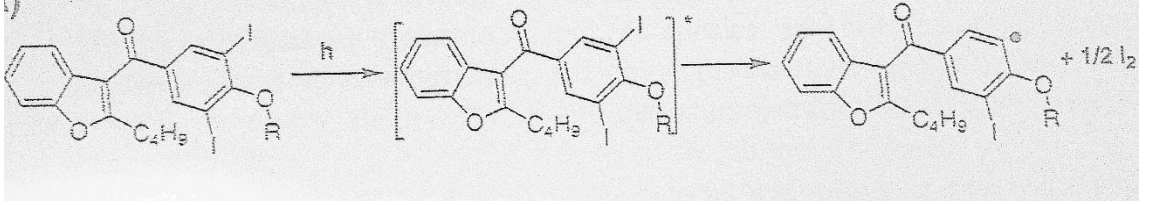
ile amiodaron membranlar arası boşluğa geri gönderilir, burada protonlanır ve matrikse yeniden giriş yapar, protonunu bırakır. Bu şekilde oluşan kısır döngü nedeni ile amiodaron, elektron transport zincirinde ATP sentezi gerçekleşmeksizin ortamdaki proton konsantrasyonunu artırmaya başlar. Amiodaronun taşıdığı protonlardan dolayı mitokondri matriksi asidik hale gelir ve amiodaron konsantrasyonu da artmış olur. İlacın konsantrasyonunun artması ile solunum zinciri enzimleri inhibe edilir, dolayısıyla proton gradienti ile ilişkili olarak hücrenin ATP sentezi de azalmaya başlar (Şekil 2.12).

Solunum zincirinin inhibe edilmesi ile NADH'nin oksidasyonu da sınırlanır. Bununla birlikte, amiodaron indirekt olarak β -oksidasyonunda yer alan enzimleri de inhibe etmektedir, dolayısıyla NAD^+ deposunda da azalma başlar. β -oksidasyonunun bu şekilde inhibe olması sonucunda da hücredeki ATP düzeylerinde azalma meydana gelir (Dechamps ve diğ., 1994).



Şekil 2.12: Amiodaronun hücre içindeki etkileşimleri
(Stravitz ve Sanyal, 2003).

Bununla birlikte Nicolescu ve diğ. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, amiodaronun solunum zincirinde kompleks I üzerinde inhibitör etki göstermesinin nedeni şu şekilde açıklanmıştır. Amiodaron, solunum zincirinin aksaması ile zincirden kurtulan elektronlardan birini alarak aril radikali haline geçer (Şekil 2.13). Bu yeni haliyle kompleks I'de yer alan proteinleri ile etkileşir. Bu durum da kompleks I proteinlerinin inhibisyonuna yol açar.



Şekil 2.13: Amiodaronun radikal haline geçmesi reaksiyonu

(Nicolescu ve diğ., 2007).

2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

2.4.1. Serbest Radikaller

Elektronlar, atomlarda orbital olarak adlandırılan bölgelerde bulunurlar. Her orbital zıt spinli olmak üzere maksimum iki elektron içerebilmektedir (Halliwell, 1989). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (Mercan, 2004). Elektronlar, ancak orbitallerde bir çift halinde bulundukları zaman daha stabil durumda olurlar (Halliwell, 1989) ve bundan dolayı yapılarında çiftleşmemiş elektron ve elektronları ihtiva etmeleri, serbest radikallerin reaktivitelerinin arttırılması için son derece önemli bir durumdur. (Valko ve diğ., 2006). Bu radikaller, kovalent bağların homolitik olarak kırılması, normal bir molekülün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transfer edilmesi ile oluşmaktadır (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijenin bir molekül olarak zehir etkisi göstermesi, 1954 yılında Gershaman ve ekibini, oksijenin toksisitesi ve indirgenmiş türleri üzerinde çalışma yapmaya yöneltmiştir. Böylece serbest radikal teorisi 1954 yılında ortaya atılmıştır. 1956 yılında, Harman tarafından, serbest radikallerin yaşlanma proseslerinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Bu yaklaşımla birlikte, biyolojik sistemlerde serbest radikallerin etkisi araştırılmaya başlanmıştır (Valko ve diğ., 2007).

Serbest radikaller, oksijen, azot, sülfür ve klor türleri olmak üzere sınıflandırılabilirler ve bu türler, gerek normal metabolizma ürünleri tarafından gerekse organizmada reaksiyonlar sırasında meydana gelen aksaklıklardan dolayı meydana gelmektedir. Aerobik organizmalar, yaşamda kalabilmek için oksijeni kullanırlar (Eşrefoğlu, 2009). Oksijenden türeyen ve organizma için en önemli serbest radikaller, *reaktif oksijen türleri* (ROT) olarak adlandırılan oksijen türevli serbest radikallerdir (Mercan, 2004). Azottan meydana gelen serbest radikallere ise *reaktif azot türleri* (RAT) adı verilir. Oksijen, azot, sülfür ve klor kaynaklı bazı serbest radikaller Tablo 2.1’de gösterilmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002; Gruhlke ve Slusarenko, 2012).

Tablo 2.1: Oksijen ve azot kaynaklı bazı serbest radikaller.

Serbest radikaller			
Oksijen türevleri		Azot türevleri	
Tür	İsim	Tür	İsim
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen	NO	Nitrik oksit
O_2^-	Süperoksit	NO_2^-	Azot dioksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit	NO_2^+	Nitril katyonu
$^{\cdot}\text{OH}$	Hidroksil radikali	NO^-	Nitroksil
$\text{ROO}^{\cdot}$	Peroksi radikali	NO^+	Nitrozil
$\text{RO}^{\cdot}$	Alkoksi radikali	ONOO^-	Peroksinitrit
$\text{ROOR}^{\cdot}$	Endoperoksit	$\text{ONOO}^{\cdot}$	Peroksinitrit radikali
$\text{HO}_2^{\cdot}$	Hidroperoksi radikali	N_2O_3	Diazot trioksit
Serbest radikaller			
Sülfür türevleri		Klor türevleri	
Tür	İsim	Tür	İsim
RS.	Tiyil Radikali	$\text{Cl}^{\cdot}$	Klor radikali
$\text{RSO}^{\cdot}$	Sülfenil radikali		
$\text{RSO}_2^{\cdot}$	Tiyil peroksil radikali		
$\text{RSSR}^{\cdot-}$	Disülfid radikal anyonu		

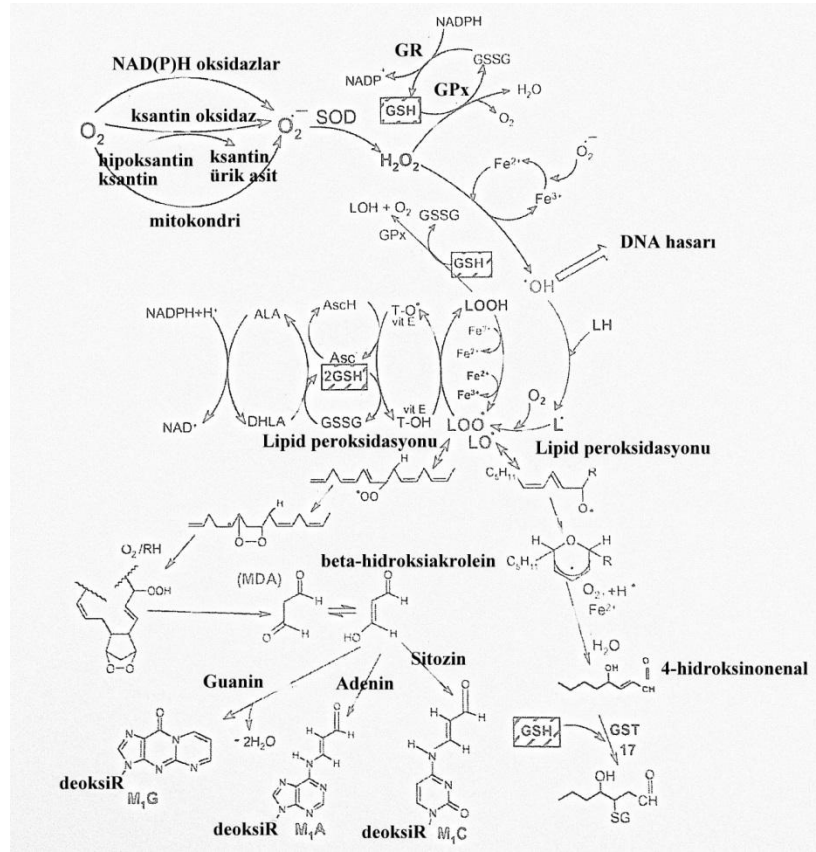
Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşabilirler. Eksojen ve endojen kaynaklı olan bazı serbest radikal kaynakları Tablo 2.2’de gösterilmektedir (Mercan, 2004).

Tablo 2.2: Serbest radikallerin kaynakları.

Serbest radikallerin eksojen kaynakları			
İlaçlar	Metal iyonları	Kirleticiler	Radyasyon
Aminotriazol	Bakır	Asbest lifleri	Ultraviyole ışık
Asetaminofen	Civa	Bazı solventler	Gama radrasyon
Bleomisin	Demir	Hipoklorit	X-ışınları
Doksorubisin	Kadmiyum	Karbonmonoksit	
Hiperbarik oksijen	Klor	Kükürtdioksit	
Siklosporin	Nikel	Mineral tozlar	
Trisiklik antidepresanlar		Nitrik oksit	
		Ozon	
		Silika	
		Toksinler	
Serbest radikallerin endojen kaynakları			
Oksijenli solunum		Oksidan enzimler	
Mitokondriyal elektron taşıma zinciri		Plazma membranı	
Araşidonik asid metabolizması		Geçiş metalleri	
Fagositik hücreler		Malabsorbsiyon ve ağır egzersizler	
Kronik hastalıklar		Otoksidasyon reaksiyonları	

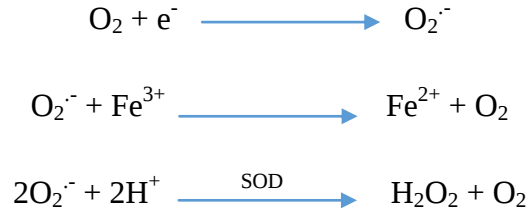
2.4.2. Serbest Radikal Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri (RAT), sülfür ve klor kaynaklı reaktif oksijen türleri, normal hücresel metabolizmasının ürünleridir. ROT ve RAT canlı sistemlerde hem yararlı hem zararlı etkilerinden dolayı çifte role sahiptir. Yararlı etkiler, ROT ve RAT'nin ortamda düşük konsantrasyonda bulundukları zaman, hücrenin zararlı ajanlara karşı savunulması ve hücre sinyal sistemlerinin fonksiyonlarının korunması olarak sayılabilir. Fakat, yüksek konsantrasyonda bulunmaları, oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılan potansiyel biyolojik hasarı meydana getirir. Bu hasarın meydana gelmesi, RAT ve ROT'nin yüksek konsantrasyonda bulunması sonucunda, hücrenin savunma sisteminde çökme meydana gelir. Bu savunma sistemlerine antioksidan sistemler denir. Enzimatik veya non-enzimatik antioksidanların bu koruyucu mekanizmalarının zarar görmesi ile birlikte, oksidatif hasar, yaşamsal faaliyetin sürdürülmesinde gerekli olan tüm siklusları etkiler, karbohidrat, protein, lipid ve DNA gibi makromoleküller radikal türevli hasarlara maruz kalır, böylece yaşlanma mekanizmasının hızlanmasının yanı sıra, kanser, ateroskleroz, artrit, nörodejeneratif bozukluklar gibi hastalıklar meydana gelir. Reaktif oksijen türlerinin hücre bazında makromoleküller üzerinde meydana getirebileceği hasar Valko ve diğ. (2007) tarafından şematik olarak özetlenmiş ve Şekil 2.14'te gösterilmiştir.

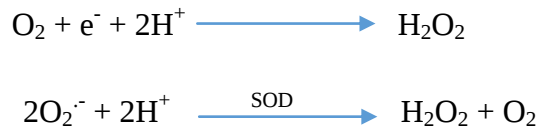


Şekil 2.14: Reaktif oksijen türlerinin meydana geliş yolları ve makromoleküller ile etkileşimleri sonucunda meydana gelen ürünler (Valko ve diğ., 2006).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), moleküler oksijene bir elektron eklenmesi ile oluşur. Oldukça aktif ve kuvvetli bir indirgeyicidir. Süperoksit anyonu, metabolik prosesler yoluyla veya fizyolojik olarak oksijenin aktivasyonu ile meydana gelebildiği gibi, enzim ve metal katalizli reaksiyonlar ile de oluşabilir. Serbest radikal özelliği taşımasına rağmen, direkt olarak polipeptitler, karbohidratlar, nükleik asitler veya lipidler ile etkileşime girmez. Bununla beraber, H_2O_2 kaynağıdır, geçiş metallerini indirgeme özelliğinden dolayı da önemlidir. Süperoksit radikali, *süperoksit dismutaz* (SOD) enzimi ile dismutasyon reaksiyonu sonucunda, H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürülür. Süperoksit radikalının oluşumu ve SOD enzimi ile gerçekleşen dismutasyon reaksiyonları şu şekilde gerçekleşir:



Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin iki elektron ile indirgenmesi veya süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonu sonucu oluşmaktadır.



Hidrojen peroksit, yapısında çiftleşmemiş elektron bulundurmamaktadır. Radikal özelliği taşımadığı halde, biyolojik sistemler için son derece önemlidir. Çünkü hidrojen peroksit, hidroksil radikali oluşturmak üzere *Fenton reaksiyonu* olarak bilinen ve (bakır veya) demir iyonları ile reaksiyona girebilir veya süperoksit radikali ile *Haber-Weiss reaksiyonu* olarak bilinen mekanizmaya katılabilir.

Fenton reaksiyonu:



Haber-Weiss reaksiyonu:



Hidrojen peroksit, hücresel düzeyde *katalaz* ve *glutasyon peroksidaz* enzimleri ile giderilmektedir.

Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarının yanısıra iyonize edici radyasyon ve alkilhidroperoksitlerin bozunması yolları ile de oluşmaktadır. Yarılanma süresi 1ns kadar kısa bir süredir ve oldukça kuvvetli bir radikaldir. DNA bazlarına veya DNA'nın deoksiriboz iskeletine etki ederek yapıda hasar meydana getirmektedir.

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), moleküler oksijenin dış orbitallerinde bulunan elektronlardan birinin enerji alarak spin değiştirmesi ile oluşur. Bu yolla meydana gelen singlet oksijen, çok aktif bir yapı olup membran lipidleri ve bunun gibi birçok molekülü oksitleyebilecek özelliktedir (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Peroksil radikalleri, lipid peroksidasyonu sürecinde çoklu doymamış serbest yağ asitlerinden bir hidrojen atomu ayrılması sonucunda oluşur ve hem süperoksit hem de hidroksi radikallerinden daha uzun ömürlüdür. Peroksil radikali hücrede difüzyon ile yer değiştirerek hücrenin farklı yerlerinde peroksidasyonu başlatabilir. Lipid peroksidasyonunun daha ileriki aşamalarında ise alkoksil ve diğer hidroperoksil radikalleri oluşur (Gülçin, 2012).

RAT'nin fazla miktarda üretilmesi sonucunda nitrosatif stres oluşmaktadır (Klatt ve Lamas, 2000). Oluşan nitrosatif stres sonucunda yapıdaki azot ile protein molekülleri etkileşmesi ile protein yapılarında değişiklikler meydana gelmektedir. Bilinen en önemli RAT olan *nitrik oksid* ($\text{NO}^\bullet$), yarılanma süresi birkaç saniye olan bir radikaldir. Sitoplazma ve plazma membranını kolaylıkla aşarak hücre içine difüze olur. Süperoksit radikali ile birleşerek oksidatif açıdan daha da aktif olan *peroksi nitrit* (ONOO^-) radikalini meydana getirirler. Peroksi nitrit radikali de DNA parçalanmasına ve lipid peroksidasyonuna yol açar. Proteinler ile etkileşmeye girerek protein S-nitrozotiyolleri oluşturur. Protein S-nitrozotiyollere örnek olarak S-nitroalbumin, nitrozohemoglobin ve S-nitrozosistein örnek verilebilir (Valko ve diğ., 2006). RAT ile ilgili reaksiyonlardan bazıları aşağıda gösterilmektedir:



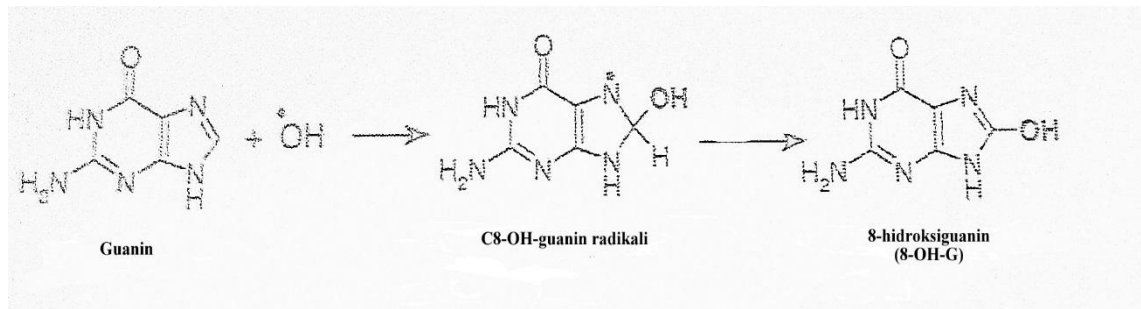
Reaktif kükürt türleri, başlıca sülfür merkezli radikaller olup en önemlileri tiyil radikalleridir ($\text{RS}^\bullet$). Alifatik tiyoller (RSH) canlılarda yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Karbohidratlar, proteinler ve lipidler gibi biyomoleküllerin maruz kaldıkları serbest radikal saldırılarına karşı tiyil radikaline dönüşerek söz konusu biyomolekülleri onarıcı birer ajan gibi davranırlar.

Reaktif karbon türlerinin oluşumu ise daha çok karbon tetraklorüre maruz kalmış olan dokularda gözlenir. Sitokrom P₄₅₀ sistemi, oksijenle birlikte reaksiyona girerek çeşitli serbest radikalleri meydana getiren triklorometil ($\cdot\text{CCl}_3$) radikalini oluşturur (Leray, 2011).

2.4.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Zararları

2.4.3.1. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Nükleik Asid ve DNA hasarı

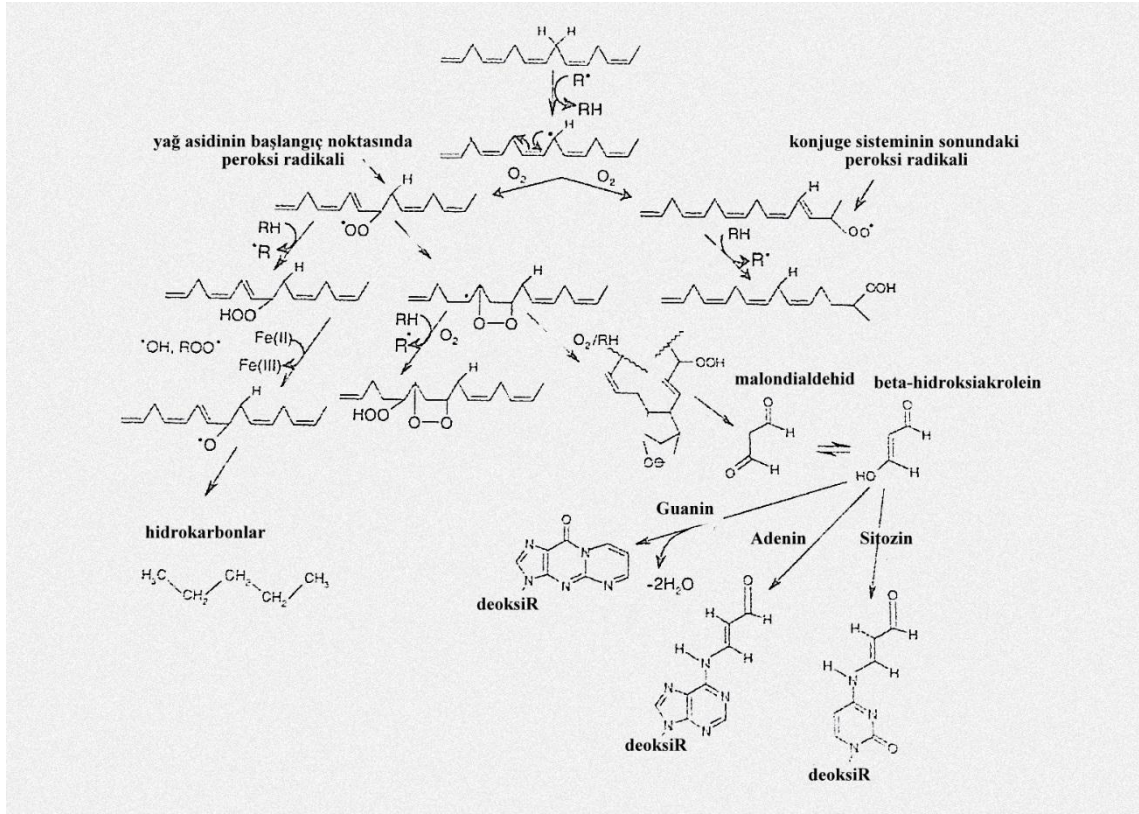
ROT, birçok reaksiyon ve metabolik yolla oluşmaktadır. Literatürde, yapılan hesaplara göre yaklaşık olarak bir insan hücresinin bir gün içinde maruz kaldığı oksidatif ajan sayısı 1.5×10^5 olarak belirtilmiştir (Beckman ve Ames, 1997). Hidroksi radikali, purin ve pirimidin bazları ile etkileşerek deoksiriboz iskeletini zarar verir ve guanin ile 8-hidroksiguanin oluşur. Bunun sonucunda, modifikasyonlar kalıcı hale gelir, mutajenez, karsinogenez ve yaşlanma gibi prosesler başlar (Valko ve diğ., 2006). RAT'nde ise peroksi nitrit ve nitrik oksit ile purin ve pirimidin bazları ile aynı etkileşime girerek, guanin ile 8-nitroguanidin oluşturulmaktadır (Brown ve Borutaite, 2001). Şekil 2.15'te guanin ile hidroksil radikalının reaksiyonu gösterilmektedir.



Şekil 2.15: Guanin ile hidroksil radikalının reaksiyonu
(Valko ve diğ., 2006).

2.4.3.2. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri

Oksijen radikallerinin lipid bileşenleri ile reaksiyona girerek, lipid peroksidasyonunu başlatmaları, bu radikallerin lipidlere verdiği yapısal zararın başında gelmektedir. Fenton reaksiyonu sonucunda oluşan hidroksil radikali, hücrenin bileşeni olan doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girer böylece peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, zincir reaksiyon şeklinde devam ettiği için son derece zararlıdır. Lipid peroksidasyonu reaksiyonları Şekil 2.16'da gösterilmektedir (Valko ve diğ., 2006).



Şekil 2.16: Lipid peroksidasyonu reaksiyonları ve oluşan ürünlerin diğer moleküller ile etkileşimi

(Valko ve diğ., 2006).

Lipid peroksidasyonu reaksiyonları üç aşamadan oluşmaktadır: başlangıç, zincir uzatma ve sonlanma reaksiyonları. Radikallerin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucunda en çok bilinen peroksidasyon ürünü olan malondialdehid ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) meydana gelir. Malondialdehid bakteri ve memeli hücrelerinde

mutajenik etkiye, sıçanlarda da kanserojenik etkiye sahiptir ve DNA bazları ile yeni ürünler oluşturabilmektedir. HNE ise hücre sinyal iletim sistemleri üzerinde son derece güçlü bir etkiye sahiptir ve hücrelerin fenotipik karakterleri zarar görmektedir.

2.4.3.3.Serbest Radikallerin Proteinler Üzerindeki Etkileri

ROT tarafından proteinlerin oksidasyon mekanizmaları, amino asitler, basit peptidler ve proteinler üzerinde, gerek iyonize radyasyon gerekse oksijen radikalleri ile yapılan deneyler sonucunda değerlendirilmiştir (Stadtman, 2004). Bu çalışmalardan çıkan sonuç, hidroksi radikali tarafından protein polipeptit iskeletindeki bir hidrojen atomunun koparılması ile karbon merkezli yeni bir protein radikali meydana gelmesi şeklindedir. Aerobik koşullar altında kolaylıkla oksijen ile peroksi radikalleri oluşur (Stadtman, 1992). Meydana gelen peroksi radikalleri, süperoksid radikali ile reaksiyona girerek alkil peroksitleri oluştururlar. Proteinlerin alkil peroksitler ile reaksiyonu, peptit bağlarını bölerek yapıyı bozar. Alkil peroksitlerin peptit bağlarına bu şekilde hasar vermesinin yanı sıra, hidroksi radikali polipeptit zincirindeki glutamik asid ve prolin gibi amino asidlere de saldırır ve yine peptit bağı bölünmesi meydana gelir. Uzun süreli oksidatif hasarlarda, akonitaz ve adenin nikleotit translokaz gibi iki önemli mitokondiyal proteinin hasara uğradığı literatürde belirtilmiştir (Stadtman, 2004).

2.4.3.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerindeki Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlara etkileri ile çeşitli ürünler meydana gelir. Monosakkaridlerin otoksidasyonu sonucu, hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehidler oluşur. Oksoaldehidler ise DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliğine sahiptir. Bundan dolayı, kanser ve yaşlanma gibi olaylarda rol alırlar (Akkuş, 1995; Valko ve diğ., 2007).

2.4.4. Antioksidanlar

Oksijenin zehir potansiyeli taşımaya rağmen, aerobik organizmalar tarafından kullanılması gereklidir ve oksijenden kaynaklanabilecek zararlar ile mücadele için antioksidan sistemlere ihtiyaç vardır (Halliwell, 2007). Bir antioksidanın iyi bir antioksidan olarak değerlendirilebilmesi için şu şartları sağlaması gerekmektedir (Valko ve diğ., 2007):

- a- Spesifik olarak serbest radikalleri yakalaması
- b- Redoks metallerini kelatlayabilmesi
- c- Diğer antioksidanlar ile birlikte çalışabilmesi
- d- Gen ekspresyonu üzerinde pozitif bir etkisi olması
- e- Kolaylıkla absorbe edilebilmesi
- f- Fizyolojik olarak dokularda ve biyolojik sıvılarda belli bir konsantrasyonda bulunabilecek olması.

Antioksidan savunma sistemleri, serbest radikallerin ortamdan direkt olarak ihraç edilmesine ve böylece biyolojik olarak maksimum korumanın gerçekleşmesini sağlarlar. Serbest radikal merkezli oksidatif stres için antioksidan savunma mekanizmaları dört adettir:

- 1- Koruyucu mekanizma
- 2- Onarma mekanizması
- 3- Fiziksel savunma
- 4- Antioksidan savunma (Valko ve diğ., 2007).

Antioksidan sistemler, enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılmaktadır:

2.4.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, serbest radikallere karşı, hücre savunmasındaki en etkili antioksidanlardır, bunlar süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz olarak sayılabilir (Mates ve diğ., 1999).

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit anyonunun oksijene ve daha az zararlı olan hidrojen perokside dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. SOD, aktif merkezinde bulunan metale ve amino asid iskeletine göre, kofaktörler ve alt ünitelere göre çeşitli izoformlarda bulunabilmektedir. İnsanlarda SOD'ın üç şekli bulunmaktadır: sitosolde yer alan Cu, Zn-SOD; mitokondriyal Mn-SOD ve ekstraselüler SOD (Landis ve Tower, 2005). SOD'ın süperoksit reaksiyonunu yok etmesindeki mekanizma, Ping-Pong mekanizması şeklinde gerçekleşmektedir (Mates ve diğ., 1999). Sitosolde yer alan Cu, Zn-SOD; spesifik olarak dismutasyon reaksiyonunu gerçekleştirir. Mitokondriyal Mn-SOD; anti-tümör aktiviteye sahip olan bir antioksidan enzimdir. Ekstraselüler SOD; tetramerik yapıda olup, hücrelerin bireysel olarak oksidanlarla savaşmasında etkilidir (Valko ve diğ., 2006).



Katalaz (CAT), peroksizomlarda lokalize olmuş bir enzimdir ve hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. CAT, bütün enzimler içinde en yüksek turnover sayısına sahip olan enzimdir, katalaz bir dakika içinde 6 milyon hidrojen peroksit molekülünü suya ve moleküler oksijene dönüştürmektedir.



Glutasyon peroksidaz (GPx), selenyum bağımlı bir enzimdir ve substrat olarak hidrojen peroksiti kullanabilmek için katalaz ile yapış halindedir. Düşük oksidatif stres durumlarında etkili olabilmektedir (Valko, 2006).



Glutasyon redüktaz (GR), okside glutasyonun redükte glutatyona indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir. NADP⁺-bağımlı bir flavoenzimdir. En önemli işlevi ise organizmada GSH gibi önemli antioksidanların indirgenmiş halde tutulmasını sağlamaktır (Tandogan ve diğ., 2011).

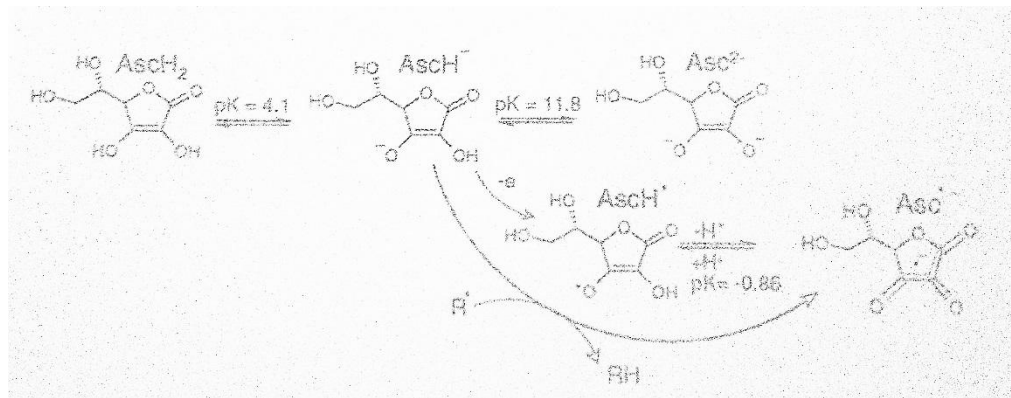


Glutatyon-S-transferaz (GST), başta araşidonik asid ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine larii selenyum bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Karaciğerde, sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizler (Akkuş, 1995).



2.4.4.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

C Vitamini (askorbik asid), organizmada son derece güçlü ve etkili bir antioksidandır, membranları oksidasyona karşı korumaktadır (Retsky ve diğ., 1999). Bu vitaminin primer antioksidan partnerleri E vitamini (α -tokoferol) ve karotenoitlerdir. C vitamini, membranlarda ve lipoproteinler üzerinde oluşan α -tokoferol radikallerinden yeniden α -tokoferol üretimini gerçekleştirirler (Carr ve Frei, 1999; Kojo, 2004). C vitamini, iki adet iyonize karakterli hidroksil grubuna sahiptir ve fizyolojik pH'da anyon halinde bulunur. Antioksidan özelliğini anyon halinde olduğu zamanlarda göstermektedir. C vitamininin radikaller ile reaksiyonları Şekil 2.17'de gösterilmiştir.



Şekil 2.17: C vitamininin antioksidan rolü ve radikal ile etkileşimi

(Valko ve diğ., 2006).

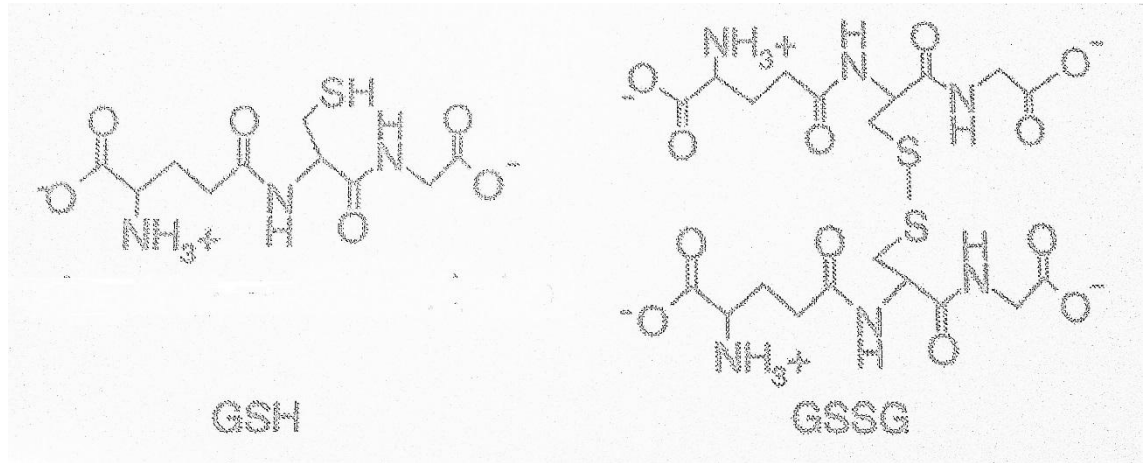
E vitamini (α -tokoferol), yağda çözünen bir vitamindir 8 farklı şekilde bulunmaktadır. İnsanlardaki en aktif formu α -tokoferoldür. E vitamininin ana görevi, hücreyi lipid

peroksidasyonuna karşı korumaktır. C vitamini ile birlikte siklus tipinde bir mekanizma ile beraber çalışmaktadır. Bu mekanizmaya Şekil 2.14'te yer verilmiştir.

