

Likopen' in Sitoprotektif Etkileri

Bilge Özkal

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2011

Cytoprotective Effects of Lycopene

Bilge Ozkal

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

January 2011

Likopen' in Sitoprotektif Etkileri

Bilge Özkal

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Adnan Ayhancı

Ocak 2011

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Bilge Özkal' ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Likopen' in Sitoprotektif Etkileri" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Adnan Ayhancı

İkinci Danışman : _____

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Doç. Dr. Adnan Ayhancı

Üye: Prof. Dr. Ahmet Özata

Üye: Prof. Dr. Mehtap Kutlu

Üye: Doç. Dr. Sema Uslu

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ünal Özelmas

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

İltihabi barsak hastalığı (IBD) ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmesine rağmen ülseratif kolitte karaciğer hasarının nasıl oluştuğu halen tam olarak bilinmemektedir. Ancak ülseratif kolitte barsak epitelinin geçirgenliğinin arttığı ve bu durumda endotoksin gibi bakteriyel antijenlerin lamina propriaya geçerek portal ven yoluyla karaciğere ulaştığı ve karaciğerde iltihabi bir reaksiyon ile sonuçlandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada sıçanlara deneysel olarak 120 mg/kg trinitro benzosülfonik asit (TNBS) verilerek oluşturulan kolitte gelişen oksidatif stres ve olası karaciğer hasarına karşı sentetik bir nitrik oksit sentetaz enzimi (iNOS) inhibitörü olan N-nitro L-arjinin metil ester (L-NAME) ve antioksidan (AO) özellikleri bilinen Likopen' in ne derece koruyucu etkileri olduğu araştırıldı.

Çalışmada 91 adet 220-250 gr ağırlığında Sprague Dawley ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol grubu hariç 12 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal (i.p) verildi. Diğer tüm gruplara sıfırıncı günde %50 etenolde çözülerek hazırlanmış 120 mg/kg TNBS intrarektal olarak verilip kolit oluşturuldu. 1. 2. ve 3. gruplar TNBS grupları olarak belirlendi. TNBS uygulamasından 1 gün sonra 4. 5. ve 6. gruptaki hayvanlara L-NAME, 7. 8. ve 9. gruptaki hayvanlara 1 mg/kg zeytinyağı, 10. 11 ve 12. gruptaki hayvanlara ise 10 mg/kg Likopen, i.p olarak verildi. Sadece TNBS verilen hayvanlar 1. 2. ve 3. günlerde diğer gruplardaki hayvanlar ise 2. 3. ve 4. günlerde eter ile anestezi edilerek kan ve karaciğer doku örnekleri alındı.

Deneysel sonuçlarımız hem serum AST, ALT ve LDH düzeyleri göz önüne alındığında hem de karaciğer doku örneklerindeki histopatoloji bulguları değerlendirildiğinde Likopen' in, kolit nedenli karaciğer hasarını önlemede zeytinyağından ve sentetik bir AO olan L-NAME' den daha yararlı olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca kolitte karaciğer hasarını gidermede Likopen kullanıldığına dair bir litaretüre rastlanılmadı. Bu nedenle çalışmamız, kolit nedenli karaciğer hasarında Likopen' in koruyucu etkisini araştıran özgün bir çalışmadır.

Anahtar sözcükler: TNBS, Kolit, Karaciğer, Likopen, L-NAME, Hücre Koruyucu Etki, Sıçan.

SUMMARY

Although Inflammatory Bowel Disease (IBD) and liver diseases are known to be related, how exactly ulcerative colitis renders damage to the liver is still poorly understood. Nonetheless, permeability of the intestinal epithel tissue is known to increase in ulcerative colitis. Therefore, it is speculated that such bacterial antigens as endotoxin that can move across lamina propria can gain access to the liver by way of the portal vein tract, thus giving rise to an inflammatory reaction.

105 male rats belonging in the species of Sprague Dawley, whose weights varying between 220 and 250, were used in this study. These rats were divided into 12 groups, each consisting of 7 rats, with the exception of the control group. 1ml of serum physiologic was administrated intraperitoneally (i.p) to the rats in the control group, while all the other groups were administrated 120 mg/kg TNBS prepared by dissolving in %50 ethanol through the intrarectal tract on the very first day of the experiment. Groups 1, 2 and 3 were labelled as TNBS groups. 24 hours after the administration of TNBS, rats in groups 4, 5 and 6 were given L-NAME, the ones in groups 7, 8, 9 being given 1ml/kg olive oil. The remaining groups (10, 11 and 12) were given 10 mg/kg of Lycopene i.p those given only TNBS were anaesthetized with ether for blood and liver tissue samples on the first, second and third days of the experiment, while those in the other groups underwent the same application on the second, third and fourth days.

Evaluation of serum AST, ALT and LDH levels, as well as histopathologic findings of the liver tissue, seems to suggest that Lycopene has a protective effect upon liver damage due to colitis, and that Lycopene is more beneficial to preventing oxidative stress than are olive oil and L-NAME, an synthetic antioxidant substance. We could find no published study into the protective effect of Lycopene upon colitis-induced liver damage. Therefore, our study is the first of its kind in that we showed Lycopene to have a protective effect upon colitis-related liver damage.

Key words: TNBS, Colitis, The Liver, Lycopene, L-NAME, Cytoprotective Effect, Rat.

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde bana danışmanlık eden, beni yönlendiren, çalışmamın çeşitli aşamalarında her türlü olanağı sağlayan, yardım ve desteklerini hiç esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya en içten duygularıyla teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın deneysel aşamalarında ciddi katkıda bulunan Sayın Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ALTUNER hocama ayrıca deneysel çalışmaların gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde maddi manevi desteklerini esirgemeyen annem Hatice ÖZKAL babam Sıtkı ÖZKAL ve kardeşim Burcu ÖZKAL' ı şükranla anarım.

Yazım aşaması boyunca sürekli sorunlarıma yardımcı olan, desteklerini ve sabrını hiç bir zaman esirgemeyen Yüksek Lisans öğrencisi Mustafa CENGİZ' e, bana yol gösteren ablam arkadaşım Doktora öğrencisi Sibel GÜNEŞ' e, yanımda kalarak bana her türlü desteği sağlayan biricik arkadaşlarım Emre BENLİAY ve Fatma ÖZTÜRK' e şükranlarımı sunarım.

Bilge ÖZKAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLO DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv

1. GİRİŞ	1
-----------------------	----------

2. GENEL BİLGİLER	4
--------------------------------	----------

2.1. Ülseratif Kolit	4
2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Önemi	5
2.3. Antioksidanlar	9
2.4. Nitrik Oksit	12
2.4.1. Nitrik Oksit' in kimyasal, fiziksel ve fizyolojik özellikleri	12
2.4.2. Nitrik Oksit Sentezi ve Metabolizması	12
2.4.3. Nitrik Oksit Sentetazlar	13
2.5. Likopen ve Özellikleri	15
2.5.1. Likopen' in Etkileri	18
2.5.1.1. Likopen' in Antioksidatif Etkisi	18
2.5.1.2. Likopen' in Antikanserojen Etkisi	19
2.5.1.2.1. Hücrel döngüyü durdurucu etkisi	19
2.5.1.2.2. Hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etkisi	20

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

2.5.1.2.3. IGF-1 Sinyal iletimini inhibe edici etkisi	20
2.5.1.3. Likopen' in Antiinflamatuvar Etkisi	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Kullanılan Gereçler	22
3.1.1. Deney Hayvanları ve Deney Gruplarının Oluşturulması	22
3.2. Yöntemlerin Uygulanması	22
3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamalar	22
3.2.2. Histolojik İşlemler	25
3.2.2.1. Hemotoksilen-Eosin Boyama	25
3.2.2.1.1. Karaciğer Örneklerinin Hazırlanması	25
3.2.2.1.2. Karaciğer Örneklerinin Takibi ve Kesit Alma	25
3.2.2.1.3. Boyama	26
3.3. Biyokimyasal ALT, AST ve LDH Değerlerinin Belirlenmesi	26
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR	27
4.1. Biyokimya Parametrelerinin Bulguları	27
4.2. ALT, AST ve LDH Değerlerinin Karşılaştırılması	30
4.2.1. 1.gün ALT, AST ve LDH Değerleri	30
4.2.2. 2.gün ALT, AST ve LDH Değerleri	33
4.2.3. 3.gün ALT, AST ve LDH Değerleri	36
4.3. Mikroskopik İnceleme	39

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.2.1. Hücrede SOR oluşum yolları.....	6
2.4.2.1. Nitrik oksit sentetaz tarafından katalizlenen arjinin amino asitinden NO sentezi	13
2.4.3.1. NOS enzimlerinin genel yapısı	14
2.5.1. Likopen kimyasal yapısı	17
4.2.1. 1.gün ALT, AST ve LDH değerleri	32
4.2.2. 2.gün ALT, AST ve LDH değerleri	35
4.2.3. 3.gün ALT, AST ve LDH değerleri	38
4.3.1. Kontrol grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde vena sentralis yapısı, sinüzoidleri ve hepatosit hücre yapılarıyla normal histolojik yapıdaki KC yapısı	41
4.3.2. 1.gün TNBS grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde parankimde hepatosit hücrelerinde vakuolizasyon, portal alanda çok az da olsa iltihabi hücreler görülmekte	41
4.3.3. 1.gün TNBS+L-name grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde parankimde eozinofilik sitoplazmalı koyu renk nükleuslarıyla birkaç nekrotik hücre ve az da olsa sinüzoidal dilatasyon	42
4.3.4. (a) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde portal venlerde kısmi genişleme ve portal alanda kısmi iltihabi hücreler.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3.4. (b) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde portal venlerde kısmi genişleme ve portal alanda kısmi iltihabi hücreler.....	43
4.3.5. 1.gün TNBS+likopen 10 mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde az da olsa portal alanlarda iltihabi birkaç hücre, portal venlerde genişleme ve sinüzodial dilatasyonlar görülmekte.....	43
4.3.6. 2.gün TNBS 120 mg/kg grubu deneklere ait karaciğer dokusu portal alanlarda hafif nonspesifik iltihabi hücreler, portal venlerde genişleme ve sinuozidlerde hafif genişleme.	44
4.3.7. (a) 2. Gün TNBS+L-NAME 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler	44
4.3.7. (b) 2. Gün TNBS+L-NAME 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler.....	45
4.3.8. (a) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler görülmekte.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3.8. (b) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler görülmekte	46
4.3.9. 2.gün TNBS+likopen 10 mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde normale yakın KC yapısı gözlenmekte. Ancak portal alanda nonspesifik kısmi iltihabi hücreler ve parankimde bazı bölgelerde az da olsa sinüzoidal dilatasyon görüldü	46
4.3.10. 3.gün TNBS + 120 mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında KC' de daha fazla hasar ve özellikle portal alanda safra kanalının etrafında yoğun iltihabi hücreler, portal venlerde dilatasyon ve periportal alanda ödem ve dilatasyon görüldü	47
4.3.11. 3.gün TNBS+L-NAME grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde portal alanda TNBS grubuna oranla daha az olmakla beraber iltihabi hücreler ve parankimde bazı alanlarda sinüzoidlerde dilatasyon görüldü.	47
4.3.12. 3.gün TNBS + zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde parankimde yer yer nekroz alanları ve portal alanda az da olsa iltihabi hücreler görülmekte	48
4.2.13. 3.gün TNBS+likopen 10 mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde normale yakın histolojik yapıda gözlenen KC yapısı. Sadece birkaç alanda kısmi sinüzoidal dilatasyonlar görülmekte	48

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.2.1. Oksidatif stres ile meydana gelen Serbest Oksijen Radikalleri.....	8
3.2.1.1. Serum fizyolojik verilen kontrol grubu, TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve Likopen verilen deney gruplarının ilaç uygulama protokolü.....	24
4.1.1. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 1.gün.....	27
4.1.2. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 2.gün.....	28
4.1.3. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 3.gün.....	29
4.3.1. Gruplara göre histolojik skor puanları.....	39

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler**

mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μ	Mikron
n	Denek Sayısı

Açıklama**Kısaltmalar**

ALT	Alenin transaminaz
AST	Aspartat transaminaz
AO	Antioksidan
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
CRP	C-Reaktif protein
FMN	Flavin mononükleotit
GPx	Glutasyon peroksidaz
IGF-1	Serun İnsülin benzeri büyüme faktörü
INOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
LDH	Laktat dehidrogenaz

Açıklama

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
L-NAME	N-nitro L-arjinin metil ester
NADPH	Nikotinamid adenindinükleotit
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz
OH	Hidroksil radikali
OONO ⁻	Peroksi nitrit radikali
TNBS	Trinitro benzosülfonik asit
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa

1. GİRİŞ

İltihabi barsak hastalığı (Kolit) ile ilişkili olarak karaciğer hasarı ilk kez 1873 yılında tanımlanmıştır [Thomas et al., 1873; Kleckner et al., 1952]. Kolit, etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış, ekstraintestinal bulguları olabilen barsağın, kronik nonspesifik inflamatuvar hastalığıdır [Dieleman et al., 1994]. Hastalığın etiyolojisi ve patogenezinde, genetik ve çevresel faktörler başta olmak üzere (Fiocchi et al., 1998); mikroorganizmalar veya onların antijenleri (Duchman et al., 1995) ve bağışıklık sistemi bozukluklarının (Fuss et al., 1996) neden olduğuna dair deliller bulunmuştur. Karaciğer hasarının belirlenmesinde iki önemli enzim vardır. Alanin amino transferaz (serum glutamat – pruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oxaloasetat amino transferaz). Adlarından da anlaşılacağı üzere alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α -keto glutarata taşırlar. Böylece glutamat ve ALT ile pruvat ve AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür [Wallach J, 2000; Li YM et al., 2004; Samir P et al., 2004]. Kolit olan bireylerde çeşitli karaciğer-safra kanalı anormallikleri ve aminotransferaz (ALT ve AST) aktivitelerinin artabileceği uzun zamandır bilinmektedir. Son yıllarda, ülseratif kolitli hastaların %2,3' ünde karaciğer hastalığı rapor edilmiştir [Broome et al., 1994]. Ülseratif kolit ve Crohn's hastalığı olan insanlarda anormal karaciğer fonksiyon testlerinin sıklığı yaklaşık %17' ye kadar yükselmektedir [Wewer et al., 1991]. Kolit ile ilgili yapılan çalışmalarda, nitrik oksitten (NO) türeyen serbest radikallerin (peroksinitrit ve oksijen radikalleri), oluşan harabiyeti daha fazla artırdığı belirlenmiştir [Dijkstra et al., 1998; Kimura et al., 1998; Grishman et al., 1999; McCafferty et al., 2001].

Histolojik olarak kolitli bireylerden alınan karaciğer biyopsi örneklerinin analizinde portal alanda iltihaplanma, safra kanalı iltihabı (kolangitis), tahriş ve enfekte olmuş safra kanallarında damar sertliği gözlenmiştir [Schrumpf et al., 1988]. Karaciğer-safra kanalı değişimlerinden sorumlu mekanizmaların patogenezi henüz bilinmemektedir. Ancak otoimmünite, genetik faktörler ve bakteri antijen ya da toksinlerinden kaynaklandığına dair birkaç hipotez ileri sürülmektedir. Deneysel olarak

ince barsakta aşırı anaerobik bakteri çoğalması; inflamatuvar hücreler ile kanal infiltrasyonu, perikolanjit (pericholangitis) ve sertleşmiş safra kanalı iltihabı (sclerosing cholangitise) periportal fibrozisi uyarmaktadır [Lichtman et al., 1990]. Bakterilerin karaciğer-safra kanalı hasarında rolü olduğu düşüncesi metronidazole ve tetracycline kullanılarak bu hasarın giderildiğinin gözlenmesiyle desteklenmiştir [Lichtman et al., 1991].

Karaciğer hücreleri arasındaki sıkı bağlantı bölgeleri, karaciğer-safra kanalına ve portal döngüye bakteri ve toksinlerin girişini engelleyen ana bariyerdir [Sung et al., 1992]. Sıkı bağlantılar, hepatosit bölgesinde bazolateral zar ve apikal zar arasındaki sınır, sinusoidal yüzeyden kanalikül lümenini örter, portal kan ve safrayı ayırır ve hücreler arası geçide destek verir [Anderson et al., 1995]. Sıkı bağlantı bölgeleri bariyer fonksiyonlarından dolayı; yüklü salgıların, çeşitli konsantrasyonlu endojen bileşiklerin ve ksenobiyotiklerin safra kanalına girmesine izin verir [Levine et al., 1981; Hardison et al., 1993]. Sıkı bağlantıların geçirgenlikleri; bakteriyel toksinler (Hecht et al., 1992; Koshy et al., 1996), polimorfonükleer lökositler (Nash et al., 1988), inflamatuvar sitokinler (Mulin et al., 1990; Madara et al., 1989) ve östrojen (Lowe et al., 1988; Elias et al., 1983) dahil çeşitli maddeler ve koşullar tarafından değiştirilebilir. Koliitli hastalarda karaciğer-safra kanalının hasarlanma nedeni safraya geçen toksik maddeler ve bakterilerdir. Koliit oluşumu karaciğer hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantı bölgelerinin bozulmasına ve karaciğer hasarı patogenezine katkı sağlamaktadır [Morris et al., 1989; Yamada et al., 1992].

Gelişen dünyamızda, beslenme olanaklarının artması ile insanlar, coğrafi koşullar, iklim şartları gibi engelleri aşarak, yeni beslenme alışkanlıkları edinmişlerdir. Yanlış beslenme alışkanlıkları ve bunların ortaya çıkardığı tıbbi problemler arttıkça, sağlıklı yaşamın ve hastalıklarla mücadelenin en temel kurallarından birinin sağlıklı beslenme olduğu ortaya çıkmıştır. Böylece besinler ve vücuda etkileri, en önemli araştırma konularından biri haline gelmiştir. Bir yandan ideal diyetler ve mutfak kültürleri, diğer yandan kalori hesapları ve tabii ki tedavi edici veya hastalıkları önleyici etkileri olan gıda maddeleri, birçok bilim dalı ve adamı tarafından araştırılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda domates ve domates ürünlerinin, antioksidan

(AO) olarak kabul edilen yüksek Likopen içerikleri nedeniyle beslenme ve sağlık üzerine yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir [Giovannucci, 1999]. Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten (carotenoid) ailesine ait bir pigmenttir. Likopen, aynı zamanda AO bir maddedir. Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Yağda çözünen, yağ miktarı fazla doku ve organlarda etkinliği artan Likopen' in, yağ içeriği oldukça fazla bir organ olan ciltte de AO koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Likopen, cilt hücreleri arasındaki bağları da kuvvetlendirmektedir. Diğer bir yararlı etkisi, ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlamasıdır. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Meme, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan Likopen, AO özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır [Mashima et al., 2001; Boileau et al., 2001; Rousseau et al., 1992].

Karotenoidlerin AO özellikleri, onların kimyasal yapılarının tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 karbon ünitesinin kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucudur. Bu yapının sağladığı radikal toplama özelliği, çoğu epidemiyolojik olmak üzere, yapılan araştırmalarda bazı kanser tipleri, kalp rahatsızlıkları ve dejeneratif göz hastalıklarında koruyucu etkisinin tespitiyle ortaya konmuştur [Bramley et al., 2000; Khachik et al., 2002]. Karotenoidler grubundan Likopenle yapılan bazı çalışmalarda, Likopen' in, oksidatif hasarla korelasyon gösterdiği bilinen ve yağ asidi oksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyini düşürdüğü, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen AO' ların aktivitelerini ise artırdığı gösterilmiştir [Bramley et al., 2000; Dorgan et al., 2000; Cadenas and Packer, 1996].

