

Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi

[The effects of L-carnitine on acetaminophen induced hepatotoxicity in rats]

Özgür Aktaş¹,
Sevgi Eskiocak¹,
Gülben Sayılan Özgün¹,
Ömer Yalçın²,
Necdet Süt³

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya¹, Tıbbi Patoloji² ve Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim³ Anabilim Dalları, Edirne

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Prof. Dr. Sevgi Eskiocak

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, EDİRNE
Tel.
Faks.
E-posta. drseskiocak@hotmail.com

Kayıt Tarihi: 19 Temmuz 2013; Kabul Tarihi: 31 Ekim 2013
[Registered: 19 July 2013; Accepted: 31 October 2013]

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte Lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin yol açtığı karaciğer hasarına karşı L-karnitinin koruyucu etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Wistar albino erkek sıçanlar kontrol, toksik hepatit ve L-karnitin grubu olmak üzere rastgele 3 gruba ayrıldı. Toksik hepatit oluşturmak üzere toksik hepatit ve L-karnitin gruplarına tek doz ılık serum fizyolojikte çözünmüş asetaminofen (300 mg/kg) intraperitoneal olarak verildi. Toksik hepatit oluşturulduktan beş dakika sonra L-karnitin grubuna tek doz L-Karnitin (500 mg/kg) intraperitoneal olarak verildi. Kontrol grubuna tek doz ılık serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, toksik hepatit grubunda serum alanin ve aspartat aminotransferaz ve plazma ve karaciğer malondialdehit düzeyleri daha yüksek, oysa plazma Gc-globulin, tam kan ve karaciğer glutatyon düzeyleri, eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi ve eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesi daha düşüktü. Toksik hepatit grubu ile karşılaştırıldığında, L-karnitin grubunda serum alanin ve aspartat aminotransferaz ve plazma ve karaciğer malondialdehit düzeyleri daha düşük, oysa tam kan ve karaciğer glutatyon düzeyleri, eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi ve eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesi daha yüksekti. Bu grupların plazma Gc-globulin düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Toksik hepatit grubundaki histopatolojik değişiklikler L-karnitin grubundakinden daha belirgindi.

Sonuç: L-karnitin sıçanlarda asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu etkiye sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Asetaminofen; L-Karnitin; lipid peroksidasyonu; oksidatif stres; antioksidanlar, karaciğer hasarı

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the protective effect of L-carnitine against to liver damage caused by lipid peroxidation and oxidative stress in toxic hepatitis induced by acetaminophen.

Materials and Methods: Wister-albino male rats were divided into three groups randomly: control, toxic hepatitis, and L-carnitine groups. To introduce a toxic hepatitis, single dose of acetaminophen (300 mg/kg) dissolved in warm saline was given intraperitoneally to toxic hepatitis and L-carnitine groups. A single dose of L-carnitine (500 mg/kg) was given intraperitoneally to L-carnitine group five minutes after introducing to toxic hepatitis. A single dose of warm saline was given intraperitoneally to control group.

Results: In toxic hepatitis group, serum alanine and aspartate aminotransferase and plasma and liver malondialdehyde levels were higher whereas plasma Gc-globulin, whole blood and liver glutathione levels, erythrocyte and liver catalase activities and erythrocyte glutathione peroxidase activity were lower as compared to control group. In L-carnitine group, serum alanine and aspartate aminotransferase and plasma and liver malondialdehyde levels were lower whereas whole blood and liver glutathione levels, erythrocyte and liver catalase activities and erythrocyte glutathione peroxidase activity were higher as compared to toxic hepatitis group. There was no significant change between plasma Gc-Globulin levels of these groups. Histopathological changes in toxic hepatitis group were more prominent than those found in L-carnitine group.

Conclusion: L-Carnitine has a protective effect against to liver damage caused by lipid peroxidation and oxidative stress in toxic hepatitis induced by acetaminophen in rats.

Key Words: Acetaminophen, L-Carnitine, lipid peroxidation, oxidative stress, antioxidants, liver damage

Conflict of Interest: Authors declare no conflict of interest.

Giriş

İlaç hasarı sonucu oluşan toksik hepatit, akut karaciğer hasarının sık nedenlerinden biridir. Yapılan çalışmalar akut karaciğer yetmezliğinin %58'inin ilaçlardan kaynaklandığını, ilaçlar arasında da asetaminofenin %46 ile ciddi bir yer kapladığını göstermiştir [1].

Evlerde yaygın kullanımı ve reçetesiz kolaylıkla alınabilmesi gibi sebeplerle, asetaminofen içeren ilaçlarla intihar veya kaza sonucu ölümler sıklıkla görülmektedir. Uzun zamandan beri asetaminofenin yüksek dozlarında karaciğer hasarı olduğu, hatta ölümlerle sonuçlanabildiği bilinmektedir. Erişkinlerde toplam günlük doz 4 g'ı aşmamalıdır. Tek seferde alınan 10-15 g (150-250 mg/kg) asetaminofen dozundan sonra hepatotoksisite ortaya çıkabilir; 20-25 g ve üzerindeki dozlar potansiyel olarak ölümcüldür [2].