Glutasyon, en önemli tiyol antioksidanlardır ve organizma için son derece önemli bir tripeptittir. Glutasyon, hücrenin tiyol-disülfid redoks tamponu olarak da isimlendirilmektedir (Masella ve diğ., 2005). Literatürlerde hücredeki konsantrasyonları, sitosolde 1-11 mM, çekirdekte 3-15 mM ve mitokondride 5-11 mM olarak verilmiştir. Glutasyonun oksidatif strese karşı temel rolleri şu şekilde sıralanabilir:

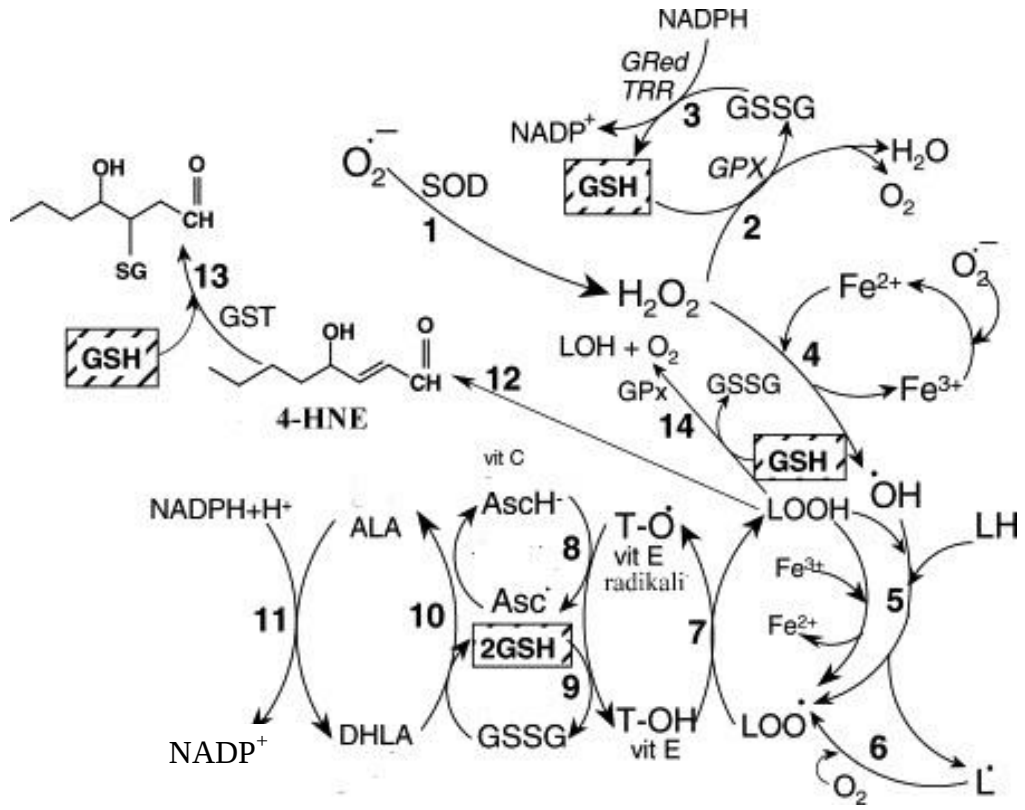
- 1- Glutasyon, oksidatif hasarda birçok detoksifiye edici enzimin kofaktörüdür (GPx ve GST gibi).
- 2- Plazma membranından amino asid transportunun gerçekleşmesinde rol alır.
- 3- Hidroksil radikalini ve singlet oksijen ile direkt reaksiyona girerek bu ajanları detoksifiye eder.
- 4- C vitamini ve E vitamininin aktif formlarına dönüştürülmesinde görev yapar.

Glutasyonun indirgenmiş ve yükseltgenmiş formları Şekil 2.18'de, antioksidan mekanizmadaki rolleri Şekil 2.19'da, protein sülfidril gruplarının korunmasındaki rolü ise Şekil 2.20'de gösterilmektedir.

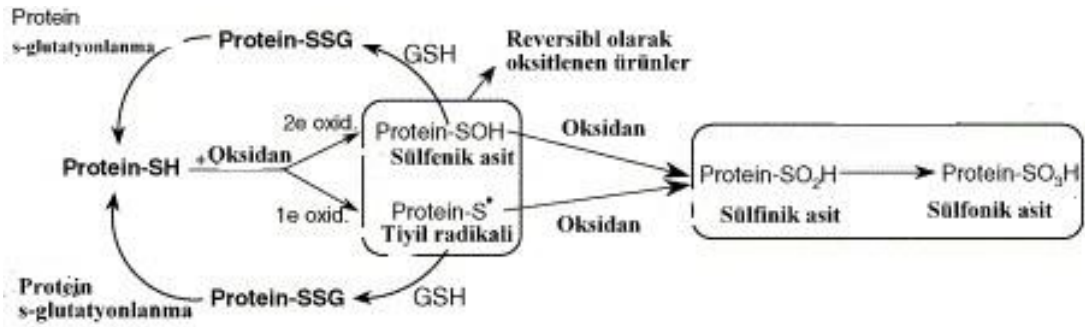


Şekil 2.18: İndirgenmiş glutasyon (GSH) ve yükseltgenmiş glutasyon (GSSG).

(Valko ve diğ., 2006)



Şekil 2.19: Glutatyonun antioksidan mekanizmadaki rolleri
(Valko ve diğ., 2006).



Şekil 2.20: Proteinlerin sülfidril gruplarının korunmasında glutatyonun rolü
(Valko ve diğ., 2006).

Ürik asid; normal plazma konsantrasyonlarında demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisiz hale getirerek antioksidan özellik göstermektedir. Singlet oksijen, süperoksit ve

peroksil radikallerini temizlemektedir. Lipid radikalleri üzerinde etkisi bulunmamaktadır (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

Karotenoidler ve retinoidler için verilebilecek en önemli örnek β -karotendir. Karotenoidler, singlet oksijeni baskılamakta, peroksit radikallerini temizlemektedir (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

Bilirubin; literatürlerde lipid peroksidasyonunu inhibe edici özelliği ve hidroksil radikallerini toplayıcı etkisi bildirilmektedir (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

Ubikinonlar; lipidlerde çözünen kinin türevi maddelerdir. Oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile birleşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engellemektedirler (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

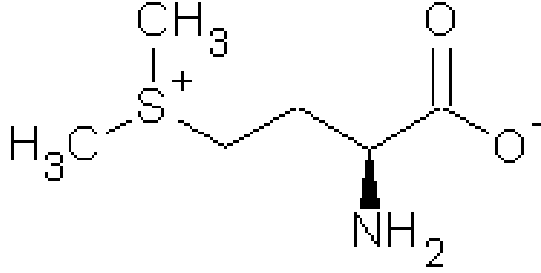
Polifenolik bileşikler, bitkiler aleminde geniş çapta yer alan fitokimyasal sınıflarından biridir. Yapılarındaki hidroksil grupları, antioksidan aktivitelerinin kaynağıdır. Bitkisel kaynaklı polifenoller, hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süprürücü ve indirgeyici gibi birden fazla fonksiyona sahiptir. Polifenolik antioksidanlar (PPH), peroksi radikale hızlı bir şekilde hidrojen atomu vererek, bu radikali alkil hidroperoksit yapısına dönüştürerek lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Oluşan polifenol radikali de bir başka hidrojen atomu daha vererek, kinonların oluşumu ile kararlı hale gelmekte veya fenoksil radikali gibi başka bir radikal ile reaksiyona girerel yeni bir zincir reaksiyonunu başlamadan kesmektedir (Cadenas ve Packer, 2002; Tsao, 2010).



2.5. U VİTAMİNİ

U vitamini, S-metil metiyonin sülfonyum klorür, ismini Latince *ulcus* kelimesinden almıştır. Lahana türleri başta olmak üzere, domates, ıspanak, mısır, kereviz, sarımsık gibi birçok yiyecek ve çiçekli bitkilerde bulunan bu madde, kükürtlü bir bileşiktir

(Ranocha ve diğ., 2001; Augspurger ve diğ., 2005, Racz ve diğ., 2008; Sokmen ve diğ., 2012). Vitaminlerin normal sınıflandırmasına girmediği halde vitamin olarak isimlendirilmektedir (Roche-Vitec, 1990). U vitamininin yapısı, şekil 2.21’te gösterilmektedir.



Şekil 2.21: U vitamininin kimyasal yapısı

(<http://www.chemistry.about.com>).

Kükürt, bitki gelişimlerinde, sistein ve metiyonin gibi esansiyel amino asitler ile glutatyon gibi önemli bir antioksidanın üretiminde, tohum gelişiminde, proteinlerin sentezinde rol alan önemli bir elementtir (Jander ve Joshi, 2010; Ufaz ve Galili, 2008). Kükürdün bu yararları ile beraber, U vitamininin bileşiminde yer alması, bu maddenin birçok alanda anantaja sahip olmasını sağlamaktadır.

U vitamini ile ilgili yapılan ilk araştırmalar, bu maddenin hipolipidemik etkisinin belirlenmesi yönünde başlamıştır. Seri ve ark. (1978 ve 1980) yaptığı çalışmalarda sıçanlar ve tavşanlar üstünde kolin eksikliği ve diyet etkileri ile oluşturulan hiperlipidemik çalışmalarda, U vitamininin hipolipidemik etki gösterdiği belirtilmiştir. Hipolipidemik etkisinin ise, dokularda gliserol-3-fosfat dehidrojenaz ve gliserol kinaz gibi lipid metabolizmasında önemli rolü olan enzimlerin aktivitesini inhibe ederek triaçilgliserol birikimini engellemesinden ileri gelmekte olduğu, Lee ve diğ. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada belirtilmiştir.

Daha sonraki çalışmalar ise, U vitamininin hipolipidemik etkisine ek olarak, molekülün yapısında yer alan sülfür bileşiminden dolayı mide koruyucu etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Salim (1991 ve 1993), Watanebe ve diğ. (2000) ile Ichikawa ve diğ. (2009) tarafından yapılan gastrik hasar çalışmalarında da mide mukozasını koruyucu etki gösterdiği kanıtlanmıştır.

U vitamininin, dermatolojide önemli bir rolü olup olmadığı da incelenmiştir. Yaraların iyileştirilmesi gibi mekanizmalarında önemli bir basamak olan keratinositlerin ve fibroblastların hücresel olarak büyümelerine pozitif etki yaparak, yara kapanmalarını hızlandırmaktadır (Kim ve diğ., 2010).

Bu etkilerinin yanı sıra, antiinflamatuvar (Urzaeva, 1976) ve antidepresan özelliklerinin olduğu belirlenmiştir. Karaciğerde, valproik asid ile oluşan karaciğer hasarına ve amiodaron ile oluşturulan tükürük bezi hasarına karşı U vitamininin koruyucu etkisinin bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Sokmen ve diğ., 2012; Oktay ve diğ., 2013).

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 27.09.2012 tarih ve 127 sayılı izni ile yapılmıştır. Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Enstitüsü'nden temin edilen 4-5 aylık Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deney süresince sıçanlar, pellet yem ve çeşme suyu ile beslendi. Rastgele seçilen ve deney öncesinde bir gece aç bırakılan sıçanlar dört gruba ayrıldı.

Grup I (n=6): Bu grubu oluşturan sıçanlar, kontrol grubu sıçanlarıydı. Bu hayvanlara yedi gün boyunca her gün, 09.00-10.00 saatleri arasında gavaj yöntemiyle, 1 mL mısır özü yağı verildi.

Grup II (n=7): Bu grubu oluşturan sıçanlara yedi gün boyunca her gün, 09.00-10.00 saatleri arasında gavaj yöntemiyle, tek doz halinde 50 mg/kg'lık U vitamini verildi. U vitamini suda çözülerek hazırlandı.

Grup III (n=8): Bu grubu oluşturan sıçanlar, akut karaciğer hasarının oluşturulabilmesi için yedi gün boyunca her gün, 09.00-10.00 saatleri arasında gavaj yöntemiyle, 100 mg/kg'lık amiodaron verildi. Amiodaron, mısır özü yağında çözülerek hazırlandı.

Grup IV (n=8): Bu grubu oluşturan sıçanlara, yedi gün boyunca her gün, gavaj yöntemiyle tek doz olarak 50 mg/kg'lık U vitamini verildikten 1 saat sonra yine gavaj yöntemiyle 100 mg/kg'lık amiodaron uygulandı.

Yedi gün boyunca bu işlemler yapıldıktan sonra bütün sıçanlar bir gece aç bırakıldı. Sekizinci günde bütün gruptaki sıçanların kanları anestezi altında steril enjektör ile alındı ve daha sonra karaciğer doku örnekleri çıkarıldı. Karaciğer dokuları 3 kez serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) ile yıkandıktan sonra, serum fizyolojik içinde -86°C'de saklandı.

3.1. SERUM ÖRNEKLERİ VE KARACİĞER DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI

Alınan kalp kanları 3000 rpm’de 15 dakika santrifüje edildi. Elde edilen serumlar, ayrı ayrı Ependorf tüplerine bölünerek, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkali fosfataz aktiviteleri tayin edildi. Kesim günü yapılan bu deneylerin ardından serum örnekleri kolesterol, total lipid ve total bilirubin miktar tayinlerinin yapılacağı güne kadar -86°C’de muhafaza edildi.

-86°C’de muhafaza edilen karaciğer dokuları, deney aşamasından önce bir gece boyunca -20°C’de bekletildi. Ardından +4°C’ye alınan karaciğer dokuları serum fizyolojik ile yıkanıp temizlendikten sonra süzgeç kağıdı ile kurutularak tartıldı. Dokular bir makas yardımı ile küçük parçalara ayrıldı. Gerekli miktarda serum fizyolojik ile soğuk ortamda cam homojenizatör yardımıyla çok çabuk homojenize edildi ve %10 (w/v)’luk çözelti hazırlandı. Hazırlanan bu homojenizatlar, +4°C’de soğutmalı santrifüjde, 10000 x g’de 30 dakika santrifüje edildi. Elde edilen süpernatantlarda, glutasyon ve lipid peroksidasyonu miktarları ile laktat dehidrojenaz, gama glutamil transferaz, mieloperoksidaz, paraoksonaz, adenosin dezaminaz, ksantin oksidaz, arginaz, sodyum-potasyum ATPaz, prolidaz, DT-diaforaz enzim aktiviteleri, protein karbonil miktarı ve tromboplastik aktivite tayinleri ile fukoz, heksoz, heksozamin miktarları tayin edildi.

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER

4-Aminoantipirin (Sigma A4382), Adenosin (Fluka A50148), L-Alanin (Riedel de Haën 39003), Amonyum molibdat (Merck 1181), Amonyum sülfat (Merck 1216), 2-Amino-4-naftil benzoik asid (Fluka 08751), Amiodaron (Sigma A8423), L-Arginin monohidroklorür (Merck 101543), Asetilaseton (Fluka 00900), Aseton (Merck 1000014), Asetik asid (Merck 100063), L-Aspartik asid (Merck 129), ATP (Aldrich A26209), Benzoik asid (Fluka), n-Butanol (Merck 100988), Demir-III-klorür hekza hidrat (Merck 3946), Diasetilmonoksim (Merck 2918), Dietanolamin (Sigma 31950), 2,4-Dinitro fenil hidrazin (Merck 3081), 2,6-Diklorofenol indofenol (Merck), p-Dimetilamino benzaldehid (Merck 3057), Dipotasyum tartarat (Merck 5160), 5,5’-

Ditiyobis-(2-nitro benzoik asid) (Fluka 43760), Fenol (Merck 5559), Fosforik asid (Merck 100563), m-Fosforik asid (Carlo Erba 407465), Fosfotungstik asid (Merck 582), Fukoz (Sigma D8150), Guanidin hidroklorür (Fluka 50950), Glisilglisin (Merck 104233), Glisilprolin (Sigma G3002), Glukozamin hidroklorür (Fluka 49130), L-Glutamik asid p-nitroanilid (Fluka 19523), Glutasyon (Fluka 49750), Hekzadesil trimetil amonyum bromür (Merck 814119), Hidroklorik asid (Merck 100314), Kafein anhidrid (Fluka 27600), Kalsiyum klorür (Fluka 21085), Kolesterol (Sigma C8503), Ksantin (Sigma X0626), Lityum sülfat (Riedel de Haën 13029), Magnezyum klorür hegzahidrat (Merck 63065), Mangan klorür tetrahidrat (Riedel de Haën 132-16), β -Nikotinamid adenin dinükleotid (Fluka 43420), Ninhidrin (Merck 6762), p-Nitrofenilfosfat (Merck), Ouabain oktahidrat (Sigma O3125), Paraokson etil (Fluka 36186), L-Prolin (Merck 107434), Potasyum dihidrojen fosfat (Riedel de Haën 04243), Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck 105101), Potasyum klorür (Merck 4935), Sodyum benzoat (Fluka 71295), Sodyum bikarbonat (Fluka 71628), Sodyum dihidrojen fosfat (Merck 106346), Disodyum hidrojen fosfat (Fluka 71642), Sodyum disülfid (Merck 6357), Sodyum sülfid (Merck 6652), Sodyum hipoklorit (Merck 105614), Sodyum karbonat (Merck 106392), Sodyum klorür (Merck 106400), Sodyum nitroprussiyat (Riedel de Haën 31444), Sodyum piruvat (Merck 6619), Sodyum potasyum tartarat (Merck 8085), Sodyum sitrat (Merck 6447), Sodyum volframat (Merck 6672), Sülfanilik asid (Merck 685), 2-Tiyobarbütirik asid (Fluka 88481), Trikloro asetik asid (Merck 100810), Tris (Merck 108387), 1,1,3,3-Tetra etoksi propan (Sigma T9889), U vitamini (Fluka 64382), Üre (Riedel de Haën 15604).

3.3. DENEYLERDE KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Buzdolabı : Arçelik

Çalkalayıcı Su Banyosu : Memmert WB 14

Çalkalayıcı Su Banyosu : Memmert WNB 14

Derin dondurucu : Beko

Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest 3000
Etüv	: Memmert UNB 500
pH Metre	: Hanna pH/ORPvMeter HI 2211
Santrifüj Cihazı	: Denley BS400
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-Visible Mini UV-1240
Su Banyosu	: Bibby Waterbath RE100B
Terazi	: Radwag XA 60/220/X Hassas Terazi
Terazi	: Radwag AS 220/C/2 Hassas Terazi
Vorteks	: Fisons Whirlimixer

3.4. SERUMDA ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Serumda aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesi tayini için Reitman ve Frankel (1974) metodu kullanıldı. Serumda AST, L-aspartik asitten ve α -ketoglutarik asitten okzalasetik asid ve L-glutamik asid meydana getirir. Okzalasetik asidin, 2,4-dinitrofenilhidrazinle verdiği renk, spektrofotometrede değerlendirilerek enzim aktivitesi tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

AST substratı:

1.5 g K_2HPO_4 (0.1 M), 0.20 g KH_2PO_4 (0.1 M), 0.030 g α -ketoglutarat (2 mM), 1.32 g L-aspartik asid (0.1 M) tartılarak ayrı ayrı destile su ile çözüldü ve hacmi destile su ile 70 mL'ye tamamlandı. pH'ı ölçüldü ve pH 7.4 olana kadar 0.4 N NaOH'ten damla damla karışıma ilave edildi ve destile su hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

1 N HCl Çözeltisi:

8.28 mL derişik HCl, destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 mM Kromojen Çözeltisi:

20 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin 1 N HCl ile ısıtılarak çözüldü ve bu çözelti ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

0.4 N NaOH Çözeltisi:

16 g NaOH biraz destile suda çözüldü, hacmi destile su ile 1 L'ye tamamlandı.

2 mM Piruvat Çözeltisi:

22 mg sodyum piruvat biraz destile suda çözüldü ve hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

AST substratından 1 mL alındı ve üzerine 0.2 mL serum ilave edildi. Tüpler iyice karıştırıldı ve bir saat 37°C su banyosunda inkübe edildi. Üzerine 1 mL kromojen çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 20 dakika oda temperaturünde bekletildi. 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 5 dakika sonra 546 nm'de destile suya karşı absorbanslar ölçüldü. Standart eğri yardımıyla U/L cinsinden numunedeki AST aktivitesi tayin edildi.

3.5. SERUMDA ALANİN AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Serumda alanin aminotransferaz (ALT) aktivitesi tayini için Reitman ve Frankel (1974) metodu kullanıldı. Serumda ALT, DL-alanin ve α -ketoglutarik asidden piruvik asid ve L-glutamik asid meydana getirir. Piruvik asidin, 2,4-dinitrofenilhidrazinle verdiği renk, spektrofotometrede değerlendirilerek enzim aktivitesi tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:**ALT substratı:**

1.5 g K_2HPO_4 (0.1 M), 0.20 g KH_2PO_4 (0.1 M), 0.030 g α -ketoglutarat (2 mM), 1.78 g L-alanin (0.1 M) tartılarak ayrı ayrı destile su ile çözüldü ve hacmi destile su ile 70 mL'ye tamamlandı. pH ölçüldü ve pH 7.4 olana kadar 0.4 N NaOH'ten damla damla karışıma ilave edildi ve destile su hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

1 N HCl Çözeltisi:

8.28 mL derişik HCl, destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 mM Kromojen Çözeltisi:

20 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin 1 N HCl ile ısıtılarak çözüldü ve bu çözelti ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

0.4 N NaOH Çözeltisi:

16 g NaOH biraz destile suda çözüldü, hacmi destile su ile 1 L'ye tamamlandı.

2 mM Piruvat Çözeltisi:

22 mg sodyum piruvat biraz destile suda çözüldü ve hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

ALT substratından 1 mL alındı ve üzerine 0.2 mL serum ilave edildi. Tüpler iyice karıştırıldı ve bir saat 37 °C su banyosunda inkübe edildi. Üzerine 1 mL kromojen çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 20 dakika oda temperaturünde bekletildi. 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 5 dakika sonra 546 nm'de destile suya karşı absorbanslar ölçüldü. Standart eğri yardımıyla U/L cinsinden numunedeki ALT aktivitesi tayin edildi.

3.6. SERUMDA ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Serumda alkali fosfataz (ALP) aktivitesi, Walter ve Schutt (1974) yöntemine göre tayin edildi. Alkali fosfataz enzimi substrat olarak kullanılan p-nitrofenil fosfatı ortamın pH'ına bağlı olarak p-nitrofenol'e hidroliz etmektedir. Meydana gelen ürünün 405 nm'de verdiği absorbans spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

Kullanılan Çözeltiler:

0.1 N HCl Çözeltisi:

0.83 mL derişik HCl destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

ALP Substratı:

1.052 g dietanolamin, 8 mL 0.1 N HCl ve 46.4 mg p-nitrofenil fosfat, 85 mL destile suda çözüldü. 0.1 N HCl ile pH 9.8'e getirildikten sonra hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

0.05 N NaOH Çözeltisi:

2 g NaOH biraz destile suda çözüldükten sonra hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Serumda ALP aktivitesi tayini aşağıda belirtilen tabloya göre uygulandı.

Reaktifler	Numune	Kör
ALP substratı	2 mL	2 mL
Destile Su	-	50 µL
Doku Homojenizatı	50 µL	-
Vortekste karıştırılır ve oda temperaturünde 30 dakika inkübe edilir.		
0.05 N NaOH Çözeltisi	10 mL	10 mL

NaOH ilavesinin ardından 5 dakika oda sıcaklığında beklendi. 405 nm'de absorbanslar köre karşı okundu. Aşağıdaki formül yardımı ile ALP aktivitesi hesaplandı:

ALP Aktivitesi (U/L) = $\Delta E \times 434$

ΔE = Absorbans

3.7. SERUMDA KOLESTEROL MİKTARI TAYİNİ

Serumda kolesterol miktar tayini Zlatkis ve diğ. (1953) metoduna göre tayin edildi. Asetik asidde çözülmüş kolesterolün demir-III-klorür ve sülfürik asidle verdiği ve kolesterol miktarı ile orantılı olan, kırmızı-menekşe rengin absorbansının spektrofotometrede okunması esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

Demir-III-klorür Çözeltisi:

140 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ glasiyal asetik asidde çözüldü ve hacim glasiyal asetik asidle 100 mL'ye tamamlandı.

Kolesterol Stok Çözeltisi:

100 mg kolesterol 100 mL glasiyal asetik aside çözülerek hazırlandı.

Kolesterol Çalışma Çözeltisi:

1 mL kolesterol stok çözeltisi glasiyal asetik asid ile 10 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

0.1 mL serum ve 4 mL demir-III-klorür çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika kendi haline bırakıldıktan sonra 15 dakika santrifüje edildi. Deneyin santrifüjden sonraki kısmı aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune	Tüp 1	Tüp 2	Tüp 3	Tüp 4
Kolesterol Çalışma St.	-	-	0.5 mL	1 mL	1.5 mL	2 mL
Santrifüгат	-	2 mL	-	-	-	-
Demir-III-klorür	2 mL	-	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Glasiyal Asetik Asid	2 mL	2 mL	1.5 mL	1 mL	0.5 mL	-
Derişik Sülfürük Asid	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL

Reaktifler karıştırıldıktan sonra tüpler 30 dakika boyunca karanlıkta bekletildi. Absorbanslar 560 nm’de spektrofotometrede köre karşı okundu. Numunedeki kolesterol miktarı, standart eğri grafiğinden yararlanılarak % mg kolesterol olarak belirlendi.

3.8. SERUMDA TOTAL LİPİD MİKTARI TAYİNİ

Serumda total lipid tayini, Frings ve diğ. (1972) geliştirdiği metoda göre tayin edildi. Bu yöntemde amaç, lipidlerin sülfürük ve fosforik asidlerle, sıcak ortamda vanilin ayıracı ile meydana getirdiği pembe rengin absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesidir.

Kullanılan Çözeltiler:

Vanilin Ayıracı:

1 g vanilin 200 mL sıcak suda çözüldü ve 300 mL derişik fosforik asid eklenerek homojen bir çözelti elde edildi.

Lipid Standardı:

1 g zeytinyağı kloroform ile 100 mL’ye tamamlandı. Elde edilen bu % 1000 mg’lık çözeltiden % 400 mg ve % 600 mg’lık standart çözeltiler hazırlandı.

Serumdaki total lipid miktarı tayini, aşağıda belirtilen tabloya göre yapıldı.

Reaktifler	Numune	%400 mg st.	%600 mg st.	%1000 mg st.	Kör
Örnek	50 µL	-	-	-	
% 400 mg st.	-	50 µL	-	-	
% 600 mg st.	-	-	50 µL	-	
% 1000 mg st.	-	-	-	50 µL	
Tüpler 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Bu esnada kör tüpü için herhangi bir işlem yapılmadı.					
Kaynar su banyosunda bekletilen çözeltiler	Numune	%400 mg st.	%600 mg st.	%1000 mg st.	Kör
Örnek	0.1 mL	-	-	-	-
% 400 mg st.	-	0.1 mL	-	-	-
% 600 mg st.	-	-	0.1 mL	-	-
% 1000 mg st.	-	-	-	0.1 mL	-
Derişik Sülfürik Asid	-	-	-	-	0.1 mL
Vanilin Ayıracı	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra absorbanlar köre karşı 530 nm’de ölçüldü.					

Serumda total lipid miktarı aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

Serum Total Lipid Miktarı (% mg) = $(N_{Abs}/St_{Abs}) \times \% \text{ mg standart konsantrasyonu}$

3.9. SERUMDA TOTAL BİLİRUBİN MİKTARI TAYİNİ

Serumda, total bilirubin miktar tayini, Jendrassik ve Gróf (1938) metoduna göre tayin edildi. Bilirubin, kafein varlığında diazolandırılmış sülfanilik asid ile bağlanarak renkli azobilirubin bileşiği oluşturur. Oluşan renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile serumda bilirubin miktarı hesaplanır.

Kullanılan Çözeltiler:

29 mM Sülfanilik Asid - 180 mM HCl Çözeltisi:

0.50 g sülfanilik asid 70 mL destile suda çözüldü. 1.5 mL 180 mM HCl çözeltisi ilave edildi ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

25 mM Sodyum Nitrit Çözeltisi:

0.17 g sodyum nitrit bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

260 mM Kafein - 520 mM Sodyum Benzoat Çözeltisi:

7.49 g sodyum benzoat ve 5.05 g kafein, bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

930 mM Sodyum - Potasyum Tartarat - 1.9 M NaOH Çözeltisi:

26.25 g sodyum-potasyum tartarat ve 7.6 g NaOH bir miktar destile suda çözüldü, son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Serumda total bilirubin miktar tayini, aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Numune	Kör
29 mM Sülfanilik Asid - 180 mM HCl Çözeltisi	200 µL	200 µL
25 mM Sodyum Nitrit Çözeltisi	50 µL	-
260 mM Kafein - 520 mM Sodyum Benzoat Çözeltisi	1000 µL	1000 µL
Serum	200 µL	200 µL
Tüpler karıştırıldı, etrafı sıkıca ışık geçirmeyecek şekilde sarıldı. 30 dakika karanlıkta bekletildi.		
930 mM Sodyum-Potasyum Tartarat – 1.9 M NaOH Çözeltisi	1000 µL	1000 µL
Tüpler karıştırıldı ve 15 dakika karanlıkta bekletildi. Tüplerin absorbansı 578 nm’de numune körlerine karşı okutuldu.		

Serumda bilirubin değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Serumda Total Bilirubin Miktarı (% mg) = Absorbans x 10.8

3.10. KARACİĞER DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTARI TAYİNİ

Karaciğer dokusunda glutatyon (GSH) miktarı tayini, Beutler (1975) metoduna göre tayin edildi. Yöntemde, Ellman Ayıracı olarak kullanılan 5,5'- ditiyobis - (2-nitro benzoik asid) (DTNB)'in sülfidril grupları ile verdiği reaksiyonun sonucunda oluşan sarı renkli ürün spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

Kullanılan Çözeltiler:

Çöktürme Çözeltisi:

1.67 g metafosforik asid, 0.2 g EDTA- Na_2 , ve 30 g NaCl bir miktar destile suda çözüldü, son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

%1 Sodyum Sitrat Çözeltisi:

1 g sodyum sitrat bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

% 40 mg DTNB-Belirtme Reaktifi (Ellman Ayıracı):

40 mg DTNB, bir miktar %1 sodyum sitratta çözüldü, son hacim sodyum sitrat çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı.

0.3 M Na_2HPO_4 Çözeltisi:

10.647 g Na_2HPO_4 bir miktar destile suda çözüldü, son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

%100 Glutatyon Standart Çözeltisi:

10 mg glutatyon, 10 mL destile suda çözülür.

Deneyin Yapılışı:

0.5 mL doku homojenizatı üzerine 0.75 mL çöktürme çözeltisi ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika 3000 rpm’de santrifüje edildi. Elde edilen süpernatanta aşağıdaki tabloda belirtilen deney uygulandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Süpernatant	-	0.5 mL
Destile Su	0.5 mL	-
0.3 M Na ₂ HPO ₄ Çözeltisi	2 mL	2 mL
Belirtme Reaktifi	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler karıştırıldı, 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tüplerin absorbansları 412 nm’de köre karşı okundu. Karaciğer dokusunun glutatyon miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Glutatyon Miktarı (nmol GSH/mg protein)} = (N_{\text{abs}}/St_{\text{abs}}) \times [(2.5 \times A)/307.3] \times 10^6 / P$$

307.3 = Glutatyonun molekül ağırlığı

A = % mg standart konsantrasyonu

P = % mg doku proteini

3.11. KARACİĞER DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ

Karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonu (LPO) tayini Ledwozyw ve diğ. (1986) metoduna göre spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Başta malondialdehid (MDA) olmak üzere reaksiyon sonucunda oluşan LPO ürünlerinin tiyobarbütirik asid ile oluşturdukları pembe rengin absorbansı spektrofotometrede okundu.

Kullanılan Çözeltiler:**0.6 M HCl Çözeltisi:**

12.43 mL derişik HCl destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

1.22 M Trikloro asetik asid (TCA) Çözeltisi:

49.8339 g TCA bir miktar 0.6 M HCl'de çözüldü ve son hacim 0.6 M HCl ile 250 mL'ye tamamlandı.

1 N NaOH Çözeltisi:

4 g NaOH, 100 mL destile suda çözüldü.

0.047 M TBA Çözeltisi:

0.6667 g TBA önce 8 mL 1 N NaOH ile muamele edildi ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.4 nmol/mL LPO Stok Standart Çözeltisi:

0.1 mL 1,1,3,3-tetraetoksipropan bir miktar destile suda çözüldü, son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

LPO Çalışma Çözeltisi:

0.1 mL LPO stok standardı destile su ile 100 mL'ye seyreltildi.

N-Butanol:

Direkt orijinal şişesinden kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki lipid peroksidasyonu tayini, aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Doku Homojenizatu	-	0.5 mL	-
1.22 M TCA	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler karıştırıldı, 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.			
Serum Fizyolojik	0.5 mL	-	-
LPO Çalışma Standardı	-	-	0.5 mL
TBA Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL
Tüpler karıştırıldı ve 30 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi, ardından soğutuldu.			
n-Butanol	2 mL	2 mL	2 mL
Tüpler vortekste karıştırıldı, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüplerin absorbansı 532 nm'de köre karşı okundu.			

Karaciğer dokusunun LPO miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{LPO Miktarı (nmol MDA/mg protein)} = [N_{\text{abs}}/S_{\text{abs}}] \times [4.4 / P] \times 100$$

4.4 = Standart çözeltisi (nmol/mL)

P = % mg cinsinden protein miktarı

3.12. KARACİĞER DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin tayini, Burtis (1994) metoduna göre yapıldı. LDH, EDTA içeren Tris-HCl pH 7.4 tamponunda, 37°C'de, NADH varlığında piruvatın laktata dönüşümünü katalizler. NADH'ın oksidasyonu 339 nm'de absorbans azalmasıyla takip edilir.