Tüm bu bilgilere dayanarak çalışmamızda TNBS nedenli deneysel kolitte gelişen karaciğer hasarının önlenmesinde AO ve hücre koruyucu etkileri olduğu bilinen Likopen' in ve L-NAME' nin muhtemel koruyucu etkilerini test ettik. Diğer taraftan Likopen' i çözdüğümüz zeytinyağının bu korumada etkisinin olup olmadığını belirlemek için TNBS ile birlikte zeytinyağı grubu da oluşturduk.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ülseratif Kolit

Ülseratif kolit, sindirim kanalında zaman zaman şiddeti azalan veya artan Crohn hastalığı ile birlikte kronik iltihabi barsak hastalıkları grubu içindedir. Ülseratif kolit yalnızca kolon ve rektuma yerleşirken, Crohn hastalığı sindirim sisteminin herhangi bir yerine yerleşebilir. Ülseratif kolitte kalın barsağın iç yüzeyinde yaygın ülserler (yaralar) ve iltihabi polipler oluşur [Ghosh et al., 2000; Blumberg and Strober, 2001].

İnsanlarda her yaş grubunda görülebilen ülseratif kolitin tam olarak oluşum nedeni bilinmemekte birlikte kolonda başlayıp rektuma kadar yayılabilmesi, hastalığın etiyoloji ve patogeneğinde genetik ve çevresel faktörler başta olmak üzere (Fiocchi, 1998), mikroorganizmalar veya onların antijenleri (Duchman et al., 1995; Rath et al., 1996) ve bağışıklık sistemi bozuklukları (Fuss et al., 1996) ile oluşabileceğine dair deliller bulunmuştur. Hastalığı tamamen yok eden bir tedavi şekli yoktur. Özellikle tedavinin kısa sürede kesilmesiyle hastalık yeniden alevlenir. Bu nedenle tedavinin uzun süre (hayat boyu) yapılması gerekir.

Ülseratif kolitin tedavisinde yapay ve doğal olarak elde edilen maddeler hem insan hem de deney hayvanlarında biyokimyasal, histolojik, genetik, immünolojik, fizyolojik, klinik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır. Gerek beden hücrelerinden alınan biyopsi örneklerinde (Middleton et al., 1993; Boughton-Smith et al., 1993; Guslandi 1993; Lundberg et al., 1994; Rachmilewitz et al., 1995) gerekse nötrofil, makrofaj, epitel ve endotel hücrelerinde yapılan analizlerde (Singer et al., 1996; Ikeda et al., 1997; Iwashita et al., 1998) nitrik oksit (NO) miktarının aşırı artması, ülseratif kolit için önemli patolojik belirleyici etken olduğunu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca kolit ile ilgili yapılan çalışmalarda, NO' dan türeyen peroksinitrit ve oksijen radikallerinin, oluşan harabiyeti daha fazla artırdığı belirlenmiştir [Rachmilewitz et al., 1993; Van der Vliet et al., 1994; Pryor and Squadrito 1995; Dijkstra et al., 1998; Kimura et al., 1998 (a); Grishman et al., 1999; Mc Cafferty, 2001].

2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Önemi

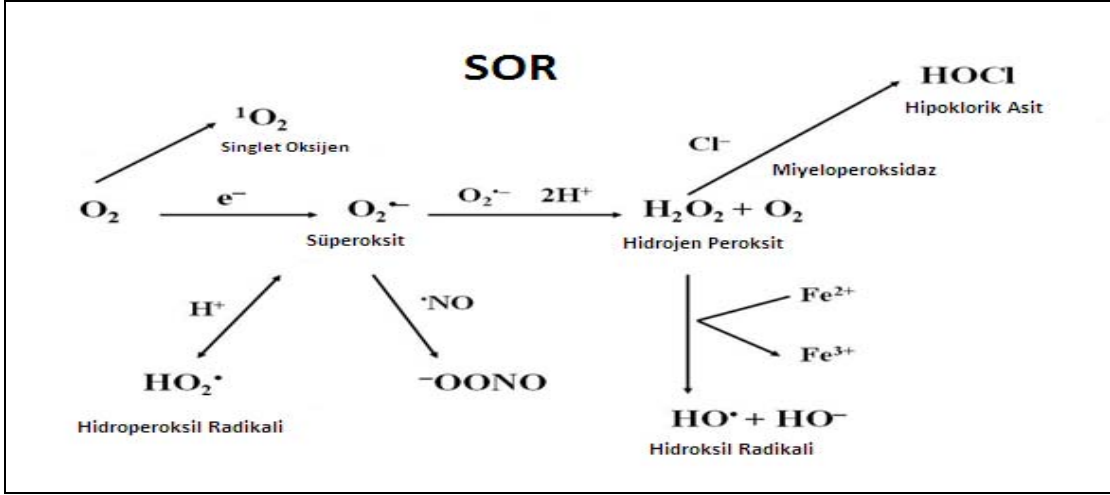
Dünya üzerindeki yaşamın oksijen molekülüne bağlı aerobik yaşam olması çelişkili bir durumdur. Çünkü oksijen, enerji metabolizması ve solunum için çok önemli bir molekül olmasının yanında birçok hastalıkta ve dejeneratif bozuklukta önemli rol oynamaktadır [Marks, 1985].

Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir [Batrelli et al., 1972]. Canlı içerisinde oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) sadece hücre içerisinde substrat ile birleşerek hasara neden olmaz, aynı zamanda bağlandıkları moleküllerin hücre içerisinde çeşitli yan metabolit oluşumuna sebep olarak da hasara neden olabilirler. Örneğin; oksijenin redüksiyonu ile negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali oluşur. Süperoksit radikalinden ise spontan ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ortaya çıkar. Hidrojen peroksitin bir dizi reaksiyonu sonucunda ise hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşur [Fridovich, 1983].

SOR; nükleik asitler, proteinler, karbohidratlar ve lipitleri de kapsayan birçok biyolojik molekül ile reaksiyona girme özelliğindedir [McMichael et al., 2004]. Normalde hücrelerde oluşan SOR formlarının temel kaynağı elektron taşıma zincirinden sızan elektronlardır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin yaklaşık %90-95' i son ürün olarak su ve moleküler oksijene dönüştürülürken, kalan %5-10' u SOR meydana getirir [Esterbauer, 1996]. SOR üretimi; elektron transferindeki yüksek verimlilik ve metal iyonlarının SOR yakalama kabiliyetleri sayesinde minimum düzeyde tutulur. Hücre içerisindeki diğer SOR kaynakları arasında, endoplazmik retikulumlardaki sitokrom P450, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz sayılabilir [Curtin et al., 2002].

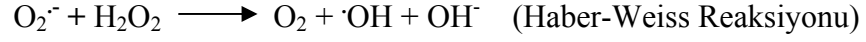
Canlıların yapıtaşlarını oluşturan tüm moleküller SOR hasarına yatkın olsalar da bu hasardan en çok etkilenen moleküller lipitlerdir. Bu durumun sebebinin lipitlerin çift bağ yapma eğiliminde olmaları ve lipitlerin hücre zarının her yerinde bulunmaları olduğu düşünülmektedir [Kelly, 2001]. Memeli hücreleri, oksidatif strese oldukça elverişli olan çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) miktarı açısından oldukça zengindir.

Bu PUFA' lar trigliserit ve fosfolipitlerin yapı taşlarını oluşturan diğer yağ asitleri formu ile birlikte, linoleik ve araşidonik asiti de kapsar [Acworth et al., 1997].



Şekil 2.2.1. Hücrede SOR oluşum yolları.

Şekil 2.2.1.' de de görüldüğü gibi SOR, ya diğer bir radikal ile reaksiyona girerek kovalent bir bağ kurar, ya da daha yaygın olarak, radikal olmayan bir başka molekülle reaksiyona girer [Pratico, 2001]. Serbest radikaller radikal olmayan bir başka molekül ile reaksiyona girdiklerinde, radikal olmayan molekül bir elektron kaybederek serbest radikale dönüşür. Bu mekanizma hücre zarlarında meydana gelen yüksek miktardaki hasarı tetikleyen zincirleme reaksiyonların başlangıcı ya da temelidir. Bir radikal bir başka radikal ile birleştiğinde oluşan yeni ürün bir önceki radikalden daha fazla yıkıcı etkiye sahip olabilir. Örneğin; nitrik oksit (NO) süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ile birleştiğinde meydana gelen peroksinitrit radikali (OONO^{\cdot}) hidrojen peroksitten (H_2O_2) 2000 kat daha fazla hasara neden olmaktadır. Bir başka deyiş ile iki radikalın birleşmesi zincirleme reaksiyonların başlamasına sebep olur. Lipitler ile SOR etkileşimi serbest demir atomu varlığında lipit peroksidasyonu ile sonuçlanır [Halliwell, 1994; Brown and Goldstein, 1979]. Serbest haldeki Fe^{+2} H_2O_2 ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikali bir başka şekilde, H_2O_2 ' nin, $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikali ile birleşmesi ile meydana gelir ki bu reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılır [Valko et al., 2007].



Lipit peroksidasyonunu başlatan iki temel serbest radikal, OH^\cdot ve OONO^\cdot tir. Hidrojen peroksitin metallere birleşmesi ile OH^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin NO ile birleşmesi ile de OONO^\cdot oluşur. Peroksi radikal (RO_2^\cdot) formlarının oluşumu ile sonlanan lipit peroksidasyonu, OH^\cdot ve OONO^\cdot 'in PUFA' lardan bir proton çıkarılması ile başlatılır. RO_2^\cdot , hücre zarındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerine saldırarak lipit peroksidasyonundaki zincirleme reaksiyonları tetikler. Bu zincirleme reaksiyonlar, substrat tükeninceye (ör; hücre zarındaki lipitler) ya da RO_2^\cdot 'nin bu zincirleme reaksiyonlarını kırabilecek (E vitamini gibi) bir AO molekül ile karşılaşınca kadar devam eder [Radi et al., 1991].

Lipit peroksidasyonu, hücrelerdeki enzim sistemleri ve reseptörlerinin değişimine, iyon kanallarındaki değişimlere ve kalsiyum ile diğer iyonların zardan geçişinde artışa neden olarak, hücre zarlarında şiddetli hasara neden olur [Acworth et al., 1997]. Buna ek olarak lipit peroksidasyonu son ürünlerinin, inflamasyon ve apoptozu başlattığı, tiol içeren bileşikleri inaktive ettiği de düşünülmektedir [Poli and Parola, 1997; Uchida and Stadtman, 1993].

Tablo 2.2.1. Oksidatif stres ile meydana gelen Serbest Oksijen Radikalleri.

BİLEŞİK	ADI	ÖZELLİKLERİ	YARI ÖMRÜ (37° C)
O_2^-	Süperoksit anyonu	Bir elektron indirgenmiş form, birçok otooksidasyon reaksiyonunda oluşur (flavoproteinler, redoks siklusu gibi).	Spontan ve enzimatik dismutasyon
HO_2^{\cdot}	Perhidroksi radikali	$O_2^{\cdot-}$ 'nin protonlanmış formu, lipitte çözünür.	
H_2O_2	Hidrojen peroksit	İki elektron indirgenmiş form O_2^- , HO_2^{\cdot} 'den dismutasyonla veya direkt O_2 'den oluşur.	Stabil; enzimatik redüksiyon
HO^{\cdot}	Hidroksil radikali	Üç elektron indirgenmiş form, Fenton reaksiyonu, Haber- Weiss reaksiyonu ile oluşur, çok reaktiftir.	10^{-9} sn.
RO^{\cdot}	Alkoksil radikali	Oksijen merkezli organik radikal, lipit alkoksi radikali	10^{-6} sn.
ROO^{\cdot}	Peroksil radikali	Organik (ör; lipit) hidroperoksitlerden; hidrojen ayrılmasından $ROOH$ 'dan oluşur.	7 sn.
$ROOH$	Organik hidroperoksit	Lipit hidroperoksit, timin hidroperoksit gibi.	
$O_2 (O_2^1)$	Singlet oksijen	İlk uyarılmış form	10^{-6} sn.
$RO (RO^*)$	Uyarılmış karbonil	Uyarılmış karbonil, mavi- yeşil fotoemisyon sırasında oluşur.	

Hücre zarı, mitokondri, lizozom ve peroksizom gibi hücre organellerinin her birinde SOR meydana getiren sistemlerle bir arada yer alan AO savunma mekanizmaları bulunur [Rangan and Bukley, 1993].

2.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar hem direkt hem de dolaylı olarak hücre içerisinde meydana gelen toksik radikal maddelerin reaksiyonlarının oluşturduğu oksidatif hasarı, ksenobiyotiklerin ve karsinojenlerin, olumsuz etkilerine karşı hücreleri koruyan moleküllerdir. Antioksidanlar, lipitler, DNA ya da proteinlerin oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren moleküller olarak tanımlanırlar [Halliwell et al., 1995]. Vitamin C, E, A, beta karoten, metallothionein, NADPH, adenosin, koenzim Q-10, resveratrol, glutatyon, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, polifenoller, flavanoidler vb. maddeler bu grupta yer alırlar [Akkuş, 1995; Mates, 2000]. Bu moleküllerden, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz hücre içi enzimatik işleve sahip antioksidanlardır [Halliwell, 1999]. Hücrede SOR üretimini engelleyen bu enzimler, pek çok memeli hücresinden izole edilmişlerdir. Küçük molekül ağırlığına sahip olan antioksidanlar, suda ve yağda çözülebilenler olmak üzere iki grupta toplanırlar;

Suda çözünen antioksidanlar;

- Askorbik asit (C vitamini),
- Ürik asit,
- Biluribin,
- Glutatyon,
- Çinko ve
- Selenyum'dur.

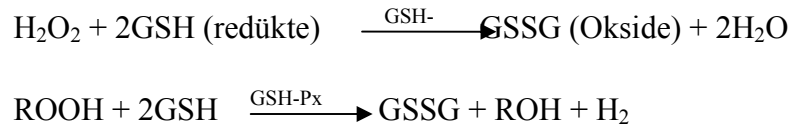
Yağda çözülen antioksidanlar ise;

- Tokoferoller (E vitamini),
- β -karoten,
- Ubikinol-10 (Koenzim Q-10) ve
- Likopen'dir (Oranje and Wollfenbuttel, 1999).

Hücre zarlarının lipit tabakalarında yer alan tokoferol ve β -karoten, lipit peroksidasyonunda meydana gelen zincirleme reaksiyonları baskılar ya da durdururlar [Pratico, 2001]. Vücutta hücreler arası sıvı içerisinde ise askorbik asit, bilirubin,

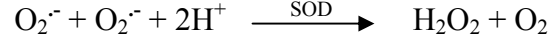
transferrin, haptoglobin, albumin, ürat ve seruloplazmin gibi sayısız AO karakterli molekül bulunmaktadır [Halliwell, 1999].

Memeli hücrelerinde sentezlenen ve hücre içi AO enzim olan glutatyon peroksidazın (GSH-P_x), SOR formlarına karşı ilk savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir. GSH-P_x, koenzim olarak glutatyonu (GSH) kullanır ve H₂O₂' yi suya ve oksijen molekülüne dönüştürür. GSH, sülfürlü bir tripeptittir [Flohe, 1980]. GSH-P_x' in hücre içerisinde, kofaktör olarak selenyumu kullanarak H₂O₂ ve RO₂' yi dönüştüren ve kofaktör olarak selenyumu kullanmadan H₂O₂' nin redüklenmesini katalizleyen iki formu bulunmaktadır. Doku içerisindeki GSH' nin azalması ile oksidatif hasar belirlenebilir [Van Den Dobbelsteen et al., 1996]. Bu durum oksidatif hasara maruz kalan sıçan hepatositlerinde meydana gelen GSH seviyesindeki azalma ile gösterilmiştir [Kurose et al., 1997].



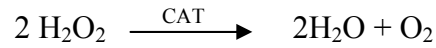
Hücrelerde meydana gelebilecek SOR hasarına karşı ikinci savunma hattını oluşturan, E vitaminin de dahil olduğu tokoferol ve trienoller, α -tokoferoller, hücre zarının yapısını oluşturan lipitler içerisinde bol miktarda bulunurlar. E vitamini, hücre zarının iç kısmında, PUFA' ların bol bulunduğu lipofilik bölgede yer alarak lipit peroksidasyonu sırasında meydana gelen zincirleme reaksiyonları durduran bir serbest radikal tutucu olarak görev yapar [Meydani, 1995]. Bir lipit peroksidasyon dalgası hücre zarı üzerinde konumlanmış olan E vitaminine ulaştığında, E vitamini serbest radikali oksitleyerek etkisiz hale getirir ve böylece PUFA' ları lipit peroksidasyonundan korur. Bu durumda daha az reaktif olan E vitamini, C vitamini ile H₂O varlığında birleşerek E vitamini tekrar eski haline dönüşür. Suda çözünebilir bir AO olan C vitamini, ya direk olarak SOR' u yakalayarak ya da E vitamininin eski halini almasını sağlayarak iki farklı şekilde AO savunmada görev alır [Marino, 1998].

Bir diğerk hücre içi AO olan SOD ise aktif bölgesinde kofaktör olarak magnezyum, çinko ya da bakır içeren bir oksidoredüktazdır. SOD, $O_2^{\cdot-}$ ' yi O_2 ve H_2O_2 ' ye dönüştürür.



SOD' un canlı içerisinde bulunduğu yerler, sitozol (kofaktör olarak bakır ve çinkoyu kullanır), mitokondri (kofaktörü magnezyumdur) ve hücre dışındaki yüzeylerdir (kofaktörü çinko ve bakırdır) [Baskın and Salem, 1997]. Mitokondrial SOD' un AO savunma sisteminde temel rol oynadığı düşünülmektedir [Hamet et al., 1996; Chen et al., 1997].

Katalaz peroksizomlarda yer alan, H_2O_2 ' yi O_2 ve H_2O ' ya ayrıştıran bir enzimdir [Akkuş, 1995].



SOD, $O_2^{\cdot-}$ yi H_2O_2 ' ye, katalaz enzimi de H_2O_2 ' yi O_2 ve H_2O ' ya ayrıştırarak birlikte iş görürler. Katalaz, düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında alkol ve askorbatı kullanarak peroksidaz aktivitesi gösterebilir [Chaudiere and Ferrari, 1999]. Katalazın indirgeyici aktivitesi, H_2O_2 , metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllu hidroperoksitlere etki etmez [Karabulut ve ark., 2002].

2.4. Nitrik Oksit

2.4.1. Nitrik Oksit' in Kimyasal, Fiziksel ve Biyolojik Özellikleri

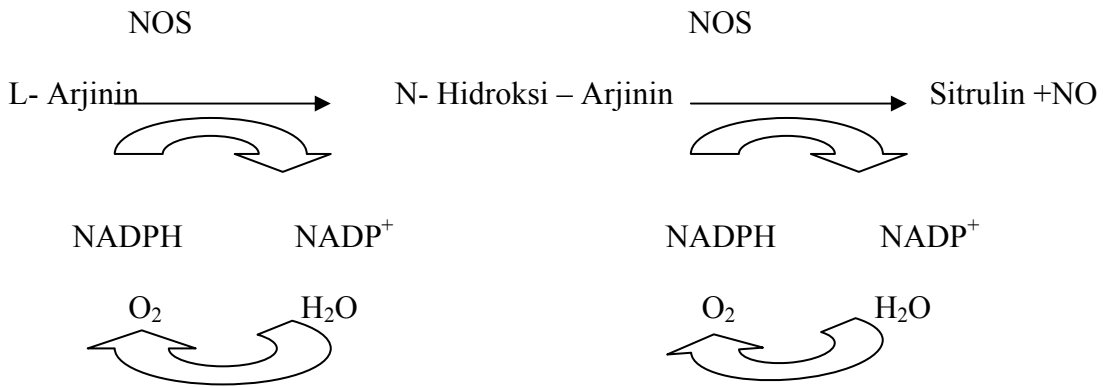
Nitrik Oksit (NO) renksiz bir gaz olup, inorganik serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür [Archer, 1993; Kharitonov, 1994]. Diğer radikal türlerinin aksine, NO radikalinde paylaşılmamış elektron nitrojen atomu üzerinde yerleşmemiş, fakat nitrojen ve oksijen atomları arasında lokalize olmuştur. Nitrik Oksit'in bu özelliği, kendi reaktivitesini baskılamakta, stabilitesini artırmakta (Nathan, 1992) ve biyolojik koşullarda bilinen en düşük moleküler ağırlıklı memeli salgı ürünü olarak sentezlendiği yerlerden daha uzak yerlere reseptöre bağımlı olmadan difüzyonunu kolaylaştırmaktadır [Moncada, 1992].

