

# KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINDA GLUTATYON (GSH) VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) AKTİVİTESİ ÜZERİNE N-ASETİL SİSTEİNİN ETKİSİ

EFFECT OF N-ACETYL L-CYSTEINE ON GLUTATHIONE (GSH) AND GLUTATHIONE S TRANSFERASE (GST) ACTIVITY IN CARBON TETRACHLORIDE INDUCED LIVER DAMAGED

Hakan Tekeli<sup>1</sup> Ayşegül Bildik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gölhisar Sağlık Hizmetleri MYO, Burdur, Türkiye  
<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Aydın, Türkiye

## Yazışma Adresi:

Hakan Tekeli  
Gölhisar Sağlık Hizmetleri 15400 Burdur - Türkiye

E posta: hakantekeli85@hotmail.com

Kabul Tarihi: 01 Haziran 2016

DOI: 10.5505/bsbd.2016.02986

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi  
ISSN: 2146-9601  
e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr  
www.bau-sbdergisi.com

## ÖZET

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Bu çalışmada, karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile oluşturulan akut karaciğer hasarında, lipit peroksidasyonunun belirteçlerinden biri olarak kabul edilen Malondialdehit (MDA) düzeyleri ile detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan biyomoleküllerden Glutatyon (GSH) ve Glutatyon S-transferaz (GST) enzimlerinin CCl<sub>4</sub> toksikasyonundaki önemi ve glutatyonun ön maddesi olan N-asetil sisteinin (NAS) kısa süreli uygulamasının, toksikasyondaki olası koruyucu rolünü tespit etmek amaçlandı.

**YÖNTEM ve GEREÇLER:** Çalışmada toksite oluşturmak amacıyla CCl<sub>4</sub>, 2 ml/kg (1/1 zeytinyağındaki çözeltisi) i.p. tek doz; N asetil sistein ise 50 mg/kg/gün i.p. uygulandı. Kontrol gruplarına yalnızca zeytinyağı ve NAS enjekte (i.p.) edildi. N-asetil sistein uygulamasına, CCl<sub>4</sub> enjeksiyonundan 3 gün önce başlandı ve deney süresince devam edildi. CCl<sub>4</sub> enjeksiyonundan sonraki 6. ve 72. saatlerde kan ve karaciğer örnekleri alındı.

**BULGULAR:** Doku detoksifikasyon molekülleri değerlendirildiğinde, GSH seviyesinin CCl<sub>4</sub> verilen grupta 6.saat de kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ve NAS ilavesi ile arttığı izlendi. GST seviyelerinde ise CCl<sub>4</sub> verilen grupta 6. saatte kontrol grubuna göre önemsiz (P>0.05), 72.saatte daha yüksek bir artış (P<0.05) olduğu görüldü. CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba, NAS verilmesi ile 6. saat de düşen GST aktivitesinin 72. saatte yükseldiği gözlemlendi. Yalnızca NAS verilen grupta 6. saatte GSH ve GST düzeylerinde görülen yükseliş, MDA düzeylerindeki düşüş NAS'ın antioksidan olarak önemini ve bu etkinin zamanla azaldığını göstermektedir. Kontrol grubunda yer alan ratların karaciğer doku GSH ve MDA düzeyleri 72. saat bulguları ile karşılaştırıldığında P<0.05 düzeyinde yüksek olduğu görüldü. Kontrol grubunda beklenmeyen bu farkın enjeksiyon stresinden veya zeytinyağından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir

**TARTIŞMA ve SONUÇ:** CCl<sub>4</sub> intoksikasyonunun zamana bağlı olarak organizma tarafından tolere edildiği ve NAS'ın, CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerine yararlı olabileceği görüldü. Kan ve doku NAS düzeylerinin belirleneceği; GSH kullanımı ile GST arasındaki düzeylerin irdeleneceği ileri araştırmalar çalışma sonuçlarına katkı sağlayacaktır

**Anahtar Kelimeler:** Karbon tetraklorür, N-asetil sistein, GSH, GST, Karaciğer hasarı

## SUMMARY

**INTRODUCTION:** In this study, the effects of CCl<sub>4</sub> on GSH and GST that have an important role on detoxification reactions, and MDA as diagnostic indices of lipid peroxidation and possible protecting effects of NAS which is precursor of GSH were investigated in the presence of CCl<sub>4</sub> induced liver injury.

