

Ülseratif Kolit Nedenli Karaciğer Hasarında

Likopen'in Koruyucu Etkisi

Mustafa CENGİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

OCAK 2011

Protective Effect of Lycopene Upon Liver Damage

Induced by Ulcerative Colitis

Mustafa Cengiz

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

January 2011

Ülseratif Kolit Nedenli
Karaciğer Hasarında Likopen'in
Koruyucu Etkisi

Mustafa Cengiz

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

Danışman: Doç. Dr. Adnan AYHANCI

OCAK 2011

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Mustafa Cengiz 'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Ülseratif kolit nedenli karaciğer hasarında likopen'in koruyucu etkisi” 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: Prof. Dr. Ahmet Özata

Üye: Prof. Dr. Mehtap Kutlu

Üye: Doç. Dr. Sema Uslu

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ünal Özelmas

Üye: Doç. Dr. Adnan Ayhancı

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

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

Ülseratif kolitte karaciğer dokusunun hasarlandığı bilinmektedir. Kolit nedenli karaciğer hasarını önlemek için birçok sentetik ve doğal maddeler kullanılmasına rağmen henüz tam bir başarıya ulaşılamamıştır. Bu çalışmada sıçanlarda deneysel olarak 120 mg/kg TNBS verilerek oluşturulan kolitte gelişen oksidatif stres ve karaciğer hasarına karşı L-NAME ve likopenin koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada 105 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 (0.) günde %50 etenolde çözülerek hazırlanmış TNBS intrarektal olarak verilip ülseratif 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 5 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. Alınan kandan serum ALT, AST ve LDH seviyeleri ölçüldü. Karaciğer dokularında rutin histolojik doku takibi yapılarak mikroskopik inceleme yapıldı. Serum ALT, AST ve LDH değerleri sadece 120 mg/kg TNBS verilen gruplarda oldukça artmış ve bu durum kolitin karaciğer dokusuna verdiği hasarı çok ciddi bir biçimde yansıtmıştır. Bu gruplarda biyokimyasal bulgular histolojik bulgularla da desteklenmiştir. Nitekim karaciğer dokusunda ödem, sinüzoidal dilatasyon, nekroz, vakolizasyon, iltihabi hücrelerin birikimi gibi doku hasarı parametreleri gözlenmiştir.

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

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

SUMMARY

Ulcerative colitis is known to cause damage to the liver tissue. Although synthetic and natural substances have been used to prevent liver damage due to colitis, little success has been achieved so far. The present study experimentally induced colitis in rats given TNBS (120 mg/kg) to investigate protective effect of L-NAME and lycopene upon oxidative stress and liver damage in colitis. 105 male rats belonging in the species of Sprague Dawley, whose weights varied between 220 and 250, were used in this study. These rats were divided into 12 groups, each consisting of 7 rats, except for 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 given TNBS dissolved 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 5 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. Serum ALT, AST and LDH levels obtained from the blood samples of the rats were analysed under the microscope through a routine histological monitoring of the liver tissues. These values increased to significant levels only in the groups exposed to TNBS, which reflects severity of the damage to the liver tissue induced by colitis. Our biochemical findings were supported by the histological ones. Also, parameters of tissue damage like oedema, sinusoidal dilatation, necrosis, vacuolisation and accumulation of inflammatory cells were observed in the liver tissue.

Evaluation of serum AST, ALT and LDH levels, as well as histopathological 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 on 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, Liver, Lycopene, L-NAME, Cytoprotective Effect, Rat.

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde bana danışmanlık eden, beni yönlendiren, çalışmamın her aşamasında her türlü olanağı sağlayan, yardım ve desteklerini benden hiç esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

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

Tez çalışmam esnasının her aşamasında maddi manevi desteklerini benden esirgemediği gibi özet kısmını itina ile İngilizceye tercüme eden İngilizce Öğretmenim Sayın M. Sait KILIÇASLAN' a (Sait Hoca'ya) çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde maddi manevi desteklerini esirgemeyen annem Vesile CENGİZ, babam A. Vahap CENGİZ ve kardeşlerimi şükranla anarım.

Yazım aşaması boyunca, desteklerini esirgemeyen Yük. Lis. öğr. Bilge ÖZKAL' a, bana yol gösteren arkadaşım Doktora öğr. Sibel GÜNEŞ' e, yanımda kalarak bana her türlü desteği sağlayan arkadaşlarım Songül ÇETİK, Özgür ALAYDIN ve Mustafa YILDIZ' a şükranlarımı sunarım.