Kullanılan Çözeltiler:**56 mM Tris-HCl + 5.6 mM EDTA tamponu (pH = 7.4)**

1.70 g Tris ve 0.52 g EDTA az miktarda destile suda çözüldü. 1 N HCl ile pH 7.4'e ayarlandı ve son hacim destile su ile 250 mL'ye tamamlandı.

170 µM NADH Çözeltisi:

0.0130 g NADH (disodyum tuzu, trihidrat) 100 mL Tris-HCl tamponunda çözüldü.

14 mM Piruvat Çözeltisi:

3.7 mg sodyum piruvat 25 mL destile suda çözüldü.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda laktat dehidrojenaz aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı. Deneye başlamadan önce piruvat çözeltisi 37°C'de su banyosunda bekletildi.

Reaktifler	Kör	Numune
56 mM Tris-HCl Tamponu	2 mL	2 mL
Homojenizat	-	50 µL
37°C'de 5 dakika inkübe edildi.		
Piruvat (37°C'de ısıtılmış olan)	250 µL	200 µL
Piruvat ilave edilmesinden sonra 1 dakika daha inkübasyon yapıldı. Bu süre sonunda köre karşı numune absorbansı 3 dakika boyunca 339 nm'de okundu.		

Enzim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{LDH Aktivitesi (U/mg protein)} = (\Delta\text{OD/dk}) \times 7143/\text{mg protein}$$

ΔOD : Absorbans farkı

3.13. KARACİĞER DOKUSUNDA GAMA GLUTAMİL TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğerde gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi tayini, Szasz (1969) metoduna göre yapıldı. Metod, GGT aktivitesi tayininin, reaksiyon sonucu oluşan p-nitroanilin miktarının 405 nm’de spektrofotometrede okunarak belirlenmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

185 mM Tris-HCl Tamponu (pH= 8.25):

1.12 g Tris tartıldı ve 50 mL destile suda çözüldü. Üzerine 185 mM HCl ilavesiyle pH 8.25’e getirildi ve son hacim 100 mL’ye destile su ile tamamlandı.

Substrat:

4 mM γ -glutamil-p-nitroanilid, 40 mM glisilglisin ve 11 mM $MgCl_2$, 185 mM Tris-HCl tamponunda çözüldü.

%25 TCA Çözeltilisi:

25 g TCA biraz destile suda çözüldü ve son hacim 100 mL’ye destile su ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğerde GGT aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
Homojenizat	-	0.2 mL
Serum Fizyolojik	0.2 mL	-
Substrat	0.8 mL	0.8 mL
37°C’de 10 dakika inkübasyon yapıldı.		
%25 TCA	1 mL	1 mL
Tüpler 3000 x g’de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatantın absorbansı 405 nm’de köre karşı 3 dakika boyunca okundu.		

GGT aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{GGT Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) \times 1111]/\text{mg protein}$$

ΔOD = Absorbans farkı

3.14. KARACİĞER DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin tayini Wei ve Frankel (1991) yöntemine göre yapıldı. Bu metodda MPO aktivitesi, MPO aracılı H_2O_2 ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipirin/fenol çözeltisi kullanılarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

25 mM 4-Aminoantipirin (4-AAP) Çözeltisi:

0.25 g 4-AAP bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 50 mL'ye tamamlandı.

20 mM Fenol Çözeltisi:

0.09 g fenol bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 50 mL'ye tamamlandı.

1.7 mM H_2O_2 Çözeltisi:

36 μL % 35'lik H_2O_2 , 250 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda MPO aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
25 mM 4-AAP	1.3 mL	1.3 mL
20 mM Fenol	1.3 mL	1.3 mL
Tüpler karıştırıldı.		
1.7 mM H ₂ O ₂	1.5 mL	1.5 mL
Tüpler 3-4 dakika boyunca vortekste karıştırıldı.		
Homojenizat	-	0.3 mL
Destile Su	0.3 mL	-

Tüplerin absorbansı kör tüpüne karşı 5 dakika boyunca 510 nm’de okundu. MPO aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{MPO Aktivitesi (U/g doku)} = [\Delta\text{OD}/\text{dk}]/\text{g doku}$$

ΔOD = Absorbans farkı

3.15. KARACİĞER DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda paraoksonaz (PON) aktivitesi, Furlong ve diğ. (1988)’e göre tayin edildi. Yöntemin esası, substrat olarak kullanılan paraokson etilin, paraoksonaz tarafından hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol miktarının 405 nm’de spektrofotometrede absorbansının ölçülmesidir.

Kullanılan Çözeltiler:

120 mM Paraokson-etil Çözeltisi:

0.033 g paraokson-etil, 1 mL asetonda çözöldü.

0.132 M Tris-HCl Çözeltisi (pH = 8.5):

0.7995 g Tris 50 mL destile suda çözüldü. 0.132 M HCl ile pH 8.5'a ayarlandı ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiye 1.32 mM CaCl₂ ve 2.63 mM NaCl ilave edildi.

6 mM Paraokson Substratı:

120 mM paraokson-etil, 1:20 oranında 0.132 M Tris-HCl tamponunda çözüldü.

Aseton:

Orjinal şişesinden alınarak kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğerde PON aktivitesinin tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
0.132 M Tris-HCl Çözeltisi	800 µL	760 µL
Homojenizat	-	40 µL
6 mM Paraokson Substratı	200 µL	200 µL
Tüpler 37°C'de 5 dakika bekletildi ve tüplerin absorbansı köre karşı 405 nm'de okundu.		

PON aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{PON Aktivitesi (U/mg protein)} = [\text{Abs}_{\text{örnek}} / \text{dakika}] \times 1.36 \times 10^3 / \text{mg protein}$$

3.16. KARACİĞER DOKUSUNDA ADENOSİN DEZAMİNAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğerde adenosin dezaminaz (ADA) aktivitesinin tayini Karker (1964) metoduna göre tayin edildi. Adenosinin pH 7.4'teki fosfat tamponu içinde 37°C'de 30 dakika inkübasyonu sırasında açığa çıkan amonyak, alkali ortamda fenol-alkalin hipoklorit çözeltisi ile mavi renkli indofenol oluşturur. Amonyak konsantrasyonu direkt indofenol absorbansı ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler:

0.1 M Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (pH = 7.4):

1.42 g Na_2HPO_4 biraz destile suda çözülerek hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 1.36 g KH_2PO_4 biraz destile suda çözüldü, hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 8 kısım Na_2HPO_4 ve 2 kısım KH_2PO_4 karıştırılarak istenilen pH tamponu hazırlandı.

Substrat Tamponu:

250 mg adenosin, 50 mL 0.1 M sodyum-potasyum fosfat tamponunda çözüldü.

Fenol Reaktifi:

5 g fenol ve 25 mg sodyum nitrozoprussiyat destile suda çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı.

Alkali Hipoklorit Reaktifi:

2.5 g NaOH bir miktar destile suda çözüldü ve üzerine 5 mL sodyum hipoklorit çözeltisi eklendi. Son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0.1 N H_2SO_4 Çözeltisi:

272 μL derişik H_2SO_4 , destile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Amonyum Sülfat Stok Standardı:

70.7 mg amonyum sülfat 1 mL 0.1 N H₂SO₄'te çözüldü ve son hacim destile su 100 mL'ye tamamlandı.

Amonyum Sülfat Çalışma Standardı:

1 mL amonyum sülfat stok standardı destile su ile 10 mL'ye seyreltilir.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda ADA aktivitesinin tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

	Numune (Kontrol)	Numune (Test)		
Substrat	0.2 mL	0.2 mL		
Numune	0.4 mL	0.4 mL		
	Kontrol tüpleri ise inkübasyon işleminden geçmemektedir.	Test tüpleri 37 °C’de 30 dakika inkübe edilir.		
	Kontrol Tüpü	Test Tüpü	Standart	Kör
Numune (Kontrol)	0.1 mL	-	-	-
Numune (Test)	-	0.1 mL	-	-
Amonyum Sülfat St.	-	-	0.1 mL	-
Destile Su	-	-	-	0.1 mL
Fenol Reaktifi	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Fenol reaktifi eklendikten sonra tüpler 3 dakika bekletilir.				
Alkalın Hipoklorit Reaktifi	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Oda sıcaklığında 45 dakika beklenir ve bütün tüplerin absorbanları destile suya karşı 660 nm’de okundu.				

Karaciğer dokusunda ADA aktivitesi, aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{ADA Aktivitesi (U/mg protein)} = [(N_{\text{test}_{\text{abs}}} - N_{\text{kor}_{\text{abs}}}) / (S_{\text{abs}} - K_{\text{kor}_{\text{abs}}})] \times 54.17 / \text{mg protein}$$

3.17. KARACİĞER DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda ksantin oksidaz (XO) aktivitesinin tayini, Corte ve Stirpe'nin (1968) geliştirdiği metoda göre tayin edildi. XO, ksantinin ürik aside dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Bu yöntemde reaksiyon sonucu oluşan ürik asidin absorbansı 286 nm dalga boyunda ölçülür. Bu değer XO aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler:

50 mM Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (pH = 7.4):

0.7098 g Na_2HPO_4 bir miktar destile suda çözüldü, son hacim 100 mL'ye destile su ile tamamlandı. 0.6804 g KH_2PO_4 bir miktar destile suda çözüldü, son hacim 100 mL'ye destile su ile tamamlandı. pH 7.4 tamponu için 8 hacim Na_2HPO_4 ve 2 hacim KH_2PO_4 karıştırıldı.

3 mM EDTA- Na_2 Çözeltisi:

5.5 mg EDTA- Na_2 5 mL destile suda çözüldü.

2 mM Ksantin Çözeltisi:

1.5 mg ksantin, 5 mL 50 mM sodyum-potasyum fosfat tamponunda çözüldü.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda ksantin oksidaz aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Örnek
Homojenizat	-	10 µL
50 mM Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu	880 µL	870 µL
3 mM EDTA	33 µL	33 µL
2 mM Ksantin	33 µL	33 µL
Tüplerin ilk absorbansları 286 nm’de okundu. Ardından 10 dakika boyunca 24°C’lik su banyosunda inkübe edildi. İkinci absorbanslar 286 nm’de köre karşı okundu.		

Karaciğer dokusunda ksantin oksidaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Ksantin Oksidaz Aktivitesi (U/mg protein) = $[\Delta\text{OD}/\text{dakika}]/\text{mg protein}$

ΔOD = Absorbans farkı

3.18. KARACİĞER DOKUSUNDA ARGİNAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich (1971) metoduna göre belirlendi. Diasetilmonoksim, üre ile direkt olarak reaksiyona girmez. İlk önce asidli ortamda ısının etkisi ile diasetil ve hidroksilamine hidroliz olur. Diasetil, asid çözeltisinde üre ile kondanse olarak sarı renkli bileşik olan diazini meydana getirir. Oluşan sarı rengi stabilize etmek için tiyosemikarbazid ve Fe^{2+} iyonları kullanılır.

Kullanılan Çözeltiler:

Renk Ayracı:

32.8 mg tiyosemikarbazid (3.6 mM) ve 0.62 g diasetilmonoksim (61.7 mM) bir miktar destile suda ısıtılarak çözüldükten sonra son hacim destile su ile 100 mL’ye tamamlandı.

Asid Ayıracı:

324 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ bir miktar destile suda çözüldü ve üzerine 6.7 mL derişik H_3PO_4 eklendi. Çözeltinin son hacmi 10 mL'ye tamamlandı.

Asid ayıracının hazırlanması için yukarıda hazırlanan çözeltiden 0.1 mL alındı, hacmi %20 (v/v)'lık H_2SO_4 ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 mM MnCl_2 Çözeltisi:

19.7 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Substrat Çözeltisi:

2.733 g L-arginin monohidroklörür (64.87 mM) 100 mL destile suda çözüldü ve 1 N NaOH ile çözeltinin pH'ı 10.1'e ayarlandı. Son hacim destile su ile 200 mL'ye tamamlandı.

150 mM Karbonat Tamponu (pH = 10.1):

1.26 g NaHCO_3 bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 1.59 g Na_2CO_3 bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 4 kısım NaHCO_3 ve 6 kısım Na_2CO_3 karıştırılarak pH 10.1 karbonat tamponu hazırlandı.

1.6 mM Benzoik Asid Çözeltisi:

19.5 mg benzoik asid bir miktar destile suda çözüldükten sonra son hacim, 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Üre Stok Standardı (0.5 μmol üre/mL):

3 mg üre, 1.6 mM benzoik asid ile çözüldü ve hacim bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

Üre Çalışma Standardı (0.1 μmol üre/mL):

Üre stok standardı 1/5 oranında, destile su ile seyreltildi.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda arginaz aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Ön-İnkübasyon İşlemi				
Karaciğer doku homojenizatları, bir ön-inkübasyon işleminden geçirildi. Bu aşamada 10 μL doku homojenizatı, 5.99 mL 1 mM MnCl_2 çözeltisi ile karıştırıldı (Böylece 1/600 oranında seyreltme uygulandı) ve 65°C'de 20 dakika ön-inkübasyon işlemi gerçekleştirildi.				
Ön-İnkübasyon İşleminde Sonra				
Çözeltiler	Kör	Standart	Sıfıncı Zaman Tüpü	İnkübasyon Tüpü
Substrat Tamponu	-	-	150 μL	150 μL
Karbonat Tamponu	-	-	200 μL	200 μL
Çalışma Standardı	-	500 μL	-	-
Destile Su	500 μL	-	-	-
Ön-inkübasyon işleminden geçen örnek	-	-	150 μL	150 μL
	Bu tüplere herhangi bir inkübasyon işlemi yapılmadan işlemlere devam edilir.			İnkübasyon tüpleri ise 37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.
Asid Ayırıcı	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
Renk Ayırıcı	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Tüm tüpler ağızlarına bilye kapatılarak 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Musluk suyu altında soğutulan deney tüplerinin ve standart tüpünün absorbansı 520 nm'de köre karşı okundu.				

Arginaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Arginaz Aktivitesi ($\mu\text{mol üre/mg protein}$) = Faktör x $\Delta\text{OD/mg protein}$

ΔOD = Absorbans farkı

Faktör : [standart konsantrasyonu x (sulandırma oranı x 6 x 3.33)] / standart absorbansı

3.19. KARACİĞER DOKUSUNDA SODYUM-POTASYUM ATP_{AZ} AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğerde $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ aktivitesi Ridderstap ve Bonting (1969) metoduna göre tayin edildi. Deneyin prensibi, doku homojenizatının uygun miktarda ATP ile inkübasyonu sırasında, ATP'nin hidrolizi ile açığa çıkan inorganik fosfatın belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bunun için önce total ATPaz tayin edilir. Ardından ouabain varlığında $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPaz}$ tayin edilir. Aradaki fark ise $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ 'ı vermektedir.

Kullanılan Çözeltiler:

30 mM Tris-HCl tamponu (pH = 7.4):

0.36 g Tris bir miktar destile suda çözüldü, 30 mM HCl ile pH 7.4'e getirildi. Son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

A Çözeltisi:

100 mM NaCl, 5 mM KCl, 6 mM MgCl_2 , 0.1 mM EDTA, 100 mL 30 mM Tris-HCl pH 7.4 tamponunda çözüldü.

B Çözeltisi:

50 mL 6 mM MgCl_2 olacak şekilde hazırlandı.

Ouabain Çözeltisi:

1 mM Ouabain çözeltisi hazırlandı.

ATP Çözeltisi:

6 mM çözeltisi hazırlandı.

%5 TCA Çözeltisi:

5 g TCA bir miktar destile suda çözüldükten sonra son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

% 100 TCA Çözeltisi:

10 g TCA bir miktar destile suda çözüldükten sonra son hacim 10 mL'ye destile su ile tamamlandı.

5 M H₂SO₄:

27.2 mL derişik sülfirik asid destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Molibdat Reaktifi:

2.5 g amonyum molibdat 20 mL destile suda çözüldü. Ardından 30 mL 5 M H₂SO₄ eklendi ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

%15 Sodyum Disülfid Çözeltisi:

15 g sodyum disülfid bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

%20 Sodyum Sülfid Çözeltisi:

20 g sodyum sülfid, bir miktar destile suda çözüldü ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Fiske-Subarrow Çözeltisi (2-Amino-4-naftol-sülfonik Asid, ANSA Çözeltisi):

50 mg 2-amino-4-naftol-sülfonik asid 19.5 mL sodyum disülfid ve 0.5 mL sodyum sülfidin karıştırılmasıyla oluşturulan çözelti içinde ısıtılarak çözüldü.

Stok Standart (% 8 mg fosfor):

35.1 mg KH_2PO_4 1 mL 5M H_2SO_4 ile çözüldü ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

Çalışma Standardı:

Çalışılmak istenilen miktarda gerekli seyreltmeler % 5 TCA ile yapıldı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki sodyum-potasyum ATPaz aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Numune Körü	Total ATPaz	Mg2+-ATPaz		
A Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	-		
B Çözeltisi	-	-	0.75 mL		
Ouabain Çözeltisi	-	-	0.5 mL		
Destile Su	0.6 mL	0.5 mL	-		
ATP Çözeltisi	0.55 mL	0.55 mL	0.55 mL		
37 °C’de 5 dakika inkübasyon yapılır.					
Homojenizat	-	0.1 mL	0.1 mL		
37 °C’de 30 dakika inkübasyon yapılır.					
%100 TCA Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL		
%100 TCA ekleme işlemi, tüpler buz içindeyken yapılır. TCA eklenmesinin ardından bütün tüpler 10 dakika boyunca buz banyosu içinde bekletilir. Ardından 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj yapılır.					
Santrifüje işleminden sonra tüpler aşağıdaki gibi hazırlanır.					
	St Körü	St tüpü	Numune körü	Total ATPaz	Mg ²⁺ -ATPaz
%5 TCA Çözeltisi	0.5 mL	-	-	-	-
Çalışma Standardı	-	0.5 mL	-	-	-
Üst faz	-	-	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL

Amonyum Molibdat Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Fiske-Subarrow Çözeltisi	40 µL	40 µL	40 µL	40 µL	40 µL
Destile Su	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL

Bütün tüpler 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilir. 680 nm’de, standart aborsbansısı standart körüne karşı, Total ATPaz ve Mg^{2+} -ATPaz tüpleri ise numune körüne karşı okunur. Standart eğri grafiği çizilir. Total ATPaz tüpünün absorbansından Mg^{2+} -ATPaz tüpünün absorbansısı çıkartılarak elde edilen değer standart eğri grafiğinde yerine koyularak numunenin içerdiği fosfat miktarı üzerinden enzim aktivitesi hesabına geçildi.

Na^+ - K^+ -ATPaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\mu\text{mol Pi}/(\text{mg protein} \times \text{h}) = [645 \times A]/[\% \text{mg protein} \times 60]$$

A: Numunenin içerdiği % mg fosfor değeri

3.20. KARACİĞER DOKUSUNDA PROLİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda prolidaz aktivitesinin tayini, Chinard (1952) metoduna göre tayin edildi. Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile pembe renkli bir bileşik oluşturma ilkesine dayanarak prolidaz aktivitesinin ölçülmesi esasına dayanır. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrede 515 nm’de absorbanslar ölçülür.

Kullanılan çözeltiler:

1 mmol/L Prolin Stok Standardı:

0.01 g prolin 100 mL destile suda çözüldü.

0.15 mmol/L Prolin Çalışma Standardı:

1 mmol/L olarak hazırlanan prolin stok standardından 150 μ L alındı ve 1 mL'ye seyreltildi.

%2.5 Ninhidrin Çözeltisi:

- a- 6 M fosforik asid çözeltisi: 40.45 mL derişik fosforik asid, 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.
- b- 6 hacim derişik asetik asid ve 4 hacim 6 M fosforik asid karıştırılarak çözelti hazırlandı.
- c- 2.5 g ninhidrin b maddesinde hazırlanan bu çözelti içinde ısıtılarak çözüldü ve hacmi yine bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

100 mmol/L Tris-HCl Tamponu (pH=8.0)

1.21 g Tris 100 mL destile suda çözüldü. Bu çözeltiden 50 mL alınarak 100 mmol/L HCl ile pH 8.0'a getirildi. Son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

100 mmol/L Glisil-Prolin (Gly-Pro) Substrat Çözeltisi:

0.17 g Gly-Pro, 7.5 mL 100 mmol/L Tris-HCl tamponunda (pH=8.0) çözüldü. Çözeltinin pH'ının 8.0 yapılabilmesi amacıyla 2.5 mL 100 mmol/L Tris çözeltisi eklendi. Bu çözelti taze hazırlandı.

5 mmol/L $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Çözeltisi:

0.09 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

%20 TCA Çözeltisi:

20 g TCA hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Seyreltme Tamponu:

0.09 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 100 mmol/L pH=8.0 Tris-HCl tamponunda çözülerek hacmi bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı. Elde edilen seyreltme tamponu numunelerin 1/40 oranında seyreltilmesi işlemi için kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki prolidaz aktivitesi tayini aşağıda belirtilen şekilde yapıldı.

Ön-İnkübasyon Aşaması				
Doku 1/40 oranında seyreltme tamponu ile seyreltildi. 50 µL seyreltilen doku örneği + 9.95 mL MnCl ₂ (sudaki çözeltisi) ilaveleri yapıldıktan sonra 2 saat boyunca 37°C’de ön-inkübasyon gerçekleştirilir.				
Ön-İnkübasyondan sonra				
	Sıfırıncı zaman Tüpü		İnkübasyon Tüpü	
100 mmol/L Tris Tamponu	400 µL		400 µL	
100mmol/L Substrat	400 µL		400 µL	
Destile Su	100 µL		100 µL	
Ön-inkübe Edilen Örnek	100 µL		100 µL	
%20 TCA	500 µL(Bekletilmeden santrifüj edildi)		Bu tüpler 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. Ardından 500 µL TCA eklenerek santrifüj edildi	
Tüpler 2000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.				
	Kör	St	Sıfırıncı Zaman Tüpü	İnkübasyon Tüpü
Glasiyal Asetik Asid	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Supernatant	-	-	1 mL	1 mL
Standart	-	1 mL	-	-
Destile Su	1 mL	-	-	-
Ninhidrin	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Tüpler 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Ani olarak soğutuldu. Absorbanslar köre karşı 515 nm’de okundu.				

Prolidaz aktivitesi tayini aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Prolidaz Aktivitesi (U/mg proteinxsaat) = [(A-B) x (C_{st}/Abs_{st}) x Faktör x 60]/mg protein

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfırıncı zaman tüpü absorbans değeri

St konsantrasyonu: mmol/L

Faktör = [40x15]/30

40: Ön-inkübasyon ortamındaki sulandırma

15: İnkübasyon ortamındaki sulandırma

30: İnkübasyon zamanı

3.21. KARACİĞER DOKUSUNDA DT-DİAFORAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda DT diaforaz (NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz) aktivitesinin tayini Ernster ve diğ. (1962) metoduna göre yapıldı. DT-Diaforaz, pH 7.5 ve 25°C’de 1 µmol 2,6-diklorofenol indofenolün indirgenmesini katalizleyen enzimdir.

Kullanılan Çözeltiler:

50 mM Potasyum Fosfat Tamponu (pH = 6.0):

0.71 g Na₂HPO₄ bir miktar destile suda çözüldü, son hacim 100 mL’ye destile su ile tamamlandı. 0.68 g KH₂PO₄ bir miktar destile suda çözüldü, son hacim 100 mL’ye destile su ile tamamlandı. pH 6.0 tamponu için 1 hacim Na₂HPO₄ ve 9 hacim KH₂PO₄ karıştırıldı.

0.33 M KCN:

2.15 g KCN bir miktar destile suda çözüldü, son hacim destile su ile 100 mL’ye tamamlandı.

0.04 mM 2,6-Diklorofenol İndofenol:

2.6 mg 2,6-diklorofenol indofenol destile su ile 250 mL’ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda DT diaforaz aktivitesi tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Örnek
50 mM Potasyum Fosfat Tamponu (pH = 6.0)	910 µL	910 µL
0.33 M KCN	30 µL	30 µL
Homojenizat	-	30 µL
Destile Su	30 µL	-

600 nm’de 2,6-diklorofenol indofenol eklenmeden önce tüplerin absorbansı tampona karşı okundu. Ardından 30 µL 2,6-diklorofenol indofenol eklendi ve 1 dakika beklemeden sonra tüplerin absorbansı tampona karşı okundu. İki absorbans farkı alındı ve aşağıdaki formül yardımıyla DT diaforaz aktivitesi hesaplandı:

DT Diaforaz Aktivitesi ([µmol/dk]/mg protein) = $[(\Delta OD/6.22) \times (V_{\text{küvet}}/V_{\text{örnek}}) \times 1000]/\text{mg protein}$

ΔOD = Absorbans farkı

V = hacim

3.22. KARACİĞER DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTARININ TAYİNİ

Karaciğer dokusunda protein karbonil (PC) miktar tayini Levine ve diğ. (1990) metoduna göre yapıldı. Doku PC miktarı, spektrofotometrik olarak, 2,4-dinitrofenilhidrazinin karbonil gruplarıyla reaksiyona girerek 2,4-dinitrofenilhidrazonu oluşturmasına bağlı olarak belirlendi.

Kullanılan Çözeltiler:**2.5 M HCl Çözeltisi:**

51.81 mL derişik HCl, 250 mL'ye destile su ile tamamlandı.

10 mM 2,4-Dinitro Fenil Hidrazin (DNFH) Çözeltisi:

0.1981 g DNFH, 2.5 M HCl ile çözüldü ve hacmi bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

%20 TCA Çözeltisi:

20 g TCA, destile su ile çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

6 M Guanidin-HCl Çözeltisi:

57.318 g Guanidin-HCl, destile suda çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Etil Alkol – Etil Asetat Çözeltisi:

1:1 oranında %96'lık etil alkol ve etil asetat karıştırılarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki protein karbonil miktarı aşağıda tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
Doku Homojenizatu	0.5 mL	0.5 mL
10 mM DNFH Çözeltisi	-	2 mL
2.5 M HCl Çözeltisi	2 mL	-
Tüpler 1 saat oda temperaturünde, karanlıkta inkübe edildi, 15 dakikada bir vorteksle karıştırıldı.		
% 20 TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki kısım dekante edildi. 2 mL Etil alkol-etil asetat karışımı ile çökeltiyi 3 defa yıkama işlemi yapıldı.		
6 M Guanidin HCl Çözeltisi	1 mL	1 mL
Tüpler 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.		
Her numunenin absorbansı kendi körüne karşı 370 nm'de okundu.		

PC miktarı tayini aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Protein Karbonil Miktarı (nmol karbonil/mg protein) = [Absx90.9]/mg protein

3.23. KARACİĞER DOKUSUNDA TROMBOPLASTİK AKTİVİTENİN TAYİNİ

Karaciğer dokusunda tromboplastik aktivitenin (TF) tayini, Ingram ve Hills'in (1976) geliştirdikleri Quick metoduna göre yapıldı. Sağlıklı bireylerden alınan plazma ile tromboplastin kaynağı olarak doku homojenizatu kullanıldı. Kalsiyum klorür ilavesinden sonra fibrin oluşumu için geçen süre tayin edildi. Aktivite süre ile ters orantılı olarak değişmektedir.

Kullanılan Çözeltiler:

%3.8 Sodyum Sitrat Çözeltisi:

3.8 g sodyum sitrat, 100 mL destile suda çözüldü.

Plazma:

1 mL %3.8 sodyum sitrat üzerine 9 mL kan eklendi. 15 dakika 3000 rpm’de santrifüj edildikten sonra, üst kısımda kalan plazma ayrıldı.

0.2 M Stok CaCl₂ Çözeltisi:

1.1099 g CaCl₂, 50 mL destile suda çözüldü.

0.02 M CaCl₂ Çözeltisi:

Deneyin yapılacağı gün 1:10 oranında destile su ile seyretildi. Deney sırasında bu çözelti 37°C’de bekletildi.

Deneyin Yapılışı:

0.1 mL homojenizat 2 dakika boyunca 37 °C’de bekletildi. Üzerine 0.1 mL plazma ilave edildi ve 37 °C’de 30 sn inkübe edildi. Ardından 0.02 M CaCl₂ eklenerek, pıhtı oluşumu için geçen süre ölçüldü. Lanset ile fibrin oluşumu tayin edildi. Sonuçlar saniye cinsinden hesaplandı.

3.24. KARACİĞER DOKUSUNDA FUKOZ MİKTARININ TAYİNİ

Karaciğer dokusunda fukoz miktar tayini Dische ve Shettles (1948) metoduna göre tayin edildi. Metod, prensip olarak karbohidratların sülfürik asidli ortamda tiyol grupları ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:**Sülfürik Asid Çözeltisi:**

1 hacim destile su ile 6 hacim derişik sülfürik asid karıştırılarak hazırlandı.

%3 g Sistein-HCl Çözeltisi:

0.3 g sistein-HCl destile suda çözüldü ve hacmi 10 mL’ye destile su ile tamamlandı.

Stok Standart Çözeltisi:

1 mg fukoz destile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı. Bu çözeltiden 2.5 µg/mL, 5 µg/mL, 7.5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL'lık çalışma standartları hazırlandı. Çalışma standartları her gün taze hazırlandı.

2 N HCl Çözeltisi:

16.57 mL derişik HCl, 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

%1 Fosfotungstik Asid Çözeltisi:

1 g fosfotungstik asid biraz destile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

4 N NaOH Çözeltisi:

16 g NaOH biraz destile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Hidrolizat Hazırlanması:

0.5 mL karaciğer homojenizatu, 1 mL 2 N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asid ile 4 saat boyunca sıcaklığı 100°C'ye ayarlanmış olan etüvde bekletildi. 100°C'de bekletilen örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi. Böylece hidrolizatlar hazırlanmış oldu.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda fukoz miktarı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

	Numune	Numune Körü	Standart	Kör	Sisteinsiz Kör
Hidrolizat	1 mL	1 mL	-	-	-
Standart Çözeltisi	-	-	1 mL	-	-
Destile Su	-	-	-	1 mL	1.1 mL
Sülfürik Asid Çözeltisi	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL
Asid ilavesi buz ile hazırlanan ortamda yapıldı. Sonra tüpler 3 dakika boyunca 22°C’de bekletildi. Ardından tüpler 5 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Soğutuldu.					
%3 Sistein-HCl Çözeltisi	0.1 mL	-	0.1 mL	0.1 mL	-
Tüpler vortekslelendikten sonra 1 saat boyunca karanlıkta bekletildi. Tüm tüplerin absorbanları havaya karşı önce 396 nm’de ve sonra 430 nm’de ölçüldü.					

Numune absorbasından numune körünün absorbansı çıkarıldı. Elde edilen değer, standart eğri grafiğinden bulunarak sonuç **µg fukoz/mL** şeklinde belirlenir. Doku proteini ile bölündüğünde ise sonuç **µg fukoz/mg protein** cinsinden ifade edilir.

3.25. KARACİĞER DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTARININ TAYİNİ

Karaciğer dokusunda heksoz miktar tayini, Winzler (1955) metoduna göre belirlendi. Metod, dokularda heksoz bileşiklerinin belirlenmesi amacıyla, spektrofotometrik olarak, derişik sülfürik asidli ortamda karbohidratların orsinol ile verdiği renk reaksiyonuna dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:**%1 Glukoz Standardı:**

1 g glukoz biraz destile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

2 N HCl Çözeltisi:

16.57 mL derişik HCl, 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

%1 Fosfotungstik Asid Çözeltisi:

1 g fosfotungstik asid, 100 mL destile suda çözüldü.

4 N NaOH Çözeltisi:

16 g NaOH, 100 mL destile suda çözüldü.

% 1.6 Orsinol Çözeltisi:

0.16 g orsinol monohidrat, 10 mL destile suda çözüldü.

%60 (w/v) H₂SO₄ Çözeltisi:

33.27 mL derişik H₂SO₄, 100 mL'ye destile su ile tamamlanır.

%96 Etil Alkol:

Orijinal şişesinden alınarak kullanıldı.

Hidrolizatın Hazırlanması:

0.5 mL karaciğer homojenizatu, 1 mL 2 N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asid ile 4 saat boyunca, sıcaklığı 100°C'ye ayarlanmış olan etüvde bekletildi. Bekletilen örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi. Böylece hidrolizatlar hazırlanmış oldu.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki heksoz miktar tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Destile su	0.25 mL	-	-
Hidrolizat	-	0.25 mL	-
Standart	-	-	0.25 mL
% 1.6 Orsinol	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL
%60 H ₂ SO ₄	2 mL	2 mL	2 mL
Tüpler 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Soğutuldu. Absorbanslar 425 nm’de köre karşı okundu.			

Elde edilen absorbans değerleri, standart eğri grafiğinden bulunarak sonuç **%mg glukoz** şeklinde belirlenir. Doku proteinine ile bölündüğünde ise sonuç **mg glukoz/mg protein** cinsinden ifade edildi.

3.26. KARACİĞER DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTARININ TAYİNİ

Karaciğer dokusunda heksozamin miktarı, Winzler (1955) metoduna göre tayin edildi. Metod, dokudaki heksozamin bileşiklerinin asetilaseton ve p-dimetilaminobenzaldehid ile verdiği reaksiyon sonucunda oluşan pembe rengin absorbansının 530 nm’de spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

Asetilaseton Çözeltisi:

1 mL asetilaseton, 0.5 N Na₂CO₃ çözeltisi ile 50 mL’ye tamamlandı.