**METHODS:** In this study, CCl<sub>4</sub> was applied a 2 ml/kg (1/1 dissolved in olive oil) ip as a single dose to create liver toxicity. N-acetyl sistein application (inside peritoneum 50/mg/kg/day) was started 3 days before that CCl<sub>4</sub> injected to tested group and continued during the experiment. Blood samples and livers tissues were taken by ether anesthesia from 6 hours and 72 hours after CCl<sub>4</sub> injection.

**RESULTS:** When tissue antioxidant levels were evaluated, GSH levels were importantly lower than 6th than control group and increased with NAS addition. GST levels were increased in CCl<sub>4</sub> given group at 6th hour and 72th hour than control group but the difference at 6th hour was not important (P>0.05). When NAS was given to CCl<sub>4</sub> group, It was observed that the falling GST levels at 6th hour were rise at 72th hour. The increased GSH and GST levels and the decreased MDA levels at 6th hour in the given NAS group showed that NAS was very important as antioxidant and this effect diminished by time. The liver GSH and MDA levels at 6th hour in the control group of rats were higher than the findings of 72th hours (P<0.05). This unexpected different in the control group may be due to injection stress or given olive oil.

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** As a result CCl<sub>4</sub> intoxication was tolerated by organism with time and NAS has beneficial effects on CCl<sub>4</sub> caused liver defects. Advanced researches may determine the NAS levels and to consider GSH between GST levels will contribute to study results.

**Keywords:** Carbon tetrachloride, N-Acetyl Sistein, GSH, GST, Liver defect

## GİRİŞ

Karbon tetraklorür, hayvanlarda ve insanlarda hepatotoksiteye neden olan bir ksenobiyotiktir. Serbest radikal üretimi ile hücrel hasar oluşturabilme özelliğine sahiptir ve toksisite modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılır.  $CCl_4$ 'ün reaktif serbest radikal metabolitleri, poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatır ya da kovalent olarak protein ve yağ asitlerine bağlanarak hücre membranının bozulmasına, bunun sonucunda da karaciğer hasarına neden olurlar<sup>1</sup>. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak oluşan malondialdehit (MDA) oksidatif hasarın belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu meydana gelir. Peroksidasyon sonucunda oluşan MDA; hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve kolay bir şekilde hücre içine geçiş yaparak sitoplazmada birikebilir<sup>2</sup>.

Serbest radikallerin düzeylerini ve meydana getirdikleri hasarı azaltmak için organizmada birçok savunma mekanizması bulunmaktadır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek yada reaktif oksijen türlerini toplayarak hücreyi lipid peroksidasyonunun toksik etkilerine karşı korurlar<sup>3</sup>. GSH ve GST endojen primer antioksidanlardır. GSH ve GST aynı zamanda kimyasal maddelerin ve çeşitli ilaçların zehirsizleştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Başta GSH olmak üzere tiol bileşiklerinin karaciğer üzerine koruyucu rolü çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir<sup>1,3</sup>.

Bir tiol molekülü olan NAS, mukolitik bir ajan olup L-sistein ve indirgenmiş glutatyonun ön maddesidir. NAS, moleküler yapısından dolayı hücrelere kolayca girer ve etkili bir antioksidan olan glutatyon oluşumunda rol oynar<sup>4</sup>.

Bu çalışmada; karaciğerde  $CCl_4$  ile oluşturulan doku hasarında detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan biyomoleküllerden GSH ve GST enziminin  $CCl_4$  toksikasyonundaki önemi ve glutatyonun ön maddesi olan N-asetil sisteinin, bu moleküller üzerine ve dolayısıyla  $CCl_4$  toksikasyonundaki koruyucu etkisini tespit etmek amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 5.5-6 aylık ortalama 350-400 gram ağırlıklarında erkek Sprague Dawley türü rat kullanıldı. Deneme gruplarından 6'sı 6. saat deney, diğer 6'sı 72. saat deney gruplarını oluşturdu. Her bir grupta 12 rat çalışmaya dahil edildi. Deneme süresince hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve  $24 \pm 2$  °C sıcaklıkta kontrollü odalarda, %20 protein içeren kuru pelet yem ve su ile ad libitum verilerek beslendi. Çalışma, Adnan

Menderes Üniversitesi Etik Kurulunca (B.30.2.ADÜ.0.00.00.00/050.04/2010/095) onaylanmıştır.