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. Nitrik Oksit (NO)	8
2.3.1.Nitrik Oksitin Kimyasal, Fiziksel ve Biyolojik Özellikleri	8
2.3.2. Nitrik Oksit Sentezi ve Metabolizması	9
2.3.3. Nitrik Oksit Sentetazlar	10
2.4. Antioksidanlar	12
2.5. Likopen ve Özellikleri	16
2.5.1.Likopen'in Etkileri	16
2.5.1.1. Likopen'in Antioksidatif Etkisi	16
2.5.1.2. Likopen'in Antikanserojen Etkisi	17
2.5.1.2.1. Hücreyel Döngüyü Durdurucu Etkisi	18

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

2.5.1.2.2. Hücreler Arası Birleşme Yerlerinde (gap-junction) Haberleşmeyi Artırıcı Etkisi.....	18
2.5.1.2.3. IGF-1 Sinyal iletimini baskılayıcı etkisi	18
2.5.1.3. Likopen'in Antiinflamatuvar Etkisi	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Gereç.....	20
3.1.1. Deney Hayvanları ve Deney Gruplarının Oluşturulması	20
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamalar	20
3.2.2. Histolojik İşlemler.....	22
3.2.2.1. Hematoksilen – eozin boyama	22
3.2.2.1.1. Karaciğer örneklerinin hazırlanması.....	22
3.2.2.1.2.Karaciğer örneklerinin takibi ve kesit alma.....	22
3.2.2.2. Boyama	23
3.3. Biyokimyasal ALT, AST ve LDH Değerlerinin Belirlenmesi	23
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	23

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)**Sayfa**

4. BULGULAR.....	24
4.1.Biyokimya Parametrelerinin Bulguları.....	24
4.2. Mikroskopik inceleme.....	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	47
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	52
7.EKLER.....	66

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.2.1. Hücrede SOR oluşum yolları.....	6
2.3.2.1. Nitrik oksit sentetaz tarafından katalizlenen arjinin amino asitinden NO sentezi	10
2.5.1. Likopenin kimyasal yapısı	15
4.1.1. 1.gün ALT, AST ve LDH değerleri.....	28
4.1.2. 2.gün ALT, AST ve LDH değerleri.....	32
4.1.3. 3.gün ALT, AST ve LDH değerleri.....	37
4.2.1. Kontrol grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde vena sentralis yapısı, sinüzoidleri ve hepatosit hücre yapılarıyla normal histolojik yapıdaki KC yapısı	39
4.2.2. 1.gün TNBS grubunda parankimde hepatosit hücrelerinde vakuolizasyon, portal alanda kısmi ödem portal venlerde ise dilatasyon	39
4.2.3. 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	40
4.2.4. (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.....	40
4.2.4. (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.....	41
4.2.5. 1.gün TNBS+likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde portal alanlarda nonspesifik hafif iltihabi hücreler ve bazı alanlarda kısmi sinüzoidal genişleme	41

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sekil

Sayfa

- 4.2.6. 2.gün TNBS 120 mg/kg grubu deneklere ait karaciğer dokusu. Portal alanlarda hafif nonspesifik iltihabi hücreler, portal venlerde genişleme ve sinuozidlerde hafif genişleme.42
- 4.2.7. (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 hücreler42
- 4.2.7. (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 hücreler43
- 4.2.8. (a) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 3 farklı büyültmesinde normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler43
- 4.2.8. (b) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 3 farklı büyültmesinde normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler44
- 4.2.9. 2.gün TNBS + likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde normale yakın KC yapısı gözlenmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler44
- 4.2.10. 3.gün TNBS + 120mg/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 ödem45

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.2.11. 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	45
4.2.12. 3.gün TNBS + zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde parankimde yer yer nekroz alanları ve portal alanda az da olsa iltihabi hücreler	46
4.2.13. 3.gün TNBS +likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde portal alanda TNBS grubuna oranla daha az olmakla beraber kısmi iltihabi hücreler görüldü. Ayrıca bazı alanlarda az da olsa sinüzoidal dilatasyonlar	46

TABLolar 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 (SF) verilen kontrol grubu, TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve likopen verilen deney gruplarının ilaç uygulama protokolü.....	21
4.1.1. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST ve LDH değerleri 1.gün.....	25
4.1.2. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 2. gün.....	29
4.1.3. Kontrol ve deney gruplarının ALT, AST VE LDH değerleri 3.gün	33
4.2.1. Gruplara göre histolojik skor puanları.....	38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μ	Mikron
n	Denek Sayısı