Asetaminofenin yaklaşık % 90'ı, karaciğerde inaktif, zararsız metabolitler olan glukuronid ve sülfat konjugatına dönüştürülür. Oluşan bu konjugatların bir kısmı safrayla bir kısmı da kan dolaşımına geçerek idrarla atılır. % 5'inden daha az olan küçük bir kısım ise değişmeden idrara ulaşmaktadır. Geriye kalan %5-15 arasında değişen kısmı ise karaciğerde sitokrom p450 enzim sistemi kullanılarak N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) adlı, oldukça reaktif, hücre makromoleküllerine bağlanabilen, toksik metabolite dönüşür. Glutasyon (GSH) hızla NAPQI ile birleşir, oluşan kompleks daha sonra toksik olmayan sistein veya merkaptürik asit konjugatlarına dönüştürülerek idrarla elimine edilir [3].

Karaciğer hasarının mekanizması tam olarak kesinlik kazanmamakla birlikte en çok oksidatif hasar üzerinde durulmaktadır. Asetaminofenin aşırı dozunun hepatotoksisiteye neden olmasındaki ana mekanizma, onun toksik metaboliti olan NAPQI'ya dönüşümünden kaynaklanmaktadır. NAPQI hepatik GSH'ı tüketir ve hüresel proteinlere kovalent olarak bağlanır. Hepatik GSH depoları % 80-90'ın altına düştüğünde NAPQI detoksifiye edilemez ve hücre hasarı oluşur. GSH'ın tükenmesi ile hepatosit içerisinde reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türleri artar, nekrotik değişiklikler oluşmaya başlar. Artmış oksidatif stres, intraselüler kalsiyum homeostazının, sinyal iletiminin, mitokondriyal geçirgenliğin bozulmasına neden olur. Mitokondriyal membran potansiyeli kaybolur ve adenosin trifosfat (ATP) üretimi durur. Tüm bunların sonucunda hücre nekrozu oluşur [4].

Okside hasarın in vivo göstergesi olarak en çok kullanılan belirteç malondialdehid (MDA). MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur. MDA düzeyi lipid peroksidasyonunun yaygınlığı ile korelasyon gösterir. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranda iyon alışverişini etkileyerek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, deoksiribonükleik asit (DNA) yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir. Oluştugu bölgeden daha uzağa difüze olarak uzak bölgelerde de doku hasarına sebep olabilir [5].

Son yıllarda asetaminofen hepatotoksisitesi ve diğer karaciğer hastalıklarında plazma Gc-globulin düzeylerinin değişimi araştırılmaktadır. Vitamin D bağlayıcı protein olarak da bilinen Gc-globulin multifonksiyonel bir proteindir. Gc-globulin plazmada bulunan monomerik aktini (G-aktin) bağlar. Hepatotoksisite durumunda hücre bütünlüğünün bozulması ile dolaşıma geçen G-aktin, trombosit agregasyonu uyararak, plazmin inhibitörü gibi davranarak veya fibrinolitik sistem ile etkileşerek; intravasküler trombozda artışa, fibrinolizde ise azalmaya neden olur. Monomerik aktine Gc-globulin yüksek afinite ile bağlanır. Oluşan Gc-globulin-aktin kompleksleri karaciğer parankim ve endotel hücreleri veya Kupffer hücreleri tarafından dolaşımdan temizlenir. Bu durumda ölçülen Gc-globulinin plazma seviyeleri düşer [6,7].

Hücre içi tiyol grubu taşıyan antioksidanların en önemlisi olan GSH, başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunur. Yapısındaki sistein kalıntısının içerdiği tiyol grubu sayesinde hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasara karşı korur. Süperoksit anyonunun ($O_2^{\cdot-}$) dismutasyonu sonucunda ortaya çıkan hidrojen peroksit molekülü (H_2O_2) bir radikal olmamakla beraber, Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarında sırasıyla $O_2^{\cdot-}$ ve ferröz demir ile tepkimeye girerek oldukça reaktif olan hidroksil radikalinin oluşumuna yol açtığı için oksidan strese önemli bir moleküldür. H_2O_2 'i ortadan kaldıran katalaz (EC 1.11.1.6) ve glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.9; GPx) enzimleri hücre içi antioksidan savunma mekanizmalarında önemli rol oynarlar [5,8].

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesinin olması antioksidan etkinliğinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Farklı konsantrasyonlarda, L-Karnitin etkili bir indirgeme gücü olduğu gösterilmiştir. Geçiş metalleri arasında yer alan demir, yüksek reaktivitesi nedeniyle, protein ve lipid oksidasyonu için önemli bir prooksidan olarak bilinir. L-Karnitin demir iyonları ile şelat oluşturarak lipid peroksidasyonunu önlediği; radikal süpürücü etki göstererek lipid, protein ve DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu ileri sürülmektedir [9]. L-Karnitin etkili bir H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ süpürücüsü olduğu gösterilmiştir. İnsan karaciğer hücre kültürü çalışmalarında L-Karnitin, H_2O_2 ile indüklenen ROT artışını engellediği bildirilmiştir [10].