Çevresel bir toksin olmasının yanında, endojen olarak oluşan nitrik oksitin iltihabi barsak hastalığı, septik ve hemorajik şok ve bazı otoimmün bozukluklarda (Locsalzo and Welch, 1997; Nathan, 1997; Grisham et al., 1998; Hierholzer et al., 1998) rol oynadığı ileri sürülmüştür. Doğrudan etkiler, NO' nun doğrudan bir biyolojik molekül veya hedef ile ilişkiye girdiği reaksiyonlardır. Oysa dolaylı etkiler, oksijen (O₂) veya süperoksit (O₂⁻) ile NO reaksiyonlarından oluşan reaktif azot oksit türleriyle oluşan reaksiyonlardır [Grisham et al., 1999].

2.4.2. Nitrik Oksit Sentezi ve Metabolizması

Nitrik Oksit insanlar, hayvanlar ve en basit canlı formlarında L- arjininin oksidasyonu sonucunda sentezlenir [Griffith and Stuehr 1997, Stuehr, 1999]. L- arjininden NO' nun sentezi, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamağında arjininin guanido nitrojeni (N⁰) hidrosillenerek N⁰-Hidroksi arjinin (N-OH Arjinin) oluşur. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün ikinci aşamada sitrulin ve NO' ya çevrilir. Her iki basamakta substrat

olarak NADPH ve O₂ kullanılır [Mayer and Hemmans, 1997; Stuehr, 1999; Kılınç ve Kılınç, 2003]. Şekil 2.4.2.1. L- arjininden NO sentezini göstermektedir.



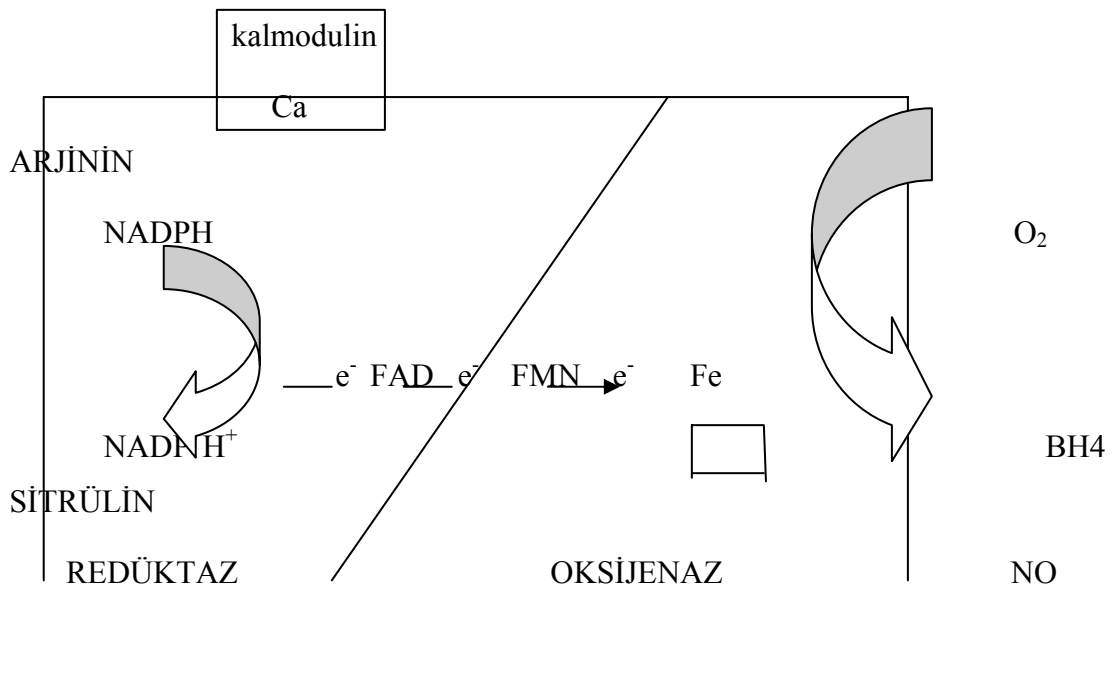
Şekil 2.4.2.1. Nitrik oksit sentetaz tarafından katalizlenen arjinin amino asitinden NO sentezi. Mayer and Hemmans (1997)' dan değiştirilerek alınmıştır.

2.4.3. Nitrik Oksit Sentetazlar

Nitrik oksit sentetaz enzimleri (NOS) birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşan proteinlerdir. NOS enzimlerini kodlayan yapısal DNA (cDNA)' dan yararlanılarak üç izoformu belirlenmiş ve bunlar arasındaki benzerliğin yüksek olduğu ortaya çıkarılmıştır. Farklı izoformlar arasında %50- 60 ve farklı türler arasında aynı izoform %80-94 ve sitokrom P450 ile %60 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir [Kılınç ve Kılınç, 2003]. NOS enzimleri amino ve karboksil (N- ve C-terminal) domain (tersiyer yapı) bölgesi olmak üzere iki farklı kısımdan oluşmuştur. Enzimin N-terminal bölgesi sitokrom P450 oksidaza yapı ve fonksiyon olarak benzer ve oksidaz domain bölgesi olarak adlandırılır. Bu bölge, hem grubu, substrat (arjinin), tetrahidrobiobterin (BH₄) ve oksijen bağlanma bölgelerini içerir. Alt birimler arası iletişimi sağladığından dimerizasyondan sorumludur [Kılınç ve Kılınç, 2003].

Enzimin karboksil terminali ise, yapı ve fonksiyon olarak sitokrom P450 redüktaz enzimine benzer ve redüktaz domaini olarak adlandırılır. Bu bölge,

koenzimlerden NADPH, FAD, FMN ve kalmodulin bağlanma bölgelerini içerir ve elektron transferinden sorumludur. Özellikle NO sentezi sırasında redüktaz kısım NADPH' den elektron alır ve hem demirine transfer eder [Marletta, 1994; Nathan and Xie, 1994; Ghosh and Stuehr, 1995; Mayer and Hemmens, 1997; Stuehr 1999; Alderton et al., 2001; Kılınç ve Kılınç, 2003]. Oksijenaz ve redüktaz domainler yapısal, proteolizis ve biyofiziksel çalışmalarla ayrıntılı olarak belirlenmiştir. NOS' un üç izoformunun yapısal olarak türden türe ve hücreden hücreye özellikle homodimer yapılarının değişiklik göstermesi ile farklı fonksiyonlar yaptıkları ortaya çıkarılmıştır [Crane et al., 1998; Fischmann et al., 1999]. NOS enzimlerinin genel yapısı şekil 2.4.3.1. de gösterilmiştir.



Şekil 2.4.3.1. NOS enzimlerinin genel yapısı. Alderton ve ark. (2001)' dan değiştirilerek alınmıştır.

Nitrik oksit sentezini kataliz eden NOS enzimlerinin fiziko-kimyasal ve kinetik özelliklerine göre; yapısal (konstitutif, cNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere iki temel formu belirlenmiştir. Ayrıca konstitutif enzimin iki formu vardır. Bunlardan biri endotelial NOS (eNOS veya NOS III) olup, ağırlıklı olarak zarsal bir enzimdir ve

endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (EDRF) sentezinden sorumludur. Bu enzimin ikinci formu ise merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan nöronal NOS (nNOS veya INOS) diye adlandırılır. İndüklenebilir NOS izoformu ise alt birim olarak kalmoduline ihtiyaç duyar. Aktivitesi için hücre içi kalsiyum derişiminin artması gerekli değildir, çünkü normal hücre kalsiyum derişiminde aktif durumda bulunur [Kılınç ve Kılınç, 2003].

2.5. Likopen ve Özellikleri

Önemli bir karotenoid olan Likopen en fazla domateste (*Lycopersicum esculentum*) olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur. Onlara kırmızı rengini verir [Stahl et al., 1996; Yaping et al., 2002].

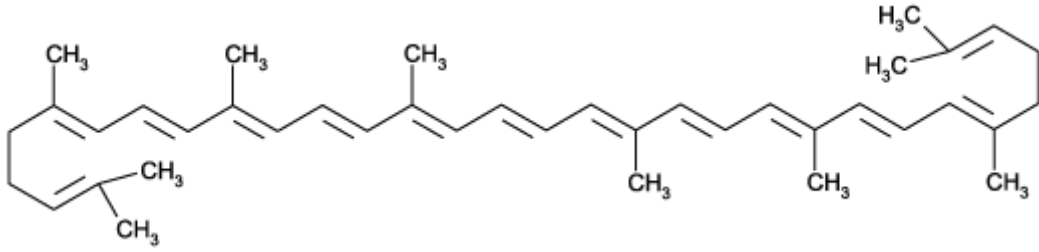
Karotenoidlerin en önemli kaynağı bitkiler olup doğal olarak görülen pigmentlerin geniş oranda dağılmış bir grubudur. Genellikle kırmızı, sarı ve turuncu renklidirler. Parlak renkleri, yeşil sebze ve yapraklarda olduğu gibi klorofilik pigmentlerce maskelenmiştir. Olgun bitkilerde klorofil içeriğinin azalması sonucu domates, portakal, karpuz gibi çoğu meyvenin güzel renkleri ortaya çıkar. Karotenoidler, bitkilerin fotosentezi için ışık toplama, özellikle de yıkıcı fotooksidasyona karşı koruyucu olarak gereklidir. Karotenoidler çoğu ticari gıda maddesine kimyasal sentezle üretilen saf bileşikler ya da doğal ekstraktlar şeklinde renklendirici olarak ilave edilir [Cadenas et al., 1996].

Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten (carotenoid) ailesine ait bir pigmenttir. Domatese ek olarak domates ürünleri de Likopen açısından zengindir. Likopen, aynı zamanda antioksidan bir maddedir. Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Yağda çözünen, yağ miktarı fazla doku ve organlarda etkinliği artan Likopen' in, yağ içeriği oldukça fazla bir organ olan ciltte de AO koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Likopen, cilt hücreleri arasındaki bağları da kuvvetlendirmektedir. Diğer bir yararlı etkisi, ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlamasıdır. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Göğüs,

rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan Likopen, AO özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır [Mashima et al., 2001; Boileau et al., 2001; Rousseau et al., 1992].

İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-vitamini prekürsörü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı β -karotendir. β -karoten A vitamin prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir [Handelman et al., 2001]. Karotenoidler insan sağlığı için önemli bileşiklerdir [Canene et al., 2005]. Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli faktörün özellikle tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C ünitesinin (C=C) kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen (1O_2) toplamasına izin verir. Karotenoidlerin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik olan çalışmalarla, kanser, kalp rahatsızlıkları, dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir [Stahl et al., 1996; Stahl and Sies, 2005; Kucuk et al., 2002; Kozuki et al., 2000].

Likopen tüm karotenoidlerde olduğu gibi asidik $C_{40}H_{56}$ yapısından türemiştir. 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağlı açık zincirli bir hidrokarbondur (şekil 2.5.1.) [Bramley, 2000; Khachik et al., 2002]. Likopen pro-vitamin A aktivitesine sahip değildir, insan serumunda da bulunur. Likopen β -karotene göre in-vitro sistemlerde AO olarak daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir [Stahl and Sies, 1992].



Şekil 2.5.1. Likopen' in kimyasal yapısı.

Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre insanlar 50' den fazla diyeteye bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir. α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin, lutein ve Likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidler arasındadır. Epidemiyolojik çalışmalardan sağlanan delillere göre yüksek oranda karotenoidce zengin sebze ve meyve alınımı insanları en yaygın görülen, kolon, mide ve prostat kanserine karşı korur [Giovannucci, 1999; Dorgan et al., 2000; Erhardt et al., 2003]. Karotenoidlerin AO aktiviteleri multilamellar lipozomlarda lipit peroksidasyonunun ölçülmesi ile belirlenmiştir. AO etki oranları Likopen > α -tokoferol > α -karoten > β -kriptoksantin > zeaksantin = β -karoten > lutein şeklinde sıralanabilir [Stahl et al., 1996; Canene et al., 2005]. Bu güne kadar insan serumu ve sütünde 25 karotenoid ve dokuz metaboliti tanımlanmıştır. İnsan karaciğeri, akciğerleri, meme, göz ve serviks gibi organları ve derisinde miktarları belirlenmiş, buralarda depolandığı gösterilmiştir [Khachik et al., 1997].

Likopen' in de dahil olduğu diyeteye bağlı antioksidanların, reaktif oksijen türlerini inaktive ettikleri ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayarak, prostat kanserinin önlenmesinde potansiyel moleküller olabilecekleri düşünülmektedir [Rao et al., 1999]. Yine domates ve domates ürünlerinin, bazı kanser tiplerinin ve plazma lipit peroksidasyonunun gelişimi ile ters bir ilişki göstermesi de Likopen' in AO özelliklerine bağlanmıştır [Stahl and Sies, 1996; Pellegrini et al., 2000].

2.5.1. Likopen' in Etkileri

Likopen' in etkilerini genel olarak üç ana başlıkta toplayabiliriz. Bunlar;

- Antioksidatif etki
- Antikanserojenik etki
 - Hücresel döngüyü durdurucu etki
 - Hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etki
 - IGF-1 (serum insülin benzeri büyüme faktörü-1) sinyal iletimini inhibe edici etki
- Antiinflamatuvar etki

2.5.1.1. Likopen' in Antioksidatif Etkisi

Çeşitli stres faktörleri ile açığa çıkan reaktif oksijen ve nitrojen türleri; lipitler, proteinler ve DNA gibi kritik hücrenel biyomolekülleri etkileyerek osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve sindirim sisteminde akut ya da kronik hastalıklara olan yatkınlığı artırmaktadırlar. Bu sebeple antioksidanların besinler yoluyla alınması stratejik moleküllerin oksidatif zarardan korunmasında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür [Ames et al., 1993; Ames et al., 1995; Witztum, 1994; Hailliwel, 1994; Pincemail, 1995]. Plazmanın AO kapasitesinin, AO bileşiklerin konsantrasyonlarına ve sinerjilerine bağlı olduğu saptanmıştır. Bununda oksidatif zarara karşı savunmada suda çözünen ve lipofilik antioksidanlar arasında gerçekleşen etkileşimden kaynaklandığı saptanmıştır [Harats et al., 1998].

Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan singlet oksijeni ($\cdot O_2$) ortadan kaldırmada etkilidir [Conn et al., 1991]. Singlet oksijenin giderildiği süreçte enerji Likopen molekülüne transfer edilir. Değişim sırasında enerji bakımından zengin bir bileşik oluşur. Bileşikteki Likopen fiziksel dönme veya ısınma şeklinde

enerji dağılması ile eski haline döner ve başka serbest radikalleri ortadan kaldırmak için hazır şekilde bileşikten ayrılır. Stahl ve ark. (1998) Likopen' in aynı zamanda biyolojik membran molekülleri içinde lipozomlara benzeyen bir O₂ temizleyicisi olduğunu göstermişlerdir. Likopen' in vitro koşullarda güçlü bir AO özellik gösterirken, in vivo ortamlarda DNA, protein ve lipitlerin oksidasyonuna karşı koruyucudur [Matos et al., 2001]. Likopen' in in vivo ve in vitro şartlarda oksidatif DNA hasarını azalttığı saptanmıştır [Matos et al., 2000]. Ayrıca yapılan klinik çalışmalarda domates tüketiminin, insan lökositlerinde oksidatif DNA hasarını önlediği saptanmıştır [Porrini and Riso, 2000]. Bowen ve arkadaşları (2002) da Likopen bakımından zengin diyetin prostattaki oksidatif DNA zararını azalttığını tespit etmişlerdir.

2.5.1.2. Likopen' in Antikanserojen Etkisi

Likopen' in antikanserojenik etkilerini üç ana başlık altında toplamak mümkündür.

- Hücresel döngüyü durdurucu etki
- Hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etki
- IGF-1 (serum insülin benzeri büyüme faktörü-1) sinyal iletimini inhibe edici etki.

2.5.1.2.1. Hücresel döngüyü durdurucu etkisi

Yapılan araştırmalarda Likopen' in prostat (Obermuller-Jevic et al., 2003; Şahin et al., 2004) kanser hücrelerinin gelişimlerini inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Likopen, hücre gelişimindeki siklin D1' i düzenleyerek hücresel döngüdeki G₀/G₁ fazı arasında tutukluğa öncülük ettiği saptanmıştır. G₀/G₁ fazı arasında tutukluk Likopen ile tedavi edilen lösemi hücrelerinde [Amir et al., 1999] ve endometrial kanser hücrelerinde [Nahum et al., 2001] saptanmıştır.

2.5.1.2.2. Hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etkisi

Likopen' in hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etkisinin olduğu ve doku homeostazında anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur [Saez ve ark., 2003].

2.5.1.2.3. IGF-1 Sinyal iletimini inhibe edici etkisi

Serum insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) konsantrasyonundaki artış prostat kanseri gibi kanser tiplerinde önemli rol oynar[Furstenberger ve Senn, 2002]. IGF-1 kan seviyesinin yüksek oluşu akciğer, kolon, rektum ve prostat kanseri risklerinin artışı önceden haber veren belirteçlerdendir [Yu et al., 1999]. Likopen, MCF-7 göğüs kanser hücrelerinde uyarılmış IGF-1 artışı önemli derecede düşürmüştür. İnhibisyon gelişimi G₁/S hücre döngüsünün ilerlemesinin gecikmesiyle ilişkilidir. Bu etki IGF-1 bağlayan proteinlerin Likopen' le düzenlenebileceği fikrini ortaya koymuştur [Karas ve ark., 2000]. Ayrıca Siler ve arkadaşları (2004) rat prostat kanser modelinde yaptıkları çalışmada besinlere 200 ppm Likopen eklenmesi ile prostat tümörlerindeki lokal IGF-1 ekspresyonunun düşürüldüğünü saptamışlardır.

2.5.1.3. Likopen' in Antiinflamatuvar Etkisi

Likopen, retinol, α -takoferol ve karotenoidlerin oksijen radikallerini yok etme kapasitesi önemli AO özelliklerindedir [Bast et al., 1998]. Likopen ve bazı AO vitaminler ile C reaktif protein (CRP) seviyesini belirleyen sistemik inflamasyon tepkimelerinin arasında ters bir ilişki bulunduğu belirlenmiştir. Yapılan araştırmalar kanser ve kardiyovasküler hastalıkların inflamasyon ve koagülasyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Likopen enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını

aktive ederek antiinflamatuvar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek proinflamatuvar moleküllerden prostoglandin, prostosiklin, tromboksan ve lökotrin sentezini baskılayarak yangıya yol açan reaksiyonlarıda önlediği ileri sürülmüştür [Pruthi et al., 2003].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

3.1.1. Deney Hayvanları ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edilen yaklaşık 220-250 gram ağırlığında, erkek Sprague Dawley ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınmıştır (PR-07-03-15-2). Bütün deney hayvanları enjeksiyondan önce bir haftalık karantinaya alınmış ve deney süresince 12:12 aydınlık/ karanlık ışıklandırılması olan, ısısı (22 °C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatılmıştır. Sıçanlar 3.2.1.1.'de gösterdiği gibi her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol hariç 12 gruba ayrılmış ve her kafeste 4 hayvan olacak şekilde yerleştirilmiştir. Yeteri kadar su ve pellet yem verilmiştir. Tüm hayvanların ilk enjeksiyonlardan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptanmıştır.