Açıklama

Kısaltmalar

ALT	Alanin Transaminaz
AST	Aspartat Transaminaz
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
CRP	C-Reaktif Protein
FMN	Flavin Mononükleotit
GPx	Glutasyon Peroksidaz
IGF-1	Serum İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
INOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
LDH	Laktat Dehidrogenaz
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 ⁻	Peroksinitrit Radikali
TNBS	Trinitro Benzosülfonik Asit
TNF	Tümör Nekroz Faktör

Açıklama

1.GİRİŞ

İltihabi bağırsak hastalığı (kolit) ile ilişkili olarak karaciğer hasarı ilk kez 1873 yılında tanımlanmıştır (Thomas et al., 1873, Kleckner et al., 1952). Kolit, etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış, ekstraintestinal bulguları olabilen bağırsağın, kronik nonspesifik inflamatuvar hastalığıdır (Dieleman et al., 1994). Hastalığın etiyojisi 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)'nın neden olduğuna dair deliller bulunmuştur. Karaciğer hasarının belirlenmesinde iki önemli enzim vardır. Alanin amino transferaz (serum glutamat – piruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oksaloasetat amino transferaz). Adlarından da anlaşılacağı üzere alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α - keto glutarata taşırlar. Böylece glutamat ve ALT ile piruvat ve AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür. 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 işlev 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].

Histolojik olarak kolitli bireylerden alınan karaciğer biyopsi örneklerinin analizinde portal alanda iltihaplanma, safra kanalı iltihabı (kolanjit), tahriş ve enfekte olmuş safra kanallarında damar sertliği gözlenmiştir (Schrumf et al., 1988). Karaciğer-safra kanalı değişimlerinden sorumlu mekanizmaların patogenezi henüz bilinmemektedir. Ancak otoimmunité, 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 ve sertleşmiş safra kanalı iltihabı (skleroz kolanjit) periportal

fibrozisi uyarmaktadır (Lichtman et al., 1990). Bakterilerin karaciğer-safra kanalı hasarında rolü olduğu düşüncesi metronidazol ve tetrasiklin 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. Kolitli hastalarda karaciğer-safra kanalının hasarlanma nedeni safraya geçen toksik maddeler ve bakterilerdir. Kolit oluşumu karaciğer hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantı bölgelerinin bozulmasına ve karaciğer hasarı patogeneze katkı sağlamaktadır [Morris et al., 1989, Yamada et al., 1992].

Gelişen dünyamızda, beslenme imkanlarının 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 bedene 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 (karotenoid) 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 likopenin, 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, antioksidan 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 likopenin, 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].

Biz de çalışmamızda, TNBS nedenli deneysel kolitte gelişen karaciğer hasarında AO ve hücre koruyucu etkileri olduğu bilinen likopenin koruyucu etkilerini test ettik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ülseratif Kolit

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

İnsanlarda her yaş grubunda görülebilen ülseratif kolitin tam olarak oluşum nedeni bilinmemekle birlikte kolonda başlayıp rektuma kadar yayılabilmesi, hastalığın etiyoloji ve patogeneğinde genetik ve çevresel etkenler 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 ve 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) gerekse nötrofil, makrofaj, epitel ve endotel hücrelerinde yapılan incelemelerde (Ikeda et al., 1997; Iwashita et al., 1998) nitrik oksit (NO) miktarının aşırı artması, ülseratif kolit için önemli patolojik belirleyici etken olduğunu olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca kolit ile ilgili yapılan çalışmalarda, NO'dan türeyen peroksinitrit ve oksijen radikallerinin, oluşan hasarı daha fazla artırdığı belirlenmiştir [Rachmilewitz et al., 1993; Dijkstra et al., 1998; Kimura et al., 1998 ; Grishman et al., 1999].