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

Gereç ve Yöntem

Üniversitemiz yerel etik kurul onayı alındıktan sonra, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, 10-12 haftalık, 30 adet, erkek Wistar-Albino cinsi sıçan Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Sıçanlar rastgele gruplara ayrıldı. Bazal diyet ile beslendiler. 22 °C oda sıcaklığı, %

60 nem oranı, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ritim sağlandı. Çalışmada rastgele olarak; kontrol grubu (n=10), toksik hepatit (TH) grubu (n=10), TH+L-Karnitin grubu (n=10) şeklinde 3 grup oluşturuldu. TH ve TH+L-Karnitin grubundaki sıçanlara toksik hepatit oluşturmak için asetaminofen sıcak salin içerisinde çözülerek 300 mg/kg tek doz intraperitoneal (ip) olarak verildi. TH+L-Karnitin grubundaki sıçanlara tedavi için L-Karnitin 500 mg/kg dozunda ip olarak asetaminofeni takiben 5 dk sonra tek doz verildi. Kontrol grubundaki sıçanlara ise ip sıcak salin solüsyonu enjekte edildi. Akut karaciğer hasarını değerlendirebilmek için bu 3 grup, 24 saat sonunda, anestezi altında kan ve doku örnekleri alınarak sonlandırıldı. Anestezik olarak ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (50 mg/kg) kullanıldı. Deney aşaması tamamlanan sıçanların anestezi altında batın ön duvarı insizyonla açılıp diyafragmadan kalbe ulaşıldı, ponksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Karaciğer dokuları alınarak % 0.9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Karaciğer dokularından bir kısım alınarak %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Kan ve doku örneklerinden aynı gün GSH analizi yapıldı. Kalan kanlar santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı, eritrosit paketleri hazırlandı. Tüm numuneler diğer biyokimyasal çalışmalar yapılan dek -80 °C'de saklandı.

Serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri enzimatik-kinetik olarak, Siemens Advia 1800 marka otoanalizörde, orijinal kiti kullanılarak tayin edildi. Plazma ve karaciğer MDA düzeyleri Ohkawa ve ark. [11] tanımladıkları yöntemle dayanarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plazma Gc-Globulin analizi için 4100-2 numaralı Life Diagnostics marka Sıçan Gc-Globulin ELISA Test Kit kullanıldı. Tam kan ve karaciğer GSH tayini Beutler ve ark. [12] tanımladıkları yöntemle dayanarak spektrofotometrik olarak yapıldı. Eritrosit ve karaciğer katalaz aktivite düzeyleri Aebi ve ark. [13] tanımladıkları yöntemle göre ölçüldü. Eritrosit GPx aktivite ölçümü Paglia ve ark. [14] tanımladıkları yöntemle göre yapıldı. Doku protein analizi Lowry ve ark. [15] tanımladıkları metodla, hemoglobin (Hb) tayini siyanomethemoglobin metoduna göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi [16].

Karaciğerlerin mikroskopik incelemesinde, yapısal değişikliklerin şiddetine göre skorlama yapıldı. Bu skorlamaya göre 0; hiçbir yapısal değişikliğin olmadığını, 1; hafif derecede, 2; orta derecede, 3; ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir [17].

Her grupta verilerin parametrik varsayımları yerine getirip getirmediğini incelemek için normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenliği testleri yapıldı. Gruplar önce Kruskal Wallis varyans analizi ve ardından anlamlı bulunan parametreler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Elde edilen değerler ortalama±standart sapma (Ort±SD) olarak ifade edildi ve p<0.05'in altındaki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Histopatolojik değişiklikler ise Ki-kare (χ^2) testi kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen değerler yüzde

(%) olarak ifade edildi, p<0.05'in altındaki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Değişkenlerin birbirleriyle ilişkisini ortaya koymak için ise Spearman's korelasyon analizi uygulandı.

Bulgular

Grupların serum ALT, AST, plazma ve karaciğer MDA, plazma Gc-globulin düzeyleri Tablo 1'de görülmektedir. Gruplar bir arada incelendiğinde tablo 1'deki tüm parametrelerde istatistikî fark saptanmıştır (hepsi p<0.001). Toksik hepatit grubunda serum ALT ve AST düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı (ikisi de; p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunda ise serum ALT ve AST düzeylerinin TH grubuna göre azalmasına rağmen (ikisi de; p<0.001); kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek (ikisi de; p<0.001) olduğu görülmüştür. Toksik hepatit grubunda plazma ve karaciğer dokusu MDA düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı (sırasıyla; p<0.05, p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunda plazma ve karaciğer MDA düzeyinin TH grubuna göre azaldığı (ikisi de; p<0.05) saptanmıştır. Tedavi grubunda plazma ve karaciğer MDA düzeyinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek (sırasıyla; p<0.001, p<0.05) olduğu görülmüştür.