3.2. Yöntemlerin Uygulanması

3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamalar

Kullanılan TNBS (C 2508-19-2), L-NAME (C 51298-62-5), Likopen (C 502-65-8), hemotoxilen (C 517-28-2), eozin (C 15086-94-9), ALT kiti (C 1990-29-0), AST kiti (C 94-36-0) ve LDH kiti (C 9001-60-9) Sigma şirketinden sağlanmıştır. Deney gruplarına uygulanan TNBS (120 mg/kg) %50' lik etanolde çözülmüştür. TNBS intrarektal olarak bir ince plastik kanül aracılığı ile sıçanın anüsünden yaklaşık 8 cm

içeri girilerek verilmiş ve sıçanlarda akut deneysel kolit oluşturulmuştur [Kankuri ve ark., 1999].

TNBS uygulamasından bir gün sonra intraperitoneal (i.p) olarak, 40 mg/kg L-NAME (İNOS nonselektif inhibitörü), 5 mg/kg Likopen dozu zeytinyağında (1:1), 1ml/kg zeytinyağı hazırlanarak, üç gün süre ile (hergün) deney gruplarına verilmiştir. TNBS verilmesinden 1 gün sonra L-NAME, zeytinyağı ve Likopen gruplarındaki sıçanlar 2. 3.ve 4. günlerde eter anestezisinde diseksiyonları yapılmış ve ALT, AST, LDH parametrelerini saptamak için kan örnekleri ve karaciğer patolojisini saptamak içinde karaciğerlerin birer lobları dikkatli bir şekilde alınmıştır.

Tablo 3.2.1.1. Serum fizyolojik verilen kontrol grubu, TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve Likopen verilen deney gruplarının ilaç uygulama protokolü.

GRUPLAR (n)	GÜNLER				
	0	1	2	3	4
Kontrol	SF	SF	SF	SF	Kesim
1.TNBS(120mg/kg)	TNBS	Kesim			
2.TNBS(120mg/kg)	TNBS		Kesim		
3.TNBS(120mg/kg)	TNBS			Kesim	
4.LNAME(40mg/kg)	TNBS	L-NAME	Kesim		
5.LNAME(40mg/kg)	TNBS	L-NAME	L-NAME	Kesim	
6.LNAME(40mg/kg)	TNBS	L-NAME	L-NAME	L-NAME	Kesim
7.Z.yağı(1ml/kg)	TNBS	Z.yağı	Kesim		
8.Z.yağı(1ml/kg)	TNBS	Z.yağı	Z.yağı	Kesim	
9.Z.yağı(1ml/kg)	TNBS	Z.yağı	Z.yağı	Z.yağı	Kesim
10.Likopen(10mg/kg)	TNBS	Likopen	Kesim		
11.Likopen(10mg/kg)	TNBS	Likopen	Likopen	Kesim	
12.Likopen(10mg/kg)	TNBS	Likopen	Likopen	Likopen	Kesim

Kontrol grubu hariç diğer 15 gruba 0. günde 120 mg/kg TNBS verilerek deneysel kolit oluşturulmuştur. Sadece TNBS verilen ilk 3 gruptaki hayvanlar sırasıyla 1. 2. 3. günlerde eter anestezi altında intrakardiyak kan alınımı ve karaciğer doku alınımı yapılmıştır. TNBS ile birlikte L-NAME verilen 4, 5 ve 6. gruplarda kan ve doku alınımı 2. 3. ve 4. günlerde yapılmıştır. TNBS ile birlikte zeytinyağı verilen 7, 8 ve 9. gruplarda kan ve doku alınımı 2. 3. ve 4. günlerde yapılmıştır. TNBS ile birlikte

10 mg/kg Likopen verilen 10, 11 ve 12 gruplarda kan ve doku alınımı 2. 3. ve 4. günlerde gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Histolojik İşlemler

3.2.2.1. Hematoksilen – Eosin Boyama

3.2.2.1.1. Karaciğer Örneklerinin Hazırlanması

Bütün gruplardaki sıçanlardan dikkatli bir şekilde alınan karaciğerler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra küçük parçalara ayrılmış ve %10' luk tampon formalin fiksatif ile tespit edilmiştir.

3.2.2.1.2. Karaciğer Örneklerinin Takibi ve Kesit Alma

Karaciğer parçaları 24 saat süre ile %10' luk tampon formalin fiksatif içinde tutuldu. Fiksatifin etkisini ortadan kaldırmak için 12 saat çeşme suyunda yıkandı. Alınan doku parçalarının histolojik takibine başlanmadan önce 3 kez 10' ar dakika %50' lik etanol serilerinde bekletilerek dokular yıkandı. Dokular 5 saat süre ile %70' lik, 60'ar dakika %80' lik ve %90' lık etanol serilerinde bekletilmiş ve ardından 30' ar dakika %96' lık saf etanol içinde 2 kez değiştirmek suretiyle bekletilerek dehidratasyon sağlanmaya çalışılmıştır. Doku örneklerini şeffaflaştırılmak üzere 2 kez değiştirilerek 20'şer dakika saf ksilol (Merck) solüsyonlarında bekletilmiştir. Daha sonra karaciğer parçaları, 3 kez değiştirilmek suretiyle etüv içinde 65 °C' de eritilmiş parafinlerde iki kez 30 ve bir kez de 60 dakika sürelerle bekletilmiştir. Takibi tamamlanmış olan karaciğer parçaları, ayrı ayrı parafine gömülerek, parafin bloklar halinde kesit alınmaya hazır duruma getirilmiştir (Prophet, 1992). Parafin blokların ve mikro kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağının buzdolabında soğutulmasının ardından,

mikrotom (Mikrom HM 310) aracılığı ile 5' er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alınmıştır. Kesitlerin 45°C' de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 70°C' de 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlanmıştır. Preparatlar, iki kez değiştirilerek 1'er saat süre ile saf ksilolde şale içinde tutulup deparafinizasyon sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçilmiştir.

3.2.2.1.3. Boyama

Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanılmıştır. Bu amaçla Harris Alum Hematosilen ve alkollü Eosin boyaları (Sigma) hazır alınmıştır [Gridley, 1954; Bancroft, 1977]. Deparafinizasyonu yapılmış olan karaciğer kesitleri 5'er dakika sürelerle saf, %96, %90, %80, %70, %50' lik etanollerde ve distile suda bekletilmiştir. Kesitler Hematoksilen ile 3 dakika muamele edilip distile sudan geçirilerek, 10 dakika Eosin ile boyanmıştır. Musluk suyu ile fazla boyası alınan kesitler, alkol serilerinden hızla geçirilerek dehidratasyona uğrattılıp, iki ayrı ksilolde 30' ar dakika tutularak şeffaflaştırılmıştır. Karaciğere ait preparatlar, bu aşamadan sonra entellan ile kapatılarak mikroskop altında incelenmeye hazır duruma getirilmiştir.

3.3. Biyokimyasal ALT, AST VE LDH Değerlerin Belirlenmesi

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlardan heparinli tüplere intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Alınan serum örnekleri hayvanlara özgü (Crony marka) tam otomatik biyokimya otoanalizatörü ile ALT, AST ve LDH değerleri saptanmıştır.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Deneysel çalışmamızdan biyokimyasal ve immünohistolojik olarak elde ettiğimiz veriler SPSS (SPSS for Windows, 1999) istatistiksel paket programında (9.05) tek yönlü ANOVA testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimya Parametrelerinin Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait ALT, AST ve LDH değerleri tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 1.gün.

BİYOKİMYASAL KAN PARAMETRELERİ						
GRUP	1.GÜN					
	ALT	P	AST	P	LDH	P
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
120 mg/kg TNBS	75,8±7,2		154,03±9,5		1455,6±129,6	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
40 mg/kg L-NAME	78,1±8,6		143,1±13,0		1374,5±91,4	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
10 mg/kg LİKOPEN	54,5±8,5		122,3±14,9		1101,5±123,6	
120 mg/kg TNBS	75,8±7,2	0	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
40 mg/kg L-NAME	78,1±8,6		143,1±13,0		1374,5±91,4	
120 mg/kg TNBS	75,8±7,2	***	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
120 mg/kg TNBS	75,8±7,2	***	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
10 mg/kg LİKOPEN	54,5±8,5		122,3±14,9		1101,5±123,6	
40 mg/kg L-NAME	78,1±8,6	***	143,1±13,0	0	1374,5±91,4	0
TNBS + ZEYTİNYAĞI	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
40 mg/kg L-NAME	78,1±8,6	***	143,1±13,0	***	1374,5±91,4	***
10 mg/kg LİKOPEN	54,5±8,5		122,3±14,9		1101,5±123,6	
TNBS + ZEYTİNYAĞI	65,6±4,2	***	139,9±9,9	***	1352,3±69,1	***
10 mg/kg LİKOPEN	54,5±8,5		122,3±14,9		1101,5±123,6	

Sig. Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138	P≥0,05	0
0,000	P≤0,001	***

Tablo 4.1.2. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 2.gün.

BİYOKİMYASAL KAN PARAMETRELERİ						
GRUP	2.GÜN					
	ALT	P	AST	P	LDH	P
KONTROL	32,6±5,3	****	80,5±10,6	***	532±80,2	***
120 mg/kg TNBS	65,2±8,4		143,5±11,1		1341,3±80,5	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,6	***	532±80,2	***
40 mg/kg L-NAME	60,2±6,3		134,2±12,5		1267,3±109,6	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,6	***	532±80,2	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,6	***	532±80,2	***
10 mg/kg LİKOPEN	46±7,5		106,4±10,5		1007,1±107,4	
120 mg/kg TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
40 mg/kg L-NAME	60,2±6,3		134,2±12,5		1267,3±109,6	
120 mg/kg TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
120 mg/kg TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
10 mg/kg LİKOPEN	46±7,5		106,4±10,5		1007,1±107,4	
40 mg/kg L-NAME	60,2±6,3	0	134,2±12,5	0	1267,3±109,6	0
TNBS + ZEYTİNYAĞI	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
40 mg/kg L-NAME	60,2±6,3	***	134,2±12,5	***	1267,3±109,6	***
10 mg/kg LİKOPEN	46±7,5		106,4±10,5		1007,1±107,4	
TNBS + ZEYTİNYAĞI	58±6,2	***	131,2±18,4	***	1226,5±93,3	***
10 mg/kg LİKOPEN	46±7,5		106,4±10,5		1007,1±107,4	

Sig. Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138 P≥0,05 0

0,000 P≤0,001 ***

Tablo 4.1.3. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 3.gün.

BİYOKİMYASAL KAN PARAMETRELERİ						
GRUP	3.GÜN					
	ALT	P	AST	P	LDH	P
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
120 mg/kg TNBS	60,1±8,5		132,9±6,6		1290,4±94,6	
KONTROL	32,6±5,3	****	80,5±10,06	***	532±80,2	***
40 mg/kg L-NAME	51±5,5		120,4±15,5		1157,1±134,4	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
KONTROL	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
10 mg/kg LİKOPEN	38,2±5,2		88,2±6,5		782,8±58,7	
120 mg/kg TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
40 mg/kg L-NAME	51±5,5		120,4±15,5		1157,1±134,4	
120 mg/kg TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
TNBS + ZEYTİNYAĞI	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
120 mg/kg TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
10 mg/kg LİKOPEN	38,2±5,2		88,2±6,5		782,8±58,7	
40 mg/kg L-NAME	51±5,5	0	120,4±15,5	***	1157,1±134,4	0
TNBS + ZEYTİNYAĞI	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
40 mg/kg L-NAME	51±5,5	***	120,4±15,5	***	1157,1±134,4	***
10 mg/kg LİKOPEN	38,2±5,2		88,2±6,5		782,8±58,7	
TNBS + ZEYTİNYAĞI	51±7,4	***	110,7±16,6	***	1035,2±134,8	***
10 mg/kg LİKOPEN	38,2±5,2		88,2±6,5		782,8±58,7	

Sig. Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138

P≥0,05

0

0,000

P≤0,001

4.2. ALT, AST ve LDH değerlerinin karşılaştırılması

4.2.1. 1.gün ALT, AST ve LDH değerleri;

ALT değerlerinin 1.gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda %132, L-NAME grubunda %140, zeytinyağı grubunda %101 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %66 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubunun ALT değerleri L-NAME grubundan %3 oranında daha düşük bir artış ($p>0.05$) göstermiş olmasına rağmen, zeytinyağı grubundan %13.5 ve 10 mg/kg Likopen grubundan %28,1' lik bir artış göstermiş olup bu artışlar istatistiksel açıdan ileri derecede önemli fark olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %16, 10 mg/kg Likopen grubundan %30 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %21 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

AST değerlerinin 1. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları AST bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında AST değerleri sırasıyla TNBS grubunda %91,6, L-NAME grubunda %77,7, zeytinyağı grubunda %70,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %52,6 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %7.2, zeytinyağı grubundan %11.3, 10 mg/kg Likopen grubundan %20,3 artma göstermiş olup bu artışlar istatistiksel açıdan ileri derecede önemli fark olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %4.3 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %15 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %12 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 1. gününde;

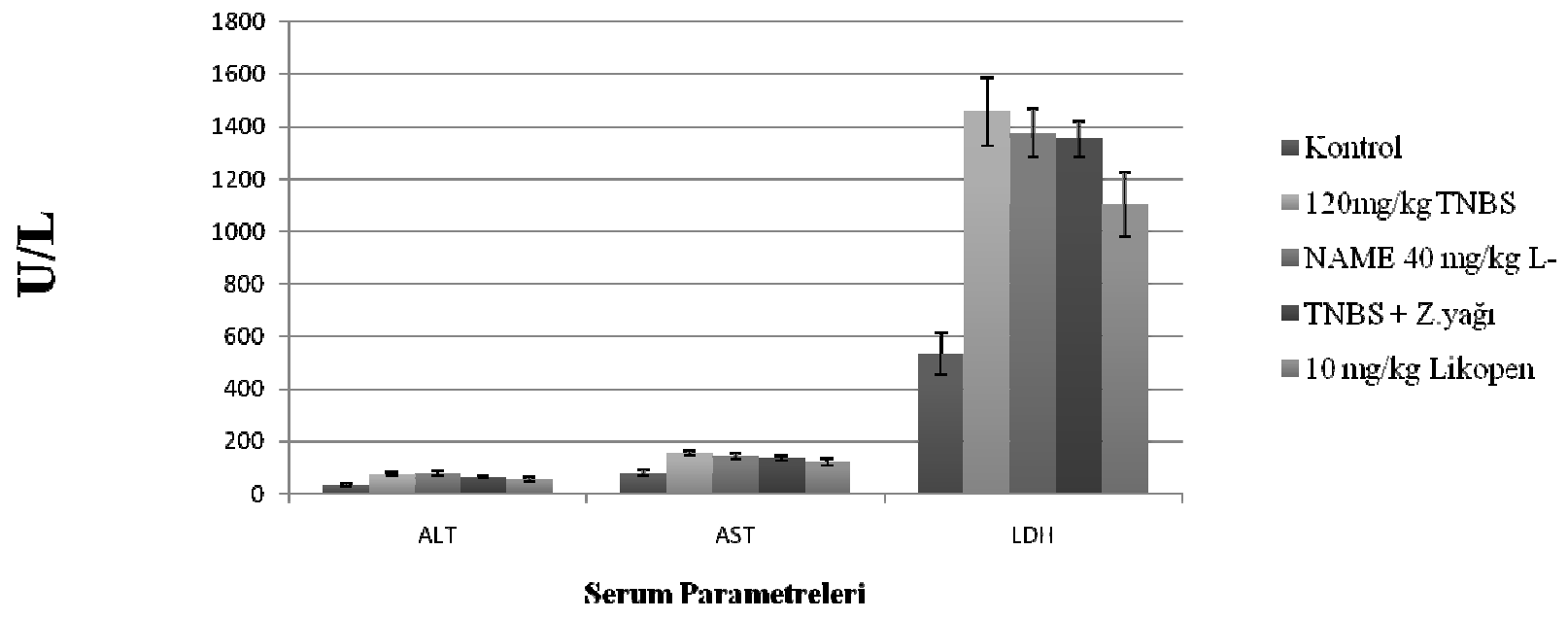
TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %173,6, L-NAME grubunda %169,6, zeytinyağı grubunda %154,2 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %107 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %7,10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %20 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %19 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. GÜN



Şekil 4.2.1 1.gün ALT, AST ve LDH değerleri.

4.2.2. 2.gün ALT, AST ve LDH değerleri;

ALT değerlerinin 2. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda %100, L-NAME grubunda %84, zeytinyağı grubunda %80,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %44 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %8, zeytinyağı grubundan %11, 10 mg/kg Likopen grubundan %30 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %3,6 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %23,5 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %21 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

AST değerlerinin 2. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları AST bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında AST değerleri sırasıyla TNBS grubunda %78, L-NAME grubunda %66,7, zeytinyağı grubunda % 63,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %32,3 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %7, zeytinyağı grubundan %9, 10 mg/kg Likopen grubundan %26 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %2,2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fak görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %27 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %20 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 2. gününde;

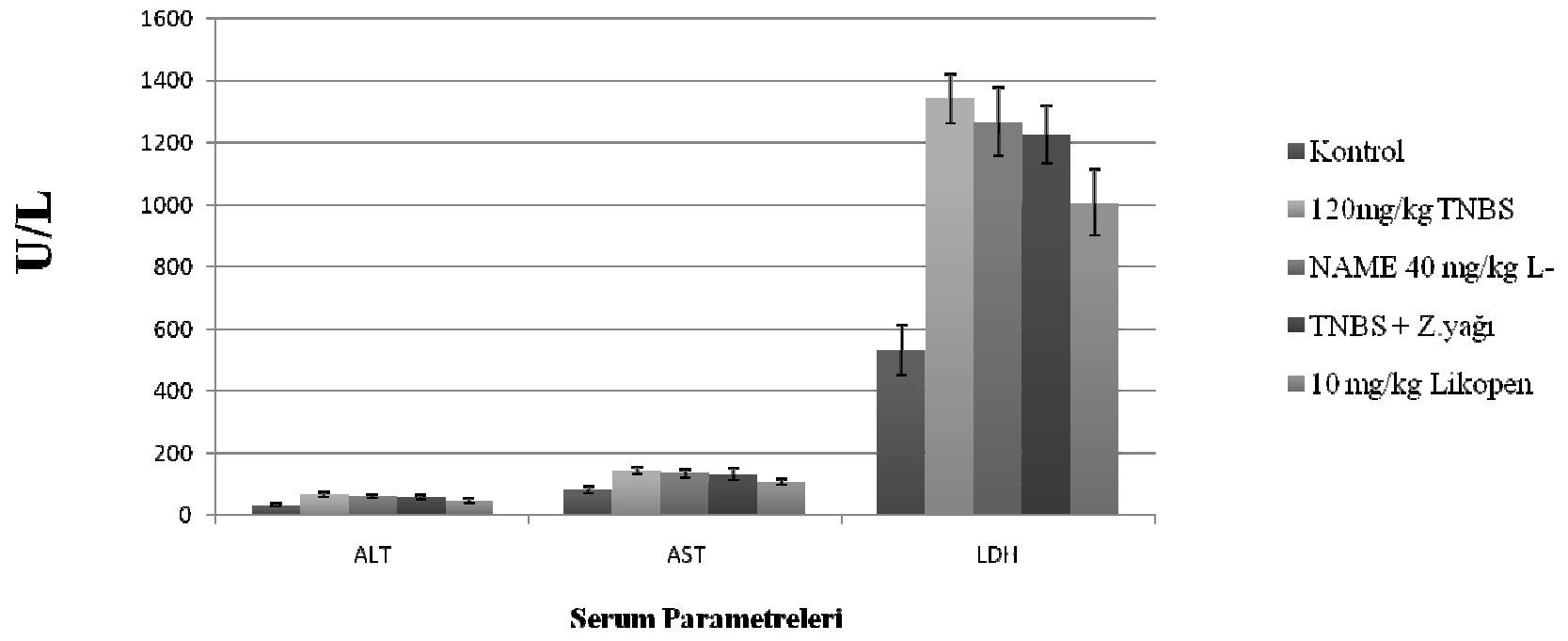
TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %152, L-NAME grubunda %138,4, zeytinyağı grubunda %130,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %89,3 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %9,10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %3,2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fak görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %20,5 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %18 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

2. GÜN



Şekil 4. 2. 2. 2.gün ALT, AST ve LDH değerleri.