Ehrlich Ayırıcı:

0.8 g p-dimetilaminobenzaldehid, 30 mL metanol ve 30 mL derişik HCl’de çözüldü.

Glukozamin HCl Standardı:

10 mg glukozamin hidroklorür, 10 mL destile suda çözüdü. Bu çözelti stok çözeltidir ve bu çözeltiden konsantrasyonları 5, 10, 20, 40 ve 50 µg/mL olacak şekilde seyreltmeler

yapılarak standart çözeltiler hazırlandı.

Hidrolizatın Hazırlanması:

0.5 mL karaciğer homojenizati, 1 mL 2 N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asid ile 4 saat boyunca sıcaklığı 100°C'ye ayarlanmış olan etüvde bekletildi. Bekletilen örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi. Böylece hidrolizatlar hazırlanmış oldu.

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusunda heksozamin miktarı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı:

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Asetilaseton Çözeltisi	1 mL	1 mL	1mL
Destile Su	1 mL	-	-
Hidrolizat	-	1 mL	-
Standart	-	-	1 mL
Vortekslenen tüpler 15 dakika kaynar su banyosunda bekletilir. Ardından soğutulur.			
%95 Etil alkol	5 mL	5 mL	5 mL
Ehrlich Ayracı	1 mL	1 mL	1 mL
Son hacim %96'lık etil alkol ile 10 mL ye tamamlandı. Tüpler 1 saat boyunca oda sıcaklığında bekletildi.			

Absorbanslar spektrofotometrede 530 nm'de köre karşı ölçüldü. Standart eğri grafiğinden yararlanılarak karaciğer dokusunun heksozamin miktarı µg glukozamin cinsinden hesaplandı. Elde edilen sonuçlar doku proteinine bölünerek **µg glukozamin/mg protein** şeklinde belirlendi.

3.27. KARACİĞER DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Karaciğer dokusunda protein miktarı tayini için Lowry ve diğ. (1951) geliştirdiği metod kullanıldı. Proteinlerin yapısındaki aromatik halka ihtiva eden amino asidler Folin

reaktifi (fosfo molibdo tungstik asid) ile mavi renk verirler. Bu reaksiyon amino asidlerin fosfo molibdo tungstik asid asidi indirgemeleri esasına dayanır. Oluşan rengin spektrofotometrede verdiği absorbans şiddeti ile protein konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler :

A Reaktifi (% 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içerisinde)):

0.4 g NaOH destile suda çözülerek hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 2 g Na_2CO_3 0.1 N NaOH çözeltisi ile çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

B Reaktifi (% 0.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (%1 dipotasyum tartarat içerisinde)):

1 g dipotasyum tartarat destile su ile çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. 0.05 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartıldı ve %1 dipotasyum tartarat çözeltisiyle çözülerek 10 mL'ye tamamlandı.

C Reaktifi:

50 mL A reaktifi ve 1 mL B reaktifi alınarak hazırlandı.

E Reaktifi (Folin Reaktifi) :

1500 mL lik Florence balonuna 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 700 mL destile su, 50 mL % 85'lik fosfat asidi ve 100 mL derişik HCl konuldu. Geri soğutucu altında 10 saat kaynatıldı. 150 g LiSO_4 , 50 mL bidestile su ve birkaç damla brom ilave edildi. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için 15 dakika kaynatıldı, soğutuldu ve destile su ile son hacim 1 L'ye tamamlandı. (Bu stok folin reaktifidir, denemede kullanılırken 1:2 oranında bidestile su ile seyreltilerek kullanıldı.)

Deneyin Yapılışı:

Karaciğer dokusundaki protein miktarı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Standart Çözeltilisi	-	-	0.5 mL
D. Homojenizatu	-	0.5 mL	-
Serum Fizyolojik	0.5 mL	-	-
C- Reaktifi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler iyice karıştırılıp 10 dakika beklendi.			
E- Reaktifi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler vortekste karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika beklendikten sonra, absorbanları 500 nm’de köre karşı okundu. Standart eğri yardımıyla % mg protein miktarı hesaplandı.

3.28. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm deneylerde elde edilen bulgular, NCSS paket programına göre istatistiksel olarak değerlendirildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarında U vitamininin sıçan karaciğer dokusu üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla sıçanların serum ve karaciğer doku örneklerinde, çeşitli biyokimyasal parametrelere bakıldı. Elde edilen sonuçlar, Tablo 4.1 - 4.8 arasında gösterildi.

Çalışmamızda serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkali fosfataz enzim aktivite değerleri Tablo 4.1’de gösterildi.

Tablo 4.1: Kontrol ve deney grubu hayvanların serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve alkali fosfataz (ALP) enzim aktivite değerleri.

Gruplar	AST (U/L)*	ALT (U/L)*	ALP (U/L)*
Kontrol	21.68 ± 6.15	21.41 ± 8.35	58.08 ± 9.73
U Vitamini	38.07 ± 16.76	14.83 ± 8.12	62.63 ± 20.61
Amiodaron	69.17 ± 14.23 ^a	55.63 ± 21.16 ^c	216.71 ± 11.13 ^a
Amiodaron + U vitamini	38.12 ± 19.72 ^b	31.72 ± 10.87 ^b	155.15 ± 0.30 ^d
P _{ANOVA}	0.0001	0.0001	0.0001

*Ortalama ± SD

^aP < 0.0001 kontrol grubuna göre, ^bP < 0.05 amiodaron grubuna göre, ^cP < 0.05 kontrol grubuna göre, ^dP < 0.0001 amiodaron grubuna göre.

Elde edilen verilere göre dört grubun serum AST aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü (P_{ANOVA} = 0.0001). Serum AST aktivite değerlerinin, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı (^aP < 0.0001). Amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile serum AST değerlerinin amiodaron grubuna göre anlamlı bir şekilde azalma gösterdiği bulundu (^bP < 0.05) (Tablo 4.1).

Dört grubun serum ALT aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$) (Tablo 4.1). Serum ALT aktivite değerlerinin, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir artma gösterdiği saptandı ($^cP < 0.05$). Amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile serum ALT değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu bulundu ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.1)

Dört grubun serum ALP değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$) (Tablo 4.1). Serum ALP değerleri, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken ($^aP < 0.0001$), U vitamini uygulanan amiodaron grubunda ise amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($^dP < 0.0001$) (Tablo 4.1).

Çalışmamızda serum kolesterol, total lipid ve total bilirubin değerleri Tablo 4.2’de verildi.

Tablo 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanların serum kolesterol, total lipid ve total bilirubin değerleri.

Gruplar	Kolesterol (%mg)*	Total Lipid (%mg)*	Total Bilirubin (%mg)*
Kontrol	43.25 ± 8.68	135.10 ± 39.69	0.281 ± 0.011
U Vitamini	51.16 ± 8.24	149.45 ± 9.57	0.366 ± 0.103
Amiodaron	57.81 ± 9.36 ^a	208.89 ± 24.75 ^a	0.358 ± 0.039 ^a
Amiodaron + U vitamini	54.69 ± 4.32	159.60 ± 16.98 ^b	0.260 ± 0.034 ^b
P_{ANOVA}	0.087	0.001	0.070

*Ortalama ± SD

^aP < 0.05 kontrol grubuna göre, ^bP < 0.05 amiodaron grubuna göre.

Kontrol grubu ve amiodaron grubu karşılaştırıldığında, amiodaron grubunun serum kolesterol değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken ($^aP < 0.05$), amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile serum kolesterol değerlerinin azaldığı görüldü (Tablo 4.2).

Dört grubun serum total lipid değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.001$) (Tablo 4.2). Serum total lipid değerleri, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı ($^aP < 0.05$). U vitamini verilmesi ile serum total lipid değerlerinde amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.2).

Amiodaron grubunun serum total bilirubin değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış meydana geldiği saptandı ($^aP < 0.05$). Amiodaron ve amiodaron+U vitamini grubunun serum total bilirubin değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, amiodaron+U vitamini grubunun değerlerinde, amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma meydana geldiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.2).

Çalışmamızda karaciğer glutatyon ve lipid peroksidasyon değerleri Tablo 4.3'te verildi.

Tablo 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanların glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonu (LPO) değerleri.

Gruplar	GSH (nmol GSH/mg protein)*	LPO (nmol MDA/mg protein)*
Kontrol	14.13 ± 1.39	3.35 ± 0.32
U Vitamini	11.67 ± 2.10	2.83 ± 0.58
Amiodaron	6.14 ± 1.79 ^a	4.08 ± 0.49
Amiodaron + U Vitamini	8.60 ± 0.67	2.88 ± 0.58 ^b
P_{ANOVA}	0.004	0.030

*Ortalama ± SD

^a $P < 0.0001$ kontrol grubuna göre, ^b $P < 0.05$ amiodaron grubuna göre.

Elde edilen verilere göre dört grubun karaciğer GSH seviyeleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.004$). Karaciğer GSH seviyelerinin, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulundu ($^aP < 0.0001$). Fakat, amiodaron ve amiodaron+U vitamini grubu karşılaştırıldığında, amiodaron+U vitamini grubunda GSH seviyelerinde amiodaron grubuna göre bir artış olduğu saptandı (Tablo 4.3).

Dört grubun karaciğer LPO değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.030$). Amiodaron grubunun LPO değerlerinde, kontrol grubuna göre anlamsız bir artış gözlemlenirken ($^cP > 0.05$), amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile karaciğer LPO değerlerinin amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.3).

Çalışmamızda karaciğer laktat dehidrojenaz, gama glutamil transferaz, miyeloperoksidaz ve paraoksonaz enzim aktivite değerleri Tablo 4.4'te gösterildi.

Tablo 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer laktat dehidrojenaz (LDH), gama glutamil transferaz (GGT), miyeloperoksidaz (MPO) ve paraoksonaz (PON) enzim aktivite değerleri.

Gruplar	LDH (U/mg protein)*	GGT (U/g protein)*	MPO (U/g doku)*	PON (U/g protein)*
Kontrol	13.08 ± 4.01	19.97 ± 8.06	1.89 ± 0.68	10.83 ± 0.46
U Vitamini	23.08 ± 12.01	23.52 ± 6.91	2.00 ± 0.56	7.91 ± 2.11
Amiodaron	61.52 ± 14.70 ^a	33.17 ± 9.27 ^a	3.04 ± 0.60 ^a	5.92 ± 2.03 ^a
Amiodaron + U vitamini	37.25 ± 5.55 ^b	25.97 ± 3.58	1.31 ± 0.42 ^b	9.25 ± 2.37 ^b
P_{ANOVA}	0.001	0.035	0.006	0.035

*Ortalama ± SD

^aP < 0.05 kontrol grubuna göre, ^bP < 0.05 amiodaron grubuna göre.

Dört gruba ait karaciğer LDH enzim aktivite değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.001$). Kontrol grubu ile amiodaron grubunun karaciğer LDH aktivite değerleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış meydana geldiği bulundu ($^aP < 0.05$). Bununla birlikte, amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile amiodaron grubunun karaciğer LDH aktivite değerlerinde anlamlı bir azalmanın meydana geldiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.4).

Elde edilen verilere göre dört grubun karaciğer GGT aktivite değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farklılığın anlamlı olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.035$). Kontrol grubu ile amiodaron uygulanan sıçanların karaciğer GGT aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu bulundu ($^aP < 0.05$). Amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile karaciğer GGT aktivite değerlerinde, amiodaron grubuna göre bir azalma meydana geldiği saptandı (Tablo 4.4).

Tüm gruplara ait karaciğer MPO aktivite değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.006$). Kontrol grubu ve amiodaron gruplarının karaciğer MPO aktiviteleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($^aP < 0.05$). Amiodaron grubuna U vitamini uygulanması sonucunda, amiodaron grubunun karaciğer MPO aktivite değerlerinde anlamlı bir azalma meydana geldiği bulundu ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.4).

Kontrol ve deney gruplarının karaciğer PON aktivite değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.035$). Amiodaron uygulanan sıçanların karaciğer PON aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenirken, amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile amiodaron grubunun PON aktivite değerlerinde anlamlı bir artış meydana geldiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.4).

Çalışmamızda kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer adenoazin dezaminaz, ksantin oksidaz ve arginaz enzim aktivite değerleri Tablo 4.5'te verildi.

Tablo 4.5: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer adenoazin dezaminaz (ADA), ksantin oksidaz (XO) ve arginaz enzim aktiviteleri değerleri.

Gruplar	ADA (U/g protein)*	XO (mU/mg protein)*	Arginaz (μmol üre/mg protein)*
Kontrol	8.40 ± 1.29	0.45 ± 0.06	469.33 ± 20.81
U Vitamini	15.63 ± 6.08	0.34 ± 0.32	489.08 ± 290.05
Amiodaron	14.49 ± 1.64 ^a	1.24 ± 0.31 ^c	529.00 ± 134.56
Amiodaron + U vitamini	9.57 ± 2.16 ^b	0.23 ± 0.10 ^b	178.56 ± 98.51 ^b
P_{ANOVA}	0.168	0.003	0.366

*Ortalama ± SD

^aP < 0.0001 kontrol grubuna göre, ^bP < 0.05 amiodaron grubuna göre, ^cP < 0.05 kontrol grubuna göre.

ADA aktivitesi açısından, kontrol ve amiodaron grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, amiodaron grubunun karaciğer ADA aktivite değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu saptandı (^aP < 0.0001). U vitamini verilen amiodaron grubunun ADA aktivite değerlerinde ise amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma meydana geldiği bulundu (^bP < 0.05) (Tablo 4.5).

Dört gruba ait karaciğer XO aktivite değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu (P_{ANOVA} = 0.003). Amiodaron verilen grubun XO aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış (^cP < 0.05), U vitamini verilen amiodaron grubunda da amiodaron grubunun XO değerlerine göre anlamlı bir azalma meydana geldiği görüldü (^bP < 0.05) (Tablo 4.5).

Amiodaron grubunun arginaz aktivite değerlerinde kontrol grubunun değerlerine göre bir artış olduğu bulundu. U vitamini verilen amiodaron grubunun arginaz aktivite

değerlerinde ise amiodaron grubunun enzim aktivite değerlerine göre anlamlı bir düşüş meydana geldiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.5).

Karaciğer dokusu homojenizatlarının sodyum-potasyum ATPaz, prolidaz ve DT-diaforaz enzim aktivite değerleri Tablo 4.6'da verildi.

Tablo 4.6: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer sodyum-potasyum ATPaz ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz), prolidaz ve DT-diaforaz enzim aktivite değerleri.

Gruplar	$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz (nmol Pi/mg protein saat)*	Prolidaz (U/g protein saat)*	DT-Diaforaz ($\mu\text{mol/dk/mg protein}$)*
Kontrol	2.50 ± 0.56	968.18 ± 374.77	179.75 ± 43.54
U Vitamini	1.69 ± 0.43	973.67 ± 571.86	329.02 ± 71.55^c
Amiodaron	1.30 ± 0.52^a	1884.06 ± 670.39^a	240.86 ± 14.21
Amiodaron + U vitamini	4.30 ± 1.05^b	937.14 ± 480.42^b	145.13 ± 20.92^b
P_{ANOVA}	0.001	0.037	0.011

*Ortalama $\pm$ SD

$^aP < 0.05$ kontrol grubuna göre, $^bP < 0.05$ amiodaron grubuna göre, $^cP < 0.05$ kontrol grubuna göre.

Elde edilen verilere göre, tüm grupların karaciğer $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz enzim aktivite değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{\text{ANOVA}} = 0.001$). Kontrol grubu ile amiodaron gruplarının karaciğer $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz enzim aktivite değerleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($^aP < 0.05$). Amiodaron ve amiodaron+U vitamini grupları karşılaştırıldığında ise, amiodaron grubuna U vitamini uygulanması sonucunda amiodaron grubunun $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz enzim aktivite değerlerinde anlamlı bir artış meydana geldiği saptandı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.6).

Dört grubun karaciğer prolidaz enzim aktivite değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi ($P_{\text{ANOVA}} = 0.037$). Amiodaron verilen sıçanlar ile kontrol gruplarının karaciğer prolidaz enzim aktiviteleri değerleri

karşılaştırıldığında, amiodaron grubunun enzim aktivite değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi (^aP < 0.05). U vitamini uygulanan amiodaron grubunda ise, amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma meydana geldiği gözlemlendi (^bP < 0.05) (Tablo 4.6).

Tüm grupların karaciğer DT-diaforaz enzim aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, tüm grupları arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.011$). Kontrol grubu ve U vitamini verilen gruba ait enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında, U vitamini grubunun DT-diaforaz aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (^cP < 0.05). Kontrol ve amiodaron gruplarının enzim aktivite değerleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre bir artış meydana gelirken, U vitamini uygulanan amiodaron grubuna göre, amiodaron grubunun karaciğer DT-diaforaz enzim aktivite değerlerinde anlamlı bir azalma meydana geldiği saptandı (^bP < 0.05) (Tablo 4.6).

Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer doku homojenizatlarının protein karbonil miktarları ile tromboplastik aktivite değerleri Tablo 4.7’de verildi.

Tablo 4.7: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer protein karbonil (PC) ve tromboplastik aktivite (TF) değerleri.

Gruplar	PC (nmol karbonil/mg protein)*	TF (saniye)*
Kontrol	8.34 ± 0.36	207.60 ± 20.90
U Vitamini	8.53 ± 1.85	181.30 ± 9.83 ^a
Amiodaron	16.69 ± 5.21 ^a	110.42 ± 10.56 ^c
Amiodaron + U vitamini	10.39 ± 1.41 ^b	210.81 ± 14.07 ^d
P_{ANOVA}	0.002	0.0001

*Ortalama ± SD

^aP < 0.05 kontrol grubuna göre, ^bP < 0.05 amiodaron grubuna göre, ^cP < 0.0001 kontrol grubuna göre, ^dP < 0.0001 amiodaron grubuna göre.

Elde edilen verilere göre tüm grupların PC değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.002$). Kontrol ile amiodaron gruplarının PC değerleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunun PC değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış meydana geldiği gözlemlendi ($^aP < 0.05$). Amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile amiodaron grubunun PC değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu bulundu ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.7).

Karaciğer dokusu tromboplastik aktivite (TF) değerleri, amiodaron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi ($^cP < 0.0001$). Amiodaron ve amiodaron+U vitamini gruplarına ait olan aktivite değerleri karşılaştırıldığında ise, U vitamini verilen amiodaron grubunun tromboplastik aktivite değerlerinin amiodaron grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı ($^dP < 0.0001$) (Tablo 4.7).

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8: Kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri.

Gruplar	Fukoz (μg fukoz /mg protein)*	Heksoz (mg glukoz /mg protein)*	Heksozamin (μg glukozamin /mg protein)*
Kontrol	0.18 ± 0.05	0.26 ± 0.04	0.47 ± 0.15
U Vitamini	0.22 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.26 ± 0.21
Amiodaron	0.50 ± 0.08^a	0.41 ± 0.08^a	1.14 ± 0.39^a
Amiodaron + U vitamini	0.24 ± 0.12^b	0.25 ± 0.08^b	0.19 ± 0.12^b
P_{ANOVA}	0.0001	0.005	0.0001

*Ortalama $\pm$ SD

$^aP < 0.05$ kontrol grubuna göre, $^bP < 0.05$ amiodaron grubuna göre.

Dört gruba ait karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$, $P_{ANOVA} = 0.005$). Kontrol grupları ile amiodaron grupları birbirleri ile

karşılaştırıldığında, amiodaron grubuna ait olan karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artma meydana geldiği saptandı (^aP < 0.05). Amiodaron ve amiodaron+U vitamini gruplarının karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, U vitamini uygulanan amiodaron grubunda amiodaron grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu bulundu (^bP < 0.05) (Tablo 4.8).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antiaritmik ilaçlar, klasik olarak kalp kası ve özelleşmiş ileti sistemi üzerindeki doğrudan elektrofizyolojik etkileri ile kardiyak ritm bozukluklarını önleyen veya tedavi eden ilaçlardır. Günümüzde hızla artan ve ani ölümler ile sonuçlanan kalp rahatsızlıklarını önlemek amacıyla, tedavilerde sıklıkla tercih edilmektedirler. Bu ilaçlar ile uygulanan tedavilerde temel amaçlar, görülen semptomları iyileştirmek, hastalığın ilerleyişini yavaşlatmak ve yaşam kalitesini arttırmaktır (Nakou ve Vardas, 2013). Bu nedenle, ventriküler aritmi, paroksizmal supraventriküler taşikardi, atriyal fibrilasyon gibi aritmilerin tedavisinde kullanılmaktadırlar (Reiffel ve diğ., 1994). Antiaritmik ilaçlar, Vaughan-Williams ilaç sınıflandırmasına göre dört sınıfa ayrılırlar. Amiodaronun, bu sınıflandırmada III. sınıfta yer aldığı bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiş olduğu halde (Iskandar ve diğ., 2006), elektrofizyolojik profili açısından, Vaughan-Williams antiaritmik ilaç sınıflandırılmasının bütün sınıflarına ait etkileri göstermekte olduğu Babatin ve diğ. (2008) tarafından literatürde belirtilmiştir.

Amiodaron, tedavi amaçlı kullanımı esnasında, birçok doku ve organda yan etkiler göstermektedir. Bundan dolayı, tedavilerde kullanımı sınırlandırılmaktadır. Başta karaciğer olmak üzere, akciğer, sinir sistemi, deri fonksiyonları, tiroid, beyin, göz, böbrek ve kas gibi doku ve organlarda yan etkiler oluşturduğu rapor edilmektedir (Harris ve diğ., 1983; Vorperian, 1997). Bu doku ve organlarda birikerek yan etkiler göstermesinin sebepleri, molekül yapısı, yarılanma süresinin çok uzun oluşu, dokularda birikme eğilimi ve dolayısıyla hücrede enerji metabolizmalarına ait önemli döngüleri inhibe etmesi sebebiyle hücrede toksisite oluşturmasıdır. Amiodaronun yüksek iyot içeriği, aşırı tiroid hormonu sentezlenmesine ve bunu takiben de hipertirodizme yol açmaktadır (Klein ve Ojamaa, 2001). İlacın uzun süre kullanımı hücresel fosfolipidozise ve sekonder olarak fosfolipazların azalmasına (Adams ve diğ., 1985), serbest radikallerin oluşmasına ve hücresel fonksiyon değişikliği veya immünolojik hasara yol açarak fosfolipid metabolizması üzerinde olumsuz etki etmektedir (Pichler ve diğ., 1988). Molekül yapısı açısından incelendiğinde, yapıya hidrofobik özellik kazandıran benzofuran halkası, hücre membranlarından geçişini kolaylaştıran iki adet iyot molekülü

ve membranlara tutunmasını kolaylaştıran hidrofilik özellikteki dietilamino grubu, amiodaronun hücrede tutunmasını sağlayan etkenler olarak belirtilmiştir. Lipofilik özelliğinden dolayı da doku ve organlarda birikme eğilimi göstermektedir (Wilson ve Podrid, 1991). Amiodaron karaciğerde yıkılır ve böbrek yolu ile atılır. Böbreklerden atılımı düşük düzeyde olduğu için karaciğer, yağ dokusu ve akciğer dokularında tutulmaktadır.

Karaciğer, organizmanın temel metabolik reaksiyonlarını gerçekleştirdiği çok önemli bir organdır. Karbohidrat, lipid ve protein metabolizmaları başta olmak üzere, kan depolama, safra üretimi, ksenobiyotik metabolizmaları gibi önemli metabolizmaların gerçekleştiği bir merkezdir. Karaciğer, anatomik konumu itibarıyla ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Birçok ilacın ve kimyasal maddenin zehirsizleştirilmesi bu organda sitokrom P₄₅₀ enzim sistemleri tarafından, karaciğerde yer alan hepatositlerde gerçekleştirilmektedir. Amiodaron, tıpkı diğer ilaç ve kimyasallar gibi bu hepatositlerde sitokrom P₄₅₀ sistemi tarafından metabolize edilmektedir. Fakat ilacın gerek kendisinin gerekse meydana gelen metabolitlerinin bu sistemde yer alan enzimleri inhibe etmelerinden dolayı, toksisite oluşma eğilimi başlar.

Glikoliz, yağ asitlerinin oksidasyonu ve TCA siklusunda oluşan NADH+H⁺ ve FADH₂ molekülleri, enerji bakımından zengin moleküllerdir. Çünkü, her biri yüksek indirgen potansiyeline sahip olan bir elektron çifti ihtiva eder. Bu elektronlar, oksijene aktarıldığı zaman büyük miktarda enerji salınır. Bu enerji de ATP sentezinde kullanılabilir. NADH+H⁺ ve FADH₂'den elektronların bir seri elektron taşıyıcıları vasıtasıyla oksijene transferi beraberliğinde ATP'nin sentezlenmesi olayına oksidatif fosforilasyon adı verilir. Oksidatif fosforilasyon mitokondri iç membranında yer alan bir solunum zinciri (elektron transport zinciri) tarafından yürütülür. Oluşan NADH+H⁺ ve FADH₂'nin önemli bir kısmını sağlayan TCA siklusu ve yağ asitlerinin oksidasyonu mitokondri iç membranına bitişik olan matriks sıvısında gerçekleşir (Keha ve Küfrevioğlu, 2009). Turrens ve Boveris, (1980) ve Michiels ve diğ., (1994) tarafından belirtildiği gibi, mitokondriyal oksijenin yaklaşık % 4'ü elektron eksikliğinden dolayı tam anlamıyla indirgenmemektedir ve dolayısıyla süperoksit radikali oluşumu başlar. Literatürlerde solunum zincirinde kompleks I'in bazı ajanlar tarafından inhibe edilmesi sonucunda süperoksit radikalının oluşmasına zemin hazırladığı, yapılan *in vitro* çalışmalar ile

desteklenmiştir (Cortopassi ve Wang, 1995, Klüppel ve Campello, 1996). Amiodaron, solunum zincirinde elektron akışını kompleks I aşamasında inhibe etmektedir (Guerreiro ve diğ., 1986, Klüppel ve Campello, 1996). Bu şekilde solunum zincirinden kaçan elektronlar, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit radikalini ve hidrojen peroksidi oluştururlar. Her ikisi de oldukça reaktif olup, birçok biyomolekölün dönüşümsüz zarar görmesine yol açarlar. Özellikle membran lipidlerinin doymamış yağ asid bileşenlerine saldırarak membran yapısını bozarlar (Keha ve Küfrevioğlu, 2009). Normal koşullar altında, süperoksit, mitokondride GSH ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan sistemler sayesinde indirgenir. Fakat solunum zinciri inhibitörleri varlığında, reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonu artmaya başlar. Bununla birlikte karaciğerin enerji ihtiyacını genel olarak β -oksidasyondan sağlaması ve amiodaron tarafından bu siklusun da inhibe edilmesi sonucunda mitokondride toksisite oluşmaya başlar (Ribeiro ve diğ., 1997, Kaufmann ve diğ., 2005).

Çalışmamızda, serumda AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile kolesterol, total lipid ve total bilirubin miktar tayinleri yapıldı. Karaciğer dokusunda ise, amiodaronun oluşturduğu doku hasarını belirleyebilmek amacıyla GSH ve LPO seviyeleri, laktat dehidrojenaz (LDH), gama glutamil transferaz (GGT), miyeloperoksidaz (MPO), paraoksonaz (PON), adenozin dezaminaz (ADA), ksantin oksidaz, arginaz, sodyum potasyum ATPaz, prolidaz, DT-diaforaz ve tromboplastik aktiviteleri ile protein karbonil, fukoz, heksoz ve heksozamin gibi çeşitli biyokimyasal parametrelerin miktarları tayin edildi.

Transaminazlar ve fosfatazlar, karaciğer ve diğer organlarda oluşan hasarların belirlenmesinde klinik anlamda önem taşımaktadırlar (Vijayavel ve diğ., 2013). Transaminazlar, amino grubunun transfer reaksiyonlarını katalizleyen ve karaciğer hasarlarının teşhisi için önemli olan marker enzimlerdir (McNamara ve Goldberg, 1985, El-Demerdash, 2004; Zeashan ve diğ., 2008). Hem AST hem de ALT karaciğer hasarı ve toksisitelerinde marker enzim olarak kullanılmasına rağmen (El-Demerdash, 2004), AST karaciğer hastalıklarının yanı sıra kalp rahatsızlıkları, kas zedelenmesi gibi durumlarda da marker olarak kullanılır (Bektur ve diğ., 2013). Bundan dolayı, ALT karaciğer için daha spesifik bir enzimdir (Ben Hamida ve diğ., 2013). Transaminazların yanı sıra, fosfatazlar da hücre-doku hasarlarının tespit edilmesinde kullanılan marker

enzimlerdendir (Manabe ve diğ., 1996, Hemieda ve diğ., 2005). Fosfatazlar, kendilerine özgül pH değerlerinde, çeşitli fosfat esterlerini hidroliz eden ve bazı patolojik durumlarda hepatositlerin depolanmış substratlarından fosfatın serbest kalmasını sağlayan fosfomonoesterazlar olarak tanımlanmaktadır (Vijayavel ve diğ., 2013). Bu enzim grubunda tanımlanan alkali fosfataz nükleotidlerden ve proteinlerden fosfat grubunun hidrolizini gerçekleştirir. Pollak ve Shafer tarafından beş yıl boyunca amiodaron verilen 125 hastada serum AST, ALT aktivitelerinin arttığı bulunmuştur (Pollak ve Shafer, 2004). Ayrıca yine amiodaron uygulanan hastalarda serum transaminaz aktivitelerinin arttığı Chan ve diğ. (2008), rosvastatin ve amiodaron verilen yaşlı bayanlarda AST ve ALT aktivitelerinin arttığı Merz ve Fuller tarafından ortaya konulmuştur (Merz ve Fuller, 2007). İntravenöz olarak tek doz amiodaron verilen ve akut amiodaron sendromu oluşturulan sıçanlarda AST ve ALT aktivitelerinin yükseldiği saptanmıştır (Ng ve diğ., 2012). Çin’de 720 hastaya uzun süreli amiodaron uygulanması ile serum ALT değerlerinin arttığı görülmüştür (Kum ve diğ., 2006). Uzun süreli amiodaron infüzyonu alımından sonra kalp hastalarında AST, ALT değerlerinin arttığı Kicker ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Kicker ve diğ., 2012). Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarının serum AST ve ALT aktiviteleri karşılaştırıldığında, amiodaron grubunda bu enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre bir artış meydana geldiği görüldü. Çalışmamızda amiodaron verilmesi ile serum AST ve ALT aktivitelerinin arttığı görüldü. Bu aktivitelerin artışı karaciğerde toksisitenin oluştuğunu, buna bağlı olarak karaciğerde hasar olduğunu bize göstermektedir. U vitamini+amiodaron verilen sıçanların AST, ALT aktivitelerinde azalma olduğu görüldü. Bu azalma, U vitamininin amiodaronun neden olduğu karaciğer hasarını önlediğinin bir göstergesidir. AST ve ALT değerlerindeki artış, sadece amiodaron verilen sıçanlarda değil, non-alkolik karaciğer hasarında, ritodrin, galaktozamin, etanol, sisplatin ve doksorubisin gibi maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarlarında da arttığı belirtilmiştir (Bentli ve diğ., 2013, Magielse ve diğ., 2013, Mete ve diğ., 2013, Tsuchiya ve diğ., 2013, Wang ve diğ., 2012, Ying ve diğ., 2013).

Alkali fosfataz izoenzimleri karaciğer, kemik, böbrek ve bağırsaklarda bulunur. Kolestaz ve safra ile ilgili hastalıklarda marker enzimdir (Ramaiah, 2007). ALP aktivitesinin kronik karaciğer hastalıklarında arttığı belirtilmektedir (Wright ve Vanderberg, 2007). Yamamoto ve diğ. (2006) amiodaron verilen sıçanlarda serum ALP

aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. ALP aktivitelerinde, karaciğer toksisitesi ve alloksan ile indüklenen diyabet çalışmalarında da artış gözlemlendiği bulunmuştur (Ahmadvand ve diğ., 2012, Lu ve diğ., 2012, Kabil ve diğ., 2013). Çalışmamızda, amiodron verilen sıçanların ALP aktivitelerinde artış olduğu gözlemlendi. Amiodaron+U vitamini verilmesi, sıçanlarda serum ALP aktivitelerinde anlamlı bir azalma meydana getirdi. Bu da U vitamininin amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarının önlediğini bize göstermektedir.