Toksik hepatit grubunda plazma Gc-globulin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunun plazma Gc-globulin düzeyi ile TH grubu arasında anlamlı bir fark yokken; kontrol grubundan anlamlı derecede düşük (p<0.001) olduğu görülmüştür.

Grupların tam kan ve karaciğer GSH düzeyleri, karaciğer katalaz, eritrosit katalaz ve eritrosit GPx aktiviteleri Tablo 2'de görülmektedir. Gruplar bir arada incelendiğinde tablo 2'deki parametrelerden tam kan GSH'ta p<0.01 düzeyinde, diğer tüm parametrelerde p<0.001 düzeyinde istatistikî fark saptanmıştır.

Toksik hepatit grubunda tam kan ve karaciğer GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (ikisi de; p<0.05) görülmüştür. Tedavi grubunun tam kan ve karaciğer GSH düzeylerinin TH grubuna göre arttığı (ikisi de; p<0.05) görülmüşken, kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Toksik hepatit grubunda karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (hepsi; p<0.001) görülmüştür. Tedavi grubunda karaciğer katalaz, eritrosit katalaz, eritrosit GPx aktivite düzeylerinin toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede arttığı (sırasıyla; p<0.001, p<0.05 ve p<0.05) görülürken, kontrol grubuna göre ise anlamlı derecede düşük (sırasıyla; p<0.001, p<0.001, p<0.05) olduğu saptanmıştır.

Gruplarda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesi Tablo 3 ve Şekil 1'de görülmektedir.

Sinüzoidal dilatasyon skorlamasında kontrol grubunun % 90'ı 1, % 10'u 2 puan, toksik hepatit grubunun % 20'si 1, % 70'i 2, % 10'u 3 puan almışken; tedavi grubunda ise deneklerin % 60'ı 1, % 30'u 2, % 10'u 3 puan almıştır.

Tablo 1. Grupların serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), plazma Gc-globulin, plazma ve karaciğer malondi-aldehit (MDA) düzeyleri

	Kontrol (n=10)	TH (n=10)		TH + L-Karnitin (n=10)	
ALT (U/L)	49.00±3.65	186.40±14.40	a***	128.00±8.93	a*** b***
AST (U/L)	87.60±3.02	284.70±18.05	a***	232.70±13.06	a*** b***
Plazma Gc-globulin (ng/mL)	107.76±5.06	55.81±7.16	a***	57.52±7.91	a***
Plazma MDA (nmol/mL)	2.97±0.22	6.79±0.54	a*	5.44±0.57	a*** b*
Karaciğer MDA (nmol/mg protein)	2.86±0.29	5.74±0.70	a***	4.79±0.24	a* b*

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

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

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

Tablo 2. Grupların tam kan ve karaciğer glutatyon (GSH), karaciğer ve eritrosit katalaz aktivite, eritrosit glutatyon peroksidaz (GPx) aktivite düzeyleri

	Kontrol (n=10)	TH (n=10)		TH + L-Karnitin (n=10)	
Tam kan GSH (µmol/L eritrosit)	30.51± 4.05	26.29± 2.10	a*	29.69± 2.08	b*
Karaciğer GSH (nmol/mg protein)	26.45± 3.75	20.00± 1.79	a*	24.31± 1.27	b*
Karaciğer katalaz (U/gr protein)	481.72±22.92	357.96±14.92	a***	422.62±21.09	a*** b***
Eritrosit katalaz (U/gr Hb)	109.98± 9.51	80.21± 4.34	a***	88.91± 7.09	a*** b*
Eritrosit GPx (U/gr Hb)	57.55± 4.48	41.02± 5.22	a***	48.58± 3.47	a* b*

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

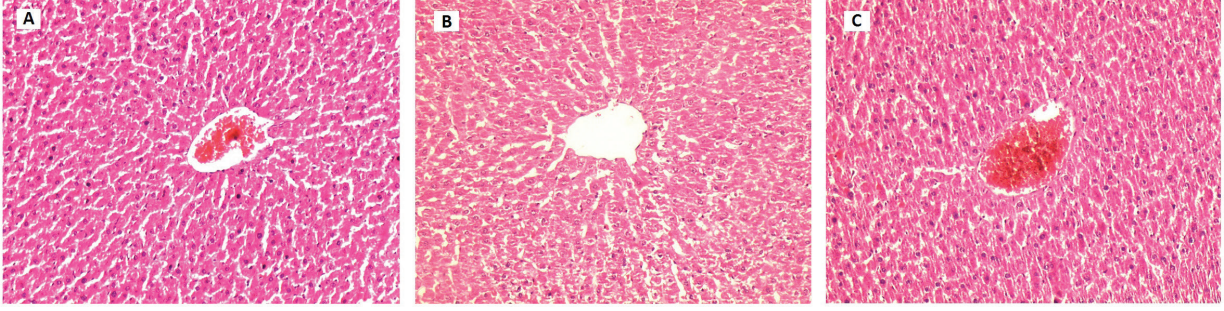
b: Toksik hepatit (TH) grubuna göre karşılaştırma, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