4.2.3. 3.gün ALT, AST ve LDH değerleri;

ALT değerlerinin 3. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda %84, L-NAME grubunda %56, zeytinyağı grubunda %56,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %17 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %15, zeytinyağı grubundan %15,10 mg/kg Likopen grubundan %35 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %3 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %15 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

AST değerlerinin 3. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları AST bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında AST değerleri sırasıyla TNBS grubunda %65, L-NAME grubunda %49,5, zeytinyağı grubunda %37,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %10 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %10, zeytinyağı grubundan %17,10 mg/kg Likopen grubundan %34 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %8,10 mg/kg Likopen grubundan %27 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %23,3 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 3. gününde;

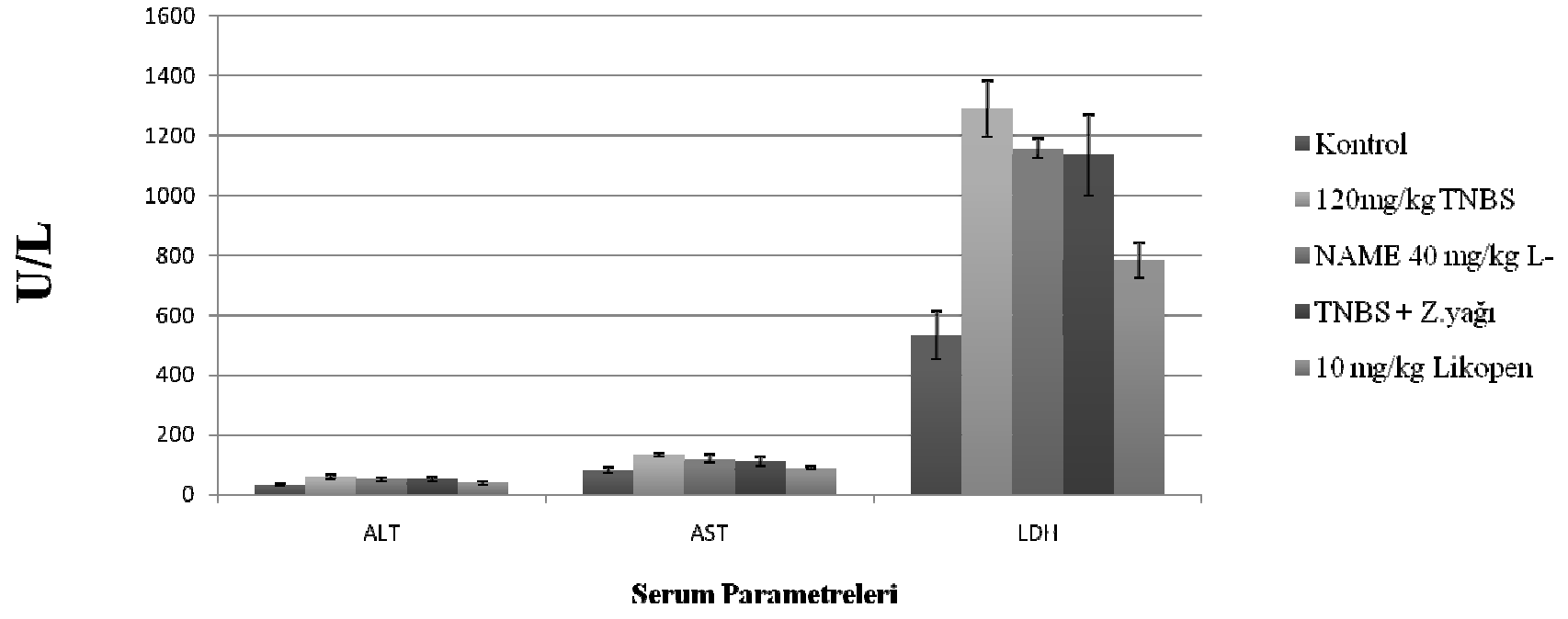
TNBS, L-NAME, Zeytinyağı ve 10 mg/kg Likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %142,5, L-NAME grubunda %117,5, Zeytinyağı grubunda %113,5 ve 10 mg/kg Likopen grubunda %47 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %10,5, zeytinyağı grubundan %12,10 mg/kg Likopen grubundan %40 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubundan %2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg Likopen grubundan %32,3 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 10 mg/kg Likopen grubundan %31 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

3.GÜN



Şekil 4. 2. 3. 3.gün ALT, AST ve LDL değerleri.

4.3. Mikroskopik İnceleme

Tüm hayvanlara ait seri doku kesitlerinin binoküler mikroskop altında değerlendirilmesiyle elde edilen bulgularımız aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 4.3.1. Gruplara göre histolojik puanlar.

GRUPLAR	Ödem	Vakuolizasyon	Nekroz	Portal ven dilatasyonu	Sinüzoidal dilatasyon	İltihabi hücreler	Skor Toplamı
Kontrol	-	-	-	-	-	-	0
1.gün TNBS +120 mg/kg	2	2	-	2	1	2	9
1.gün TNBS +L-name	-	-	2	-	1	1	4
1.gün TNBS+zeytinyağı	-	-	-	1	1	1	3
1.gün TNBS+likopen 10 mg/kg	-	-	-	-	1	1	2
2.gün TNBS +120 mg/kg	2	-	1	2	1	3	9
2.gün TNBS+L-name 40mg/kg	-	-	-	-	2	2	4
2.gün TNBS+zeytinyağı	-	-	-	-	2	1	3
2.gün TNBS+likopen 10 mg/kg	-	-	-	-	1	1	2
3.gün TNBS+120mg/kg	3	-	2	2	1	3	11
3.gün TNBS+L-name	-	-	-	-	2	2	4
3.gün TNBS+zeytinyağı	-	-	1	-	1	1	3
3.gün TNBS +likopen 10 mg/kg	-	-	-	-	1	1	2

* $p < 0.05$ kontrolden farklı ** $p > 0.05$ hiçbir grupta fark yok (1 az hasar, 2 orta hasar, 3 çok hasar)

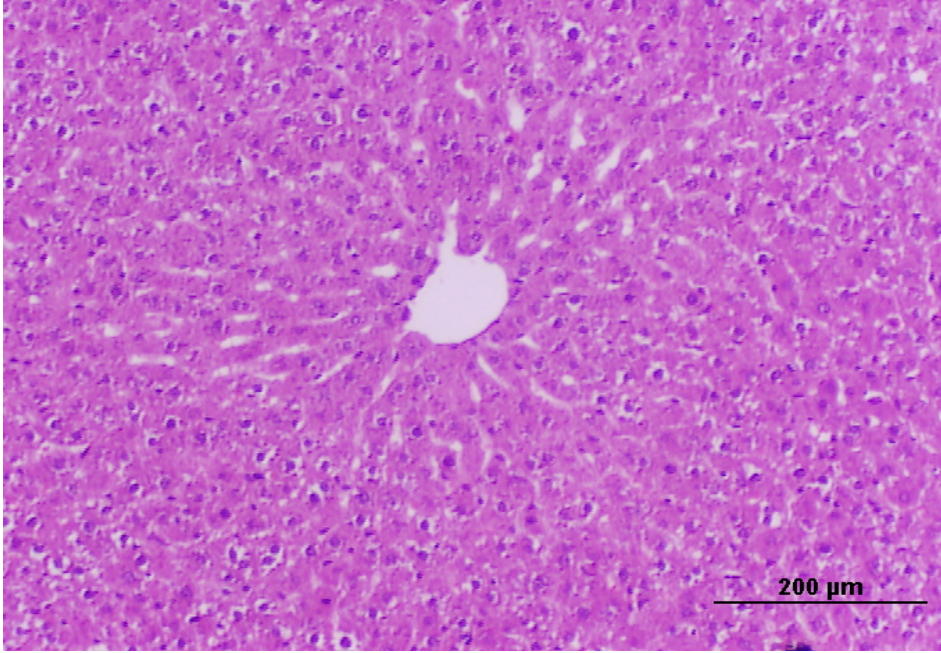
Tablo 4.3.1' de yer alan veriler değerlendirildiğinde kontrol grubu ile 1. 2. ve 3. günlerde sadece TNBS verilen gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

Kontrol grubu ile 2. 3. ve 4.günlerde TNBS+L-NAME (40mg/kg) gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

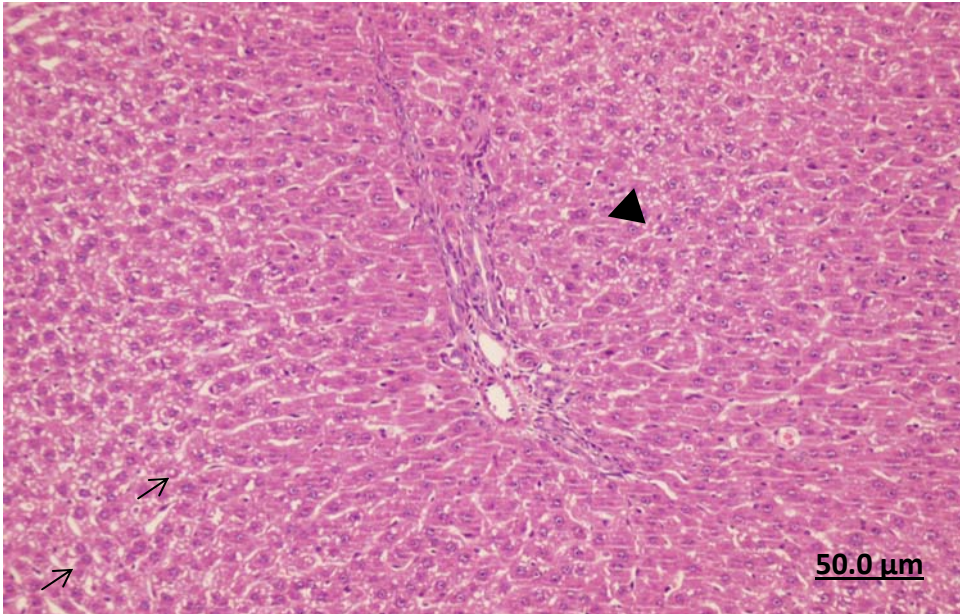
Kontrol grubu ile 2. 3. ve 4. günlerde TNBS+zeytinyağı gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Kontrol grubu ile 2. 3. ve 4. günlerde TNBS+Likopen 10mg/kg gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

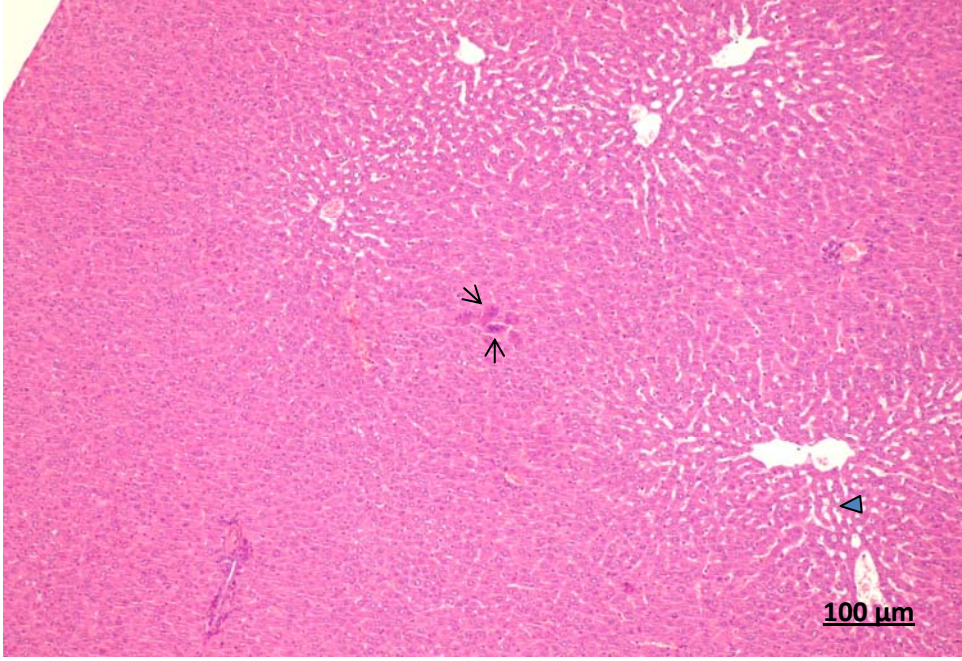
Bu alışma büyük bir çalışmanın parçası olarak gerçekleştirilmesinden dolayı bazı ortak parametreler iki farklı tezde kullanılmıştır. Bu çalışmadaki doku resimleri Mustafa CENGİZ' in izniyle ortak olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.3.1. Kontrol grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE,X40) vena sentralis yapısı, sinüzoidleri ve hepatosit hücre yapılarıyla normal histolojik yapıdaki KC yapısı.



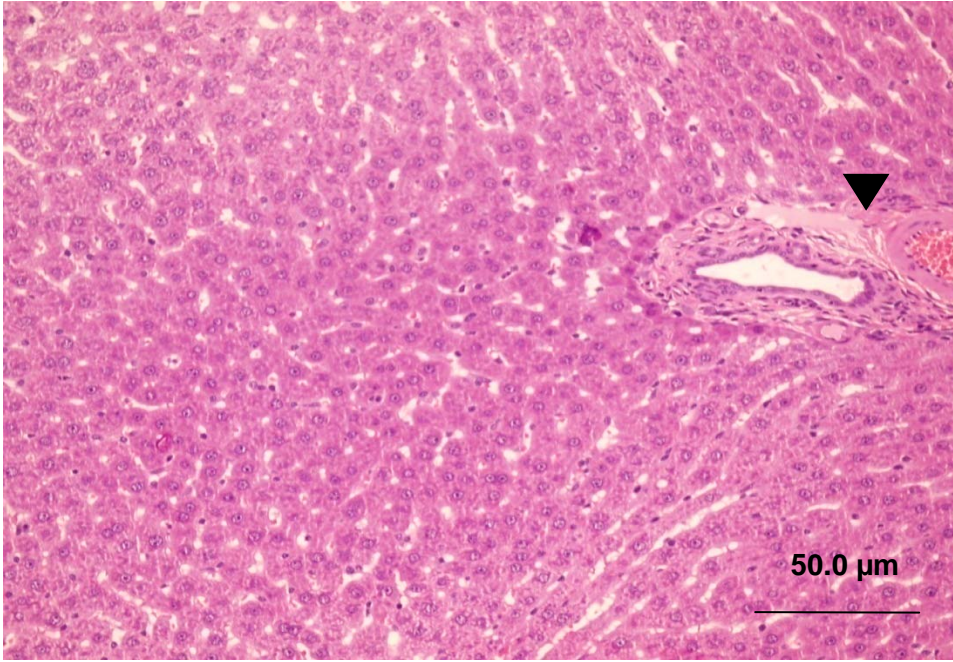
Şekil 4.3.2. 1.gün TNBS grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, x20) parankimde hepatosit hücrelerinde vakuolizasyon (ok), portal alanda çok az da olsa iltihabi hücreler (ok başı) görülmekte.



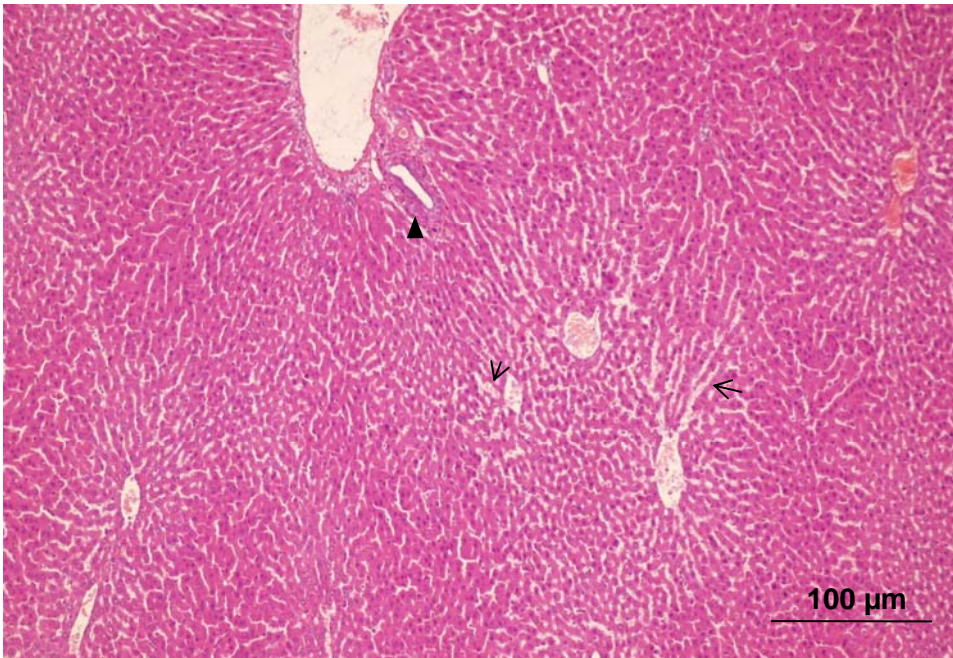
Şekil 4.3.3. 1.gün TNBS+L-name grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE,X10) parankimde eozinofilik sitoplazmalı koyu renk nükleuslarıyla birkaç nekrotik hücre dikkat çekmekte (ok) ayrıca az da olsa sinüzoidal dilatasyon görülmekte (ok başı).