Karaciğer toksisitesi oluşturmak amacıyla  $CCl_4$ , 2 ml/kg i.p. (1/1 oranında zeytinyağındaki çözeltisi) tek doz enjekte edildi. NAS uygulamasına ise (50 mg/kg/gün i.p.)  $CCl_4$  enjeksiyonundan 3 gün önce başlandı ve deney süresince devam edildi. Kontrol olarak gruplardan birine 2 ml/kg (i.p.) zeytinyağı, diğerine ise NAS uygulandı.

Gruplardan,  $CCl_4$  uygulamasından 6. ve 72. saat sonra kan örnekleri ve karaciğer dokuları alındı. Kan örneklerinden elde edilen serumlarda AST ve ALT analizleri hazır ticari kitler kullanılarak hemen yapıldı. Karaciğer dokuları ise homojenizasyondan sonra, analizler yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı<sup>5</sup>.

Karaciğer dokularındaki GSH analizi Beutler ve ark.<sup>6</sup>'nın , GST aktivitesi GSH ve 1-2 dikloro, 4 nitrobenzenin (CDNB) konjugasyonu sonucu oluşan Glutathione-S-CDNB'nin 340 nm dalga boyunda verdiği absorbansın, spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan metoda göre (Habig ve ark. 1974), MDA aktivitesi ise Yoshioko ve ark.<sup>4</sup>'nin bildirdiği yöntemle yapıldı. İstatistiki değerlendirmeler SPSS 20.0 paket programında yapılmıştır. Verilerin normal dağılım uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Değişkenler normal dağılım göstermediği için gruplar arası karşılaştırmada Kruskal-Wallis ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası farkların önemini belirlemek için gruplar, Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı<sup>7</sup>.

## BULGULAR

AST ve ALT düzeylerinin  $CCl_4$  verilen gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ve NAS enjeksiyonu ile AST ve ALT düzeylerinin düştüğü izlendi ( $P < 0.01$ ). Bununla birlikte aynı gruplarda 72. saat enzim düzeylerinin 6. saatte saptanan sonuçlara göre anlamlı bir düşüş gösterdiği gözlemlendi ( $P < 0.01$ ). Yalnızca NAS verilen gruplar ile kontrol gruplarının AST ve ALT düzeylerinde, önemli bir fark olmadığı görüldü ( $P > 0.05$ ).

Karbon tetraklorür verilen gruplarda karaciğerde GSH miktarları kontrol grubuna göre düşük bulunurken, GST ve MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur. Farklar  $P < 0.05$  düzeyinde istatistik önem gösterirken 6. saat GST ile 72. saat GSH düzeylerindeki farklar önem taşımamaktadır.  $CCl_4$  ile birlikte antioksidan olarak NAS verilen gruplarda ise 6. saat GSH düzeyleri  $CCl_4$  verilen gruba göre yükselmiş, GST seviyesi ise düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Yalnızca NAS verilen grubun 6. saat GST aktivitesi diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek; 72. saat düzeyleri ise kontrol grubu dışında diğer gruplarla karşılaştırıldığında düşük; 6. saat karaciğer MDA düzeylerinde tüm gruplara göre anlamlı ( $P < 0.05$ ) bir azalma saptanırken diğer gruplarla bir fark ( $P > 0.05$ ) tespit edilmemiştir (Tablo 1).

Gruplar arasında 6. saat ve 72. saat bulgular karşılaştırıldığında CCl<sub>4</sub> verilen gruplarda 72. saat MDA düzeylerinde 6. saate göre önemli (P<0.05) bir düşüş, GST düzeylerinde artış, GSH seviyesinde anlamlı bir değişim bulunmamıştır. Buna karşılık CCl<sub>4</sub>+NAS uygulanan grupta karaciğer GSH ve MDA düzeyleri 6. saatte 72. saate göre

yüksek, GST düzeyleri ise düşük olarak saptanmıştır. Yalnızca NAS enjekte edilen grupta doku GSH ve GST düzeyleri 72. saatte düşmüştür (P<0.05). Kontrol grubunda yer alan ratların karaciğer doku GSH ve MDA düzeyleri 72. saat bulguları ile karşılaştırıldığında P<0.05 düzeyinde yüksek olduğu görülmüştür.