Amiodaron ile ilgili yapılan çalışmalarda, AST, ALT ve ALP gibi kan parameterlerinden başka lipid parametresi ile ilgili sonuçlar da bulunmaktadır. Karaciğer hasarında serumda lipid değerlerinde de farklılıklar olduğu belirtilmektedir. Kurşun ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde kolesterol değerlerinin arttığı Sharma ve arkadaşları tarafından belirtilmiştir (Sharma ve diğ., 2013). Diyabetik sıçanlarda, serum kolesterol değerlerinin arttığı Tunalı ve Yanardağ tarafından saptanmıştır (Tunalı ve Yanardağ, 2006). Amiodaron verilen sıçanlarda serum ve karaciğer lipid değerlerinin arttığı Padmavathy ve diğ. (1992) ve Yamamoto ve diğ. (2006) tarafından gösterilmiş olup, amiodaronun koroner kalp hastalığı gelişimine yol açacağı öne sürülmüştür. 12 hastada 3, 6 ve 9 ay amiodaron verildikten sonra serum kolesterol değerlerinin arttığı belirtilmiştir (Lakhdar ve diğ., 1991). Amiodaron uygulanan kişilerde, yan etki olarak tiroit ile ilgili bozukluklar olduğu görülmektedir. Hipotiroidizm, sekonder olarak hiperkolesterolemiye neden olur. Kasim ve diğ. amiodaron verilen hastalarda tiroit hormonlarında ve lipid metabolizmasında değişiklik olduğunu saptamış ve amiodaronun hastaların serum kolesterol değerlerinde anlamlı bir artmaya neden olduğunu öne sürmüşlerdir (Kasim ve diğ., 1990). Pollak ve diğ. yine amiodaron tedavisi sırasında serum kolesterol değerlerinde artış olduğunu (Pollak ve diğ., 1988), Sonnenblick ve diğ. (1986) ise tavşanlara 6 hafta amiodaron verilmesi ile serum kolesterol değerlerinin arttığını saptamışlardır. Yine kronik olarak 6 hafta intraperitoneal olarak 20 mg/kg dozda amiodaron verilen sıçanların serum trigliserid ve kolesterol değerlerinde artma olduğu görülmüştür (Kannan ve diğ., 1982). Çalışmamızda 100 mg/kg dozda 7 gün süre ile amiodaron verdiğimiz sıçanların serum kolesterol ve total lipid değerlerinin arttığı bulunmuştur. U vitamininin hipolipidemik özelliğe sahip olduğu Seri ve diğ. tarafından öne sürülmüştür (Seri ve diğ., 1978 ve 1980). Çalışmamızda amiodaron verdiğimiz sıçanlara U vitamini uyguladığımızda

artmış olan serum total lipid değerlerinin azaldığı görülmüştür. Bunun sonucu olarak U vitamininin amiodaron ile ortaya çıkabilecek koroner kalp hastalığı riskini azalttığı, karaciğerde oluşan toksisiteyi önlediği ileri sürülebilir.

Bilirubin, vücutta antioksidan bir madde olup, LPO inhibe eden, süperoksit ve hidroksil radikallerinin toplayıcısı olan bir maddedir (Uysal 1988; Yalçın, 1988; Seven ve Candan, 1996). Bilirubin hemoglobinin yıkılması ile oluşur ve akut karaciğer hasarında total bilirubin miktarı artar. Bilirubin ALT aktivitesi ile karşılaştırıldığında, bilirubinin karaciğer hasarı için daha iyi bir marker olduğu Dufour ve diğ. (2001) tarafından ileri sürülmüştür. Epilepsi hastalarında (Kochar ve diğ., 2002), hepatit C hastalarında (Ali ve diğ., 2009), sarılık hastalarında serumda bilirubin miktarının arttığı gösterilmiştir (Gökçe ve diğ., 2010). Valproik asit verilerek karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda serum bilirubin düzeylerinin arttığı ve U vitamini verilmesi ile bilirubin düzeyinin azaldığı bulunmuştur (Hacıhasanoğlu, 2011). Amiodaron verilerek akut hepatotoksisite oluşturulan sıçanlarda serum bilirubin düzeyinin yükseldiği Rao ve Agarwal tarafından bildirilmiştir (Rao ve Agarwal, 2012). Çalışmamızda amiodaron verilen sıçanlarda serum bilirubin miktarının arttığı görülmüştür. U vitamini uygulanması ile artan serum bilirubin miktarının azaldığı saptanmıştır. Serum bilirubin düzeyindeki bu azalma, U vitamininin karaciğerde oluşan hasarı önlediğini göstermektedir.

GSH, vücudumuzda antioksidan savunma sisteminin koordinasyonunda merkezi bir rol oynayan ve canlı organizmanın tiyol gurubu içeren, non-protein yapıdaki düşük molekül ağırlıklı bir tripeptididir (Choi ve diğ., 2011, Ali ve diğ., 2014). Antioksidan sistemin karşılaştığı en büyük sorunlardan biri olan oksidatif stres, yaşlanma gibi proseslerde, kardiyovasküler hastalıklarda, diyabette, romatoid artrit, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında, karsinogenez gibi proseslerde oluşabilmektedir (Ballatori ve diğ., 2009, Kryston ve diğ., 2011, Johnson ve diğ., 2012, Sohal ve Orr, 2012, Smeyne ve Smeyne, 2013). GSH, karaciğer başta olmak üzere, dalak, böbrek, lens, eritrositler ve lökositlerde lokalize olmuş bir antioksidandır. Karaciğer ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda da belirtildiği gibi, karaciğer GSH sentezindeki merkez organdır. Biyosentetik aktivitesini genel olarak sitoplazmada göstermekte olan GSH, aynı zamanda mitokondride, endoplazmik retikulumda ve çekirdekte de bulunmaktadır. Karaciğerde, sitosoldeki toplam GSH % 10'u mitokondriye taşınır ve böylece mitokondrideki konsantrasyonu da

dengede tutulmuş olur (Garcia-Ruiz ve diğ., 1994, Griffith ve Meister, 1985). Çekirdekte bulunan GSH, ekspresyon, transkripsiyon ve DNA onarımı için gerekli olan proteinlerin sülfidril gruplarının redoks dengesinin korunabilmesi için gereklidir (Green ve diğ., 2006). Diğer organellere zıt olarak, glutatyon endoplazmik retikulumda yükseltgenmiş halde bulunmaktadır. Bunun sebebinin ise proteinlerin yapım ve salgılanması açısından uygun ortamın sağlanabilmesi için okside glutatyonun gerekli olmasıdır (Hwang ve diğ., 1992).

GSH, gama glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. Yapısındaki gama glutamik asidin gama karbon atomu ile sisteinin amino grubu arasında oluşan gama glutamil amid bağının glutatyona sağladığı en büyük avantaj, hücre içindeki peptidazlar tarafından bir substrat olarak görülmesini engellemesidir. Bu sebepten dolayı, GSH, gamaglutamil transferazlar ile metabolize edilmektedir (Meister, 1988). Antioksidan özellik taşımasının sebebi, serbest radikallerin etkilerinin azaltılması için reaksiyona girebilecek bir serbest sülfidril grubu bulundurmasıdır (Rushworth ve Megson, 2014). Böylece, GSH, oksidasyon reaksiyonu ile yükseltgenmiş glutatyon formuna (GSSG) oksitlenir. Bu iki yapının birbirine oranı (GSH/GSSG) ise hücre içindeki redoks statüsünün ve bununla ilişkili hastalıkların belirlenmesinde önemli bir marker olmaktadır. Çünkü, bir memeli hücresindeki GSH/GSSG oranı “100:1” den “1000:1” e kadar değişebilmektedir. Bundan dolayı, indirgenmiş glutatyonun okside glutatyona dönüşümü ya da tiyol-disülfid değişimi, bu oranın değişimine neden olacaktır. GSH’ın hem sentezinin hem de miktarının azalması ile önemli bir metabolik yol olan gama glutamil siklusu da zarar görecektir. Böylece, GSH ve diğer proteinlerin yeniden sentezi için gerekli olan amino asid transportu da azalacaktır (Chen ve diğ., 2013). Araştırmacılar tarafından, GSH miktarının korunabilmesi ve organlarda meydana gelebilecek hasarlarda oluşabilecek GSH miktarı azalmasına karşın GSH konsantrasyonunun arttırılabilmesi için, silymarin, E vitamini, C vitamini gibi antioksidanlar, N-asetilsistein gibi maddeler kullanılmaktadır (Testino ve diğ., 2013; Venditti ve diğ., 2013; Rushworth ve Megson, 2014). N-asetilsistein, yapısındaki sistein ile glutatyonun tekrar sentezlenmesine yardımcı olmaktadır (Rushworth ve Megson, 2014). Amiodaron ile oluşturulan toksisitede C vitamini ve N-asetilsisteinin oluşan toksisiteyi önlediği Durukan ve diğ. (2012) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda amiodaron verilen grubun GSH miktarlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma

meydana gelmiştir. Bu gruba U vitamini uygulanması ise, GSH miktarlarında anlamlı bir artış meydana getirmiştir. Bundan dolayı, tıpkı N-asetilsistein gibi yapısında kükürt bulunduran U vitamininin GSH miktarları üzerinde pozitif bir etkisinin olduğu söylenebilir.

Lipidler, moleküler yapıları bakımından, fazla sayıda reaktif çifte bağ içermelerinden dolayı, oksidasyon reaksiyonlarındaki hedef moleküllerden biridir (Ho ve diğ., 2013). Oksidatif stres de lipidlerin peroksidasyonunu başlatan temel metabolik yollardan biridir (Vijayavel ve diğ., 2013). LPO, lipid hidroperoksitlerinin ve çeşitli zincir uzunluklarına sahip aldehit yapıları bileşiklerinin oluştuğu bir reaksiyondur. Başlangıç safhasında, reaktif oksijen türleri, doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girer, yeni ve daha az reaktif karbon merkezli bir lipid radikali oluşur. İkinci safhada yani zincir uzatma safhasında, lipid radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikalini oluşturur. Bu lipid peroksi radikali başka bir doymamış yağ asidinden bir hidrojen atomu alarak, yeni radikal karbon merkezli bir lipid molekülü oluşurken kendisi de lipid hidroperoksidine dönüşür. Lipid hidroperoksitleri, demir ve bakır gibi eser elementler ile reaksiyona girerek lipid alkoksil radikallerini meydana getirir. Hem lipid peroksil radikali hem lipid alkoksil radikali, daha ilerleyen reaksiyon zincirleri ile malondialdehit, trans-4-hidroksi-2-nonenal, trans-4-okso-2-nonenal, akrolein, glioksal, krotonaldehit ve 2-hekzanal gibi ürünler oluştururlar. Lipid peroksidasyonunun sona erme safhası, lipid peroksil radikalinin başka bir radikal ile reaksiyona girmesi ile veya non-radikal antioksidanlar gibi maddeler ile etkileşmesi ile olmaktadır (Fritz ve Petersen, 2011; Zimniak, 2011; Ruskovska ve Bernlohr, 2013).

LPO ürünleri genel olarak, hücre membranı ile etkileşerek, membran geçirgenliğini arttırmaları, hücre membranı akışkanlığını düşürürler, membran proteinlerini inaktive ederler ve mitokondri membranının polaritesinin azalmasına sebep olurlar (Ingawale ve diğ., 2013). LPO ürünlerinden en çok bilineni olan malondialdehit de (MDA), yine benzer etkiler göstererek hücre membranında iyon değişim prosesini etkileyerek hücre membranlarının yapılarında değişikliğe yol açmaktadır (Niki ve diğ., 2005). Trans-4-hidroksi-2-nonenal (HNE) ise sitoplazmaya geçiş yaparak çekirdeğe ulaşır, DNA ve proteinler ile reaksiyona girerek hasar oluşumuna neden olur (Ruskovska ve Bernlohr, 2013). LPO ürünlerinin yol açtığı bu hasarların sonucunda, hücredeki indirgenmiş

glutatyonun okside olması ile okside glutatyon miktarı artar, GSH/GSSG oranı azalır. Bundan dolayı, genel olarak doku ve organ hasarlarında glutatyon miktarının düşüşü ile lipid peroksidasyonu artışı, hasar parametreleri olarak birbirini desteklemektedir. LPO'nu arttırarak karaciğer toksisitesini arttıran maddeler arasında, halojenlenmiş hidrokarbon yapılar, hidroperoksitler, kadmiyum, iyodoasetamid, kloroasetamid, sodyum vanadat gibi çeşitli metaller ve metal bileşikler yer almaktadır (Scibior ve diğ., 2013; Sharma ve diğ., 2013; Wen ve diğ., 2013). Çalışmamızda amiodaronun yapısındaki iyodobenzen halkasının meydana getirdiği toksisite göz önünde bulundurulduğunda, amiodaron verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, LPO değerlerinin anlamlı olarak artış gösterdiği belirlendi. Karaciğer hasarını önlemek amacıyla verilen U vitamini ise amiodaron grubunun LPO değerlerinde anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. Çalışmamıza paralel olarak gerek CCl_4 ile oluşturulan gerekse metaller, galaktozamin-lipopolisakkarit gibi kombine bileşikler ile oluşturulan karaciğer hasarlarında da LPO değerlerinin hasar gruplarında artış gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (El-Beshbishy, 2008; Deepmala ve diğ., 2013; Mistry ve diğ., 2013).

Anaerobik glikolizin önemli enzimlerinden biri olan LDH, anaerobik glikolizin son aşaması olan piruvat-laktat dönüşümünü katalizleyen tetramerik bir enzimdir (Miao ve diğ., 2013, Vijayavel ve diğ., 2013). LDH, memelilerde karaciğer, kalp, böbrek, eritrositler ve iskelet kasında fazla miktarda olmak üzere hemen hemen tüm dokularda bulunmaktadır (Calbreath, 1992; Hayman ve diğ., 2004). Enzimin aktivitesindeki artış, doku hasarında, nekroz, hipoksi, hemoliz ve miyokardiyal enfarktüs gibi çeşitli hastalık durumlarında gözlenmektedir (Miao ve diğ., 2013). Terlecki ve diğ. (2002), LDH'nin düşük pH değerlerinde yüksek aktivite gösteren bir enzim olduğunu ileri sürmektedirler. Glikoliz ve mitokondriyal solunum sistemi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Oksijen tüketimi ve oksidatif fosforilasyon arttığı zaman LDH aktivitesi inhibe edilmektedir (Miao ve diğ., 2013). Bu aradaki ters orantı ile amiodaronun mitokondriyal solunum zinciri arasındaki ilişki birbirine paralel gitmektedir. Amiodaronun hücre içine sürekli olarak girebilmesi için dışarıdan proton alarak mitokondri matriksine ulaşması ile hidrojen iyonu konsantrasyonu artmaktadır. Artan hidrojen iyonu konsantrasyonu, ortamın pH'ını düşürmektedir. Hem ortamın pH'ının düşmesi hem de amiodaronun mitokondriyal solunum zincirini inhibe etmesi ile artma ihtimali olan glikoliz gibi

faktörler göz önünde bulundurulduğunda, amiodaron uygulanması ile LDH aktivitesinin artması olası bir durumdur. Amiodaronun toksisite oluşturduğu ve buna bağlı LDH aktivitesinin serum ve dokularda arttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Alvarez ve diğ., 1984; Baudin ve diğ., 1996; Pollak ve Shafer, 2004; Roth ve diğ., 2013). 3 hafta boyunca tek doz amiodaron verilmesi ile akciğer fibrozisi oluşturulan sıçanlarda, LDH aktivitesinin arttığı, akciğer hasarı oluşturulan sıçanlara koruyucu olarak kurkumin verilmesi ile artmış olan LDH aktivitesinin azaldığı bulunmuştur (Punithavatti ve diğ., 2003). Çalışmamızda amiodaron verilen grupta LDH aktivitesinde anlamlı bir artma meydana geldiği saptandı. Bu sonuca göre, amiodaron verilen sıçanlardaki LDH aktivitesinin artması diğer çalışmalar ile uygunluk göstermektedir. Amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile enzimin aktivitesinde anlamlı azalma olduğu gözlemlendi.

Reaktif oksijen türlerinin hücre ortamındaki miktarının artması, membran lipidlerinin ve DNA'nın hasarına, solunum zincirinde mitokondriyal kompleks I'de değişikliklere neden olmaktadır. Fizyolojik koşullarda serbest radikallerin ortamdan kaldırılması için birçok homeostatik mekanizmalar mevcuttur (Smeyne ve Smeyne, 2013). Bu mekanizmalardan biri de, ksenobiyotik zehirsizleştirilmesi ve hücrelerin redoks dengesinin sağlanmasında rolü olan GSH'nın metabolizması ile ilişkilidir (Singh ve diğ., 2013). Membrana bağlı enzimlerden biri olan gama glutamil transferaz (GGT), GSH'un ekstraselüler katabolizması sonucunda oluşan gama glutamil kalıntısını kullanarak serbest amino asitlerin membrandan hücreye aktarılmasını sağlayan bir enzimdir (Martini ve diğ., 2010). Bu katabolik mekanizma, oksidatif hasar ile yakından ilişkilidir, çünkü GSH, serbest radikallere karşı oluşturulan antioksidan savunma sisteminde aktif rol oynamaktadır. Bu sebepten dolayı, reaktif oksijen türlerinin üretiminin artması ile GGT'nin aktivitesi arasında bir doğru orantı söz konusudur (Ulus ve diğ., 2007; Aksakal, ve diğ., 2012). GGT, oksidatif stresin yanı sıra, akut pulmoner embolide, gerek ilaç kullanımı gerekse aşırı alkol tüketiminden kaynaklanan karaciğer hastalığı, koroner kalp rahatsızlığı, kalp krizi, hipertansiyon, tip II diyabet ve bu rahatsızlıklarla ilişkili olarak ortaya çıkabilecek birçok metabolik hastalığın belirteci olarak kullanılmaktadır (Gude ve diğ., 2009; Van Beek ve diğ., 2014). GGT enzimi, başta karaciğer, böbrek, kalp, beyin, pankreas, dalak ve safra kanalı olmak üzere birçok doku ve organda lokalize olmuştur (Sturgill ve Lambert, 1997; Gude ve diğ., 2009; Zorlu ve diğ., 2012, Smeyne ve Smeyne, 2013). Bu enzim ile ALP enziminin arasında aktivite açısından

doğru orantı vardır. ALP yüksekliğinde kaynağın karaciğer ya da kemik olduğunun ayırımında kullanılan GGT karaciğer hastalıklarında yükselirken kemik hastalıklarında normal düzeyde kalır (Thapa ve Walia, 2007). Yapılan çalışmalarda sodyum arsenit verilen sıçanlarda (Adewale ve Olurunju, 2013), $AlCl_3$ verilen sıçanlarda (Belaid-Nouira ve diğ., 2013), etanol ile oluşturulan hepatotoksisitede (Müller ve diğ., 2013) ve aspartam verilen sıçanlarda (Abhilash ve diğ., 2011) GGT aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Çalışmamızda, gama glutamil transferaz enziminin aktivitesinde amiodaron verilen grupta, kontrol grubuna göre anlamlı bir artış meydana geldiği, U vitamini verilmesi ile enzimin aktivitesinde bir azalma olduğu gözlenmiştir.

Miyeloperoksidaz (MPO), akut inflamasyon durumlarında makrofaj ve nötrofillerden salgılanan ve lipidlerin oksidasyonu ile vazodilatör nitrik oksidin ortamdan kaldırılması proseslerinde rol alan bir enzimdir (Kehl ve diğ., 2012). Aktif bölgesinde demir iyonu bulunduran bu enzim, kompleks bir hem proteindir. Süperoksit ve süperoksidin dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksidin konsantrasyonlarının artması ile enzimin aktivitesinde artış meydana gelir. Bu durum aynı zamanda, hipoklorik asitlerin, kloraminlerin ve diğer serbest radikallerin miktarlarının da arttığını gösterir (Kettle ve Winterbourn, 1997; Podrez ve diğ., 2000). Yüksek MPO aktivitesi, koroner arter hastalığı, kalp krizi, kronik kalp rahatsızlığı, diyabet, iskemi-reperfüzyon ile oluşturulan böbrek hasarlarında ve sepsis gibi komplikasyonlarda ortaya çıkmaktadır (Lamprecht ve diğ., 2004; Murray ve Carithers, 2005; Lau ve Baldus, 2006; Jornayvaz ve diğ., 2009). Amiodaron uygulanması ile akciğerlerde toksisite olduğu ve akciğer fibrosisi meydana geldiği Zaeemzadeh ve diğ. (2011) tarafından belirtilmiştir. Akciğer dokusunda oluşan hasar ile MPO aktivitesinde artma meydana gelmektedir. Amiodaron ile birlikte koruyucu olarak kafeik asit fenil esterinin verilmesi ile artmış olan MPO aktivitesinin azaldığı görülmüştür (Zaeemzadeh ve diğ., 2011). Yine amiodaron ile oluşturulan akciğer fibrosisinde MPO aktivitesinde artma meydana geldiği Punithavatti ve diğ. (2003) tarafından bildirilmiştir. Koruyucu olarak verilen kurkumin MPO aktivitesinde artma oluşturmuştur. Çalışmamızda, amiodaron ile oluşturulan karaciğer toksisitesi grubunda kontrol grubuna göre MPO aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu bulundu. Karbon tetraklorür ve valproik asid ile oluşturulan karaciğer hasarlarında, asetik asid ile oluşturulan kolit deneylerinde, oluşturulan sepsis modellerinde böbrek ve akciğer ile beraber karaciğer hasarlarında da MPO aktivitesinde artış olduğu çeşitli araştırmacılar

tarafından bildirilmiştir (Gurel ve diğ., 2004; Chiu-Li ve diğ., 2006; Deng ve diğ., 2012; Ghatule ve diğ., 2012; Sokmen ve diğ., 2012). Bu çalışmada, amiodaron grubunda artan MPO aktivitesinin U vitamini ile azalması U vitamininin amiodaron ile oluşturulan toksisiteyi azalttığını göstermektedir.

Fizyolojik ve patolojik koşullarda paraoksonaz (PON) aktivitesinde meydana gelen değişimler sayesinde doku ve organlarda meydana gelen hasarın derecesi belirlenebilmektedir. PON, karaciğer, böbrek, beyin ve akciğer dokularında bulunan 354 amino asitten oluşan glikoprotein yapısındaki doğal bir antioksidan enzimdir. Bu enzimin sentez ve salınımı karaciğer tarafından yapılmaktadır (Aviram, 1999; Rodrigo ve diğ., 1999; Durrington ve diğ., 2001; Hong ve diğ., 2001; Rodrigo ve diğ., 2001). PON enziminin antioksidan özellik göstermesinin nedeni, 284 üncü amino asid kalıntısının sistein olması ve dolayısıyla yapısında serbest bir tiyol grubu içermesidir (İşgör ve Beydemir, 2010). PON aktivitesi fizyolojik ve patolojik şartlara göre değişmektedir. Oksidatif strese *in vivo* ve *in vitro* koşullarda PON1 sentezinin azaldığı literatürde belirtilmiştir (Navab ve diğ., 1997). PON aktivitesindeki azalma, direkt olarak karaciğer hasarının derecesi ile ilişkilidir. PON1 aktivitesinin, koroner arter hastalığında, hiperkolesterolemide, tip II diyabette ve böbrek rahatsızlıklarında azaldığı bulunmuştur (Mackness ve diğ., 1991; Abbott ve diğ., 1995; Paragh ve diğ., 1998; Ayub ve diğ., 1999; Sutherland ve diğ., 2004). Amiodaronun PON aktivitesini azalttığı İşgör ve Beydemir tarafından saptanmış ve amiodaronun PON aktivitesinin kompetitif inhibitörü olduğu bildirilmiştir (İşgör ve Beydemir, 2010). Çalışmamızda amiodaron uygulanan grubun PON aktivitelerinde kontrol grubuna göre bir azalma meydana geldiği saptandı. Çalışmamızda tespit ettiğimiz bu azalma, karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında ve non-alkolik steatohepatit, valproik asid uygulanan sıçanlarda oluşan karaciğer hasarındaki enzim aktivitesi azalmasıyla uyumluluk göstermektedir (Ustundağ ve diğ., 2007; Duygu ve diğ., 2011, Hacıhasanoğlu, 2011). Bu çalışmada, amiodaron verilen sıçanlara U vitamini uygulanması ile azalan PON aktivitesinde tekrar artış meydana geldiği bulunmuştur. U vitamininin yapısında bulunan –SH grupları PON aktivitesinin azalmasını önlemektedir. –SH grupları içeren bileşikler, sigara içenlerde görülen PON aktivitesinin azalmasını önlediği gibi (Nashio ve Watanebe, 1997), çalışmamızda da hasarı önlemiştir.

Purin metabolizmasının önemli bir aminohidrolazı olan adenozin dezaminaz (ADA), adenozinin inozine, deoksiadenozinin deoksiinozine dönüşümünü katalize eden bir enzimdir (Celik ve diğ., 2010). ADA'nın katalizlediği bu reaksiyon geri dönüşümsüzdür (Ricksen ve diğ., 2008) ve adenin nükleotid katabolizmasında hız belirleyici basamaktır (Aghaei ve diğ., 2005). Bu enzim, adenilat birikiminin düzenlenmesinde ve adenilatın enerji metabolizmasında yer almasında gereklidir (Van Den Berghe ve diğ., 1977). Vücuttaki birçok dokuda ve vücut sıvısında bulunmaktadır (Kaminsky ve Kosenko, 2010; Pinheiro ve diğ., 2010). T-lenfositlerin olgunlaşması, çoğalması ve farklılaşmasında rol oynayan önemli bir enzimdir (Pacheco ve diğ., 2005) ve T-lenfositlerde bulunma miktarı eritrositlerde bulunan miktarından yaklaşık on kat daha fazladır (Gupta ve diğ., 2010). İnsanlardaki eksikliğinin, otozomal resesif hastalıklara neden olduğu, çocuklardaki eksikliğinde ise, büyüme bozuklukları, enfeksiyonlar ve lenfoma gibi rahatsızlıklara neden olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Kaminsky ve Kosenko, 2010; Ozsahin ve diğ., 1997). Sisplatin gibi kimyasal maddeler ve oksidatif stres ile oluşturulan karaciğer hasarlarında, akut ve kronik hepatit, akut viral hepatit, tüberküloz ve menenjit, kronik obstruktif akciğer hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıklarda ise ADA aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (Kobayashi ve diğ., 1993; Kalkan ve diğ., 1999, Pratibha ve diğ., 2004, Iraz ve diğ., 2006, Goodarzi ve diğ., 2010, Ogata ve diğ., 2011, Afrasiabian ve diğ., 2013).

Ksantin oksidaz (XO), molibden içeren ve oksidoredüktazlar sınıfına giren sitosolik bir enzimdir. Ksantin ve hipoksantin ürik aside metabolize edildiği purin katabolizmasında önemli rol oynar (Harrison, 2002). Karaciğer, ince bağırsak ve akciğerde, diğer dokulara göre daha fazla bulunan bu enzimin orijinal hali dehidrojenaz formudur (McCord, 1985, Ghaffari ve diğ., 2012). Her iki enzim de aynı substrata etki eder (Hegazi ve diğ., 2010). Sağlıklı bir karaciğerde bu enzimin aktivitesinin % 90'ı ksantin dehidrojenaz formu üzerinden gerçekleşir (Fang ve diğ., 2010). Dehidrojenaz formundan oksidaz formuna geçmesi, geri dönüşümsüz olarak proteoliz reaksiyonunun gerçekleşmesi ile veya geri dönüşümlü olarak protein molekülünün yapısında bulunan sülfidril grubunun oksidasyonu ile meydana gelebilir (Ghaffari ve diğ., 2012). Ksantin dehidrojenaz, elektron akseptörü olarak NAD^+ kullanırken, XO, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu oluşturmak üzere moleküler oksijeni elektron akseptörü olarak kullanmaktadır (Kundu ve diğ., 2007). Bu sebepten dolayı, ksantin oksidaz (XO),

reaktif oksijen türlerinin biyolojik açıdan önemli bir kaynağıdır (Desco ve diğ., 2002). Diyabet, kronik olarak amonyağa maruz kalınması, oksidatif stres, kokain gibi çeşitli etkenler ile oluşturulan karaciğer hasarlarında, karaciğer iskemi-reperfüzyonunda, viral hepatit, sarılık, siroz, iskemik kalp rahatsızlıkları, alkolizm ve akciğer kanseri gibi durumlarda XO aktivitesinde artış meydana geldiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Zima ve diğ., 1993, Aoki ve diğ., 1997, ve diğ., 2012, Ali ve diğ., 2013, Belviranlı ve diğ., 2013, Sanchis-Gomar ve diğ., 2013).

Çalışmamızda, ADA ve XO aktivitelerinde, amiodaron verilerek karaciğer hasarı oluşturulan grupta kontrol grubuna göre anlamlı artış meydana geldiği görüldü. Amiodaron verilen gruba U vitamini uygulanması ile bu iki enzimin aktivitelerinde anlamlı olarak azalma olması, purin metabolizmasındaki hasarın ve dolayısıyla karaciğer hasarının önlendiğini göstermektedir.

Arginaz, azot metabolizmasının kilit enzimidir. Üre siklusunda bulunan arginaz, arginini üre ve ornitine çeviren hidrolitik bir enzimdir (Miyanaka ve diğ., 1998). Karaciğer, arginaz aktivitesinin en yüksek olduğu organ olup karaciğer hasarını gösteren marker bir enzimdir (Abdel-Azeem ve diğ., 2013). Akut ve kronik karaciğer hasarında (Murayama ve diğ., 2007; Hacıhasanoğlu, 2011; Abdel-Azeem ve diğ., 2013), akut böbrek hasarında (Aydogdu ve diğ., 2006), Crohn hastalığında (Horowitz ve diğ., 2007) ve valproik asid toksisitesinde (Hacıhasanoğlu, 2011), gentamisin verilen sıçanlarda (Benzer ve diğ., 2006) arginaz enzim aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Arginaz aktivitesi ile kanser türleri arasında da ilişki olduğu da bildirilmektedir. Kalın bağırsak (Konarska ve diğ., 1993), prostat (Harris ve diğ., 1983), pankreas (Loser ve diğ., 1990), mide (Wu ve diğ., 1994), meme (Porembska ve diğ., 2003) kanserlerinde arginazın arttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda amiodaron verilen sıçanların karaciğerlerinde arginaz enziminin arttığı saptanmıştır. Amiodaron verilen sıçanlarda U vitamini verilmesi ile arginaz aktivitesinde azalma olduğu görülmüştür. Enzim aktivitesinde meydana gelen azalma karaciğer hasarının önlendiğini göstermektedir.

Çeşitli patolojik koşullar altında, membrana bağlı olan ATPaz gibi enzimler, membranlarda meydana gelebilen hasarlardan dolayı, aktiviteleri açısından değişiklik göstermektedirler (Suhail ve Rizvi, 1989). ATPazlar, lipidlere bağımlı ve membranda bulunan enzimler olup, aktif transport mekanizmasında yer almaktadırlar ve özellikle de

karaciğer hücre hasarlarında takip edilen enzimlerdir (Isreal ve diğ., 1975). Bu grup enzimlerden Na^+/K^+ -ATPaz enzimleri de hücredeki iyonik gradientin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır ve transport mekanizmasının gerçekleştirilmesinde görevlidir. Bu enzim, Na^+ iyonlarının hücre içinden hücre dışına taşınmasını ve bu esnada da K^+ iyonunun yer değiştirmesini sağlar. Bu değişim esnasında meydana gelen elektrokimyasal gradient sayesinde, enerji kaynağı olarak kullanılan karbohidrat ve amino asit gibi yapı taşları hücre içine taşınmış olur (Bilgihan ve diğ., 1998). ROT'ların tiyol gruplarını okside ederek, membran akışkanlığında hasar oluşturduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (Boldryev ve diğ., 1997; Barriviera ve diğ., 2005). Membran lipidlerinin peroksidasyonu, protein tiyol gruplarının kaybına yol açar ve böylece membranlarda hasar ilerlemeye başlar (Kaplowitz, 2002). Karaciğer toksisitesinin temel belirteci olan GSH'nın azalması, membrandaki ATPaz'ların aktivitelerini de etkilemektedir, çünkü bu enzimlerin de yapı ve fonksiyon olarak zarar görmemesi için GSH'a ihtiyaç duyulmaktadır (Garner ve Garner, 1983). Literatürde çeşitli araştırmacılar tarafından, pentilentetrazol ile oluşturulan beyin hasarında, asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında ve diyabet gibi komplikasyonlarda Na^+/K^+ -ATPaz'ın aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir (Gillon ve Hawthorne, 1983; Devi ve diğ., 2004, Silva ve diğ., 2011). Amiodaron membrana bağlı enzimlerin, kalp ve beyin Na^+/K^+ -ATPaz enzimlerinin potansiyel olarak inhibitörüdür (Prasada ve diğ., 1986; Almotrefi ve Dzimir, 1991). Amiodaronun kobay kalp preparatlarında mikrozomal Na^+/K^+ -ATPaz'ı inhibe ettiği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Almotrefi ve Dzimir, 1991; Almotrefi ve diğ., 1997). Bunun yanında, amiodaronun kobay kalp çözeltilerinde mitokondriyal ATPaz aktivitelerini azalttığı çeşitli araştırmacılar tarafından öne sürülmüştür (Dzimir ve Almotrefi, 1993; Futamura, 1996). Prasada ve diğ. (1986) tarafından, amiodaronun beyin sinaptozomlarında Na^+/K^+ -ATPaz ve Mg^{2+} -ATPaz aktivitelerini de inhibe ettiği bildirilmiştir (Prasada ve diğ., 1986). Bu sonuçlarla uyumlu olarak çalışmamızda, amiodaronun meydana getirdiği karaciğer toksisitesinde membranda bulunan önemli enzimlerden biri olan Na^+/K^+ -ATPaz enziminin aktivitesinde, kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir azalma meydana gelmiştir. Bu azalma dikkate alınarak amiodaronun hücre membranında hasar meydana getirme özelliğinin bulunduğunu söyleyebiliriz. Bu çalışmada, amiodaron grubuna U vitamini uygulanması ile Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde değerinde artma meydana gelmiştir. U

vitamininin yapısında bulunan tiyol grupları bu enzimin aktivitesinde artmaya neden olmuş ve hücre membranında meydana gelen hasarın önlenebileceğini göstermiştir.