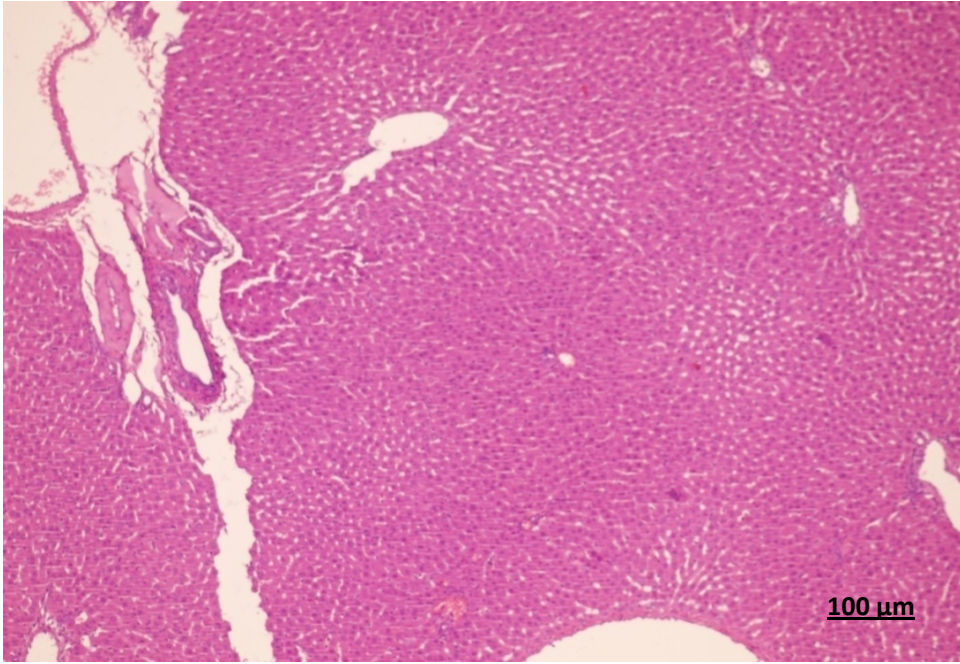
Şekil 4.3.4. (a) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X10) portal venlerde kısmi genişleme (ok) ve portal alanda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



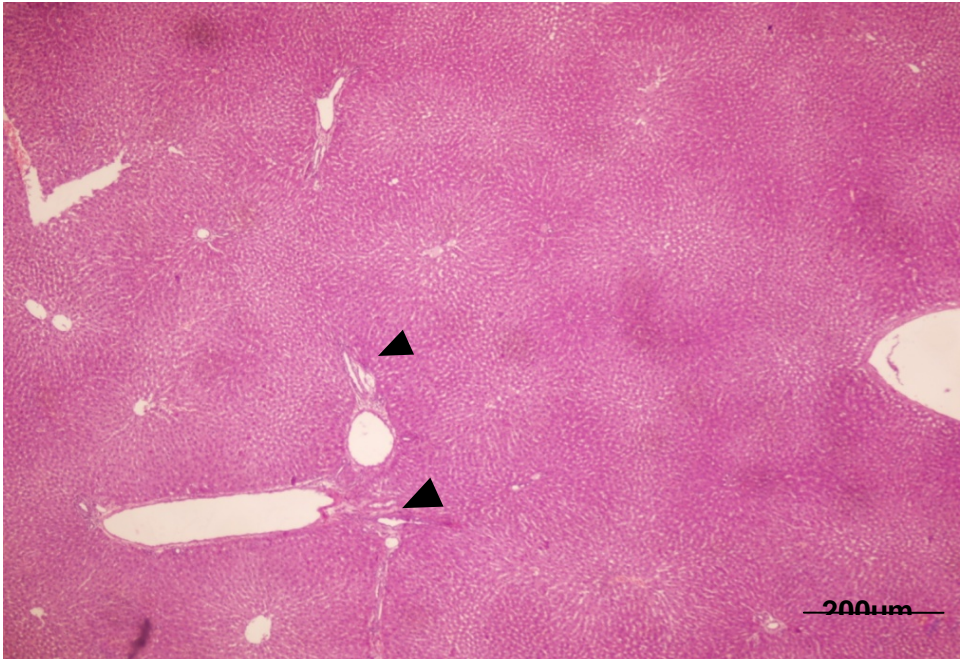
Şekil 4.3.4. (b) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X20) portal alanda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



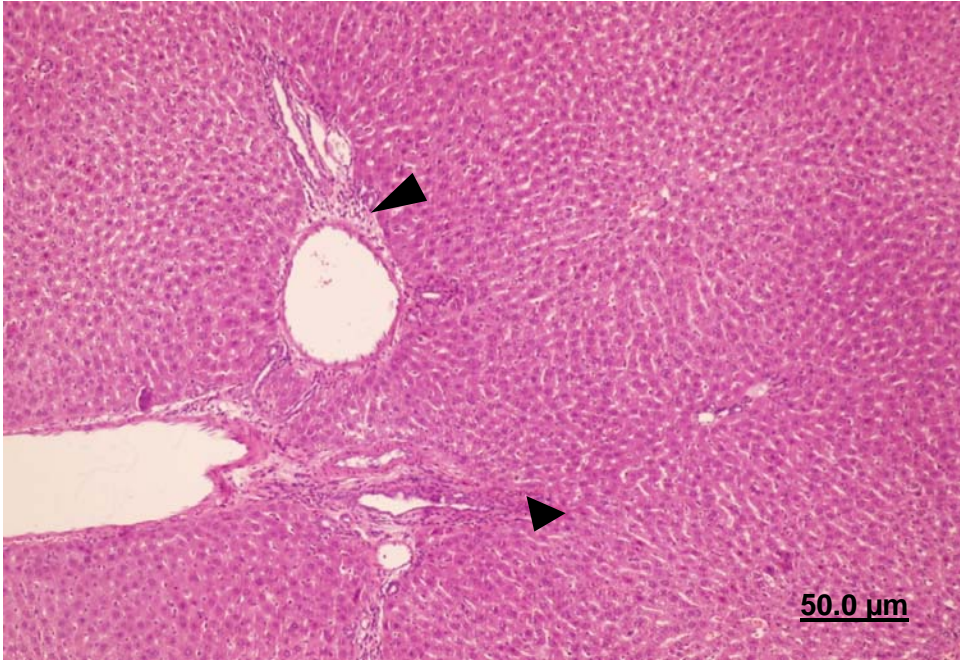
Şekil 4.3.5. 1.gün TNBS+likopen 10mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, x10) az da olsa portal alanda iltihabi birkaç hücre (ok başı), sinüzoidal dilatasyonlar (ok) görülmekte.



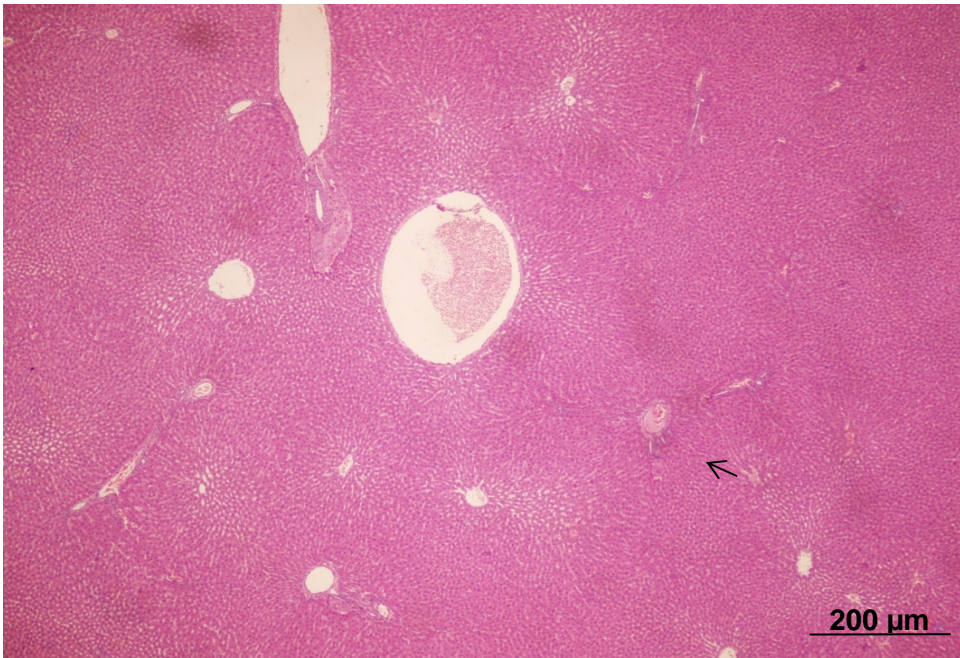
Şekil 4.3.6. 2.gün TNBS 120 mg/kg grubu deneklere ait karaciğer dokusu (HE,X10). Portal alanlarda hafif nonspesifik iltihabi hücreler, portal venlerde genişleme ve sinuozidlerde hafif genişleme.



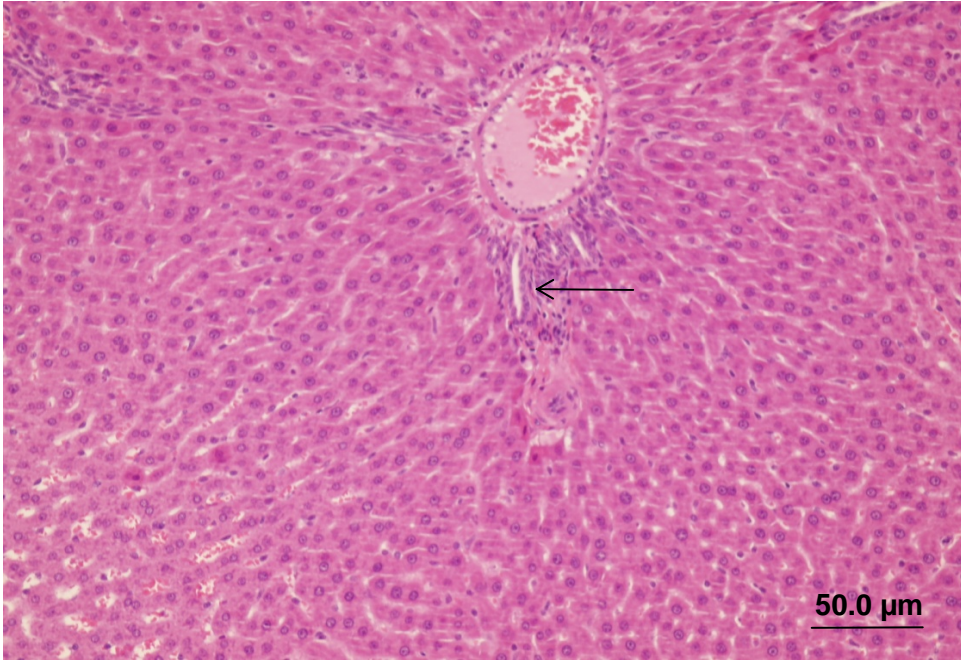
Şekil 4.3.7. (a) 2. Gün TNBS+L-name 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4) gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



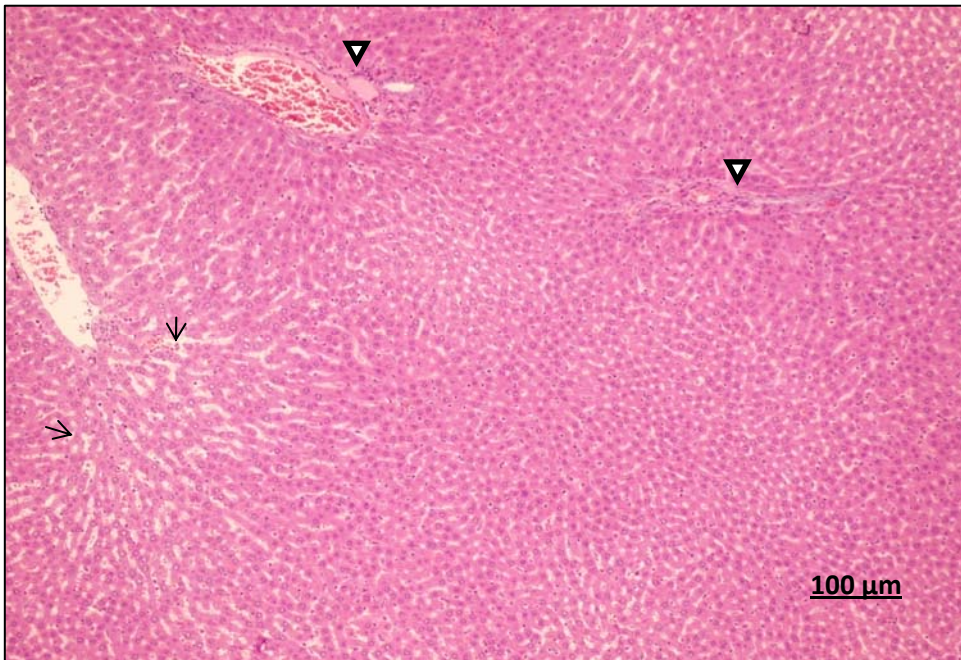
Şekil 4.3.7. (b) 2. Gün TNBS+L-name 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X20) gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



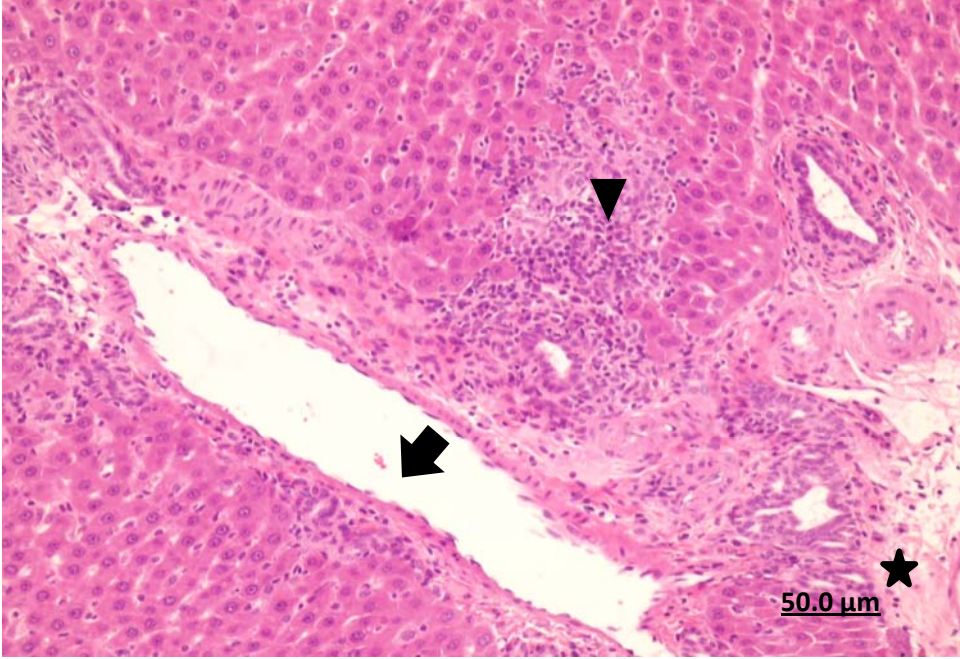
Şekil 4.3.8. (a) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4) normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler (ok) gözlenmekte.



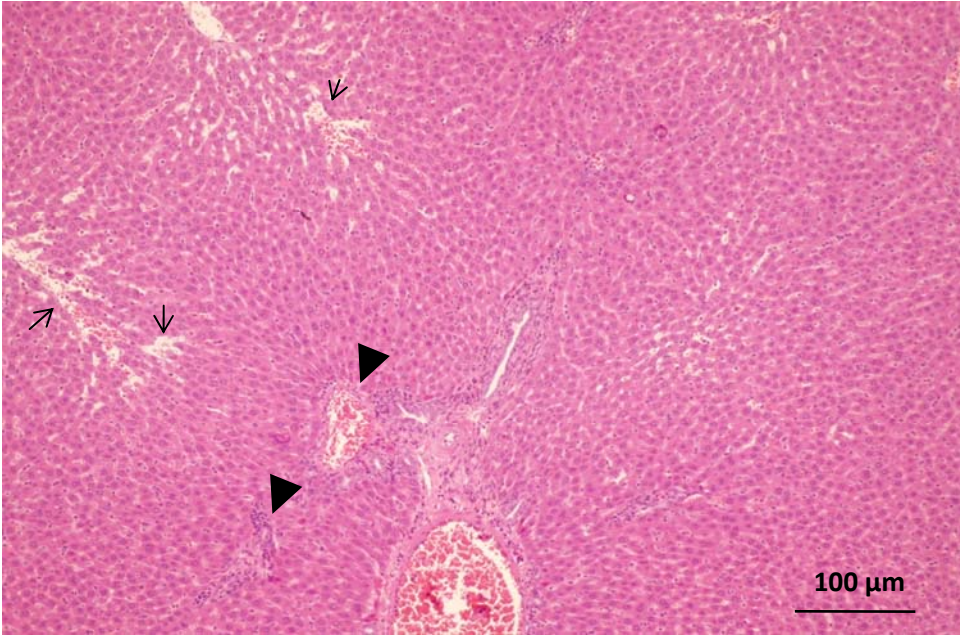
Şekil 4.3.8. (b) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X20) normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler (ok) gözlenmekte.



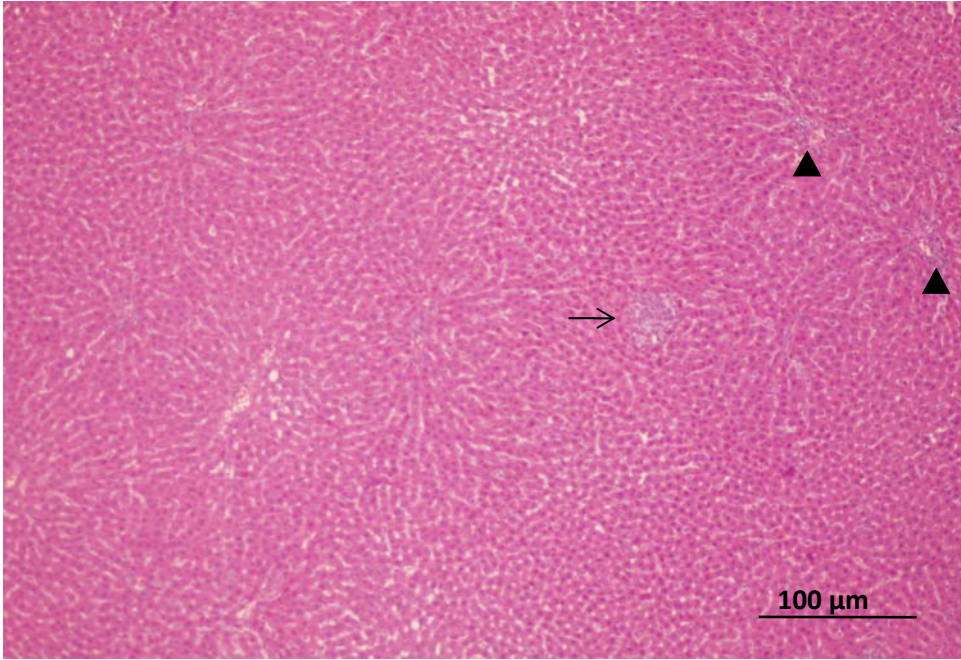
Şekil 4.3.9. 2.gün TNBS+likopen 10mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, x10) normale yakın KC yapısı. Ancak portal alanlarda nonspesifik kısmi iltihabi hücreler (ok başı) ve parankimde bazı bölgelerde az da olsa sinüzoidal dilatasyon görüldü (ok).



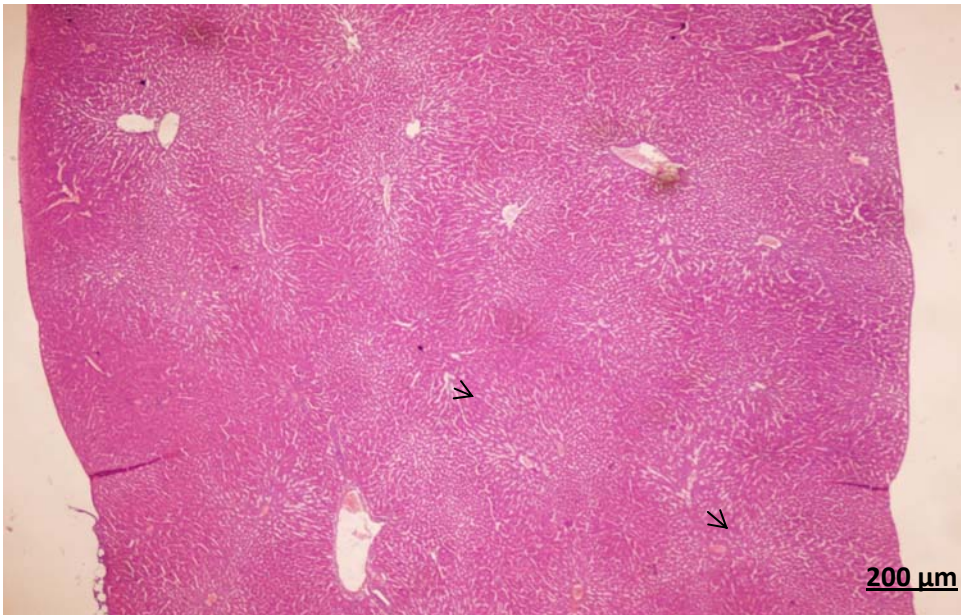
Şekil 4.3.10. 3.gün TNBS+120mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, x20) diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında KC’de daha fazla hasar gözlendi. Özellikle portal alanda yoğun iltihabi hücreler (ok başı), kısmi ödem (*) ve portal venlerde dilatasyon görüldü. (ok) (HE, x20).