**Tablo 1.** Deneme ve Kontrol grubu rat karaciğer dokusunda GSH, GST, MDA bulguları ve istatistiki değerlendirmesi (n:12)

Gruplar	GSH (µmol/g doku)		GST (µmol/mg protein)		MDA (µmol/g doku)	
	Median (1.Çeyrek-3.Çeyrek)		Median (1.Çeyrek-3.Çeyrek)		Median (1.Çeyrek-3.Çeyrek)	
	6. saat	72. saat	6. saat	72. saat	6. saat	72. saat
CCl <sub>4</sub>	6.4 <sup>b</sup> ±6.6	6.4 <sup>b</sup> ±6.4	2.47 <sup>c</sup> ±4.6	5.5 <sup>a</sup> ±5.0*	38.21±38.1***	19.1 <sup>a</sup> ±19.0***
CCl <sub>4</sub> +NAS	10.3 <sup>b</sup> ±10.3**	7.5 <sup>b</sup> ±7.6**	1.38 <sup>b</sup> ±2.1**	4.2 <sup>b</sup> ±4.8**	29.6 <sup>ab</sup> ±30.8***	16.2 <sup>ab</sup> ±16.6***
NAS	15.07 <sup>a</sup> ±15.7**	7.9 <sup>b</sup> ±7.5**	6.3 <sup>a</sup> ±5.7**	1.9 <sup>b</sup> ±2.1**	15.9 <sup>c</sup> ±17.8	14.3 <sup>b</sup> ±15.5
Kontrol	13.2 <sup>a</sup> ±14.6**	7.69 <sup>b</sup> ±7.5**	3.9 <sup>bc</sup> ±2.8	2.2 <sup>b</sup> ±2.3	24.2 <sup>b</sup> ±23.4**	13.5 <sup>b</sup> ±12.2**

\*:P<0.05; \*\*:P<0.01; \*\*\*: P<0.001

Tabloda verilen P değerleri parametrelerin 6. ve 72. saatleri arasındaki değerlendirmeyi; satırlar arasındaki harfler, gruplar arasındaki istatistiki önemi göstermektedir. Farklı harf/harfler taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05).

## TARTIŞMA

Karbon tetraklorür karaciğer toksitesini oluşturmak amacıyla deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ratlarda oral olarak 1 ml/kg dozunda CCl<sub>4</sub> ile karaciğer toksitesini oluşturulan bir çalışmada, ALT ve AST düzeyinin CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta 12. saatte artmaya başladığı ve 24. saatte kontrol grubuna göre en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmiştir<sup>8</sup>. Ratlara 5 hafta süresince haftada 3 gün olmak üzere i.p CCl<sub>4</sub> uygulayan Üstündağ ve ark.<sup>9</sup>, deneme grubunda AST ve ALT düzeylerinin yaklaşık olarak 5 katı yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada CCl<sub>4</sub> 2 ml/kg i.p tek doz olarak uygulanmış, serum AST ve ALT düzeylerinde benzer şekilde CCl<sub>4</sub> grubunda kontrol grubuna göre 6. saatte yaklaşık 5 kat düzeyde artış, 72. saatte ise 6. saat verilerine göre düşüş saptanmıştır. Enzim düzeyindeki bulgular, yukarıda ayrıntılı verilen çalışmalarda olduğu gibi CCl<sub>4</sub>'ün karaciğer hasarına neden olduğunun, CCl<sub>4</sub> toksikasyonunun etkisinin zamanla azaldığının, karaciğer hasarının gerilediğinin belirtisi olarak kabul edilebilir.