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

Tablo 3. Gruplarda karaciğerlerin mikroskopik değerlendirmesi (%)

	Skor	Kontrol (n=10)	TH (n=10)	TH + L-Karnitin (n=10)	χ^2	p
Sinüzoidal dilatasyon	0	-	-	-	10.44	0.034
	1	90	20	60		
	2	10	70	30		
	3	-	10	10		
Nekrotik hücre	0	-	-	-	12.88	0.012
	1	80	10	70		
	2	10	80	30		
	3	10	10	-		
Parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu	0	40	-	50	22.82	0.001
	1	30	-	50		
	2	30	70	-		
	3	-	30	-		

χ^2 : Ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Grupların karaciğer dokusu morfolojisi (A). Kontrol grubuna ait normal karaciğer dokusu (HE, X100), (B). Toksik hepatit grubunda belirgin sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre, parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HE, X100), (C). Tedavi grubunda azalmış sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre, parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HE, X100).

Sinüzoidal dilatasyon açısından toksik hepatit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmışken (χ^2 : 9.98, $p < 0.05$), tedavi grubu ile arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Tedavi grubu ile kontrol grubu arasında da anlamlı bir fark görülmemiştir.

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

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

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

Tartışma

DeneySEL toksik hepatit modeli oluşturmak için asetaminofen sıklıkla kullanılmaktadır. 250-1000 mg/kg asetaminofen dozunda hepatotoksisite ortaya çıkmaktadır [18-20]. Çalışmamızda asetaminofen dozu 300 mg/kg olarak belirlendi. Serum ALT ve AST düzeylerinin

asetaminofen uygulanan toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p < 0.001$) olması karaciğer parankim hasarı geliştiğine işaret etmektedir. L-Karnitin uygulamasının ise serum ALT ve AST düzeylerini toksik hepatit grubuna göre anlamlı olarak düşürdüğünü ($p < 0.001$) saptadık. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatit modelinde L-Karnitin uygulamasının serum ALT ve AST seviyelerini azalttığı bildirilmiştir [21,22]. Hepatosellüler hasar belirteci olan serum ALT ve AST sonuçlarımız literatür ile uyumludur. Tedavi grubundaki ALT ve AST seviyelerinin toksik hepatit grubuna göre düşmesine rağmen kontrol grubuna göre yüksek olması L-karnitin uygulamasının parankim hasarını kısmen önlediğini düşündürmektedir.

Asetaminofenin doku hasarına sebep olmasında lipid peroksidasyonunun yakından ilgisi olduğu ileri sürülmektedir. Asetaminofen hepatotoksisitesinde literatürdeki çalışmalarda plazma [21,23] ve karaciğer dokusu [24-26] MDA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Literatür ile uyumlu olan bulgularımız ışığında; asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte MDA düzeyinin yüksek bulunmasının, serbest radikaller ile oluşan lipid peroksidasyonunun sonuçlarından biri olduğunu söyleyebiliriz. Bu sonuç toksik hepatitte oluşan doku hasarında serbest radikallerin ve oksidatif stresin rol aldığını düşündürmektedir. Artan lipid peroksidasyon ürünlerinden özellikle aldehidler oluştuğu yerde çeşitli biyomoleküllerle etkileşerek, bu biyomoleküllerin fonksiyonlarını etkileyebilirler. Terneus ve ark. [26] lipid peroksidasyon ürünlerinden ve aynı zamanda bir aldehid olan 4-hidroksinonenal molekülünün parasetamol uygulanan gruplarda karaciğer dokusu proteinlerine bağlandığını bildirmişlerdir. Literatürdeki bilgiler ışığında çalışmamızda gördüğümüz karaciğer dokusu MDA düzeyinin yüksek olması; MDA'nın hem oluştuğu bölgede hem de uzak dokularda olumsuz etkilerini devam ettireceğini düşündürmektedir. Çeşitli nedenlerle oluşan karaciğer hasarında L-Karnitin lipid peroksidasyonunu azaltarak serum da [27] ve karaciğerde MDA seviyesini düşürdüğü [28,29] bildirilmiştir. Asetaminofen hepatotoksisitesinde L-karnitin lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştıran çok az çalışmaya rastladık [21,22]. Yapar ve ark. [21] farelerde oluşturduğu akut asetaminofen tok-

sisitesinde L-Karnitinin, serumda ve karaciğerde artmış olan MDA seviyesini azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda L-Karnitinin, tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre plazma ve karaciğer MDA düzeylerinde anlamlı olarak azalma olduğunu (ikisi de $p<0.05$) saptadık. Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; L-Karnitinin, asetaminofen ile indüklenen lipid peroksidasyonunu azalttığını söyleyebiliriz. Tedavi grubunda MDA seviyesinin düşmesi, oksidan stres aracılı karaciğer ve uzak doku hasarının L-Karnitin ile azalabileceğine işaret etmektedir.