Prolidaz, C terminalinde prolin ve hidroksiprolin bulunan iminopeptidleri yıkan enzimdir. Prolidaz aktivitesi intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus, timüs gibi bir çok dokuda bulunmaktadır (Fruten ve diğ., 1948; Smith, 1948; Davis ve Smith, 1957; Rubino ve diğ., 1969; Noren ve diğ., 1977; Hui ve Lajtha, 1978;). Prolidaz, kollajen üretimini ve inhibisyonu ile ilişkili olup, bu proses için marker bir enzimdir. Prolidaz, hücre içinde prokollajen, kollajen, prolin ve hidroksiprolin içeren proteinlerin katabolizmasında rol oynar. Prolidaz, kollajen yıkımının son basamağında hız sınırlayıcı olarak rol oynar. Prolidaz enziminin karaciğer fibrozisinin belirlenmesinde önemli bir ölçüt olabileceği vurgulanmıştır (Brosset ve diğ., 1988; Abraham ve diğ., 2000; Horoz ve diğ., 2010). Bu enzim aktivitesindeki artma kollajen yıkımının artması ile bağlantılıdır (Erbağcı ve diğ., 2002; Yıldız ve diğ., 2008). Prolidaz aktivitesi, kollajen turnover hızının artması ile de bağlantılıdır. *Helicobacter pylori* inflamasyonunda (Aslan ve diğ., 2007), CCl₄ uygulanan sıçanlarda (Myara ve diğ., 1987), kalp hastalığında (Yıldız ve diğ., 2008), karaciğer hastalıklarında (Myara ve diğ., 1984), fibrosisin erken devresinde serumda prolidaz aktivitesinin arttığı bildirilmektedir. Bazı hastalıklarda oksidatif stres esnasında prolidaz aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Aslan ve diğ., 2007; Cakmak ve diğ., 2010). Çalışmamızda, amiodaron verilen sıçanlarda karaciğer prolidaz enziminin aktivitesinin arttığı saptandı. Çalışmamızda, U vitamini+amiodaron verilmesi ile prolidaz enzim aktivitesinin azaldığı bulundu. Enzim aktivitesinin U vitamini ile azalması karaciğer dokusunda meydana gelen hasarın önlendiğini bize göstermektedir.

DT-Diaforaz (NAD(P)H:kinon oksidoredüktaz), kinonlar, kinoniminler, azo-boyar maddeler vb. maddelerin iki elektron ile indirgenmesini katalizeyen bir flavoproteindir. Bu reaksiyon sayesinde, DT-diaforaz; NADPH-sitokrom-c-redüktaz, sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi ve diğer enzimlerin tek elektron indirgemeli reaksiyonlarından dolayı ortaya çıkan, serbest radikal ve toksik oksijen metabolitlerinden kaynaklanan mutajenite ve karsinogenez gibi proseslere karşı hücreyi korumaktadır (Ernster, 1987; Iyagani, 1987; Talalay, 1989; Monks ve diğ., 1992; Riley ve Workman, 1992). DT-Diaforaz, hayvan organizmasında, bitkilerde ve bakterilerde çok geniş bir dağılım

göstermektedir (Danson ve diğ., 2004). Bu enzimin vücutta en yüksek seviyede bulunduğu organlar, böbrek ve gastrointestinal sistem organlarıdır (Benson ve diğ., 1980; Schlager ve Powis, 1990). Sıçan, fare ve insan hepatomaları, insan kolon karsinomaları, sıçan testislerinin hücre tümörleri, meme kanseri hücreleri, insan ve sıçan beyin tümör hücreleri, insan akciğer karsinomaları gibi çeşitli patolojik durumlarda bu enzimin yüksek aktivite gösterdiği literatürlerde bildirilmiştir (Koudstaal ve diğ., 1975; Schor ve diğ., 1976; Schor ve Morris, 1977; Schor ve Cornelisse, 1983; Becker ve Stout, 1984; Berger ve diğ., 1985; Beyer ve diğ., 1987; Schlager ve Powis, 1990; Malkinson ve diğ., 1992). Çalışmamızda, amiodaron verilen sıçanların karaciğer dokusunda DT-Diaforaz aktivitesinin arttığı görülmüştür. U vitamini ve amiodaron verilen sıçanlarda ise bu enzimin aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, U vitamininin karaciğer dokusundaki oksidatif hasarı tiyol grubunun bulunması ile önlediği öne sürülebilir.

Proteinlerin oksidasyonu olarak da bilinen oksidatif modifikasyonları, proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonlarında en önemli reaksiyonlardır. Proteinleri oluşturan amino asitler ile reaktif oksijen türleri arasında meydana gelebilen bu modifikasyonlar, geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak ikiye ayrılmaktadır (Ergin ve diğ., 2013). Her ne kadar literatürde bu oksidatif gelişmenin pozitif yanı, hücre fonksiyonlarının yenilenmesi şeklinde belirtilse de (Ergin ve diğ., 2013), reaktif oksijen türlerinin hücre savunma mekanizmasını zayıflatması ile oksidasyon sonucunda oluşan karbonil ürünleri ise hasar parametresi olarak değerlendirilmektedir. Proteinlerin karbonillenmesi reaksiyonları protein oksidasyonunun en hassas belirteci olup, yaşlanma, diyabet, kalp rahatsızlıkları, nöropatiler gibi çeşitli hastalıklarda ortaya çıkmaktadır. Proteinlerin karbonillenmesi, non-enzimatik bir reaksiyondur, karbonillenme hedefi hücredeki oksidatif ortamı ve miktarı ile de ilişkilidir (Curtis ve diğ., 2012). Spesifik olarak karaciğer hastalıkları için protein karbonil miktarları değerlendirildiğinde, artan protein karbonil değerlerinin alkolik karaciğer hastalığında, non-alkolik karaciğer yağlanması ve non-alkolik steatohepatitte meydana geldiği literatürde belirtilmiştir (Seki ve diğ., 2003, Bhattacharya ve diğ., 2011). More ve diğ. (2012) tarafından asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında, karaciğeri koruyucu etkisinden dolayı S-metilisotiyöre uygulanmıştır. Bu maddenin yapısında yer alan tiyol grubunun varlığı, karaciğer hasar parametrelerinden olan protein karbonil miktarlarının azalmasında etkili

olmuştur. Çünkü tiyol grupları oksidatif hasara karşı hassas gruplardır ve toksisite durumlarında azalmaktadır (Dormandy, 1980). Çalışmamızda, amiodaron verilen sıçanların protein karbonil miktarları artmıştır. Amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarına U vitaminin etkileri incelendiğinde, U vitamininin yapısında bulunan kükürt, serbest oksijen radikallerini yakalayıcı özelliğinden dolayı, karaciğer üzerinde koruyucu etkisini göstermiştir. Amiodaron verilen toksisite grubunda artmış olan protein karbonil miktarları, bu gruba U vitamini uygulanmasıyla azalmıştır. Bu azalma, U vitamininin karaciğerde protein oksidasyonunu önlediğini bize göstermektedir.

Doku faktörü (TF, thromboplastin faktör III), düşük molekül ağırlıklı glikoprotein yapısında olan ve kan pıhtılaşması ile ilgili olan bir faktördür. TF, kardiovasküler hastalıklar, reperfüzyon hasarı, böbrek hastalıkları, diyabet gibi hastalıklarda önemli rol oynar (Ushigome ve diğ., 1998; Minus ve diğ., 2002; Emekli-Alturfan ve diğ., 2007a). Çeşitli doku ve sıvıların TF aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir (Bachli, 2000; Emekli-Alturfan ve diğ., 2007b; Aktop ve diğ., 2014). Karaciğerde ve diğer organlarda tromboplastik aktivitenin artışı bu organların komplikasyonlara karşı meyilli olduğunu göstermektedir (Isık ve diğ., 2011). Dolaşımdaki TF aktivitesinin diyabet, hiperlipidemi, ateroskleroz ve sigara kullanımı ile arttığı bildirilmiştir (Zumbach ve diğ., 1997; Mackman, 2004; Marutsuka ve diğ., 2005; Moreno ve Fuster, 2004; Price ve diğ., 2004; Sambola ve diğ., 2003a; Sambola ve diğ., 2003b). Çalışmamızda doku hasarının bir göstergesi olan tromboplastik aktivite değeri amiodaron verilen sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulundu. Amiodaron verilmesi ile oksidatif stresin arttığı ve buna bağlı olarak tromboplastik aktivite değerinde anlamlı bir farklılık olduğu saptandı. Amiodaronun neden olduğu değişikliklerden biri de kalp hastalığını oluşturma riskidir. TF aktivitesinin artması ile damarlarda oluşacak damar hasarı buna bağlı olarak kalp hastalığı riskinin artacağı da düşünülebilir. Valproik asid verilen sıçanlarda, TF aktivitesinin arttığı Sokmen ve diğ. (2012) tarafından bildirilmiştir. Karaciğer hasarı ile birlikte TF aktivitesinin de arttığı literatürde belirtilmektedir (Ganey ve diğ., 2007; Sullivan ve diğ., 2013). Çalışmamızda amiodaron verilen sıçanlarda TF aktivitesinin arttığı saptanmıştır. Amiodaron grubuna U vitamini verilmesi ile karaciğer TF aktivitesi anlamlı derecede azalmıştır. TF aktivitesinin azalması, oksidatif stresin önlendiğini, amiodaron ile oluşacak kalp hastalığı riskini azaltabileceğini bize göstermektedir. Amiodaronun damarlarda tromboz oluşumunu ve

TF aktivitesini inhibe ettiği Breitenstein ve diğ. (2008) tarafından öne sürülmüştür. Ancak çalışmamızda amiodaron karaciğer TF aktivitesini arttırmıştır.

Glikoproteinler, hücre yüzeyinde proteinler ile kompleksleşmiş bir yapıda olan ve hücre için temel olarak görülen komponentlerdir (Veereamani ve diğ., 2012) Hücre membranlarının glikoproteinleri, iki lipid tabakası arasına yerleşmiş durumdadır (Aypak ve Uysal, 2010). Glikoproteinler, bakteriden insana kadar canlıların çoğunda bulunur. Farklı işlevlere sahip olan proteinlerin birçoğu glikoprotein yapısındadır ve bunların karbohidrat içeriği % 1-% 85 arasındadır (Yavuz, 2001). Glikoproteinler, membran transportunda, hücre farklılaşması ve yenilenmesinde, hücrelerin birbirlerini tanımalarında, makromoleküllerin hücre yüzeyine adhezyonu ve hücre dışına eksreksiyonunda görev alırlar (Parillo ve diğ., 2009; Veereamani ve diğ., 2012). Bir hücre yüzeyindeki karbohidrat içeriğinin değişmesi, hücrenin farklılaşması ile hücrenin biyolojik ve fizyolojik özelliklerinin değiştiğini belirtir (Olden ve diğ., 1982; Anandakumar ve diğ., 2008). Karaciğer, kanda bulunan glikoproteinlerin önemli bir çoğunluğunun üretiminden sorumlu olan organdır. Serum glikoprotein miktarlarının tayini, kanser, romatoid artrit, Behçet hastalığı, merkezi sinir sistemi hastalığı, kardiyovasküler rahatsızlıklar, bakteriyel enfeksiyonlar ve psoriasis gibi durumlarda önem kazanmaktadır (Aypak ve Uysal, 2010). Çalışmamızda, fukoz, heksoz ve heksozamin gibi glikoproteinlerin miktarları tayin edilmiştir. Fukoz (6-deoksi-L-galaktoz), patolojik ve fizyolojik olarak önemli glikoproteinlerden olup, plazmada yer alan mobil glikoprotein olarak bilinir (Veereamani ve diğ., 2012). Proteinlere bağlı heksozlar, hücre membranına hidrofobik bir alan kazandırırken, proteine bağlı heksozaminler ise hücre membranı yüzeyinde katyonik bir ortam meydana getirerek hücre membranının polaritesini sağlarlar. Senthilkumar ve Nalini (2004) tarafından oluşturulan alkole bağımlı hepatotoksisitede serum glikoprotein miktarlarının arttığı belirtilmiştir. Rajadurai ve diğ. (2007) yaptığı çalışmada, isoproterenol ile oluşturulan kardiyotoksisitede plazma glikoprotein düzeylerinin arttığı, Punithavathi ve diğ. (2008) tarafından streptozotosin ile oluşturulan diyabette plazmadaki değerlerin yanı sıra karaciğer ve böbrek gibi dokularda da glikoprotein komponentlerinin miktarlarının arttığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda, amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarında, karaciğer fukoz, heksoz ve heksozamin miktarlarında artış meydana gelmiştir. Bu glikoprotein miktarlarının, hasar grubuna U vitamini verilmesi ile azaldığı gözlemlendi.

U vitamininin bu azalmayı sağlaması da, bu maddenin karaciğer üzerindeki koruyucu etkisini göstermektedir.

Sonuç olarak U vitamininin sıçanlarda amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği ilk defa bu çalışmada bulunmuştur. Antiaritmik ilaç olarak kullanılan amiodaronun oluşturduğu karaciğer hasarı ve diğer dokulardaki yan etkileri azaltmak için kalp hastalarına amiodaron ile birlikte U vitamini verilmesi onerilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbott, C.A., Mackness, M.I., Kumar, S., Boulton, A.J., Durrington, P.N., 1995, Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids lipoproteins, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 15, 1812-1818.
- Abdel-Azeem, A.S., Hegazy, A.M., Ibrahim, K.S., Farrag, A.R., El-Sayed, E.M., 2013, Hepatoprotective, antioxidant, and ameliorative effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and vitamin E in acetaminophen treated rats, *Journal of Dietary Supplementation*, 10, 195-209.
- Abdel-Wahab, W.M., 2013, Protective effect of thymoquinone on sodium fluoride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats, *The Journal of Basic and Applied Zoology*, DOI: 10.1016/j.jobaz.2013.04.002.
- Abhilash, M., Paul, M.V., Varghese, M.V., Nair, R.H., 2011, Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1203-1207.
- Abraham, P., Wilfred, G., Ramakrishna, B., 2000, Plasma prolidase may be an index of liver fibrosis in rat, *Clinica Chimica Acta*, 295, 199-202.
- Adams, P.C., Holt, D.W., Storey, G.C., Morley, A.R., Callaghan, J., Campbell, R.W., 1985, Amiodarone and its desethyl metabolite: tissue distribution and morphologic changes during long-term therapy, *Circulation*, 72, 1064-1075.
- Adewale, A., Olurunju, A.E., 2013, Modulatory of the effect of fresh *Amaranthus caudatus* and *Amaranthus hybridus* aqueous leaf extracts on detoxifying enzymes and micronuclei formation after exposure to sodium arsenite, *Pharmacognosy Research*, 5, 300-305.
- Afrasiabian, S., Mohsenpour, B., Bagheri, K.H., Sigari, N., Aftabi, K., 2013, Diagnostic value of serum adenosine deaminase level in pulmonary tuberculosis, *Journal of Research in Medical Sciences*, 6, 13-18.
- Aghaei, M., Karami-Tehrani, F., Salami, S., Atri, M., 2005, Adenosine deaminase activity in serum and malignant tumors of breast cancer: the assessment of isoenzyme ADA1 and ADA2 activities, *Clinical Biochemistry*, 38, 887-891.
- Ahmadvand, H., Tavafi, M., Khalatbary, A.R., 2012, Hepatoprotective and hypolipidemic effects of *Satureja Khuzestanica* essential oil in alloxan-induced type 1 diabetic rats, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 1219-1226.
- Akkuş, İ., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya.

- Aksakal, E., Tanboga, I.H., Kurt, M., Kaygın, M.A., Kaya, A., Isik, T., Ekinci, M., Sevimli, S., Acikel, M., 2012, The relation of serum gamma-glutamyl transferase levels with coronary lesion complexity and long-term outcome in patients with stable coronary artery disease, *Atherosclerosis*, 221, 596-601.
- Aktop, S., Emekli-Alturfan, E., Ozer, C., Gonul, O., Garip, H., Yarat, A., Goker, K., 2014, Effects of ankaferd blood stopper and celox on the tissue factor activities warfarin-treated rats, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 20, 16-21.
- Akyol, O., Gökbulut, I., Köksal, N., Akin, H., Özyurt, H., Yildirim, Z., 2001, The activities of purine catabolizing enzymes in plasma and bronchial washing fluid in patients with lung cancer and pneumonia, *Clinical Biochemistry*, 34, 251-254.
- Ali, E.M., Shehata, H.H., Ali-Labib, R., Esmail Zahra, L.M., 2009, Oxidant and antioxidant of arylesterase and paraoxonase as biomarkers in patients with hepatitis C virus, *Clinical Biochemistry*, 42, 1394-1400.
- Ali, O.S., Abdelgawad, H.M., Mohammed, M.S., El-Awady, R.R., 2013, Ischemic heart diseases in Egypt: role of xanthine oxidase system and ischemia-modified albumin, *Heart Vessels*, DOI 10.1007/s00380-013-0413-3.
- Ali, N., Rashid, S., Nafees, S., Hasan, S.K., Sultana, S., 2014, Beneficial effects of Chrysin against methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 385, 215-223.
- Almotrefi, A.A., Dzimir, N., 1991, The influence of potassium concentration on the inhibitory effect of amiodarone on guinea-pig microsomal Na^+K^+ -ATPase activity, *Pharmacological Toxicology*, 69, 140-143.
- Almotrefi, A.A., Basco, M.C., Moorji, A., Dzimir, N., 1997, Effects of amiodarone on ouabain binding to microsomal Na^+K^+ -ATPase in guinea-pig heart preparations, *General Pharmacology*, 29, 639-643.
- Alvarez, C.B., Castelli, A., Grassi, E., Celener, D., Rapaport, M., Martin, J., 1984, Action of amiodarone over the extension and reversibility of experimental myocardial infarction in pigs, *Texas Heart Institute Journal*, 11, 352-362.
- Anandakumar, P., Jagan, S., Kamaraj, S., Ramakrishnan, G., Titto, A.A., Devaki, T., 2008, Beneficial influence of capsaicin on lipid peroxidation, membrane bound enzymes and glycoprotein profile during experimental lung carcinogenesis, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60, 803-808.
- Aoki, K., Ohmori, M., Takimoto, M., Ota, H., Yoshida, T., 1997, Cocaine-induced liver injury in mice is mediated by nitric oxide and reactive oxygen species, *European Journal of Pharmacology*, 336, 43-49.
- Aslan, M., Nazligul, Y., Horoz, M., Bolukbas, C., Bolukbas, F.F., Aksoy, N., Celik, H., Erel, O., 2007, Serum prolidase activity and oxidative status in *Helicobacter pylori* infection, *Clinical Biochemistry*, 40, 37-40.

- Augsburger, N.R., Scherer, C.S., Garrow, T.A., Baker, D.H., 2005, Dietary S-methylmethionine, a component of foods, has choline-sparing activity in chickens, *Journal of Nutrition*, 135, 1712-1717.
- Aviram, M., 1999, Paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease?, *Molecular Medicine Today*, 5, 381-386.
- Aydogdu, N., Erbas, H., Atmaca, G., Erten, O., Kaymak, K., 2006, Melatonin reduces nitric oxide via increasing arginase in rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats, *Renal Failure*, 28, 435-440.
- Aypak, S.Ü., Uysal, H., 2010, Glikoproteinlerin yapısı ve fonksiyonları, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24, 107-114.
- Ayub, A., Mackness, M.I., Arrol, S., Mackness, B., Patel, J., Durrington, P.N., 1999, Serum paraoxonase after myocardial infarction, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19, 330-335.
- Babatin, M., Lee, S.S., Pollak, P.T., 2008, Amiodarone hepatotoxicity, *Current Vascular Pharmacology*, 6, 228-236.
- Bachli, E., 2000, History of tissue factor, *British Journal of Hematology*, 110, 248-255.
- Ballatori, N., Krance, S.M., Notenboom, S., Shi, S.J., Tieu, K., Hammon, C.L., 2009, Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases, *The Journal of Biological Chemistry*, 390, 191-214.
- Barriviera, M.L., Fontes Carlos Frederico, L., Hasson-Voloch, A., Louro Sonia Renaux, W., 2005, Influence of nitric oxide donors on the intrinsic fluorescence of Na⁺,K⁺-ATPase and effects on the membrane lipids, *Nitric Oxide*, 13, 10-20.
- Baskaran, Y., Periyasamy, V., Venkatraman, A.C., 2010, Investigation of antioxidant, anti-inflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats, *Toxicology*, 268, 204-212.
- Bayramiçli, M., 2005, Deneysel Mikrocerrahi, 1. Baskı, İstanbul, 6, 687.
- Baudin, B., Beneteau-Burnat, B., Gioudeau, J., 1996, Cytotoxicity of amiodarone in cultured human endothelial cells, *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 10, 557-560.
- Becker, F.F., Stout, D.L., 1984, A constitutive deficiency in the monooxygenase system of spontaneous Mouse liver tumors, *Carcinogenesis*, 5, 785-788.
- Beckman, K.B., Ames, B.N., 1997, Oxidative decay of DNA, *Journal of Biological Chemistry*, 272, 19633-19636.

- Bektur, N.E., Sahin, E., Baycu, C., Unver, G., 2013, Protective effects of silymarin against acetaminophen-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in mice, *Toxicology and Industrial Health*, DOI: 10.1177/0748233713502841.
- Belaid-Nouira, Y., Bakhta, H., Haouas, Z., Flehi-Slim, I., Neffati, F., Najjar, M.F., Cheikh, H.B., 2013, Fenugreek seeds, a hepatoprotector forage crop against chronic AlCl₃ toxicity, *BMC Veterinary Research*, DOI: 10.1186/1746-6148-9-22.
- Belviranlı, M., Gökbel, H., Okudan, N., Büyükbaş, S., 2013, Effects of grape seed polyphenols on oxidative damage in liver tissue of acutely and chronically exercised rats, *Phytotherapy Research*, 27, 672-677.
- Ben Hamida, F., Troudi, A., Sefi, M., Boudawara, T., Zeghal, N., 2013, The protective effect of propylthiouracil against hepatotoxicity induced by chromium in adult mice, *Toxicology and Industrial Health*, DOI: 10.1177/0748233713498446.
- Benson, A.N., Hunckler, M.J., Talalay, P., 1980, Increase of NAD(P)H:quinone reductase by dietary antioxidants: Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity, *Proceedings of National Academy of Sciences*, 77, 5216-5220.
- Bentli, R., Parlakpınar, H., Polat, A., Samdancı, E., Sarihan, M.E., Sagir, M., 2013, Molsidomine prevents cisplatin-induced hepatotoxicity, *Archives of Medical Research*, 44, 521-528.
- Benzer, F., Ateşşahin, A., Karahan, İ., 2006, Yüksek dozda gentamisin verilen ratlarda karaciğer ve böbrek arginazı üzerine manganez klorürün etkileri, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 20, 239-243.
- Berger, M.S., Talcott, R.E., Rosenblum, M.L., Silva, M., Aliosman, F., Smith, T.H. 1985, Use of quinones in brain-tumor therapy: preliminary results of preclinical laboratory investigations, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 16, 713-719.
- Beutler, E., 1975, *Glutathione in red cell metabolism a manual of biochemical methods* 2 nd Ed New York, Grune and Stratton, 112-114.
- Beyer, R.E., Segura-Aguilar, J., Lind, C., Castro, V.M., 1987, DT-Diaphorase activity in various cells in culture with emphasis on induction in ascites hepatoma cells, *Chemistry Screen*, 27, 145-150.
- Bhattacharya, A., Leonard, S., Tardif, S., Buffenstein, R., Fischer, K.E., Richardson, A., Austad, S.N., Chaudhuri, A.R., 2011, Attenuation of liver insoluble protein carbonyls: indicator of a longevity determinant?, *Ageing Cell*, 10, 720-723.
- Bilgihan, A., Turkozkan, N., Isman, F., Kilinc, M., Demirsoy, S., 1998, The effect of different doses of epidermal growth factor on liver ornithine decarboxylase and Na-K ATPase activities in newborn rats, *General Pharmacology*, 31, 261-263.

- Biolac-Sage, P., Lafon, M.E., Saric, J., 1990, Nerves and perisinusoidal cells in human liver, *Journal of Hepatology*, 10, 105-112.
- Brosset, B., Myara, I., Fabre, M., Lemonnier, A., 1988, Plasma prolidase and prolinase activity in alcoholic liver disease, *Clinica Chimica Acta*, 175, 291-295.
- Brown, G.C., Borutaite, V., 2001, Nitric oxide, mitochondria, and cell death, *IUBMB Life*, 52, 189-195.
- Breitenstein, A., Stämpfli, S.F., Camici, G.G., Akhmedov, A., Ha, H.R., Follath, F., Bogdanova, A., Lüscher, T.F., Tanner, F.C., 2008, Amiodarone inhibits arterial thrombus formation and tissue factor translation, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 28, 2231-2238.
- Brzoska, M.M., Moniuszko-Jakoniuk, J., Pilat-Marcinkiewicz, B., Sawicki, B., 2003, Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol, *Alcohol and Alcoholism*, 38, 2-10.
- Burroughs, A.K., Westaby, D., 2005, Liver, biliary tract and pancreatic disease. İçinde P. Kumar, M. Clark (Eds.), *Clinical Medicine* (6th ed.): Elsevier Saunders; 347-417.
- Burtis, A., 1994, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edition, 817.
- Cadenas, E., Packer, L., 2002, *Handbook of antioxidants*, Revised and Expanded, 2nd Ed., Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- Cakmak, A., Soker, M., Koc, A., Aksoy, N., 2010, Prolidase activity and oxidative status in patients with thalassemia major, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 24, 6-11.
- Calbreath, D.F., 1992, *Clinical chemistry*, Philadelphia: WB Saunders.
- Carr, A., Frei, B., 1999, Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB Journal*, 13, 1007-1024.
- Celik, V.K., Sari, I., Engin, A., Gürsel, Y., Aydin, H., Bakir, S., 2010, Determination of serum adenosine deaminase and xanthine oxidase levels in patients with crimean-congo hemorrhagic fever, *Clinics*, 65, 697-702.
- Chan, A.L., Hsieh, H.J., Hsieh, Y.A., Lin, S.J., 2008, Fatal amiodarone-induced hepatotoxicity: A case report and literature review, *International Journal of Clinical Pharmacology*, 46, 96-101.
- Charlier, R., Deltour, G., Baudine, A., Chaillet, F., 1968, Pharmacology of amiodarone, an anti-anginal drug with a new biological profile, *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, 18, 1408-1417.
- Chen, X., Xu, J., Zhang, C., Yu, T., Wang, H., Zhao, M., Duan, Z., Zhang, Y., Xu, J., Xu, D., 2011, The protective effects of ursodeoxycholic acid on izoniazid plus

- rifampicin induced liver injury in mice, *European Journal of Pharmacology*, 659, 53-60.
- Chen, Y., Dong, H., Thompson, D.C., Shertzer, H.G., Nebert, D.W., Vasiliou, V., 2013, Glutathione defense mechanism in liver injury: Insights from animal models, *Food and Chemical Toxicology*, 60, 38-44.
- Chinard, F.P., 1952, Photometric estimation of proline and ornithine, *Journal of Biological Chemistry*, 199, 91-95.
- Chiu-Li, Y., Chun-Sen, H., Sung-Ling, Y., Ming-Tsan, L., Wei-Jao, C., 2006, Dietary glutamine supplementation reduces cellular adhesion molecule expression and tissue myeloperoxidase activity in mice with gut-derived sepsis, *Nutrition*, 22, 408-413.
- Choi, J.H., Kang, J.W., Kim, D.W., Sung, Y.K., Lee, S.M., 2011, Protective effects of Mg-CUD against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats, *European Journal of Pharmacology*, 657, 138-143.
- Corte, E.D., Stirpe, F., 1968, Regulation of xanthine oxidase in rat liver: modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on the storage at 20 degrees, *The Biochemical Journal*, 108, 349-351.
- Cortopassi, G., Wang, E., 1995, Modeling the effects of age-related mtDNA mutation accumulation; Complex I deficiency, superoxide and cell death, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1271, 171-176.
- Curtis, J.M., Hahn, W.S., Long, E.K., Burrill, J.S., Arriaga, E.A., Bernlohr, D.A., 2012, Protein carbonylation and metabolic control systems, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 23, 399-406.
- Danson, S., Ward, T.H., Butler, J., Ranson, M., 2004, DT-diaphorase: A target for new anticancer drugs, *Cancer Treatment Reviews*, 30, 437-449.
- Darnell, J., Lodish, H., Baltimore, D., 1990, *Mitochondria and the metabolism of carbohydrates and lipids*, Molecular Cell Biology, ed. 2, New York: W.H. Freeman and Co., 589-606.
- Dattani, J.J., Rajput, D.K., Moid, N., Highland, H.N., George, L.B., Desai, K.R., 2010, Ameliorative effect of curcumin on hepatotoxicity induced by chloroquine phosphate, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30, 103-109.
- Davis, N.C., Smith, E.L., 1957, Purification and some properties of prolidase of swine kidney, *Journal of Biological Chemistry*, 224, 261-275.
- Dechamps, D., DeBeco, V., Fisch, C., Formenty, B., Guillaudo, A., Pessayre, D., 1994, Inhibition by perhexiline of oxidative phosphorylation and the beta-oxidation of fatty acids: possible role in pseudoalcoholic liver lesions, *Hepatology*, 19, 948-961.

- Deepmala, J., Deepak, M., Srivastav, S., Sangeeta, S., Kumar, S.A., Kumar, S.S., 2013, Protective effect of combined therapy with dithiothreitol, zinc and selenium protects acute mercury induced oxidative injury in rats, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27, 249-256.
- Demirbas, S., Cakir, E., Akgul, E.O., Seyrek, M., Cayci, T., Kurt, Y.G., Uysal, B., Aydin, I., Kurt, B., Yaman, H., Erbil, M.K., 2011, Elevated serum neopterin levels in acetaminophen-induced liver injury, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 31, 165-170.
- Deng, X., Wu, K., Wan, J., Li, L., Jiang, R., Jia, M., Jing, Y., Zhang, L., 2012, Aminotriazole attenuated carbon tetrachloride-induced oxidative liver injury in mice, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3073-3078.
- Desco, M.C., Asensi, M., Marquez, R., Martinez-Valls, J., Vento, M., Pallardo, F.V., Sastre, J., Vina, J., 2002, Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol, *Diabetes*, 51, 1118-1124.
- Devi, K.P., Sreepriya, M., Balakrishna, K., Devaki, T., 2004, Protective effect of *Premna tomentosa* (L.Verbenaceae) extract on membrane-bound phosphatases and inorganic cations transport in acetaminophen-induced hepatotoxicity rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 371-375.
- Dische, Z., Shettles, L.B., 1948, A specific color reaction of methylpentoses and a spectrophotometric micromethod for their determination, *Journal of Biological Chemistry*, 175, 593-603.
- Dufour, D.R., Lott, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff, R.S., Seeff, L.B., 2001, Diagnosis and monitoring of hepatic injury, II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring, *Clinical Chemistry*, 47, 1133-1135.
- Dormandy, T.L., 1980, An approach to free radicals in medicine and biology, *Acta Physiologica Scandinavica*, 492, 153-168.
- Durakoğlu, Z., Boztaş, G., Sezgil, A., Kaymakoğlu, S., Dinçer, D., Ozdil, S., Beşişik, F., Mungan, Z., Okten, A., 2002, Alverine induced toxic hepatitis: A case report, *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 13, 226-228.
- Durrington, P.N., Mackness, B., Mackness, M.I., 2001, Paraoxonase and atherosclerosis (Brief Reviews), *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21, 473-480.
- Durukan, A.B., Erdem, B., Durukan, E., Sevim, H., Karaduman, T., Gurbuz, H.A., Gurpinar, A., Yorgancioglu, C., 2012, May toxicity of amiodarone be prevented by antioxidants? A cell-culture study, *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 7, 1-5.
- Duygu, F., Koruk, S.T., Aksoy, N., 2011, Serum paraoxonase and arylesterase activities in various forms of hepatitis B virus infection, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 25, 311-316.

- Dzimiri, N., Almotrefi, A.A., 1993, Actions of amiodarone on mitochondrial ATPase and lactate dehydrogenase activities in guinea pig heart preparations, *European Journal of Pharmacology*, 242, 113-118.
- Eidi, A., Eidi, M., Al-Ebrahim, M., Rohani, A.H., Mortazavi, P., 2011, Protective effects of sodium molybdate on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25, 67-71.
- El-Beshbishy, H.A., 2008, Aqueous garlic extract attenuates hepatitis and oxidative stress induced by galactosamine/lipopolysaccharide in rats, *Phytotherapy Research*, 22, 1372-1379.
- El-Demerdash, F.M., 2004, Antioxidant effect of vitamin E, selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 113-121.
- Emekli-Alturfan, E., Kasikci, E., Yarat, A., 2007a, Tissue factor activities of streptozotocin induced diabetic rat and the effect of peanut consumption, *Diabetes/Metabolic Research and Reviews*, 23, 653-658.
- Emekli-Alturfan, E., Basar, I., Alturfan, A.A., Ayan, F., Koldas, L., Balci, H., Emekli, N., 2007b, The relation between plasma tissue factor and oxidized LDL levels in acute coronary syndromes, *Pathophysiology and Haemostasis and Thrombosis*, 36, 290-297.
- Erbağcı, A.B., Araz, M., Erbağcı, A., Tarakçıoğlu, M., Namiduru, E.S., 2002, Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus, *Clinical Biochemistry*, 35, 263-268.
- Ergin, V., Hariry, R.E., Karasu, C., 2013, Carbonyl stres in aging process: Role of vitamins and phytochemicals as redox regulators, *Aging and Disease*, 4, 276-294.
- Ernster, L., 1987, DT diaphorase: A historical review, *Chemistry Screen*, 27, 1-13.
- Ernster, L., Danielson, L., Ljunggren, M., 1962, DT-diaphorase. I. Purification from the soluble fraction of rat-liver cytoplasm, and properties, *Biochimica Biophysica Acta*, 1962, 58, 171-188.
- Eşrefoğlu, M., 2009, Cell injury and death, *Türkiye Klinikleri*, 29, 1660-1676.
- Fang, J., Seki, T., Qin, H., Bharate, G.Y., Iyer, A.K., Maeda, H., 2010, Tissue protective effect of xanthine oxidase inhibitor, polymer conjugate of (styrene-maleic acid copolymer) and (4-amino-6-hydroxypyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine), on hepatic ischemia-reperfusion injury, *Experimental Biology and Medicine*, 235, 487-496.
- Frings, C.S., Fendley, T.W., Dunn, R.T., Quenn, C.A., 1972, Improved determination of total serum lipids by sulfo-phospho-vanilin reaction, *Clinical Chemistry*, 18, 673-674.