Karbon tetraklorür'ün neden olduğu lipid peroksidasyonun araştırıldığı bir çalışmada, ratlara 0.25, 0.5 ve 1 ml/kg CCl<sub>4</sub> 3 farklı dozda i.p olarak enjekte edilmiş, doz artışına bağlı olarak MDA düzeylerinde artış olduğu ve lipid peroksidasyonunun CCl<sub>4</sub> enjeksiyonundan 12 saat sonra şekillenmeye başladığı bildirilmiştir<sup>10</sup>. Araştırma sonunda elde edilen bulgular, Zwart ve ark.<sup>10</sup> sonuçlarına benzer olarak MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre deneme gruplarında anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak Zwart ve ark.<sup>10</sup>

enjeksiyondan 12 saat sonra MDA düzeylerinde artışın oluşmaya başladığını ileri sürmelerine karşın yapılan çalışmada 6. saatte lipid peroksidasyonunun karaciğerde başladığı görülmektedir. Lipit peroksidasyonun erken başlamasının nedeninin uygulanan dozun daha yüksek olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Karaciğer üzerine CCl<sub>4</sub>'ün toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, Quan ve ark.<sup>11</sup> karaciğer ve Bildik ve ark.<sup>12</sup> tüm kan GSH düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı, Sambath ve ark.<sup>13</sup> doku MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. CCl<sub>4</sub>'ün lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve serbest radikalleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılan GSH tüketimine bağlı olarak kan GSH düzeylerinin azaldığı iddia edilmiştir.

Yalçın ve ark.<sup>14</sup>, sıçanlara sekiz hafta boyunca haftada iki kez oral yolla 1 ml/kg CCl<sub>4</sub> uygulamış ve analizler sonucunda karbon tetraklorürlü grupta GSH ve GST düzeylerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini saptamışlardır. GSH düzeyindeki artışa uzun süre CCl<sub>4</sub> uygulamasının sebep olabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada 6. saat karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre önemli oranda düşük bulunmuştur. CCl<sub>4</sub>'ün enjeksiyon<sup>12,13,14</sup> veya oral yolla<sup>15</sup> oluşturulan toksikasyonlarında, Yalçın ve ark.<sup>14</sup> dışında, diğer araştırmacıların, araştırmalarında buldukları GSH düzeylerindeki azalma, yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerdir. GSH düzeylerindeki bu azalma, CCl<sub>4</sub>'ün toksik etkilerini azaltmak amacıyla GSH'in antioksidan olarak kullanımının arttığına göstergesi kabul edilebilir. GSH düzeylerindeki azalmaya karşın CCl<sub>4</sub> verilen rat karaciğerlerinde GST düzeylerinde kontrol grubuna göre artış görülmüştür. Bu artış 72. saatte istatistiki anlamda önemli olmasına rağmen, 6. saatteki önemsiz bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda; Amalia ve ark.<sup>16</sup>, CCl<sub>4</sub> verilen ratların karaciğerlerinde GST düzeylerinde

azalış olduğunu rapor ederken; Seema ve ark.<sup>17</sup>, GST'nin CCl<sub>4</sub> toksikasyonu sonrası ilk 6. saatte artan enzim olduğunu, lipit peroksidasyonuna karşı hücrel savunmanın önemli bir bileşeni olduğunu iddia etmişlerdir. Mevcut araştırmada GST düzeylerinde artış, Seema ve ark.<sup>17</sup>'nin bulgularını desteklemektedir. Diğer araştırmacılar ile aradaki farkın CCl<sub>4</sub> uygulama süresine (2-14 hafta) bağlı olduğunu düşündürmektedir. GST düzeylerindeki artışın CCl<sub>4</sub>'ün detoksifikasyonu ile ilgisi olabileceği gibi, GSH'a bağımlı çalışan bir enzim grubu olarak, GSH düzeylerindeki değişiklikten etkilenmiş olabileceği sonucuna varılabilir. CCl<sub>4</sub> ile birlikte NAS verilen grubun 6. saat doku GSH düzeylerinin artmasına rağmen GST düzeylerinin azalması bu sonucu desteklemektedir.

Oksidatif stresin, CCl<sub>4</sub>'ün karaciğer üzerindeki toksisitesi üzerinde önemli bir rol oynadığı ve bu negatif etkisinin çeşitli antioksidan maddelerle azaltıldığı birçok deneysel çalışmalarla gösterilmiştir<sup>18</sup>. NAS'ın moleküler yapısından dolayı hücrelere kolayca girebildiği ve güçlü bir antioksidan olan GSH oluşumunda aktif etki göstererek oksidan strese karşı dokuların savunmasını desteklediği bildirilmiştir<sup>19,25</sup>. Çalışmada CCl<sub>4</sub>'ün neden olduğu radikal hasarının engellenmesi amacıyla antioksidan molekül olan NAS kullanılmıştır.