Son yıllarda karaciğer hastalıklarında Gc-globulin düzeyleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Schiødt ve ark. [30] yaptıkları çalışmada akut karaciğer hastalarında serum Gc-globulin seviyelerini sağlıklı insanlara göre daha düşük bulmuşlardır. Schiødt ve ark. [31] yaptığı başka bir çalışmada yüksek doz asetaminofen alan hastalarda serum Gc-globulin seviyelerinin transaminaz düzeyleri 1000 U/L'den fazla olanlarda, transaminaz düzeyleri 1000 U/L'nin altında olanlardan daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ayrıca hastalardan hepatik ensefalopati gelişenlerin serum Gc-globulin seviyelerinin diğer hastalardan daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Liu ve ark. da [32] hepatit B kaynaklı karaciğer hasarı gelişen hastalarda serum Gc-globulin düzeylerinin sağlıklı insanlara göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Serum Gc-globulin düzeyi ile karaciğer hasarı arasında negatif bir ilişki olduğu görülmektedir. Literatürde asetaminofen verilerek oluşturulan deneysel toksik hepatit modellerinde Gc-globulin düzeyini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır, ayrıca literatürde L-Karnitinin, Gc-globulin düzeyleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya da rastlamadık. Bu açıdan bizim çalışmamız bir ilki teşkil etmektedir. Yaptığımız çalışmada toksik hepatit grubunda plazma Gc-globulin düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) saptadık. Bununla beraber tedavi grubunda plazma Gc-globulin seviyelerinin toksik hepatit grubundan farksız olduğunu gördük. Asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte oluşan hepatosit nekrozu, hücre iskeletinde yer alan aktinin dolaşıma geçmesine neden olmuştur. Dolaşımdaki monomerik aktine yüksek afinite ile bağlanan Gc-globulinler kompleksler oluşturarak aktini temizlemiş, Gc-globulinin plazma seviyeleri, toksik hepatit oluşturulan grupta düşmüştür. Tedavi grubunda Gc-globulinin toksik hepatit grubuna göre yükselmemiş olması bu grupta da karaciğer hasarına işaret edebildiği gibi; asetaminofen ile hasar oluşturduktan 24 saat sonra deneyi sonlandırdığımız için aktinlerle birleşerek sistemik dolaşımdan temizlenen Gc-globulinlerin yeniden üretimi için bu süre yetmemiş de olabilir.

Asetaminofen kaynaklı hepatotoksisitede, NAPQI adlı reaktif metabolitleri detoksifiye eden GSH'nin tükenmesinin, karaciğer hasarının başlamasında rolü olduğu düşünülmektedir [4]. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte tam kan GSH düzeyini inceleyen tek ça-

lışmaya rastlanmıştır [21]. Bu çalışmada tam kan GSH düzeyinin toksik hepatit oluşturulan grupta azaldığı, L-Karnitin uygulamasının tam kan GSH düzeyinde artış sağladığı bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda toksik hepatit oluşturulan grupta tam kan GSH düzeyinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığını ($p<0.05$), L-Karnitin verilen grupta ise toksik hepatit grubuna göre anlamlı olarak yükseldiğini ($p<0.05$) saptadık.

Asetaminofen hepatotoksisitesinde, karaciğer dokusu GSH düzeyinin azaldığı bildirilmiştir [28,33-37]. Çalışmamızda karaciğer dokusu GSH düzeyini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p<0.05$) saptadık. Bulgularımız ve literatürdeki bulgular ışığında; asetaminofen kaynaklı toksik hepatitte artan serbest radikallerin GSH düzeyinde tükenmeye neden olduğunu, tükenen GSH nedeniyle de antioksidan kapasitenin azaldığını ve oksidatif hasar gelişiminin önlenemediğini söyleyebiliriz. L-Karnitinin çeşitli ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında karaciğer dokusu GSH düzeyini arttırdığı bildirilmiştir [36,37]. Literatürde asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitinin, karaciğer GSH düzeyi üzerine etkisini araştıran iki çalışmaya rastladık [21,22]. İki çalışmada da L-Karnitinin karaciğer GSH düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada L-Karnitin verilen tedavi grubunda karaciğer dokusu GSH düzeyini toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) saptadık. Sonuçlarımız, L-Karnitinin GSH düzeyini artırarak oksidatif hasarı azaltabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde asetaminofen hepatotoksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda karaciğer dokusu katalaz aktivite düzeyinin azaldığı bildirilmiştir [18-20]. Literatürde rastladığımız; asetaminofen hepatotoksisitesinde eritrosit katalaz aktivite düzeyini araştıran tek çalışmada, eritrosit katalaz aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir [38]. Biz de yaptığımız çalışmada karaciğer dokusu ve eritrosit katalaz aktivitesini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük (ikisi de $p<0.001$) saptadık. Asetaminofen toksisitesinde L-Karnitin uygulamasının ne karaciğer ne de eritrosit katalaz aktivitesine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Ancak; çeşitli ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitinin karaciğer katalaz aktivite düzeyini arttırdığı bildirilmiştir [29,37]. Bizim yaptığımız çalışmada karaciğer ve eritrosit katalaz aktivitesini tedavi grubunda, toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.05$) saptadık. Çalışmamız asetaminofen toksisitesinde L-Karnitinin eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesi üzerine etkisinin araştırılmasında ilki teşkil etmektedir.