Şekil 4.3.11. 3.gün TNBS+L-name grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, X10) portal alanda TNBS grubuna oranla daha az olmakla beraber iltihabi hücreler (okbaşı) ve parankimde bazı alanlarda sinüzoidlerde dilatasyon (ok) görüldü.



Şekil 4.3.12. 3.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, X10) parankimde yer yer nekroz alanları (ok) ve portal alanda az da olsa iltihabi hücreler görülmekte (ok başı).



Şekil 4.3.13. 3.gün TNBS+likopen 10mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, x4) normale yakın histolojik yapıda gözlenen KC yapısı. Sadece birkaç alanda kısmi sinüzoidal dilatasyonlar görülmekte (ok).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kolitin, oksidatif strese ve karaciğer hasarına neden olduğu uzun süredir bilinmektedir (Kleckner et al., 1952). Çeşitli nedenlerle oluşan oksidatif stres ve doku hasarını önlemede birçok doğal ve sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Bu amaçla çalışmamızda AO ve hücre koruyucu etkileri olduğu bilinen Likopen' in ve sentetik bir iNOS inhibitörü olan L-NAME ile Likopen' i çözmek için kullandığımız zeytinyağının kolit nedenli karaciğer hasarını önlemede muhtemel koruyucu etkilerini test ettik.

Nitekim epidemiyolojik çalışmalardan sağlanan delillere göre de yüksek oranda karotenoidce zengin sebze ve meyve alınımı insanlarda yaygın bir şekilde görülen, kolon, mide ve prostat kanserine karşı koruduğu gözlenmiştir [Giovannucci, 1999; Dorgan et al., 2000; Erhardt et al., 2003].

Kolit, etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış, ekstraintestinal bulguları olabilen barsağın, kronik nonspesifik inflamatuvar hastalığıdır [Dieleman et al., 1994]. Hastalığın etiyolojisi ve patogenezinde, genetik ve çevresel faktörler başta olmak üzere (Fiocchi et al., 1998); mikroorganizmalar veya onların antijenleri (Duchman et al., 1995) ve bağışıklık sistemi bozuklukları (Fuss et al., 1996) rol oynamaktadır.

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBD) sıklıkla diğer organ ve sistemlerin de etkilendiği gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Ekstraintestinal bulguların spektrumu oldukça geniştir; göz, eklem, hematolojik sistem tutulumu başta olmak üzere, kemik, renal, hepatobiliyer sisteme kadar birçok sistemi kapsamaktadır [Higuchi et al., 2001]. İBD' li hastalarda hepatobiliyer komplikasyonlar, kolelithiasis (safra kesesi taşı), yağlı karaciğer, primer sklerozis kolangitis, kronik aktif hepatitis, amiloidozis, biliar karsinoma ve karaciğer absesine neden olur [Williams et al., 1987].

İlk kez 1873 yılında tanımlanmış olan ülseratif kolit ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişkinin ardından ülseratif kolitte karaciğer fonksiyon bozuklukları ile ilgili birçok makaleler takip etmiştir [Kleckner MS et al., 1952]. İnflamatuvar barsak hastalığı ile hepatobiliyer anormallikler arasındaki ilişki iyi tanımlanmış olsa da bu

olgunun patolojik temeli hala tam olarak açıklanamamıştır. Ancak otoimmünite, genetik faktörler, virüs enfeksiyonları ve barsak kaynaklı toksinlerin karıştığı birçok hipotezler öne sürülmüştür [Chapman, 1991]. İnflamatuvar barsak hastalığı esnasında, barsak epitelyumunun geçirgenliğin artması bakteri antijenlerinin lamina propria ya girişine izin verir [Olasion et al., 1990; Teahon et al., 1991]. Endotoksin gibi bakteriyel ürünler karaciğere ulaştığında, bu durum bir inflamatuvar reaksiyon ile sonuçlanabilir. Safra yolları civarı özellikle bu inflamasyona karşı hassastır [Sherlock, 1991].

TNBS, deneysel olarak kolit oluşturmada yaygın olarak kullanılan bir kimyasal ilaçtır [Morris et al.,1989; Neurath et al., 1995; Dohi et al.,2000]. Brand ve arkadaşları (1994) yaptıkları deneysel bir çalışmada sıçanlara TNBS verdiklerinde hepatobiliyer değişim olmaksızın düşük düzeyde portal ve sistemik endotoksemia gözlenmiştir. Öte yandan karaciğer hücrelerinde sıkı bağlantı bölgelerinin geçirgenliğinin arttığı ve hepatobiliyer komplikasyonlar ile kolitin ilişkisi, TNBS nedenli kolitli ratlarda biliyer fonksiyonlarda hasarlarla gözlenmiştir [Lora et al., 1997; Kawaguchi et al., 2000].

Perrett ve ark. (1971) yaptıkları deneysel çalışmada ülseratif kolitli hastaların %15 ve %25' inde biyokimyasal karaciğer fonksiyon testlerinin anormal olduğu bulunmuştur. Ayrıca Broome ve arkadaşları (1994) yaptıkları çalışmada kolit olan bireylerde çeşitli karaciğer-safra kanalı anormallikleri ve aminotransferaz (ALT ve AST) aktivitelerinin arttığı vurgulanmıştır. Son zamanlarda ülseratif kolitli hastaların %2,3' ünde karaciğer bozuklukları rapor edilmiştir [Wever ve ark., 1991].

Nitekim bizim çalışmamızda da biyokimyasal parametreler artan günler itibariyle (1. 2. ve 3. günler) oluşan hasarlar gözlenmiştir. Biyokimyasal değerlerimizde ALT, AST ve LDH 1. 2. ve 3. değerleri kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır (şekil 4.1.1., 4.1.2., 4.1.3.).

1.gün ALT değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %132, TNBS+L-NAME grubunda %140, TNBS+zeytinyağı grubunda %101 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %66 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün ALT

değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %100, TNBS+L-NAME grubunda %84, TNBS+zeytinyağı grubunda %80,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %44 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün ALT değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %84, TNBS+L-NAME grubunda %56, TNBS+zeytinyağı grubunda %56,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %17 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün AST değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %91,6, TNBS+L-NAME grubunda %77,7, TNBS+zeytinyağı grubunda %70,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %52,6 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün AST değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %78, TNBS+L-NAME grubunda %66,7, TNBS+zeytinyağı grubunda %63,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %32,3 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün AST değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %65, TNBS+L-NAME grubunda %49,5, TNBS+zeytinyağı grubunda %37,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %10 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün LDH değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %173,6, TNBS+L-NAME grubunda %169,6, TNBS+zeytinyağı grubunda %154,2 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %107 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün LDH değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %152, TNBS+L-NAME grubunda %138,4, TNBS+zeytinyağı grubunda %130,5 ve TNBS+10 mg/kg Likopen grubunda %89,3 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün LDH değerleri; kontrol grupları ile sırasıyla karşılaştırıldığında TNBS grubunda %142,5, TNBS+L-NAME grubunda %117,5, TNBS+zeytinyağı grubunda %113,5 ve TNBS+10mg/kg Likopen

grubunda %47 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1.gün ALT değerleri; TNBS grupları ile sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen grupları karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %3 oranında daha düşük bir artış ($p>0.05$) göstermiş olmasına rağmen, zeytinyağı grubundan %13.5 ve 10 mg/kg Likopen grubundan %28,1' lik bir artış göstermiş olup bu artışlar istatistiksel açıdan ileri derecede önemli fark olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün ALT değerleri; TNBS grupları ile sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %8, zeytinyağı grubundan %11,10 mg/kg Likopen grubundan %30 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün ALT değerleri TNBS grupları sırası ile L-NAME, zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %15, zeytinyağı grubundan %15,10 mg/kg Likopen grubundan %35 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün AST değerleri TNBS grupları sırası ile L-NAME, zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında, L-NAME grubundan %7.2, zeytinyağı grubundan %11.3, 10 mg/kg Likopen grubundan %20,3 artma göstermiş olup bu artışlar istatistiksel açıdan ileri derecede önemli fark olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). L-NAME grubundan %7, zeytinyağı grubundan %9,10 mg/kg Likopen grubundan %26 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün AST değerleri TNBS gruplarıyla sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen gruplarıyla karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %10, zeytinyağı grubundan %17,10 mg/kg Likopen grubundan %34 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün LDH değerleri TNBS grupları sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen gruplarıyla karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %7,10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün LDL değerleri TNBS gruplarıyla sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen gruplarıyla

karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %9,10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün LDH değerleri TNBS gruplarıyla sırasıyla L-NAME, zeytinyağı ve Likopen gruplarıyla karşılaştırıldığında L-NAME grubundan %10.5, zeytinyağı grubundan %12,10 mg/kg Likopen grubundan %40 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün ALT değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %16,10 mg/kg Likopen grubundan %30 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). 2. gün ALT değerleri; L-NAME gruplarıyla sırasıyla zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %3,6 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna rağmen 10 mg/kg Likopen grubundan %23,5 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün ALT değerleri L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %3 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşılık 10 mg/kg Likopen grubundan %25 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün AST değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %4.3 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşılık 10 mg/kg Likopen grubundan %15 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). 2.gün AST değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %2,2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna rağmen 10 mg/kg Likopen grubundan %27 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün AST değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %8,10 mg/kg Likopen

grubundan %27 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün LDH değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşılık 10 mg/kg Likopen grubundan %20 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün LDH değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %3,2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşılık 10 mg/kg Likopen grubundan %20,5 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün LDH değerleri; L-NAME grupları sırası ile zeytinyağı ve Likopen grupları ile karşılaştırıldığında zeytinyağı grubundan %2 oranında artma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 10 mg/kg l Likopen grubundan %32,3 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün ALT değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %21 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). 2. gün ALT değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %21 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3.gün ALT değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %15 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 10 mg/kg Likopen grubundan %23,3 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün AST değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %12 artma göstermiş olup istatistiksel

olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). 2. gün AST değerleri zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %20 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün AST değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %23,3 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$).

1. gün LDH değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %19 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli kabul edilmiştir ($p<0.001$). 2. gün LDH değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen grubundan %18 artma göstermiş olup, bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 3. gün LDH değerleri; zeytinyağı grupları Likopen grupları ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg Likopen gruplarından %31 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

DeneySEL sonuçlarımız göz önüne alındığında, kolitte karaciğer hasarının geliştiği düşüncesi diğer deneysel ve klinik çalışmaları desteklemekte ve Likopen' in koruyucu etkilerinin olduğu düşüncesini doğrulamaktadır. Ayrıca bir iNOS inhibitörü olan L-NAME Likopen kadar koruyucu olmamakla birlikte akut etkisinin TNBS' ye sinerji gösterdiği gözlenmiştir.

TNBS nedenli kolitin portal endotoksinemi ile sonuçlanmasının ispatı, TNBS uygulanan hayvanların portal kanlarında endotoksinin ortaya çıkmasıdır. Benzer şekilde NO metabolitlerinde portal konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. [Masubuchi et al., 2007]. Dahası TNBS nedenli kolitte gelişen karaciğer hasarının iltihaplanmanın büyüklüğüne göre değişim gösterebileceği çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarla ortaya konmuştur. Fakat yapılan deneysel çalışmada karaciğer hasarına neden olacak kadar yüksek olmayan endotoksin konsantrasyonundan dolayı 100 mg/kg TNBS nedenli kolitli ratlarda karaciğer hasarına dair bir işaret bulunamamıştır [Neilly et al., 1995]. Diğer taraftan Masubuchi ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada portal endotoksin miktarı artmasına rağmen, 100 mg/kg TNBS nedenli kolitli hayvanlarda

karaciğer hasarına dair bir bulgu bulunamamış ancak portal vende artan interlökin- 6 düzeyleri saptanmış ve bununda olası karaciğer hasarını önlediği ileri sürülmüştür. Bu durum kolit nedenli karaciğer hasarının birçok faktöre bağlı gelişen bir anomali olduğu anlamına gelebilir. Ayrıca deneysel kolit oluşturmak üzere kullanılan ajanın dozu ve uygulanma süresi de oluşan hasarın büyüklüğünü etkileyebilir. Nitekim ülseratif kolitli hastaların karaciğer biyopsi örneklerinde yağlı karaciğer, portal alanların iltihaplanması, kolangitis, perikolangitis ve skleroz kolangitis, dahil karaciğer anomalilerine rastlanması (Williams and Harned, 1987) ve ülseratif kolit ve Crohn's hastalığı olan insanlarda anormal karaciğer fonksiyon testlerinin sıklığının yaklaşık %17'ye ulaşması (Wever et al., 1991) bizim çalışmamızdan elde edilen bulguları ve düşüncelerimizi destekler niteliktedir.

Kolit ile ilgili yapılan çalışmalarda, nitrik oksitten (NO) türeyen serbest radikallerin (peroksinitrit ve oksijen radikalleri), oluşan harabiyeti daha fazla artırdığı belirlenmiştir [Dijkstra et al., 1998; Kimura et al., 1998; Grishman et al., 1999; McCafferty et al., 2001].

Çalışmamızda karaciğer doku hasarını incelemek için immunohistokimyasal (TNF-alfa) sonuçlara başvurulmuştur. Çalışmamızın immunohistokimya kısmı karaciğer hasarını biyokimyasal parametreler kadar yansıtamamıştır. Bu durum boyama süreci ya da alınan TNF- α kitinin kalitesiyle ilgili olabilir. Zira histolojik sonuçlarımız biyokimyasal sonuçlarımız kadar olmasa da karaciğer doku hasarını yansıtmaktadır.

Biyokimyasal parametrelerle ilgili sonuçlarımız karaciğer dokusunun hasarlandığını çok bariz bir şekilde göstermekte olup histolojik bulgularımızda bunu desteklemektedir. Sadece 120 mg/kg TNBS verilen deney grubunda karaciğer dokusunda ödem, vakuolizasyon, portal ven dilatasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve iltihabi hücreler gibi karaciğer hasarını gösteren değişimler meydana gelmiş (şekil 4.3.2., 4.3.6. ve 4.3.10.) ve bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p < 0.05$). Ayrıca günlere göre hasarın azalmış olması da karaciğer dokusunun kendisini yenileyebilme özelliğinin göstergesi olup diğer taraftan TNBS ile Likopen verilen gruptaki biyokimyasal parametreler 3. Günde hemen hemen kontrol seviyesine inmiş olması Likopen' in koruyucu etkisini vurgulamaktadır. Bu koruma TNBS+L-NAME ve

TNBS+zeytinyağı gruplarında TNBS+10 mg/kg Likopen' e göre daha azdır (şekil 4.3.1.). Kontrol grubu ile 1. 2. ve 3. günlerde TNBS+L-NAME (40mg/kg) ve TNBS+zeytinyağı grupları karşılaştırıldığında deney gruplarının karaciğer dokusunda ılımlı sayılabilecek hasarlar olmasına rağmen bu hasarlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu durum kolitte karaciğer hasarını önlemek için kullandığımız L-NAME, Zeytinyağı ve Likopen' in koruyucu oldukları anlamına gelmektedir. Ancak en etkili koruma 10 mg/kg Likopen verilen deney grubunda görülmüştür ve biyokimyasal parametrelerimizde bunu doğrulamaktadır.

Serbest radikaller; ortaklanmamış elektron içeren, reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir. Birçok hastalık, doku yıkımı, serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşur. Organizmada serbest radikal reaksiyonları birçok AO sistemi ile kontrol edilir [Kurt et al., 2005]. AO' lar serbest radikal oluşumunu önleyen veya zincir kıran yapılar olarak iş görürler. Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit düsmutaz (SOD) gibi bazı endojen AO enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres şeklinde etkilerini gösterirler [Kurt et al., 2005]. Vitamin E, selenyum, vitamin C ve karotenoidler gibi AO maddeler ilaç ve ksenobiotiklerin oluşturdukları oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkilere sahiptirler [Antunes et al., 2000; Naziroğlu et al., 2004; Reifen et al., 2004].

Karotenoidlerin oksidatif stres üzerine etkisine dair pek çok araştırmalar yapılmıştır. Domates ve domatesten elde edilen ürünler Likopen ve diğer benzeri karotenoidleri içerir. Likopen, bir alifatik hidrokarbondur ve doğal olarak bulunan yaklaşık 600 karotenoidden bir tanesidir. Karotenoidlerin lipid peroksidasyonuna ve etkin oksijen gruplarının oluşmasına karşı güçlü etkilerinin olduğu bilinmektedir [Gupta et al., 2003]. Tüm karotenoidler gibi Likopen' in etkin oksijen gruplarıyla ilişkili yüksek düzeydeki oksidatif strese karşı etkisi gözlenmiştir [Karahana et al., 2005]. Likopen' in kanda ve karaciğerde oluşturulan oksidatif hasara karşı faydalı etkilerine

katkıda bulunan mekanizmalarından biri onun antioksidan aktiviteye sahip olmasıdır [Karahana et al., 2005]. Singlet oksijen ile serbest radikallerin etkilerini önlemede önemli bir AO olan Likopen çeşitli oksidatif hasarlar, toksisite ve diğer hastalıkların önlenmesine katkıda bulunmaktadır. En etkili oksijen süpürücüler arasındadır [Stahl et al., 1997]. Bundan dolayı, karotenoidler arasında Likopen biyolojik etkin oksijen gruplarına karşı daha etkili, bir antioksidandır ve hem in vivo hem de in vitro doku ve hücrelerin iyileşme ya da korunmasına katkıda bulunmaktadır [Reifen et al., 2004; Matos et al., 2000; Velmurugan et al., 2002]. Ayrıca yapılan deneysel çalışmalarda göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, alzheimer hastalığını önleyen kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan Likopen, AO özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır [Aşıcıoğlu, 2005]. Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Antiinflatuvar etkisi gözlenmiştir [Reifen et al., 2004].

2001 yılında, İsrail’ de yapılan bir araştırmada Wardi ve arkadaşları, tioasetamin verilerek siroz yapılan farelerde Likopen’ in etkisini araştırmış, fibrozisin azaldığı gösterilmiş ancak marker olarak kullanılan hepatik hidroksiprolin seviyelerinde istatistiksel anlamlı bir sonuca ulaşamamıştır.

Yaping ve ark. 2002 yılında, yaptıkları bir çalışmada, insan ve hayvanlarda hepatotoksisite oluşturan bir ksenobiyotik olan CCl₄ metabolizmasında oksijen varlığında oluşan triklorometil peroksil radikale (CCl₃O₂•) karşı Likopen’ in AO aktivitesini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, Likopen’ in absorbe edildiği yerde renginin açıldığı görülmüştür. Bu da Likopen’ in CCl₃O₂• ile kolayca reaksiyona girdiğini göstermektedir. Çalışmanın sonucunda CCl₄ ile hasar verilmiş sıçanlarda hayatta kalma süresinin artması üzerine, Likopen’ in faydalı etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Velmurugan ve ark. 2002’ de yaptığı çalışmada, sodyum kloritin varlığında N-metil-N- nitro-N-nitrosoquanidin (MNNG) ile tümör geliştirdikleri sıçanların kanında lipit peroksidasyonun seviyesinin arttığı, antioksidan bir enzim olan GPx aktivitesinin de düştüğü görülmüş, Likopen verilmesinden sonra lipit peroksidasyon seviyesinin düştüğü, GPx enzim aktivitesinin de arttığı bulunmuştur.