Ratlarda CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturulan bir çalışmada<sup>20</sup>, ratlara oral olarak 150 mg/kg N-asetil sistein (NAS) uygulanmıştır. 3 ay süren çalışma boyunca CCl<sub>4</sub> her hafta 3 ml/kg oral olarak verilmiştir. Çalışma sonunda CCl<sub>4</sub> verilmesiyle artan plazma AST ve MDA düzeylerinin, NAS uygulaması ile azaldığı belirtilmiştir. Antioksidan parametre olan GSH düzeyinin ise CCl<sub>4</sub> verilen grupta kontrol grubuna göre yarı yarıya azaldığı ve NAS uygulamasıyla kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonunda elde edilen bulgular ile antioksidan olarak verilen NAS'ın, AST ve ALT düzeylerini düşürdüğü, 72. saatteki düşüşün 6. saate göre oldukça anlamlı olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar; safra kanalı ligasyonuna bağlı şekillenen karaciğer fibrosisinde, NAS enjeksiyonun (28 gün 50 µmol/kg/gün) koruyucu rolünü saptayan ve 10 gün süreyle 150 mg/kg ip dozda NAS uygulayan araştırmacıların<sup>21,22,25</sup> bulgularına paralel; CCl<sub>4</sub> enjeksiyonundan 30 dk önce ve 6-12 saat sonra NAS enjekte ederek herhangi bir değişiklik bulamayan araştırmacının<sup>24</sup> bulgularının aksine NAS'ın karaciğer hasarı üzerine özellikle zamana bağlı iyileştirici etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Çalışmada antioksidan olarak kullanılan NAS'ın CCl<sub>4</sub>'ün ortaya çıkardığı radikal hasarı üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde; CCl<sub>4</sub>+NAS uygulanan grubun 6. saat karaciğer GSH seviyeleri, CCl<sub>4</sub> verilen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, GST düzeylerinin 6. saat

kontrol grubu ile önemli bir fark taşımaya da; 72. saat kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmektedir. GSH seviyelerindeki yükselişin aksine; NAS, CCl<sub>4</sub>'ün toksik etkisiyle yükselen GST enzim aktivitesini düşürmüştür. GSH seviyesindeki bu artışın bazı araştırmacıların<sup>20,23</sup> iddia ettiği gibi CCl<sub>4</sub>'ün detoksifiye edilmesi sırasında aşırı tüketilen GSH'ın GSH ön maddelerini içeren NAS ilavesi ile yeniden sentezlendiği görüşünü doğrulamaktadır. Aynı grupta 6. saatte GST düzeylerindeki düşüş, NAS'ın GSH sentezi için ön madde olduğu gibi aynı zamanda radikal temizleyicisi olarak CCl<sub>4</sub>'ün toksik etkisini hafifletmek amacıyla tiol grubu vericisi olarak GSH sentezinde kullanıldığı, buna bağlı olarak hücre içi GST sentezini azalttığı sonucuna varılabilir. NAS ilavesi ile 72. saatte GSH düzeylerindeki düşüşe paralel olarak GST düzeylerinde görülen anlamlı artış, bu görüşü desteklemektedir. Kan ve doku NAS düzeylerinin belirleneceği, GSH kullanımı ile GST arasındaki düzeylerinin irdeleneceği ileri araştırmalar, çalışma sonuçlarına katkı sağlayacaktır.