Literatürde asetaminofen ile oluşturulan hepatotoksisitede eritrosit GPx aktivite düzeyini araştıran tek çalışmaya rastladık [23]. Bu çalışmada asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında, eritrositlerde GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu

bildirilmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada eritrositlerde GPx aktivitesini toksik hepatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) saptadık. Literatürde asetaminofen veya diğer toksik ajanlarla oluşturulan karaciğer hasarında L-Karnitinin eritrosit GPx aktivitesini üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bizim yaptığımız çalışmada tedavi grubunda eritrosit GPx aktivitesini toksik hepatit grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) saptadık. Araştırmamız toksik hepatit modelinde L-Karnitinin eritrosit GPx aktivitesini üzerine etkisini araştıran ilk araştırma olma niteliğini taşımaktadır.

Literatürde asetaminofen hepatotoksitesitesi üzerine yapılan çalışmalarda karaciğer dokusunun mikroskopik değerlendirilmesinde sinüzoidal dilatasyon, nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendiği bildirilmiştir [26,39]. L-Karnitinin oluşan bu yapısal değişiklikleri azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur [21,22]. Biz de yaptığımız çalışmada toksik hepatit grubundaki karaciğer doku kesitlerinin mikroskopik incelemesinde belirgin sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hücre ve parankimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu gözledik. Toksik hepatit grubunda mikroskopide görülen nekrotik hücre ile karaciğer MDA arasında saptadığımız pozitif korelasyon ($r: 0.707$, $p: 0.033$) oksidatif hasarın doku hasarı ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. L-Karnitin tedavisi verilen grupta toksik hepatit grubunda oluşan yapısal değişikliklerin azaldığını saptadık. Gruplarımızda saptadığımız transaminaz düzeyleri de histopatolojik bulgularımızı desteklemektedir.

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

Cao ve ark. [38] oral yoldan verilen L-Karnitinin, sağlıklı bireylerde de plazma katalaz ve GPx aktivitesini arttırdığını bildirmiştir. L-Karnitinin katalaz ve GPx enzimlerinin aktivitesini arttırarak serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı azalttığını söyleyebiliriz. Tedavi grubunda toksik hepatit grubuna göre yüksek

bulunan GSH düzeyleri de, GPx enziminin kofaktörü olması nedeniyle, bu enzimin aktivitesini arttırmada yardımcı olmuş olabilir. L-Karnitinin serbest radikal süpürücü özelliği sayesinde de antioksidan enzimleri oksidatif hasardan koruduğunu düşünmekteyiz. Tedavi grubunda saptadığımız plazma MDA ile eritrosit GPx arasındaki negatif korelasyon ($r: -0.786$, $p: 0.036$) da bu düşüncemizi desteklemektedir.

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

Etik Konular: Çalışma için Trakya Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 07 oturum sayısında 2011.07.12 karar numarası ve 23.08.2011 karar tarihi ile etik izin alınmıştır.

Teşekkür: Bu çalışma Trakya Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (TÜBAP-2011/189).

Çıkar Çatışması: Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] Lee WM, Seremba E. Drug-induced liver disease. *In* (Ed. Yamada T). Textbook of Gastroenterology 2009; pp.2167-84, 5th ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- [2] Brunton LL (Çeviri: Ö Süzer). Goodman & Gilman tedavinin farmakolojik temeli. 2009; s 693-5, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- [3] Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, *et al.* Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 2006;12(3-4):250-75.
- [4] Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol* 2010;(196):369-405.
- [5] Halliwell B. Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine 2007; pp 55-79, Oxford University Press Inc, Newyork.
- [6] Schiødt FV. Gc-globulin in liver disease. *Dan Med Bull* 2008;55(3):131-46.
- [7] Meier U, Gressner O, Lammert F, Gressner AM. Gc-globulin: roles in response to injury. *Clin Chem* 2006;52(7):1247-53.
- [8] Comhair SA, Erzurum SC. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid Redox Signal* 2005;7(1-2):72-9.
- [9] Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006;78(8):803-11.
- [10] Li JL, Wang QY, Luan HY, Kang ZC, Wang CB. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biomed Sci*. 2012;21:19-32.
- [11] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.