- Fritz, K.S., Petersen, D.R., 2011, Exploring the biology of lipid-peroxidation derived protein carbonylation, *Chemical Research in Toxicology*, 24, 1411-1419.
- Fromenty, B., Pessayre, D., 1995, Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity, *Pharmacology and Therapeutics*, 67, 101-154.
- Fruten, J.S., Smith, V.A., Driscoll, P.E., 1948, On the proteolytic enzymes of animal tissues; a peptidase of calf tymus, *Journal of Biological Chemistry*, 173, 457-469.
- Furlong, C.E., Richter, R.J., Seidel, S.L., Motulsky, A.G., 1988, Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon, *American Journal of Human Genetics*, 43, 230-238.
- Futamura, Y., 1996, Toxicity of amiodarone on mouse pulmonary endothelial cells cultured with or without alveolar macrophages, *Journal of Toxicological Sciences*, 21, 253-267.
- Ganey, P.E., Luyendyk, J.P., Newport, S.W., Eagle, T.M., Maddox, J.F., Mackman, N., Roth, R.A., 2007, Role of the coagulation system in acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, *Hepatology*, 46, 1177-1186.
- Garcia-Ruiz, C., Morales, A., Ballesta, A., Rodes, J., Kaplowitz, N., Fernandez-Checa, J.C., 1994, Effect of chronic ethanol feeding on glutathione and functional integrity of mitochondria in periportal and perivenous rat hepatocytes, *The Journal Clinical Investigation*, 94, 193-201.
- Garner, W.H., Garner, M.H., 1983, Spector, H₂O₂-induced uncoupling of bovine lens Na⁺-K⁺-ATPase, *Proceedings of Natural Academy of Science USA*, 80, 2044-2048.
- Geyer, J.W., Dabich, D., 1971, Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates, *Analytical Biochemistry*, 39, 412-417.
- Ghaffari, T., Nouri, M., Saei, A.A., Rashidi, M.R., 2012, Aldehyde and xanthine oxidase activities in tissues of streptozotocin-induced diabetic rats: effects of vitamin E and selenium supplementation, *Biological Trace Element Research*, 147, 217-225.
- Ghatule, R.R., Shalini, G., Gautam, M.K., Singh, A., Joshi, V.K., Goel, R.K., 2012, Effects of *Azadirachta indica* leaves extract on acetic acid-induced colitis in rats: Role of antioxidants, free radicals and myeloperoxidase, *Asian Pacific Journal of Tropical Diseases*, S651-S657.
- Gill, J., Heel, R.C., Fitton, A., 1992, Amiodarone. An overview of its pharmacological properties, and review of its therapeutic use in cardiac arrhythmias, *Drugs*, 43, 69-110.
- Gillon, K.R.W., Hawthorne, J.N., 1983, Sorbitol, inositol and nerve conduction in diabetes, *Life Science*, 32, 1943-1947.

- Goodarzi, M.T., Abdi, M., Tavalani, H., Nadi, E., Rashidi, M., 2010, Adenosine deaminase activity in COPD patients and healthy subjects, *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 9, 7-12.
- Ghosh, J., Das, J., Manna, P., Sil, P.C., 2010, Arjunolic acid, a triterpenoid saponin, prevents acetaminophen (APAP)-induced liver and hepatocyte injury via the inhibition of APAP bioactivation and JNK-mediated mitochondrial protection, *Free Radical Biology and Medicine*, 48, 535-553.
- Goupil, N., Lenfant, J., 1976, The effects of amiodarone on the sinus node activity of the rabbit heart, *European Journal of Pharmacology*, 39, 23-31.
- Gökçe, S., Durmaz, O., Celtik, C., Aydoğan, A., Güllüoğlu, M., Sökücü, S., 2010, Valproic acid-associated vanishing bile duct syndrome, *Journal of Child Neurology*, 25, 909-911.
- Green, R.M., Graham, M., O'Donovan, M.R., Chipman, J.K., Hodges, N.J., 2006, Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity, *Mutagenesis*, 21, 383-390.
- Griffith, O.W., Meister, A., 1985, Origin and turnover of mitochondrial glutathione, *Proceedings of National Academy of Sciences, United States of America*, 82, 4668-4672.
- Grotto, D., Vicentini, J., Angeli, J.P.F., Latorraca, E.F., Monteiro, P.A.P., Barcelos, G.R.M., Somacal, S., Emanuelli, T., Barbosa, F., 2011, Evaluation of protective effects of fish oil against oxidative damage in rats exposed to methylmercury, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 487-493.
- Gruhlke, M.C.H., Slusarenko, A.J., 2012, The biology of reactive sulfur species (RSS), *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98-107.
- Gude, F., Rey-Garcia, J., Fernandez-Merino, C., Meijide, L., Garcia-Ortiz, L., Zamarron, C., Gonzalez-Quintela, A., 2009, Serum levels of gamma-glutamyl transferase are associated with markers of nocturnal hypoxemia in a general adult population, *Clinica Chimica Acta*, 407, 67-71.
- Guerreiro, M.H.M., Lpoes, L.C.V., Campello, A.P., Kluppel, M.L.W., 1986, Effect of amiodarone on mitochondrial energy-linked reaction and on mitochondrial morphology, *Arquivos de Biologica e Tecnologia*, 29, 621-631.
- Gupta, B.K., Bharat, V., Bandyopadhyay, D., 2010, Sensivity, specifity, negative and positive predictive values of adenosine deaminase in patients of tubercular and non-tubercular serosal effusion in India, *Journal of Clinical Medicine Research*, 2, 121-126.
- Gurel, A., Armutcu, F., Sahin, S., Sogut, S., Ozyurt, H., Gulec, M., Kutlu, N.O., Akyol, O., 2004, Protective role of alpha tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys, *Clinica Chimica Acta*, 339, 33-41.

- Guyton, A.C., Hall, J.E., 1996, *The liver as an organ*, Textbook of Medical Physiology, 9. Edition, 883-888.
- Gülçin, İ., 2012, Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydrocinnamic acid), *Toxicology*, 217, 213-220.
- Hacıhasanoğlu, N., 2011, *Sıçanlarda valproik asid ile oluşturulan karaciğer hasarına Edaravon'un etkileri*, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Haffajee, C.I., Love, J.C., Canada, A.T., Lesko, L.J., Asdourian, G., Alpert, J.S., 1983, Clinical pharmacokinetics and efficacy of amiodarone for refractory tachyarrhythmias, *Circulation*, 67, 1347-1355.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and diseases, *Biochemistry Journal*, 219, 1-14.
- Halliwell, B., 1989, Tell me about free radicals, doctor: A review, *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82, 747-752.
- Halliwell, W.H., 1997, Cationic-amphiphilic drug-induced phospholipidosis, *Toxicologic Pathology*, 25, 53-60.
- Halliwell, B., 2007, Biochemistry of oxidative stress, *Biochemical Society Transactions*, 35, 1147-1150.
- Harris, B.E., Pretlow, T.P., Bradley, E.L., Whitehurst, G.B., Pretlow, T.G., 1983, Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma, *Cancer Research*, 43, 3008-3012.
- Harrison, R., 2002, Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?, *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 774-797.
- Hayman, M.M., Baxter, I., O'Riordan, P.J., Stewart, C.M., 2004, Effects of high-pressure processing on the safety, quality and shelf life of ready-to-eat meats, *Journal of Food Protection*, 67, 1709-1718.
- Hegazi, M.M., Attia, Z.I., Ashour, O.A., 2010, Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure, *Aquatic Toxicology*, 99, 118-125.
- Hemieda, F.A., Abdel-Hady, S.K., Elnga, M.A., 2005, Biochemical and histological studies on H₂-receptor antagonist ranitidine-induced hepatotoxicity in rats, *Indian Journal of Experimental Biology*, 43, 782-785.
- Herraez, E., Macias, R.I.I., Vazquez-Tato, J., Hierro, C., Monte, M.J., Marin, J.J.G., 2009, Protective effect of bile acid derivatives in phalloidin-induced rat liver toxicity, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 239, 21-28.

- Ho, E., Galougahi, K.K., Liu, C.C., Bhindi, R., Figtree, G.A., 2013, Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice, *Redox Biology*, 1, 483-491.
- Hong, S.H., Song, J., Min, W.K., Kim, J.Q., 2001, Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease, *Clinical Biochemistry*, 34, 475-481.
- Horowitz, S., Binion, D.G., Nelson, V.M., Kanaa, Y., Lazarova, Z., Andrekopoulos, C., Kalyanamaran, B., Otterson, M.F., Rafiee, P., 2007, Increased arginase activity and endothelial dysfunction in human inflammatory bowel disease, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292, 1323-1336.
- Horoz, M., Aslan, M., Bolukbas, F.F., Bolukbas, C., Nazligül, Y., Celik, H., Aksoy, N., 2010, Serum prolidase enzyme activity and its relation to histopathological findings in patients with non-alcoholic steatohepatitis, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 24, 207-211.
- Hwang, C., Sinskey, A.J., Lodish, H.F., 1992, Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum, *Science*, 257, 1496-1502.
- Hui, K.S., Lajtha, A., 1978, Prolidase activity in brain: Comparison with other organs, *Journal of Neurochemistry*, 30, 321-327.
- Ichikawa, T., Ito, Y., Saegusa, Y., Iwai, T., Goso, Y., Ikezawa, T., Ishihara, K., 2009, Effects of combination treatment with famotidine and methylmethionine sulfonium chloride on the mucus barrier of rat gastric mucosa, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 24, 488-492.
- Ingawale, D.K., Mandlik, S.K., Naik, S.R., 2013, Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanism(s): A critical discussion, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37, 118-133.
- Ingram, G.I.C., Hills, M., 1976, Reference method for the one-stage prothrombin time test on human blood. International committee for standardization in hematology, *Thrombosis and Haemostasis*, 36, 237-238.
- Iraz, M., Ozerol, E., Gulec, M., Tasdemir, S., Idiz, N., Fadillioglu, E., Naziroglu, M., Akyol, O., 2006, Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat, *Cell Biochemistry and Function*, 24, 357-361.
- Ishida, S., Sugino, M., Hosokawa, T., Sato, T., Furutama, D., Fukuda, A., Kmura, F., Kuwabara, H., Shibayama, Y., Hanafusa, T., 2010, Amiodarone-induced liver cirrhosis and parkinsonism: a case report, *Clinical Neuropathology*, 29, 84-88.
- Isık, F., Akbay, T.T., Yarat, A., Gene, Z., Pisiriciler, R., Caliskan-Ak, E., Cetinel, S., Altınbas, A., Sener, G., 2011, Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) oil on TNBS-induced experimental colitis in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 56, 721-730.

- Iskandar, S.B., Abi-Saleh, B., Keith, R.L., Byrd, R.P., Roy, T.M., 2006, Amiodarone-induced alveolar hemorrhage, *Southern Medical Journal*, 99, 383-387.
- Isreal, Y., Kalant, M., Orrego, H., Khanna, J.M., Videla, L., Phillips, J.M., 1975, Experimental alcohol induced hepatic necrosis: Suppression of propylthiouracil, *Proceedings of Natural Academy of Science USA*, 72, 1137-1141.
- Iyagani, T., 1987, On the mechanisms of one- and two-electron transfer by flavin enzymes, *Chemistry Screen*, 27, 4-36.
- İşgör, M.M., Beydemir, S., 2010, Some cardiovascular therapeutics inhibit paraoxonase 1 (PON1) from human serum, *European Journal of Pharmacology*, 645, 135-142.
- Jamshidzadeh, A., Baghban, M., Azarpira, N., Bardbori, A.M., Niknahad, H., 2008, Effects of tomato extract on oxidative stress induced toxicity in different organs of rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3612-3615.
- Jander, G., Joshi, V., 2010, Recent progress in deciphering the biosynthesis of aspartate-derived amino acids in plants, *Molecular Plant*, 3, 54-65.
- Jendrassik, L., Gróf, P., 1938, Vereinfachte photometrische methoden zur bestimmung des blutbilirubins, *Biochemische Zeitschrift*, 297, 82-89.
- Johnson, W.M., Wilson-Delfosse, A.L., Mieyla, J.J., 2012, Dysregulation of glutathione homeostasis in neuro-degenerative diseases, *Nutrients*, 4, 1339-1440.
- Jornayvaz, F.R., Brulhart-Meynet, M.C., James, R.W., 2009, Myeloperoxidase and paraoxonase-1 in type 2 diabetic patients, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19, 613-619.
- Kabil, N.N., Seddiek, H.A., Yassin, N.A., Gamal-Eldin, M.M., 2013, Effect of ghrelin on chronic liver injury and fibrogenesis in male rats: Possible role of nitric oxide, *Peptides*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.022>.
- Kahl, R., 1999, *Toxic liver injury*, In: Bircher, J., Benhamou, J.P., McIntyre, N., Rizzetto, M., Rodes, J., eds. Oxford Textbook of Clinical Hepatology, 2nd ed. Oxford, England: Oxford University Press, 1319-1334.
- Kalkan, A., Bulut, U., Erel, O., Avci, S., Bingol, N.K., 1999, Adenosine deaminase and guanosine deaminase activities in sera of patients with viral hepatitis, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Journal*, 94, 383-386.
- Kaminsky, Y., Kosenko, E., 2010, AMP deaminase and adenosine deaminase activities in liver and brain regions in acute ammonia intoxication and subacute toxic hepatitis, *Brain Research*, 1311, 175-181.
- Kannan, R., Pollak, A., Singh, B.N., 1982, Elevation of serum lipids after chronic administration of amiodarone in rabbits, *Atherosclerosis*, 44, 19-26.

- Kapatou, E., Skyras, A., Agelaki, M.G., Pantos, C., Kolettis, T.M., Malamou-Mitsi, V., 2010, Amiodarone attenuates apoptosis, but induces phospholipidosis in rat alveolar epithelial cells, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 61, 671-677.
- Kaplowitz, N., 2002, Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury, *Seminar in Liver Disposition*, 22, 137-144.
- Karker, H., 1964, Method for estimation of serum adenosine deaminase, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 16, 570-574.
- Kart, A., Cigremis, E., Karaman, M., Ozen, H., 2010, Caffeic acid phenyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 45-52.
- Kasim, S.E., Bagchi, N., Brown, T.R., Khilnani, S., Jackson, K., Steinman, R.T., Lehmann, M.H., 1990, Amiodarone-induced changes in lipid metabolism, *Hormone and Metabolic Research*, 22, 285-288.
- Kaufmann, P., Török, M., Hanni, A., Roberts, P., Gasser, R., Krahenbühl, S., 2005, Mechanism of benzarone and benzbromarone-induced hepatic toxicity, *Hepatology*, 925-935.
- Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2009, *Karbohidrat metabolizması*, Biyokimya, Aktif Yayıncılık, 273-376.
- Kehl, D.W., Iqbal, N., Fard, A., Kipper, B.A., De La Parra Landa, A., Maisel, A.S., 2012, Biomarkers in acute myocardial injury, *Translational Research*, 159, 252-264.
- Kettle, A.J., Winterbourn, C.C., 1997, Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production, *Redox Report*, 3, 12-18.
- Khan, F.Y., Hamza, M., Omran, A.H., Saleh, M., Lingawi, M., Alnagdy, A., Rahman, M.O., Ahmedullah, A.S., Hamza, A., Ani, A.A., Errayes, M., Almaslamani, M., Mahmood, A.A., 2013, Diagnostic value of pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase in patients with plueral tuberculosis in Qatar, *International of General Medicine*, 6, 13-18.
- Kharidia, J., Eddington, N.D., 1996, Effects of desethylamiodarone on the electrocardiogram in conscious freely moving animals: pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling using computer-assisted radio telemetry, *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 17, 93-106.
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33, 110-118.
- Kicker, J.S., Haizlip, J., Buck, M.L., 2012, Hepatotxicity after continuous amiodarone infusion in a postoperative cardiac infant, *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, 17, 189-195.

- Kim, W.S., Yang, Y.J., Min, H.G., Song, M.G., Lee, J.S., Park, K.Y., Kim, J.J., Sung, J.H., Choi, J.S., Cha, H.J., 2010, Accelerated wound healing by S-methylmethionine sulfonium: Evidence of dermal fibroblast activation via the ERK1/2 pathway, *Pharmacology*, 85, 68-76.
- Klatt, P., Lamas, S., 2000, Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress, *European Journal of Biochemistry*, 267, 4928-4944.
- Klein, I., Ojamaa, K., 2001, Thyroid hormone and the cardiovascular system, *The New England Journal of Medicine*, 344, 501-509.
- Kluppel, M.L.W., Campello, A.P., 1996, Biochemical aspects of the mechanism of action of drugs with cardiovascular effects on mitochondrial function: A review, *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 39, 1-57.
- Kobayashi, F., Ikeda, T., Marumo, F., Sato, C., 1993, Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease, *American Journal of Gastroenterology*, 88, 266-271.
- Kochar, D.K., Jain, N., Agarwal, R.P., Srivastava, T., Agarwal, P., Gupta, S., 2002, Sodium valproate in the management of painful neuropathy in type 2 diabetes- a randomized placebo controlled study, *Acta Neurologica Scandinavica*, 106, 248-252.
- Kodama, I., Kamiya, K., Toyama, J., 1999, Amiodarone: ionic and cellular mechanisms of action of the most promising class III agent, *American Journal of Cardiology*, 84, 20R-28R.
- Kojo, S., 2004, Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, *Current Medicinal Chemistry*, 11, 1041-1064.
- Konarska, L., Kolasa, T., Albrecht, P., Regula, A., 1993, Can arginase be a marker of the large bowel neoplasia?, *Acta Biochimica Polonica*, 40, 164-166.
- Koudstaal, J., Makkin, B., Overdiep, S.H., 1975, Enzyme histochemical pattern in human tumors, II. Oxidoreductases in carcinoma of the colon and the breast, *European Journal of Cancer*, 11, 111-115.
- Kryston, T.B., Georgiev, A.B., Pissis, P., Georgakilas, A.G., 2011, Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis, *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711, 193-201.
- Kum, L.C., Chan, W.W., Hui, H.H., Wong, G.W., Ho, S.S., Sanderson, J.E., Yu, C.M., Fung, J.W., 2006, Prevalence of amiodarone-related hepatotoxicity in 720 Chinese patients with or without baseline liver dysfunction, *Clinical Cardiology*, 29, 295-299.
- Kumamoto, R., Uto, H., Oda, K., Ibusuki, R., Tanoue, S., Arima, S., Mawatari, S., Kumagai, K., Numata, M., Tamai, T., Moriuchi, A., Fujita, H., Oketani, M., Ido, A., Tsubouchi, H., 2013, Dietary fructose enhances the incidence of precancerous

- hepatocytes induced by administration of diethylnitrosamine in rat, *European Journal of Medical Research*, 18, DOI: 10.1186/2047-783X-18-54.
- Kundu, T.K., Hille, R., Velayutham, M., Zweier, J.L., 2007, Characterization of superoxide production from aldehyde oxidase: an important source of oxidants in biological tissues, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 460, 113-121.
- Lakhdar, A.A., Farish, E., Hillis, W.S., Dunn, F.G., 1991, Long-term amiodarone therapy raises serum cholesterol, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 40, 477-480.
- Lamprecht, M., Greilberger, J., Oettl, K., 2004, Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises, *Nutrition*, 20, 728-730.
- Landis, G.N., Tower, J., 2005, Superoxide dismutase evolution and life span regulation, *Mechanisms of Ageing and Development*, 126, 365-379.
- Larroz, M.R.A., Byfield, P.G.H., Greenwood, R.M., Himsworth, R.L., 1984, Binding of amiodarone by serum proteins and the effects of drugs, hormones and other interacting ligands, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 36, 366-372.
- Latini, R., Tognoni, G., Kates, R.E., 1984, Clinical pharmacokinetics of amiodarone, *Clinical Pharmacokinetics*, 9, 136-156.
- Lau, D., Baldus, S., 2006, Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease, *Pharmacology and Therapeutics*, 111, 16-26.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-283.
- Lee, N.Y., Park, K.Y., Min, H.J., Song, K.Y., Lim, Y.Y., Park, J., Kim, B.J., Kim, M.N., 2012, Inhibitory effect of Vitamin U (S-methylmethionine sulfonium chloride) on differentiation in 3T3-L1 pre-adipocyte cell lines, *Annals of Dermatology*, 24, 39-44.
- Lee, W.M., 2003, Drug-induced hepatotoxicity, *The New England Journal of Medicine*, 349, 474-485.
- Leray, C., 2011, *Free oxygen and thiyl-radicals*, www.cyberlipid.org/perox/oxid0003.htm.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stantman, E.R., 1990, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.
- Loser, C., Folsch, U.R., Paprotny, C., Creutzfeldt, W., 1990, Polyamine concentrations in pancreatic tissue, serum, and urine of patients with pancreatic cancer, *Pancreas*, 5, 119-127.

- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Lu, J., Jones, A.D., Harkema, J.R., Roth, R.A., Ganey, P.E., 2012, Amiodarone exposure during modest inflammation induces idiosyncrasy-like liver injury in rats: Role of tumor necrosis factor alpha, *Toxicological Sciences*, 125, 126-133.
- Lu, L., Wang, X., Lang, L., Fu, F., 2010, Protective effect of reduced glutathione on the liver injury induced by acute omethoate poisoning, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30, 279-283.
- Mackman, N., 2004, Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 24, 1015-1022.
- Mackness, M.I., Harty, D., Bhatnagar, D., Winocour, P.H., Arrol, S., Ishola, M., Durrington, P.N., 1991, Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolemia and insulin-dependent diabetes-mellitus, *Atherosclerosis*, 86, 193-199.
- Maggioni, A.P., Maggi, A., Volpi, A., D'Aranno, V., Tognoni, G., Giani, P., 1983, Amiodarone distribution in human tissues after sudden death during Holter recording, *American Journal of Cardiology*, 52, 217-218.
- Magielse, J., Arcoraci, T., Breynaert, A., Van Dooren, I., Kanyanga, C., Fransen, E., Van Hoof, V., Vlietnick, A., Apers, S., Pieters, L., Hermans, N., 2013, Antihepatotoxic activity of a quantified *Desmodium adscendens* decoction and D-pinitol against chemically-induced liver damage in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 250-256.
- Majumdar, S., Karmakar, S., Maiti, A., Choudhury, M., Ghosh, A., Das, A.S., Mitra, C., 2011, Arsenic-induced hepatic mitochondrial toxicity in rats and its amelioration by dietary phosphate, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 31, 107-118.
- Malkinson, A.M., Siegel, D., Forrest, G.L., Gazdar, A.F., Oie, H.K., Chan, D.C., Bunn, P.A., Mabry, M., Dykes, D.J., Harrison, S.D., Ross, D., 1992, Elevated DT-diaphorase activity and messenger RNA content in human non-small cell lung carcinoma: Relationship to the response of lung tumor xenografts to mitomycin c, *Cancer Research*, 52, 4752-4757.
- Manabe, A., Cheng, C.C., Egashira, Y., Ohta, Y., Sanada, Y., 1996, Dietary wheat gluten alleviates the elevation of serum transaminase activities in d-galactosamine-injected rats, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 42, 121-132.
- Martini, M., Salari, F., Pesi, P., Tozzi, M.G., 2010, Relationship between activity of some fat globule membrane enzymes and the lipid fraction in ewes' milk: Preliminary studies, *International Dairy Journal*, 20, 61-64.

- Marutsuka, K., Hatayeyama, k., Yamatshita, A., Asada, Y., 2005, Role of thrombogenic factors in the development of atherosclerosis, *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 12, 1-8.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesì, C., Giovannini, C., 2005, Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 577-586.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., De Castro, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603.
- Matsuo, T., Seri, K., Kato, T., 1980, Comparative effects of S-methylmethionine (vitamin U) and methionine on choline-deficient fatty liver in rats, *Arzneimittelforschung*, 30, 68-69.
- McCord, J.M., 1985, Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury, *New England Journal of Medicine*, 312, 1599-163.
- McNamara, E., Goldberg, D.M., 1985, Serum enzymes and enzyme profiles in the diagnosis of liver, *Digestive Diseases*, 3, 165-186.
- Meister, A., 1988, Glutathione mechanism and its selective modification, *Journal of Biological Chemistry*, 263, 17205-17208.
- Mercan, U., 2004, Toksikolojide serbest radikallerin önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- Merz, T., Fuller, S.H., 2007, Elevated serum transaminase levels resulting from concomitant use of rosuvastatin and amiodarone, *American Journal of Health-System Pharmacy*, 64, 1818-1821.
- Mete, R., Oran, M., Topcu, B., Oznur, M., Seber, E.S., Gedikbasi, A., Yetisyigit, T., 2013, Protective effects of onion (*Allium cepa*) extract against doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats, *Toxicology and Industrial Health*, DOI: 10.1177/0748233713504807.
- Miao, P., Sheng, S., Sun, X., Liu J, Huang, G., 2013, Lactate dehydrogenase A in cancer: A promising target for diagnosis and therapy, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 65, 904-910.
- Michiels, C., Raes, M., Tousaint, O., Remacle, K., 1994, Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*, 17, 235-248.
- Minus, P., Patrignani, P., Gaino, S., Degan, M., Meapace, L., Tommasoli, R., Seta, F., Capone, M.L., Tacconelli, S., Palatresi, S., Bencini, C., Del Vecchio, C., Mansueto, G., Arosio, E., Santonastaso, C.L., Lechi, A., Morganti, A., Patrono, C., 2002, Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease, *Circulation*, 106, 2800-2805.

- Mistry, S., Dutt, K.R., Jena, J., 2013, Protective effect of *Sida cordata* leaf extract against CCl₄ induced acute liver toxicity in rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6, 280-284.
- Miyataka, K., Gotoh, T., Nagasaki, A., Takeya, M., Ozaki, M., Iwase, K., Takiguchi, M., Iyama, K.I., Tomita, K., Mari, M., 1998, Immunohistochemical localization of arginase II and other enzymes of arginine metabolism in rat kidney and liver, *The Histochemical Journal*, 30, 741-751.
- Miyata, M., Nomoto, M., Sotodate, F., Mizuki, T., Hori, W., Nagayasu, M., Yokokawa, S., Ninomiya, S., Yamazoe, Y., 2010, Possible protective role of pregnenolone-16 α -carbonitrile in lithocholic acid-induced hepatotoxicity through enhanced hepatic lipogenesis, *European Journal of Pharmacology*, 636, 145-154.
- Monks, T.J., Hanzlik, R.P., Cohen, G.M., Ross, D., Graham, D.G., 1992, Quinone chemistry and toxicity, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 112, 2-16.
- More, A.S., Kumari, R.R., Gupta, G., Kathirvel, K., Lonare, M.K., Dhayagude, R.S., Kumar, D., Kumar, D., Sharma, A.K., Tandan, S.K., 2012, Effect of S-methylisothiurea in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 385, 1127-1139.
- Moreno, P., Fuster, V., 2004, New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis, *Journal of the College of Cardiology*, 44, 2293-3000.
- Murayama, H., Iketomo, M., Fukuda, Y., Tsunekawa, S., Nagata, A., 2007, Advantage of serum type-1 arginase and ornithine carbamoyltransferase in the evaluation of acute and chronic liver damage induced by thioacetamide in rats, *Clinica Chimica Acta*, 375, 63-68.
- Murray, K.F., Carithers, R.L., 2005, AASLD practice guidelines: Evaluation of the patient for liver transplantation, *Hepatology*, 41, 1407-1432.
- Müller, L.G., Pase, C.S., Reckziegel, P., Barcelos, R.C., Bouffleur, N., Prado, A.C., Fett, R., Block, J.M., Pavanato, M.A., Bauermann, L.F., Da Rocha, J.B., Burger, M.E., 2013, Hepatoprotective effects of pecan nut shells on ethanol-induced liver damage, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65, 165-171.
- Myara, I., Myara, A., Mangeot, M., Fabre, M., Charpentier, C., Lemonnier, A., 1984, Plasma prolidase activity: A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease, *Clinical Chemistry*, 30, 211-215.
- Myara, I., Miech, G., Fabre, M., Mangeot, M., Lemonnier, A., 1987, Changes in prolidase and prolidase activity during CCl₄ administration inducing liver cytolysis and fibrosis in rat, *British Journal of Experimental Pathology*, 68, 7-13.
- Nademanee, K., Singh, B.N., Stevenson, W.G., Weiss, J.N., 1993, Amiodarone and post-MI patients, *Circulation*, 88, 764-768.

- Nakou, E.S., Vardas, P.E., 2013, New therapeutic options in heart failure. What's the horizon? An overview, *International Journal of Cardiology*, 170, 95-106.
- Nashio, E., Watanebe, Y., 1997, Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols, *Biochemical and Biophysical Research and Communications*, 236, 289-293.
- Navab, M., Hama-Levy, S., Van Lenten, B.J., Fonarow, G.C., Cardinez, C.J., Castellani, L.W., Brennan, M.L., Lusis, A.J., Fogelman, A.M., La Du, B.N., 1997, Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio, *The Journal of Clinical Investigation*, 99, 2005-2019.
- Ng, X.R., Wee, L.Y., Chadachan, V., 2012, Acute amiodarone syndrome after a single intravenous amiodarone bolus, *Singapore Medical Journal*, 53, e225-e227.
- Nicolescu, A.C., Comeau, J.L., Hill, B.C., Bedard, L.L., Takahashi, T., Brien, J.F., Racz, W.J., Massey, T.E., 2007, Aryl radical involvement in amiodarone-induced pulmonary toxicity: Investigation of protection by spin-trapping nitrones, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 220, 60-71.
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N., 2005, Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338, 668-676.
- Noren, O., Dabelsteen, E., Sjöström, H., Josefsson, L., 1977, Histological localization of two dipeptidases in the pig small intestine and liver, using immunofluoresans, *Gastroenterology*, 72, 87-92.
- Ogata, Y., Aoe, K., Hiraki, A., Murakami, K., Kishino, D., Chikamori, K., Maeda, T., Ueoka, H., Kiura, k., Tanimoto, M., 2011, Is adenosine deaminase in plueral fluid a useful marker for differantiating tuberculosis from lung cancer or mesothelioma in Japan, a country with intermediate incidence of tuberculosis?, *Acta Medica Okayama*, 65, 259-263.
- Ohta, Y., Imai, Y., Matura, T., Kitagawa, A., Yamada, K., 2006, Preventive effect of neutropenia on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Journal of Applied Toxicology*, 26, 178-186.
- Oktay, Ş., Alev, B., Türkyılmaz, İ.B., Kaya, S., Akyüz, S., Yanardağ, R., Yarat, A., 2013, Amiodaron ve U vitamininin kombine tedavisinin tükürük bezinde glikoproteinlerin temel bileşenleri üzerine etkisi, *Uluslararası Katılımlı II. Glikobiyoloji Kongresi*, 11-14 Haziran 2013, İzmir-Türkiye, PB-2.
- Olden, K., Parent, J.B., White, S.L., 1982, Carbohydrate moieties of glycoproteins, A Reevaluation of their functions, *Biochimica Biophysica Acta*, 650, 209-232.
- Ozsahin, H., Arredondo-Vega, F.X., Santisteban, I., Fuhrer, H., Tuchschnid, P., Jochum, W., Aguzzi, A., Lederman, H.M., Fleischman, A., Winkelstein, J.A., Seger, R.A., Herschfield, M.S., 1997, Adenosine deaminase deficiency in adults, *Blood Journal*, 89, 2849-2855.

- Pacheco, R., Martinez-Navio, J.M., Lejeune, M., Climent, N., Oliva, H., Gatell, J.M., Gallart, T., Mallol, J., Lluís, C., Franco, R., 2005, CD26, adenosine deaminase, and adenosine receptors mediate costimulatory signals in the immunological synapse, *Proceedings of the National Academy of Science, United States of America*, 102, 9583-9588.
- Padmavathy, B., Devaraj, S.N., Devaraj, H., 1992, Effect of amiodarone drug, on serum and liver lipids and serum marker enzymes in rats, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 29, 522-524.
- Papiris, S.A., Triantafyllidou, C., Kolilekas, L., Markoulaki, D., Manali, E.D., 2010, Amiodarone, review of pulmonary effects and toxicity, *Drug Safety*, 33, 539-558.
- Paragh, G., Seres, I., Balogh, Z., Varga, Z., Karpati, I., Matyus, J., Ujhelyi, L., Kakuk, G., 1998, The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia, *Nephron*, 80, 166-170.
- Pari, L., Amudha, K., 2011, Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats, *European Journal of Pharmacology*, 650, 364-370.
- Parillo, F., Arias, M.P., Supplizi, A.V., 2009, Glycoprofile of the different cell types present in the mucosa of the horse guttural pouches, *Tissue Cell*, 41, 257-265.
- Pichler, W.J., Schindler, L., Staubli, M., Stadler, B.M., De Weck, A.L., 1988, Anti-amidorone antibodies: Detection and relationship to the development of side effects, *The American Journal of Medicine*, 85, 197-202.
- Pineiro-Carrero, V.M., Pineiro, E.O., 2004, Liver, *Pediatrics*, 113, 1097-1106.
- Pinheiro, F.V., Pimentel, V.C., De Bona, K.S., Scola, G., Salvador, M., Funchal, C., Moretto, M.B., 2010, Decrease of adenosine deaminase activity and increase of the lipid peroxidation after acute methotrexate treatment in young rats: protective effects of grape seed extract, *Cell Biochemistry and Function*, 28, 89-94.
- Podrez, E.A., Abu-Saud, H.M., Hazen, S.L., 2000, Myeloperoxidase generated oxidants and atherosclerosis, *Free Radical Biology and Medicine*, 28, 1717-1725.
- Pollak, P.T., Shafer, S.L., 2004, Use of population modeling to define rational monitoring of amiodarone hepatic effects, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 75, 342-351.
- Pollak, P.T., Sharma, A.D., Carruthers, S.G., 1988, Elevation of serum total cholesterol and triglyceride levels during amiodarone therapy, *American Journal of Cardiology*, 62, 562-565.
- Porembaska, Z., Luboinski, G., Chrzanowska, A., Mielczarek, M., Magnuska, J., Branczyk-Kuzma, A., 2003, Arginase in patients with breast cancer, *Clinica Chimica Acta*, 328, 105-111.