Tüm bu bulgular Likopen' in AO ve hücre koruyucu etkilerinin olduğu yönündeki deneysel sonuçlarımızı desteklemektedir. Ancak bu konuda daha çok sayıda çalışma yapılmasına gerek vardır.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdelkader SV, Hauge JG, (1986) Serum enzyme determination in the study of liver disease in dogs. *Acta Vet. Scand.* 27: 59-65
- Acworth, I., McCabe, D., Mather, T., (1997) The analysis of free radicals, their reaction products, and antioxidants, *Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals*, Taylor & Francis Washington, Dc., 23-77.
- Ames, BN., Gold, LS., Willet, WC., (1995) Causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92: 5258-5265.
- Ames, BN., Shigenaga, MK., Hagan, TM., (1993) Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 90: 7915-7922.
- Amir, H., Karas, M., Giat, J., Danilenko, M., Levy, R., Yermiahu, T., Levy, J., Sharoni, Y., (1999) Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin-D3 cooperate in the inhibition of cells cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutr Cancer.* 33: 105-112.
- Anderson JM, Van Itallie CM. (1995) Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. *Am J Physiol*, 269: G467-G475.
- Antunes, LM, Darin, JD, Bianchi, MP. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats. *Pharmacol Res* 2000; 41 (4): 405-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Aruoma O., Kaur H., Halliwell B., Review 1 (1991) Oxygen free radicals and human diseases. *J R Soc Health.* 111(5): 172-7
- Bargen JA. (1928) Chronic ulcerative colitis associated with malignant change. *Arch Surg* 17: 561-76
- Bast, A., Haenen, GR., van den Berg, R., van den Berg, H., (1998) Antioxidant effects of carotenoids. *Int j Vitam Nutr Res.* 68: 399-403.
- Blumberg, RS., and Strober, W., (2001), Prospects for reserch in Inflammatory Bowel Disease. *JAMA,* 285, 643.
- Boileau TW., Clinton SK., Zaripheh S., Monaco MH., Donovan SM., Erdman JW. Jr.: (2001) Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene isomer concentrations in male F344 rats. *J Nutr.* 131(6): 1746-52.
- Bradham CA, , Plümpe J, Manns MP, Brenner DA., and Trautwein C (1998) Mechanisms of Hepatic Toxicity I. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 275: 387-392.
- Bramley PM., Review (2000) Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry.* 54(3): 233-6.
- Brand H.S., Maas M.A.W., Bosma A., Van Ketel R.J., Speelman P., MD, and R.A.F.M. Chamuleau, MD, (June 1994), Experimental Colitis in Rats Induces Low-Grade Endotoxemia Without Hepatobiliary Abnormalities. *Digestive Diseases arut Sciences, VoL 39, No. 6 (June 1994), pp. 1210-121*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Broome U, Glaumann R, Hellers G, Nilsson B, Sorstad J, Hulcrantz R, (1994) Liver disease in Ulcerative colitis: an epidemiological and follow up study in the county of Stockholm. *Gut*, 35: 84-89.

Cadenas E., Packer L., (1996) *Handbook of antioxidants*. Marcel Dekker. Inc. New York

Canene-Adams K., Campbell JK., Zaripheh S., Jeffery EH., Erdman JW. Jr., (2005) The tomato as a functional food. *J Nutr.* 135(5): 1226-30

Chapman RW (1991) Primary sclerosing cholangitis. Clinical presentation, pathogenesis and treatment. In *Autoimmune Liver disease*. El Krawitt, RH Wiesner (eds). New York, Raven Press pp 192-203.

Cheeseman KH., Slater TF. Review (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 49(3): 481-93

Clinton SK., Emenhiser C., Schwartz SJ., Bostwick DG., Williams AW., Moore BJ., Erdman JW. Jr., (1996) cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 5(10) :823-33.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Cochrane CG., (1991) Cellular injury by oxidants. *Am J Med.* 30; 91(3C): 23-30

Conn, PF., Schalch, W., Truscott, TG., (1991) The singlet oxigene and carotenoid interaction. *Photobiol.* B11: 41-47.

Curtin,J.F., Donovan, M., Cotter, T.G., (2002) Regulation and mesurement of oxidative stres in apoptosis, *J. Immunol Methods*, 265: 49-72.

Deby C., Pincemail J., (1988) Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms. In: Rökan (Ginkgo Biloba). Recent result in pharmacology and clinic. Ed: Fünfgeld EW. Springer- Verlag, Berlin pp: 57-70.

Dieleman LA, Goerres MS, Arends A, Sprengers D, Torrice C, Hoentjen F, Grenther WB, Sartor RB. Lactobacillus GG prevents recurrence of colitis in HLA-B27 transgenic rats after antibiotic treatment. *Gut.* 2003; 52:370–6.

Dorgan JF., Sowell A., Swanson CA., Potischman N., Miller R., Schussler N., (2000) Stephenson HE. Jr. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett.* 30; 154(2): 201-10.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Duchman, R., Kaiser, I., and Hermann, E., (1995) Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease(IBD): Clin Exp Immunol, 102: 448-455.

Elias E, Iqbal S, Knutton S, Hickey A, Coleman R. (1983) Increased tight junction permeability: a possible mechanism of oestrogen cholestasis. Eur J Clin Invest, 13: 383-390.

Erhardt JG., Meisner C., Bode JC.,(2003) Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas. Am J Clin Nutr. 78(6): 1219-24.

Esterbauer, H., (1996) Estimation of peroxidative damage, a critical review, Pathol. Biol. (Paris), 44: 25-28.

Ettinger SJ, Feldman EC, (1995) Textbook of veterinary internal medicine. Vol:2, W.B. Saunders Comp, Philadelphia, USA.1261-1371.

Fiocchi, C., (1998) Inflammatory Bowel Disease: Etiology and pathogenesis: Gastroenterology, 115: 182-205.

Fridovich, I., Superoxide radical: an endogenous toxicant, (1983) Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 23: 239-257.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Fuss, IJ., Neurath, M., and Boirivant, M., (1996) Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease: Chorn's LP cells manifest increased secretion of IFN- γ , whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5: *J. Immunol*, 157: 1261-1270.

Gaskin F.S, Farr S.A, Banks WA, Kumar VB, Morley JE., (2004) Ghrelin-induced feeding is dependent on nitric oxide. *Peptides*, 24: 913- 918.

Ghosh, S., Shand, A., and Ferguson, A., (2000). Ulceratif Colitis. *Br. Med. J*, 320: 1119- 1123.

Giovannucci E.: (1999) Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*. 17; 91(4): 317-31.

Grisham MB., Mc Cord JM., (1986) Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: *Physiology of oxygen radicals*. Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Phsiology Society, Bethesda, Maryland, USA, pp: 1-18.

Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma, SD. Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutr* 2003; 19: 794-799.

Halliwell, B., Aeschbach R., Loliger, J., Aruoma, O. I., (1995) The characterization of antioxidants, *Food and Chemical Toxicology*, 33: 601-617.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Halliwell, B., (1999) Antioxidant defencemechanism: from the begining to the end (of the begining), Free Radical Rsearch, 31: 261-272.

Handelman GJ., (2001) The evolving role of carotenoids in human biochemistry. Nutrition. 17(10): 818-22.

Harats, D., Chevion, S.,Nahir, M., Norman, Y., Sagee, O., Berry, E., (1991) Citrus fruit supplementation reduced lipoprotein oxidation in young men ingesting a diet high in saturated fat: presumptive evidence for an interaction between vitamin C and E in vivo. Am J Clin Nutr. 67: 240-245.

Hardison WGM. (1993) Hepatocellular tigth junctions. Role of canalicular permeability in hepatobiliary transport. İn: Tavoloni N, Berk PDB, eds. Hepativ transport and bile secretion: physiology and pathophysiology. New York: Raven, 571-585.

Hecht G, Koutsouris A, PothoulakisC, amont JT, Madara JL. (1992) Clostridium difficile toxin B distrups the barrier function of T84 monolayers. Gastroenterology, 102: 416- 423.

Higuchi LM, Joffe S, Neufeld EJ, et al. (2001) Inflammatory bowel disease associated with immune thrombocytopenic purpura in children. JPGN 33: 582-587.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Kankuri E, Asmawi MZ, Korpela R, Vapaatalo H and Moilanen E (1999) Induction of iNOS in a rat model of acute colitis. *Inflammation* 23:141–152.

Kaplan LA., Lau JM., Stein EA., (1990) Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem.* 8(1): 1-10.

Karataş F, Aşkın U, halifeoğlu İ, Dönder E (2006) Guatrlı Hastalarda Antioksidan Vitaminler(A,E,C), Selenyum Glutatym Peroksidaz (GSH-Px) düzeylerinin Araştırılması, F.Ü. Sağ. Bil.Der., 20(4):277-280.

Kawaguchi T, Sakisaka S, Mitsuyama K, Harada M, Koga H, Taniguchi E, Sasatomi K, Kimura R, Ueno T, Sawada N, et al. (2000) Cholestasis with altered structure and function of hepatocyte tight junction and decreased expression of canalicular multispecific organic anion transporter in a rat model of colitis. *Hepatology* 31:1285–1295.

Kelly, F.J., (2002) Urinary F2-isoprostane metabolite analysis: a step closer to obtaining a reliable mesure of oxidative stres, *Clin. Exp. Allergy*, 31: 355-356.

Khachik F., Spangler CJ., Smith JC. Jr., Canfield LM., Steck A., Pfander H., (1997) Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem.* 15; 69(10): 1873-81

Khachik F., Askin FB., Lai K., (1998) Distribution, bioavailability, and metabolism of carotenoids in humans. In: Bidlack WR, Omaye ST, Meskin MS, Jahner D.Eds. *Phytochemicals, a New Paradigm*. Lancaster, PA: Technomic Publishing, Chapter 5: pp 77-96

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY., Katz NB., Review (2002) Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* (Maywood). 227(10): 845-51.

Khaül RA, Crews JK Novak J, Kassab S and Granger JP, (1998) Enhanced vascular reactivity during inhibition of nitric oxide synthesis in pregnant rats. *Hypertension* 31; 065-1069.

Kleckner MS, Stauffner MH, Barga JA, Dockerty MB. (1952) Hepatic lesions in the living patient with chronic ulcerative colitis as demonstrated by needle biopsy. *Gastroenterology*, 22: 13-33.

Koshy SS, Montrose MH, Sears CL. (1996) Human intestinal epithelial cells swell and demonstrate actin rearrangement in response to the metalloprotease toxin of *Bacterioides fragilis*. *Infect Immun*, 64: 5022-5028.

Kozuki Y., Miura Y., Yagasaki K. (2000) Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett.* 3; 151(1): 111-5

Kucuk O., Sarkar FH., Djuric Z., Sakr W., Pollak MN., Khachik F., Banerjee M., Bertram JS., Wood DP. Jr., (2002) Effects of lycopene supplementation in patients with localized prostate cancer. *Exp Biol Med* (Maywood). 227(10): 8815.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Kurt H, Başaran A, Aral E (2005) Sıçanlarda Karbon Tetrakloritin (CCl₄) oluşturduğu oksidatif stresin Kateşin ve Likopenle Önlenmesi, Doktora tezi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Levine WG. Biliary (1981) excretion of drugs and other xenobiotics. *Prog Drug Res*, 25: 361-420.

Li YM., Chen SH., Yu CH., Zhang Y., Xu GY.(2004)Effect of acute alcoholism on hepatic enzymes and oxidation/antioxidation in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 3(2):241-4,

Lichtman SN, Sartor RB, Keku J, Schwabb JH. (1991). Hepatic injury associated with small bowel bacterial overgrowth in rats is prevented by metronidazole and tetracycline. *Gastroenterology*, 100: 513-519.

Lowe PJ, Miyai K, Steinbach JH Hardison WGM. (1988) Hormonal regulatoin of hepatocyte tight junctional permeability. *Am J Physiol*, 255: 724-727.

Madara JL, Stafford J. (1989) Interferon-gamma directly affects barrier function of culture intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest*, 83: 724-727.

Mark, I.T., Weglicki, W.B., (1994) Antioksidan activity of calcium chanell blocking drugs, *Methods in Enzymology*, 234: 620-630.

Mashima R., Witting PK., Stocker R. (2001) Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 12(4): 411-418.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Masubuchi Y and Horie T (2004) Endotoxin-mediated disturbance of hepatic cytochrome P450 function and development of endotoxin tolerance in the rat model of dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *Drug Metab Dispos* 32:437–441.
- Matos, HR., Di Mascio, P., Medeiros, MH., (2000) Protective effect of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys.* 383: 56-59.
- Matos, HR., Capelozzi, VL., Gomes, OF., Mascio, PD., Medeiros, MH., (2001) Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys.* 396: 171-177.
- Mc Michael, M., D., Moore, R.M., (2004) Ischemia-reperfusion injury: pathophysiology, part I, *Journal of Veterinary and Critical Care*, 14(4): 231-241.
- Mc Michael, M., D., Moore, R.M., (2004) Ischemia-reperfusion injury: assessment and treatment Part II, 14(4): 242-252.
- Morris GP, Beck PL, Herridge WT, Depew WT, Szewczuk MR, (1989) ulceration in the rat. *Gastroenterology*, 96: 795-803.
- Mulin JM, Snock KV. (1990) The effect of tumor necrosis factor on epithelial tight junctions and transepithelial permeability. *Cancer Res*, 50: 2172-2176.
- Murray RK. et al., (1990) *Harper's Biochemistry* 13: 110-5, 23 th ed. Appleton and Lange.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Nahum, A., Hirsch, K., Danilenko, M., Watts, CK., Prall, OW., Levy, J., Sharoni, Y., (2001) Lycopene inhibition of cycle cell progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27 (Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene*. 20: 3428-3436.
- Nash S, Stafford J, Madara JL. (1988) The selective and superoxide independent disruption of intestinal epithelial tight junctions during leukocyte transmigration. *lab Invest*, 59: 531-543.
- Naziroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy (2004). Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 195 (2-3): 221- 230
- Neilly PJ, Gardiner KR, Kirk SJ, Jennings G, Anderson NH, Elia M, and Rowlands BJ (1995). Endotoxaemia and cytokine production in experimental colitis. *Br J Surg* 82:1479–1482.
- Obermuller-Jevic, UC., Olano-Martin, E., Corbacho, AM., Eiserich, JP., van dre Vliet, A., Valacchi, G., Cross, CE., Packer, L., (2003) Lycopene inhibits the growth of normal human prostate epithelial cells in vitro. *J Nutr*. 133: 3356-3360.
- Olasion G, Sjudahl R, Tagesson C (1990) Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease. A possible pathogenic factor. *Scand J Gastroenterol* 25:321-328.
- Pellegrini N., Riso P., Porrini M., (2000) Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition*. 16(4): 268-71.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Pincemail, J., (1995) Free radicals and antioxidants in human disease. Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, PierreJ-L, Analyses of free radicals in biological systems. Basel, Switzerland, Birkhauser Verlag, p. 83-98.

Poli, G., Parola, M., Oxidative damage and fibrogenesis, Free Radical Biology and Medicine, 22: 287-305.

Porrini, M., Riso, P., (2000) Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. J Nutr. 130: 189-192.

Porter NA., (1984) Chemistry of lipid peroxidation. Methods Enzymol.105: 273-282.

Pratico, D., (2001) In vivo measurement of the redox state, Lipids, 36: 45-47.

Pruthi, RS., Derksen, E., Gaston, K., (2003) Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review. J.Urol.169: 2352- 59.

Radi, R., Beckman, J,S., Bush, K,M., Freeman B.A., (1991) Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation:the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide, Archive of Biochemistry and biophysics, 288: 481-487.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Rangan, U., Bulkley, G.B., (1993) Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury, *British Medical Bulletin*, 49: 700-718.

Rao AV., Fleshner N., Agarwal S., (1999) Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer*. 33(2): 159-64.

Rasmussen HH, Fallingborg JF, Mortensen PB, et al. Hepatobiliary dysfunction and primary sclerosing cholangitis in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32:604–610).

Rath, HC., Herforth, HH., and Ikeda, JS., (1996) Normal luminal bacteria, especially *Bacteriodes* species, mediate chronic colitis, gastritis and arthritis in HLA-B27/human b2 microglobulin transgenic rats. *J.Clin. Invest*, 98: 945-953.

Reifen R, Nissenkorn A, Matas Z, Bujanover Y. (2004) 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J Gastroenterol* 396: 514-19.

Rousseau EJ., Davison AJ., Dunn B., Review (1992) Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radic Biol Med*. 13(4): 407-433.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Sahin, K., Ozercan, R., Onderci, M., Sahin, N., Gursu, MF., Khachik, F., Sarkar, FH., Munkarah, A., Ali-Fehmi, R., Kmat, D., Kucuk, O., (2004) Lycopan supplementation prevents the development of spontanous smooth muscle tumors of the oviduct in Japanese guail. *Nutr Cancer*. 50: 181-189.

Samir P., Desai MD.,Sana Isa-Pratt MD. (2004). *Clinician's Guide to Laboratory Medicine*.Chapter 66, Lexi-Comp Inc, p.612- 613.

Sarti P., Giuffre A., Barone M., Forte E., Mastronicola, D. & Brunori, M., (2003) *Free Radical Biol. Med*. 34: 509–520

Sandborn WJ, Hanauer SB. (1999) Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. *Inflamm Bowel Dis*, 5: 119-33.

Schrumpf E, Fause O, Kolmannskog F, (1988) Hepatobiliary complications of IBD. *Semin Liver Dis*, 8: 201-209.

Sherlock S (1991) Pathogenesis of sclerosing cholangitis, the role of non-immune factors. *Semin Liver Dis* 11:5-10.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Simpson JW, Else RW (1991) Digestive disease in the dog and cat. Library of Veterinary Practice. Blackwell Scientific Publications, London. 204- 249.

Southorn PA., Powis G.: Review 1988, Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc. 63(4): 381-9.

Stahl W., Junghans A., de Boer B., Driomina ES., Briviba K., Sies H. (1988) Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. FEBS Lett. 1998 May 8;427(2):305-8,

Stahl W., Sies H. (1992) Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from Heat processed than from unprocessed tomato juice in humans. J Nutr. 122(11): 2161-6.

Stahl W., Sies H., Review (1996) Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. Arch Biochem Biophys. 1; 336(1): 1-9.

Stahl W., Sies H., (2005) Bioactivity and protective effects of natural carotenoids BBA Molecular basis of disease vol. 1740: 2: 101-107

Sung JY, costerton JW, Shaffer EA. (1992) Defense system in the biliary tract against bacterial infection. Dig Dis Sci, 37: 689-696.

Tanumihardjo SA., Furr HC., Amedee-Manesme O., Olson JA., (1990) Retinyl ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. Int J Vitam Nutr Res. 60(4): 307-13

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharma* 2004; 58: 100-110)

Teahon K, Smethurst P, Pearson M, Levi AJ, Bjarnason I (1991) The effect of elemental diet on intestinal permeability and inflammation in Crohn's disease. *Gastroenterology* 101:84-89.

Thomas CH. (1873) Ulceration of the colon with a much enlarged fatty liver. *Trans Pathol Soc Philadelphia*, 4: 87-8.

Turgut K, Ok M, (1997) Veteriner gastroenteroloji. *Bahçivanlar Basım San. AŞ. Konya*. 208-260.

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

Velmurugan B, Bhuvaneshwari V, Nagini S. (2002) Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl- N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis. *Fitoterapia* 73, 7-8: 604-611.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Wallach J. (2000) Interpretation of Diagnostic Tests., 7th edition, Lippincott Williams Wilkins, 8:199-235.
- Wewer V, Glud C, Schlichting P, Burcharth F, Binder V. (1991) Prevalence of hepatobiliary dysfunction in a regional group of patients with chronic inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol, 26: 97-102.
- Williams SM, Harned RK (1987) Hepatobiliary complications of inflammatory bowel disease. Radiol Clin North Am 25:175-188.
- Witztum, JL., (1994) The oxidation hypothesis of atherosclerosis. Lancet. 344: 793-5.
- Yamada T, Marshall S, Specian RD, Grisham M. A (1992) comparative analysis of two models of colitis in rats. Gastroenterology, 102: 1524-1534.
- Yaping Z., Suping Q., Wenli Y., Zheng X., Hong S., Side Y., Dapu W., (2002) Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl₃O₂ Food Chemistry, 77: 209-212.