- [12] Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963;61:882-8.
- [13] Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-6.
- [14] Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
- [15] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265-75.
- [16] Hoffman GC. Hematology. In: Faulkner WR, King JW (Eds). *Manual of clinical laboratory procedures*. 2nd ed. Cleveland: Chemical Rubber Co; 1970. p.154-6.
- [17] Koçak A, Gökçimen A, Yılmaz N, Vural H. Değişik dozlardaki asetaminofenin karaciğer nitrik oksit sentaz enzimi üzerindeki etkisinin immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi. *Nobel Med* 2011;7(2):88-95.
- [18] Michael Brown J, Ball JG, Wright MS, Van Meter S, Valentovic MA. Novel protective mechanisms for S-adenosyl-L-methionine against acetaminophen hepatotoxicity: Improvement of key antioxidant enzymatic function. *Toxicol Lett* 2012;212(3):320-8.
- [19] More AS, Kumari RR, Gupta G, Kathirvel K, Lonare MK, *et al.* Effect of S-methylisothiourea in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2012;385(11):1127-39.
- [20] Iwalokun BA, Efedede BU, Alabi-Sofunde JA, Oduala T, Magbagbeola OA, Akinwande AI. Hepatoprotective and antioxidant activities of *Vernonia amygdalina* on acetaminophen-induced hepatic damage in mice. *J Med Food* 2006;9(4):524-30.
- [21] Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, *et al.* Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Exp Toxicol Pathol* 2007;59(2):121-8.
- [22] Arafa HM. Carnitine deficiency: a possible risk factor in paracetamol hepatotoxicity. *Arch Toxicol* 2009;83(2):139-50.
- [23] Raja B, Mol SD. The protective role of vanillic acid against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacy Research* 2010;3(7):1480-4.
- [24] Hsu CC, Lin KY, Wang ZH, Lin WL, Yin MC. Preventive effect of *Ganoderma amboinense* on acetaminophen-induced acute liver injury. *Phytomedicine* 2008;15(11):946-50.
- [25] Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective Effects from Carnosine and Histidine on Acetaminophen-Induced Liver Injury. *J Food Sci* 2009;74(8):259-65.
- [26] Terneus MV, Brown JM, Carpenter AB, Valentovic MA. Comparison of S-adenosyl-L-methionine (SAME) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. *Toxicology* 2008;244(1):25-34.
- [27] Canbaz H, Akca T, Tataroglu C, Caglikulekci M, Dirlik M, *et al.* The effects of exogenous L-Carnitine on lipid peroxidation and tissue damage in an experimental warm hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Curr Ther Res Clin Exp* 2007;68:32-46.
- [28] Cetinkaya A, Kantarceken B, Bülbüloğlu K, Kurutas EB. The effects of L- carnitine on cyclophosphamide-induced oxidative liver and intestinal damage in rats. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(5):1161-7.
- [29] Elsaid FG, Zeghiber FE. The effect of L-Carnitine on Sodium Valproate induced physiological disturbances in rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 2007;28:347-54.
- [30] Schiødt FV, Bangert K, Shakil AO, McCashland T, Murray N, *et al.* Predictive value of actin-free Gc-globulin in acute liver failure. *Liver Transpl* 2007;13(9):1324-9.
- [31] Schiødt FV, Ott P, Tygstrup N, Dahl B, Bondesen S. Temporal profile of total, bound, and free Gc-globulin after acetaminophen overdose. *Liver Transpl* 2001;7(8):732-8.
- [32] Liu H, Han T, Xiao SX, Li J, Lee J, *et al.* Plasma actin-free Gc-globulin in patients with chronic or acute-on-chronic liver failure caused by hepatitis B virus. *Gastroenterology Research* 2009;2(4):213-19.
- [33] Palani S, Raja S, Kumar BS. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Chloroxylon swietenia* (Rutaceae) On Acetaminophen Induced toxicity in Male Albino Rats. *Int J PharmTech Res* 2010;2(1):162-70.
- [34] Meotti FC, Rosa JM, Brocardo PS, Balz D, Waltrick AP, *et al.* Protective effect of crude extract from *Wedelia paludosa* (Asteraceae) on the hepatotoxicity induced by paracetamol in mice. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(1):137-42.
- [35] Matura T, Nishida T, Togawa A, Horie S, Kusumoto C, *et al.* Mechanisms of protection by melatonin against acetaminophen-induced liver injury in mice. *J Pineal Res* 2006;41(3):211-9.
- [36] Ali SA, Faddah L, Abdel-Baky A, Bayoumi A. Protective effect of L-carnitine and coenzyme Q10 on CCl₄-induced liver injury in rats. *Sci Pharm* 2010;78(4):881-96.
- [37] Alshabanah OA, Hafez MM, Al-Harbi MM, Hassan ZK, Al-Rejaie SS, *et al.* Doxorubicin toxicity can be ameliorated during antioxidant L-carnitine supplementation. *Oxid Med Cell Longev* 2010;3(6):428-33.
- [38] Cao Y, Qu HJ, Li P, Wang CB, Wang LX, *et al.* Single dose administration of L-Carnitine improves antioxidant activities in healthy subjects. *Tohoku J Exp Med* 2011;224(3):209-13.
- [39] Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biol Pharm Bull* 2008;31(8):1523-9.