- Pourbaix, S., Berger, Y., Desager, J.P., Pacco, M., Harvengt, C., 1985, Absolute bioavailability of amiodarone in normal subjects, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 37, 118-123.
- Prasada, R.K.S., Rao, S.B., Camus, P.H., Mehendale, H.M., 1986, Effect of amiodarone on Na^+ - K^+ -ATPase and Mg^{2+} -ATPase activities in rat brain synaptosomes, *Cell Biochemistry and Function*, 4, 143-151.
- Pratibha, K., Anand, U., Agarwal, R., 2004, Serum adenosine deaminase, 5'-nucleotidase and malondialdehyde in acute infective hepatitis, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 19, 128-131.
- Price, G.C., Thompson, S.A., Kam, P.C.A., 2004, Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor, *Anaesthesia*, 59, 483-492.
- Punithavathi, V.R., Anuthama, R., Stanley Manizen Price, P., 2008, Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats, *Journal of Applied Toxicology*, 28, 806-813.
- Racz, I., Paldi, E., Szalai, G., Janda, T., Pal, M., Lasztity, D., 2008, S-methylmethionine reduces cell membrane damage in higher plants exposed to low-temperature stress, *Journal of Plant Physiology*, 165, 1483-1490.
- Rajadurai, M., Stanely Mainzen Prince, P., 2007, Preventive effect of naringin on isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: An *in vivo* and *in vitro* study, *Toxicology*, 232, 216-225.
- Ramaiah, S.K., 2007, A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1551-1557.
- Ranocha, P., McNeil, S.D., Ziemak, M.J., Li, C., Tarczynski, M.C., Hanson, A.D., 2001, The S-methylmethionine cycle in angiosperms: ubiquity, antiquity and activity, *The Plant Journal*, 25, 575-584.
- Rao, U., Agarwal, A., 2012, Amiodarone-induced acute hepatotoxicity, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 68, 449-450.
- Reed, D.J., 1998, *Evaluation of chemical-induced oxidative stress as a mechanism of hepatocyte death*, In: Plaa, G.L., Hewitt, W.R., eds. *Toxicology of the Liver*, 2nd ed. Washington DC: Taylor and Francis, 187-220.
- Reiffel, J.A., Estes, N.A., Waldo, A.L., Prystowsky, E.N., DiBianco, R., 1994, A consensus report on antiarrhythmic drug use, *Clinical Cardiology*, 17, 103-116.
- Reitman, S., Frankel, S., 1974, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases, *American Journal of Clinical Pathology*, 28, 56-63.

- Retsky, K.L., Chen, K., Zeind, J., Frei, B., 1999, Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 90-98.
- Ribeiro, S.M.R., Campello, A.P., Nascimento, A.J., Kluppel, M.L.W., 1997, Effect of amiodarone (AMD) on the antioxidant enzymes, lipid peroxidation and mitochondrial metabolism, *Cell Biochemistry and Function*, 15, 145-152.
- Ricksen, N.P., Franke, B., van den Broek, P., Naber, M., Smits, P., Rongen, G.A., 2008, The 22GA polymorphism in the adenosine deaminase gene impairs catalytic function but does not affect reactive hyperaemia in humans in vitro, *Pharmacogenetics and Genomics*, 18, 843-846.
- Ridderstap, A.S., Bonting, S.L., 1969, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -activated ATPase and exocrine pancreatic secretion in vitro, *The American Journal of Physiology*, 217, 1721-1727.
- Riley, R.J., Workman, P., 1992, DT-diaphorase and cancer chemotherapy, *Biochemical Pharmacology*, 43, 1657-1669.
- Robles, M., Toscano, E., Cotta, J., Lucena, M.I., Andrade, R.J., 2010, Antibiotic-induced liver toxicity: Mechanisms, clinical features and causality assesment, *Current Drug Safety*, 5, 212-222.
- Roche-Vitec, 1990, Vitamin U, *Pigs News and Information*, 11, 329-330.
- Rodrigo, L., Gill, F., Hernandez, A.F., Pla, A., 1999, Identification of two rat liver proteins with paraoxonase activity: Biochemical evidence for the identity of paraoxonase and arylesterase, *Chemico-Biological Interactions*, 119-120: 263-275.
- Rodrigo, L., Hernandez, A.F., Lopez-Caballero, J.J., Gil, F., Pla, A., 2001, Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue implications for its physiological role, *Chemico-Biological Interactions*, 137, 123-137.
- Rolo, A.P., Teodoro, J.S., Palmiera, C.M., 2012, Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis, *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 59-69.
- Roth, F.C., Mulder, J.E., Brien, J.F., Takahashi, T., Massey, T.E., 2013, Cytotoxic interaction between amiodarone and desethylamiodarone in human peripheral lung epithelial cells, *Chemico-Biological Interactions*, 204, 135-139.
- Rubino, A., Pierro, M., La Torretta, G., Vetralla, M., Di Martino, D., Auricchio, A., 1969, Studies on intestinal hydrolysis of peptides: II. Dipeptidase activity toward L-glutaminy-L-proline and glycyl-L-proline in the small intestine of the human fetus, *Pediatric Research*, 3, 313-319.

- Rushworth, G.F., Megson, I.L., 2014, Existing and potential therapeutics uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits, *Pharmacology and Therapeutics*, 141, 150-159.
- Ruskovska, T., Bernlohr, D.A., 2013, Oxidative stress and protein carbonylation in adipose tissue-implications for insulin resistance and diabetes mellitus, *Journal of Proteomics*, 92, 323-334.
- Said, S.A., El-Agamy, D.S., 2010, Prevention of sodium valproate-induced hepatotoxicity by curcumin, rosiglitazone and N-acetylcysteine in rats, *Arzneimittelforschung*, 60, 647-653.
- Salim, A.S., 1991, Administration of sulfhydryls to stimulate the healing of ischemia-induced acute gastric mucosal injury in the rat, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 539-541.
- Salim, A.S., 1993, Sulfhydryl-containing agents in the treatment of gastric bleeding induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Canadian Journal of Surgery*, 36, 53-58.
- Sambola, A., Osende, J., Hathcock, J., Degen, M., Nemerson, Y., Fuster, v., Crandall, J., Badimon, J.J., 2003a, Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity, *Circulation*, 107, 973-977.
- Sambola, A., Fuster, V., Badimon, J.J., 2003b, Role of coronary risk factors in blood thrombogenicity and acute coronary syndromes, *Revista Espanola de Cardiologica*, 56, 1001-1009.
- Sanchis-Gomar, F., Bonaguri, C., Aloe, R., Pareja-Galeano, H., Martinez-Bello, V., Gomez-Cabrera, M.C., Candel, J., Vina, J., Lippi, G., 2013, Effects of acute exercise and xanthine oxidase inhibition on novel cardiovascular biomarkers, *Translational Research*, 162, 102-109.
- Saunders, W.B., 1994, *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, 28th Ed., 954, Philadelphia.
- Schlager, J.J., Powis, G., 1990, Cytosolic NAD(P)H:(quinone-acceptor) oxidoreductase in human and normal tissue: effects of cigarette smoking and alcohol, *International Journal of Cancer*, 45, 403-409.
- Schor, N.A., Morris, H.P., 1977, The activity of the DT-diaphorase in experimental hepatomas, *Cancer Biochemistry Biophysics*, 2, 5-9.
- Schor, N.A., Rice, B.F., Huseby, R.A., 1976, Dehydrogenation of reduced pyridine nucleotides by Leydig cell tumors of the rat testis, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 151, 418-421.
- Schor, N.A., Cornelisse, C.J., 1983, Biochemical and quantitative histochemical study of reduced pyridine nucleotide dehydrogenation by human colon carcinomas, *Cancer Research*, 43, 4850-4855.

- Schroder, R., Muller, O., Bircher, J., 1985, The portocaval and splenocaval shunt in normal rat, *Journal of Hepatology*, 1, 107-123.
- Scibior, A., Golebiowska, D., Niedzwiecka, I., Adamczyk, A., 2013, Inhibitory and stimulating effect of magnesium on vanadate-induced lipid peroxidation under in vitro conditions, *Indian Journal of Experimental Biology*, 51, 721-731.
- Seki, S., Kitada, T., Sakaguchi, H., Nakatani, K., Wakasa, K., 2003, Pathological significance of oxidative cellular damage in cellular damage in human alcoholic liver disease, *Histopathology*, 42, 365-371.
- Seri, K., Matsuo, T., Asano, M., Sato, R., Kato, T., 1978, Hypolipidemic effects of S-methylmethionine (Vitamin U) using various experimental procedures, *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, 28, 1711-1712.
- Seri, K., Matsuo, T., Taniguchi, T., Amemiya, K., Kudo, M., Saito, G., Kato, T., 1980, Hypolipidemic effects of S-methylmethionine (Vitamin U) using various experimental procedures, *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, 30, 1694-1703.
- Senthilkumar, R., Nalini, N., 2004, The potential beneficial effect of glycine on carbohydrate moieties of glycoproteins in an experimental model of alcohol-induced hepatotoxicity, *Journal of Medicinal Food*, 7, 108-113.
- Seven, A., Candan, G., 1996, Antioksidan Savunma Sistemleri, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27, 41-50.
- Silva, L.F.A., Hoffmann, M.S., Rambo, L.M., Ribeiro, L.R., Lima, F.D., Furian, A.F., Oliveria, M.S., Figuera, M.R., Royes, L.F.F., 2011, The involvement of Na⁺, K⁺-ATPase activity and free radical generation in the susceptibility to pentylentetrazol-induced seizures after experimental traumatic brain injury, *Journal of Neurological Sciences*, 308, 35-40.
- Singh, B.N., Williams, E.M.V., 1970, The effect of amiodarone, a new anti-anginal drug, on cardiac muscle, *British Journal of Pharmacology*, 39, 657-667.
- Singh, M., Gupta, S., Singhal, U., Pandey, R., Aggarwal, S.K., 2013, Evaluation of the oxidative stress in chronic alcoholics, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7, 1568-1571.
- Sharma, S., Shrivastava, S., Shukla, S., 2013, Reversal of lead induced toxicity due to the effect of antioxidants, *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 32, 177-187.
- Shayeganpour, A., El-Kadi, A.O., Brocks, D.R., 2006, Determination of the enzyme(s) involved in the metabolism of amiodarone in liver and intestine of rat: the contribution of cytochrome P4503A isoforms, *Drug Metabolism and Disposition*, 34, 43-50.
- Smeyne, M., Smeyne, R.J., 2013, Glutathione metabolism and Parkinson's disease, *Free Radical Biology and Medicine*, 63, 13-25.

- Smith, E.L., 1948, The peptidases of skeletal, heart, and uterine muscle, *Journal of Biological Chemistry*, 173, 553-569.
- Sonnenblick, M., Gottlieb, S., Goldstein, R., Abraham, A.S., 1986, Effects of amiodarone on blood lipids, *Cardiology*, 73, 147-150.
- Soyama, A., Hanioka, N., Saito, Y., Murayama, N., Ando, M., Ozawa, S., Sawada, J., 2002, Amiodarone N-deethylation by CYP2C8 and its variants, CYP2C8*3 and CYP2C8 P404A, *Pharmacological Toxicology*, 91, 174-178.
- Sohal, R.S., Orr, W., 2012, The redox stress hypothesis of aging, *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 539-555.
- Sokmen, B.B., Tunali, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methylmethionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.
- Spaniol, M., Bracher, R., Ha, H.R., Follath, F., Krahenbuhl, S., 2001, Toxicity of amiodarone and amiodarone analogues on isolated rat liver mitochondria, *Journal of Hepatology*, 35, 628-636.
- Stadtman, E.R., 1992, Protein oxidation and aging, *Science*, 257, 1220-1224.
- Stadtman, E.R., 2004, Role of oxidant species in aging, *Current Medicinal Chemistry*, 11, 1105-1112.
- Stravitz, R.T., Sanyal, A.J., 2003, Drug-induced steatohepatitis, *Clinical Liver Diseases*, 7, 435-451.
- Sturgill, M.G., Lambert, G.H., 1997, Xenobiotics-induced hepatotoxicity: Mechanisms of liver injury and methods of liver injury and methods of monitoring hepatic function, *Clinical Chemistry*, 43-1512-1526.
- Suhail, M., Rizvi, S.I., 1989, Erythrocyte membrane acetylcholine esterase in type I (insulin dependent) diabetes mellitus, *Biochemical Journal*, 259, 897-899.
- Sullivan, B.P., Kopec, A.K., Joshi, N., Cline, H., Brown, J.A., Bishop, S.C., Kassel, K.M., Rockwell, C., Mackman, N., Luyendyk, J.P., 2013, Hepatocyte tissue factor activates the coagulation cascade in mice, *Blood*, 121, 1868-1874.
- Sutherland, W.H., De Jong, S.A., Wlaker, R.J., 2004, Hypochlorous acid and low serum paraoxonase activity in haemodialysis patients: an in vitro study, *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19, 75-82.
- Szasz, G., 1966, A kinetic photometric method for serum γ -glutamyl transpeptidase, *Clinical Chemistry*, 15, 124-136.
- Tabassum, H., Parvez, S., Pasha, S.T., Banerjee, B.D., Raisuddin, S., 2010, Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1973-1979.

- Talalay, P., 1989, Mechanisms of induction of enzymes that protect against chemical carcinogenesis, *Advances in Enzyme Regulation*, 28, 149-159.
- Tandogan, B., Güvenç, A., Çalış, İ., Uluşu, N.N., 2011, In vitro effects of compounds isolated from *Sideritisbrevibracteata* on bovine kidney cortex glutathione reductase, *Acta Biochemica Polonica*, 58, 471-475.
- Terlecki, G., Czapinska, E., Gutowicz, J., 2002, The role of lipid phase structure in the interaction of lactate dehydrogenase with phosphatidylserine. Activity studies, *Cellular and Molecular Biology Letters*, 7, 895-903.
- Testino, G., Leone, S., Ansaldi, F., Borro, P., 2013, Silymarin and S-adenosyl-L-methionine (SAME): two promising pharmacological agents in case of chronic alcoholic hepatothopathy. A review and a point of view, *Minerva Gastroenterologica e Dietologica*, 59, 341-356.
- Thapa, B.R., Walia, A., 2007, Liver function tests and their interpretation, *Indian Journal of Pediatrics*, 74, 663-671.
- Trivier, J.M., Libersa, C., Belloc, C., Lhermitte, M., 1993, Amiodarone N-deethylation in human liver microsomes: involvement of cytochrome P450 3A enzymes (first report), *Life Science*, 52, 91-96.
- Tsai, C.F., Hsu, Y.W., Chen, W.K., Chang, W.H., Yen, C.C., Ho, Y.C., Lu, F.J., 2009, Hepatoprotective effect of electrolyzed reduced water against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2031-2036.
- Tsao, R., 2010, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients*, 2, 1231-1246.
- Tsuchiya, H., Sato, J., Tsuda, H., Fujiwara, Y., Yamada, T., Fujimura, A., Koshimizu, T., 2013, Serum amyloid A upsurge precedes standard biomarkers of hepatotoxicity in ritodrine-injected mice, *Toxicology*, 305, 79-88.
- Tunali, S., Yanardag, R., 2006, Effect of vanadyl sulfate on the status of lipid parameters and on stomach and spleen tissues of streptozotocin-induced diabetic rats, *Pharmacological Research*, 53, 271-277.
- Tuncer, M., Erzin, Y., 2002, *Sistemik hastalıklarda karaciğer*, Gastroenteroloji, Türk Gastroenteroloji Vakfı (TGV): Fersa Matbaacılık Ltd. Sti., 627-636.
- Turrens, J.F., Boveris, A., 1980, Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria, *The Biochemical Journal*, 191, 421-427.
- Ufaz, S., Galili, G., 2008, Improving the content of essential amino acids in crop plants: goals and opportunities, *Plant Physiology*, 147, 954-961.

- Ulus, T., Yildirir, A., Demirtas, S., Demir, O., Sade, L.E., Bozbas, H., Gürsoy, Y., Bilgi, M., Küçük, M.A., Müderrisoğlu, H., 2007, serum gamma-glutamyl transferase activity: A new marker for stent restenosis?, *Atherosclerosis*, 195, 348-353.
- Urazaeva, L.G., 1976, Anti-inflammatory effect of methylmethionine sulfonium chloride (vitamin U), *Farmakologiya i Toksikologiya*, 39, 316-319.
- Ushigome, H., Yosmihura, N., Sano, H., Nakamura, K., Oka, T., 1998, Expression of tissue factor in renal ischemic-reperfusion injury of the rat, *Transplantation Proceedings*, 30, 3764-3765.
- Uysal, M., 1998, Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim Dergisi*, 11, 336-341.
- Uzunhisarcıklı, M., Kalender, Y., 2011, Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methyl paration in rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 2112-2118.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic M., Mazur, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.
- Van Beek, J.H.D.A., De Moor, M.H.M., Geels, L.M., Sinke, M.R.T., De Geus, E.J.C., Lubke, G.H., Kluft, C., Neuteboom, J., Vink, J.M., Willemsen, G., Boomsma, D.I., 2014, The association of alcohol intake with gamma-glutamyl transferase (GGT) levels: Evidence for correlated genetic effects, *Drug and Alcohol Dependence*, 134, 99-105.
- Vassallo, P., Trohman, R.G., 2007, Prescribing amiodarone: an evidence-based review of clinical indications, *Journal of the American Medical Association*, 298, 1312-1322.
- Venditti, P., Napolitano, G., Barone, D., Di Meo, S., 2013, Effect of training and vitamin E administration on rat liver oxidative metabolism, *Free Radical Research*, DOI:10.3109/10715762.2013.867959.
- Vijayavel, K., Anbuselvam, C., Ashoukkumar, B., 2013, Protective effect of *Coleus aromaticus* Benth (Lamiaceae) against naphthalene-induced hepatotoxicity, *Biomedical and Environmental Sciences*, 26, 295-302.
- Vorperian, V.R., Havighurst, T.C., Miller, S., January, C.T., 1997, Adverse effects of low dose amiodarone: a meta analysis, *Journal of the American College of Cardiology*, 30, 791-798.

- Walter, K., Schutt, C., 1974, Acid and alkaline phosphatase in serum (two point method), *Methods Enzymatic Analysis*, vol 2, Verlag Chemie GmbH, Boca Raton, FL, 856-860.
- Wang, L., Meng, X., Zhang, F., 2012, Raspberry ketone protects rats fed high-fat diets against nonalcoholic steatohepatitis, *Journal of Medicinal Food*, 15, 495-503.
- Watanebe, T., Ohara, S., Miyazawa, S., Saigenji, K., Hotta, K., 2000, Augmentive effects of L-cysteine and methylmethionine sulfonium chloride on mucin secretion in rabbit gastric mucous cells, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15, 45-52.
- Wei, H., Frankel, K., 1991, In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin, *Cancer Reserach*, 51, 4443-4448.
- Wen, Y.F., Zhao, J.Q., Bhadauria, M., Nirala, S.K., 2013, Baicalin prevents cadmium induced hepatic toxicity, oxidative stress and histomorphometric alterations, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65, 189-196.
- Wilson, J.S., Podrid, P.J., 1991, Side effects of amiodarone, *American Heart Journal*, 121, 158-171.
- Winzler, R.J., 1955, *Methods of Biochemical Analysis*, Glick, DP, ed. New York: Interscience Publishers Inc, 279-311.
- Wright, T.M., Vanderberg, A.M., 2007, Risperidone- and quetiapine- induced cholestasis, *Annals of Pharmacotherapy*, 41, 1518-1523.
- Wu, C.W., Chi, C.W., Lin, E.C., Lui, W.Y., P'eng, F.K., Wang, S.R., 1994, Serum arginase level in patients with gastric cancer, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 18, 84-85.
- Wu, T., Chang, M.J., Xu, Y.J., Li, X.P., Du, G., Liu, D., 2013, Protective effect of *Calculus Bovis Sativus* on intrahepatic cholestasis in rats induced by a-naphthylisothiocyanate, *The American Journal of Chinese Medicine*, 41, 1393-1405.
- Yabek, S.M., Kato, R., Singh, B.N., 1985, Acute effects of amiodarone on the electrophysiologic properties of isolated neonatal and adult cardiac fibers, *Journal of the American College of Cardiology*, 5, 1109-1115.
- Yalçın, A.S., 1998, Antioksidanlar, *Klinik Gelişim Dergisi*, 11, 342-346.
- Yamamoto, T., Kikkawa, R., Yamada, H., Horii, I., 2006, Investigation of proteomic biomarkers in *in vivo* hepatotoxicity study of rat liver: Toxicity differentiation in hepatotoxics, *The Journal of Toxicological Sciences*, 31, 49-60.
- Yavuz, Ö., 2001, Glikoproteinler ve biyomedikal önem, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 21, 517-522.

- Yıldız, A., Demirbag, R., Yılmaz, R., Gur, M., Altıparmak, İ.H., Akyol, S., Aksoy, N., Ocak, A.R., Erel, O., 2008, The association of serum prolidase activity with the presence and severity of coronary artery disease, *Coronary Artery Disease*, 19, 319-325.
- Yılmaz, T., 2010, *Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarına Amaranthus Lividus (A.Blitum) bitkisinin antioksidan ve hepatoprotektif etkilerinin incelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ying, H.Z., Liu, Y.H., Yu, B., Wang, Z.Y., Zang, J.N., Yu, C.H., 2013, Dietary quercetin ameliorates nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fat diet in gerbils, *Food and Chemical Toxicology*, 52, 53-60.
- Yüksel, N., 2001, Sitokrom P450 enzim sistemi ve ilaç etkileşimleri, *Klinik Psikiyatri*, 1, 5-16.
- Zaeemzadeh, N., Hemmati, A., Arzi, A., Jalali, M., Rashidi, I., 2011, Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on amiodarone-induced pulmonary fibrosis in rat, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 321-328.
- Zahno, A., Brecht, K., Morand, R., Maseneni, S., Török, M., Lindinger, P.W., Krahenbühl, S., 2011, The role of CYP3A4 in amiodarone-associated toxicity on HepG2 cells, *Biochemical Pharmacology*, 81, 432-441.
- Zeashan, H., Amresh, G., Singh, S., Rao, C.V., 2008, Hepatoprotective activity of *Amaranthus spinosus* in experimental rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3417-3421.
- Zhang, L., Li, H., Gong, X., Luo, F., Wang, B., Hu, N., Wang, C., Zhang, Z., Wan, J., 2010, Protective effects of Asiaticoside on acute liver injury induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine in mice, *Phytomedicine*, 17, 811-819.
- Zima, T., Novak, L., Stipek, S., 1993, Plasma xanthine oxidase level and alcohol administration, *Alcohol and Alcoholism*, 28, 693-694.
- Zimmerman, H.J., 1998, *Drug-induced hepatic disease*. In: Plaa, G.L., Hewitt, W.R., eds. *Toxicology of the Liver*, 2nd ed. Washington DC: Taylor and Francis, 3-60.
- Zimniak, P., 2011, Relationship of electrophilic stress to ageing, *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 1087-1105.
- Zipes, D.P., Prystowsky, E.N., Heger, J.J., 1984, Amiodarone: electrophysiologic actions, pharmacokinetics and clinical effects, *Journal of the American College of Cardiology*, 3, 1059-1071.
- Zlatkis, A., Zak, B., Boyle, A.J., 1953, A new method for the direct determination of serum cholesterol, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 41, 486-492.

Zorlu, A., Yucel, H., Bektasoglu, G., Turkdogan, K.A., Eryigit, U., Sarikaya, S., Refiker-Ege, M., Tandogan, I., Yilmaz, M.B., 2012, Increased γ -glutamyl transferase levels predict early mortality in patients with acute pulmonary embolism, *American Journal of Emergency Medicine*, 30, 908-915.

Zumbach, M., Hofmann, M., Borcea, V., Luther, T., Kotzsch, M., Hergesell, O., Andrassy, K., Ritiz, E., Ziegler, R., Wahl, P., Nawroth, P.P., 1997, Tissue factor antigen is elevated in patients with microvascular complications of diabetes mellitus, *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 105, 204-212.

<http://ajplung.physiology.org>

<http://dmd.aspetjournals.org>

<http://www.hindawi.com>

<http://www.nihms.nih.gov>

<http://www.orfamderg.org>

<http://www.sigmaaldrich.com>

<http://www.sizinti.com.tr>

<http://www.theoneclickgroup.co.uk>

EKLER



İ.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/ 129 29.09/2012

Söz. Prof. Dr. Reşide YANARDAĞ
İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi

Karar No: 2012/ 129

Başvuru: 12.09.2012

Sorumluluğuna bilendiğiniz, aşağıda bilgileri materyali belirtilen Araş.Görmeler Baran TÖRKÜL MAZ'a ait "Sicimlerde Amniyodan ile Olayın Kısımları Hakkında U. Yaamalı'nın Etkileri" isimli projesiz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkeleri neyyan Bulunmuştur.

Çalışıkosk	Türü	Sıra
Hayvanın	Cinsiyet	Erkek
	Sayısı	20
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	02.10.2012/22.10.2012	

Prof. Dr. Alev AKKÖKÜTAN KAYMAZ
İ.C.HADYER Başkan

Prof. Dr. Mehmet YALTIK
İ.C.HADYER-K. Başgöç Yardımcısı

Prof. Dr. Fırat YAMANTERK ÇELİK
Üye

Doc. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Doc. Dr. Aker ONYAR
Üye

Yen. Doç. Dr. Arat ARNUTAR
Üye

Özm. Vet. Hek. Fatma TEKİLLİ
Üye

Mek. Yük. Mül. Dr. Bülent OLGUN
Üye

Avukat Selim DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İ.C. Veteriner Fakültesi Dekanlık Katı: 4
221 no.lu Oda Avcılar - İSTANBUL TEL: +90 312 4737698 1793113 mail: hayyas@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Fotoğraf

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	İsmet Burcu TÜRKYILMAZ
Uyruğu	T.C.
Doğum tarihi, Yeri	06.12.1984, İstanbul
Telefon	0530 952 26 36
E-mail	burcut@istanbul.edu.tr
Web adres	-

Eğitim

Derece	Kurum/Anabilim Dalı/Programı	Yılı
Doktora	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/ Kimya Anabilim Dalı / Biyokimya Programı	2013
Yüksek Lisans	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/ Kimya Anabilim Dalı / Biyokimya Programı	2009
Lisans	İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü	2006
Lise	Osmangazi Anadolu Lisesi	2002

Makaleler / Bildiriler

Kongreler

A-Yurt Dışı Kongreler

1. I.B. Turkyılmaz, R. Yanardag, “Gastroprotective effects of vitamin C, vitamin E, α -carotene and selenium on indomethacin-induced gastric ulcers in rats”, *42nd IUPAC Congress*, 2-7 August 2009, Abstract (P204 - 011), Glasgow- Scotland UK (Poster).
2. I.B. Turkyılmaz, R. Yanardag, “Protective effect of antioxidants on indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats”, *3rd International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Signalling and TRP Channels Congress*, 22-27 June 2010, Cell Membranes and Free Radical Research, 2 (2010) 58, Poster No: 27, Isparta (Poster).
3. I.B. Turkyılmaz, B.B. Bayrak, O. Sacan, Y. Ipci, L. Kabasakal, G. Sener, R. Yanardag, “The effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla) extracts on the lenses of diabetic rats”, *The 2nd International Symposium on Medicinal Plants, Their Cultivation and Aspects of Uses*, Petra-Jordan, 3-4 November 2010, 1.34 (Sözlü sunum) (TUBİTAK, Yurt Dışı Bilimsel Araştırmaları Destek Programı’ndan burs kazanılmıştır.)
4. R. Yanardag, I.B. Turkyılmaz, P.Arda-Pirincci, S. Bolkent, “Protective effects of antioxidants against indomethacin-induced small intestinal injury in rats”, *III. International Conference of Oxidative Stress*, Havana-Redox 2011, Poster A14
5. N. Altas Kıymaz, I.B. Turkyılmaz, I. Arisan, R. Yanardag, “Effects of vitamin B₆ on brain antioxidant defense system in rats administrated with valproic acid”, *III. International Conference of Oxidative Stress*, Havana-Redox 2011, Poster PDI3.
6. P.Arda-Pirincci, I. B. Turkyılmaz, R. Yanardag, S. Bolkent, “Effects of teduglutide on gastric mucosal architecture and oxidative stress in the TNF-alpha/actinomycin D-induced gastric injury”, *Turkish-FEBS Physiology Congress*, Istanbul, 3-7 September 2011, PC259, (Poster ödülü kazanıldı).
7. I. B. Turkyılmaz, R. Yanardag, “Effect of arginine and glutamine supplementation on indomethacin-induced liver toxicity in rats”, *International Symposium On Environmental Impacts Health Implications And Therapeutic Approaches*, ISEHT, Nellore, India, 15-17 July 2012, HT30.
8. I.B.Turkyılmaz, R. Yanardag, “The potential role of combined antioxidants against indomethacin-induced liver injury in rats”, *22nd IUBMB & 37th FEBS Congress*, Sevilla, Spain, 4-9 September 2012, P08-33.
9. A. Karatug, I. B. Turkyılmaz, S. Bolkent, R. Yanardag, “The role of vitamin B₆ on

liver damage induced with valproic acid”, 38th FEBS Congress, St. Petersburg, Russia, 6-11 July 2013, FEBS Journal, 280 (Suppl. 1) 2013, SW04.S16-53, pp 290.

10. I. B. Turkyilmaz, R. Yanardag, “Protective effects of antioxidants against indomethacin-induced tongue injury in rats”, 38th FEBS Congress, St. Petersburg, Russia, 6-11 July 2013, FEBS Journal, 280 (Suppl. 1) 2013, SW04.S16-181, pp 334.
11. E. Kaptan, I. B. Turkyilmaz, S. Bolkent, R. Yanardag,” The effects of vitamin B6 on testis injury induced by valproic acid”, 38th FEBS Congress, St. Petersburg, Russia, 6-11 July 2013, FEBS Journal, 280 (Suppl. 1) 2013, SW04.S16-197, pp 339.
12. S. Oktay, I. B. Turkyilmaz, S. Kaya, S. Akyuz, R. Yanardag, A. Yarat, “Effects of combination treatment with amiodarone and vitamin U (methylmethionine sulfonium chloride) on gingiva of rats”, 38th FEBS Congress, St. Petersburg, Russia, 6-11 July 2013, FEBS Journal, 280 (Suppl. 1) 2013, SW04.S16-219, pp 350.
13. I. B. Turkyilmaz, R. Yanardag, “The protective effect of vitamin U on serum parameters in amiodarone-induced hepatotoxicity in rats”, 44th World Chemistry Congress, 11-16 August, 2013, Istanbul, Turkey, pp 928.
14. I. B. Turkyilmaz, R. Yanardag, “Protective effects of antioxidants against indomethacin-induced kidney injury in rats”, 44th World Chemistry Congress, 11-16 August, 2013, Istanbul, Turkey, pp 929.

B- Yurt İçi Kongreler

1. I.B. Turkyilmaz, P.Arda-Pirincci, R. Yanardag, S. Bolkent, “Sıçanlarda ince bağırsak iskemi reperfüzyon sonrası oluşan karaciğer hasarında epidermal büyüme faktörü’nün koruyucu rolü: Biyokimyasal bir çalışma”, XXII. National Chemistry Congress, 6-10 October 2008, Magusa – K.K.T.C., p22 (Poster).
2. İ. B. Türkyılmaz, R. Yanardağ, “Sıçanlarda amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarına U vitamininin karaciğer glikoprotein düzeyleri üzerine etkileri”, Uluslararası Katılımlı II. Glikobiyoloji Kongresi, 11-14 Haziran 2013, İzmir-Türkiye, PB-4.
3. İ. B. Türkyılmaz, R. Yanardağ, Ş. Bolkent, E. Kaptan, “Sıçanlarda amiodaron ile oluşturulan böbrek doku hasarı ve böbrek sialik asid düzeyleri üzerine U vitamininin etkileri”, Uluslararası Katılımlı II. Glikobiyoloji Kongresi, 11-14 Haziran 2013, İzmir-Türkiye, PB-7.

Ulusal Yayın

1. S. Gezginici-Oktayoglu, I.B. Turkyilmaz, R. Yanardag, S. Bolkent, “Cathepsin B inhibition by Z-FA.FMK blocks TNF-a/D-GalN-induced oxidative damage through increasing antioxidant defence in the brain of mice”, *IUFS Journal of Biology*, 71 (2012) 85-93.