**Teşekkür:** Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından VTS-11021 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

#### KAYNAKLAR

1. Muriel P, Alba N, Perez-Alvarez et al. (2001). Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 130, 219-226.
2. Düzgüner V (2005). Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi; MKU Sağlık Bil Enst, Hatay, Türkiye.
3. Gökçe G, Özsarlak-Sözer G, Oktay G ve ark. (2009). Glutathione depletion by buthionine sulfoximine induces oxidative damage to DNA in organs of rabbits in vivo. *Abstr Pap Am Chem S*, 48, 4980-4987.
4. Yoshiko T, Kawada K, Shimada T (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 372-376.
5. Srivatave SP, Singah KP, Saxhena AK et al. (1987). In vivo protection by protein a of hepatic microsomal mixed function oxidase system of CCl<sub>4</sub>-administered rats. *Biochem Pharmacol*, 36( 23), 4055-4058.
6. Beutler E, Dubon O, Kelly BM (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Clin Med*, 61, 882-888.
7. Tekin M.E (2003). Örneklerle Bilgisayarda İstatistik, 159, Konya
8. Lida C, Fujii K, Koga E et al. (2009). Effect of alpha-tocopherol on carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Arc Toxicol*, 83(5), 477- 483.
9. Üstündağ B, Bahçecioğlu İH, Şahin K ve ark. (2005). Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl<sub>4</sub>) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *Fır Üni Sağlık Bil Der*, 19(4), 263-271.
10. Zwart LL, Hermanns RCA, Meerman JHN et al. (1998). Evaluation of urinary biomarkers for radical induced liver damage in rats treated with carbon tetrachloride. *Toxicol Appl Pharmacol*, 148, 71-82.

11. Quan J, Piao L, Xu H et al. (2009). Protective effect of iridoid glucosides from *Boschniakia rossica* on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 73, 849-854.
12. Bildik A, Ertekin A, Yur F ve ark. (1997). Karbon tetraklorür toksikasyonunun lipid peroksidasyonu, glutatyon ve vit C üzerine etkileri. *Van Vet J*, 8, 1-2, 6-8 .
13. Sambath Kumar R, Sivakumar T, Sivakumar P et al. (2005). Hepatoprotective and in vivo antioksidant effects of *Careya arborea* against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 14, 418-424.
14. Yalçın A, Erilaçın S, Yüce G ve ark (1997). CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçanlarda karaciğer GSH, GST ve selenyum düzeyleri. *Ege Tıp Derg*, 36 (1-2), 13-15.
15. Güven A, Güven A, Gülmez M (2003). The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J Vet Med B*, 50, 412-416.
16. Amalia PM, Possa MN, Augusto MC et al. (2007). Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats. *Digest Dis Sci*, 52, 2616-2621.
17. Seema D, Sharma R, Sharma A et al. (2006). The course of CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity is altered in mGSTA4-4 null (-/-) mice. *Toxicology*, 218(1), 58-66.
18. Qiusheng Z, Xubo SX, Gang L et al. (2004). Protective effects of luteolin-7-glucoside against liver injury caused by carbon tetrachloride in rats. *Pharmazie*, 59(4), 286-288.
19. Bayır S, Eskiocak S, Altaner G (2006). Kolesterolde zengin diyetle beslenen ratlarda NAS'ın anti-oksidan/pro-oksidan etkileri. *Turk J Biochem*, 1, 15-23.
20. Kamalakkannan N, Rukkuman R, Aruna K et al. (2005). Protective effect of N-acetylcysteine in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *IJPT*, 4,118-123.
21. Tahan G, Tarcin O, Tahan V ve ark. (2007). The effects N-Acetylcysteine on bile duct ligation induced liver fibrosis in rats. *Dig Dis and Sci*, 52, 3348-3354.
22. Çetinkaya A (2009). Ratlarda N-asetil sistein ve L-karnitin'in karbon tetraklorür ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine etkileri. *Yan Dal Uzmanlık Tezi KSU Üni Tıp Fak Gastro Bil Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.*
23. Çeçen ŞŞ, Cengiz G, Söylemezoğlu T (2002). Parakuat toksitesinde N-asetil sisteinin koruyucu etkisi. *Ank Ecz Fak Derg*, 31(4), 259-271.
24. Zavodnik IB, Maksimchik Yu Z, Lapshina E.A et al. (2008). Protective effects of N-Acetyl-L-cysteine against acute carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. *Cell Biochem Funct*, 26, 11-18.
25. Akşit, H.;Akşit, D.;Bildik, A.;Kara, H.;Yavuz, Ö.;Seyrek, K. Effects of N-acetyl cysteine on glutathione metabolism and lipid peroxidation in the experimental hepatic intoxication. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Vol. 62 No. 1 pp. 1-5, 2015