2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Önemi

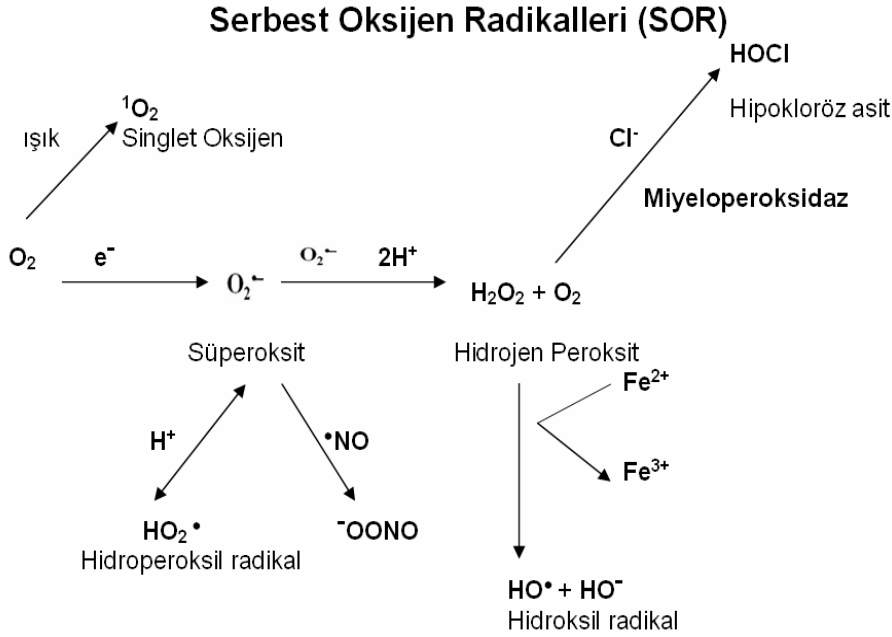
Dünya üzerindeki yaşamın oksijen molekülüne bağlı oksijenli yaşam olması çelişkili bir durumdur. Çünkü oksijen, enerji metabolizması ve solunum için çok önemli bir molekül olmasının yanında birçok hastalıkta ve dejeneratif bozuklukta önemli rol oynamaktadır [Marks, 1985].

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 ara ürün oluşumuna sebep olarak da hasara neden olabilirler. Örneğin; oksijenin indirgenmesi ile negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit (O_2^-) radikali oluşur. Süperoksit radikalinden ise kendiliğinden 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 yetenekleri sayesinde en az 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, 2002]. Memeli hücreleri, oksidatif strese oldukça elverişli olan çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) miktarı açısından oldukça zengindir.

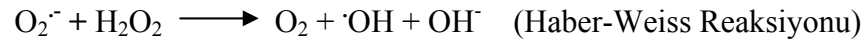
Bu PUFA' lar trigliserit ve fosfolipitlerin yapı taşlarını oluşturan diğer yağ asitleri formu ile birlikte, linoleik ve araşidonik asiti de kapsar [Acworth et al., 1997].



Şekil 2.2.1. Hücrede SOR oluşum yolları.

Başlangıç olarak SOR, ya diğer bir radikal ile reaksiyona girerek kovalent bir bağ kurar, ya da daha yaygın olarak, radikal olmayan bir başka molekülle reaksiyona girer (şekil 2.2.1.) (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 ($\text{O}_2^{\bullet -}$) ile birleştiğinde meydana gelen peroksinitrit radikali (OONO^-) hidrojen peroksitten (H_2O_2) 2000 kat daha fazla hasara neden olmaktadır. Bir başka deyişle 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, $O_2^{\cdot-}$ radikali ile birleşmesi ile meydana gelir ki bu reaksiyon da Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılır [Valko et al., 2007].



Lipit peroksidasyonunu başlatan iki temel serbest radikal, hidroksil (OH^{\cdot}) ve peroksinitrit radikalidir ($OONO^{\cdot}$). Hidrojen peroksitin metallerle birleşmesi ile OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$ '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 (örneğin; 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].

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^- '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. Nitrik Oksit

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

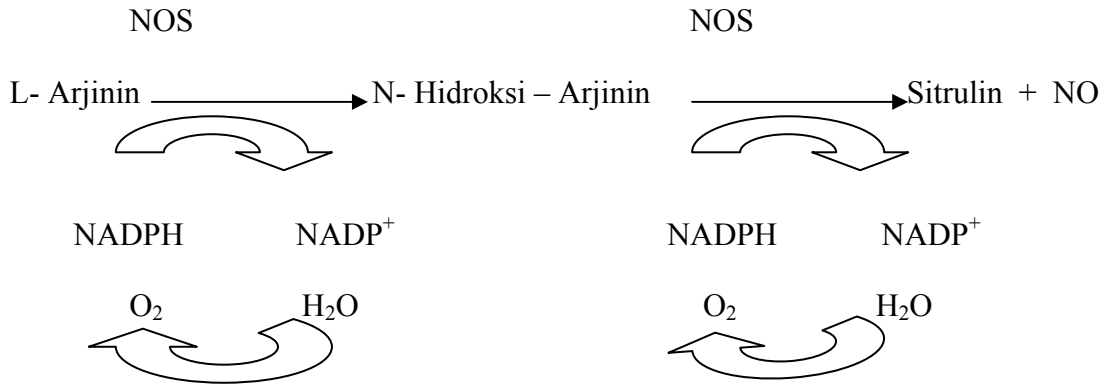
Nitrik Oksit (NO) renksiz bir gaz olup, inorganik serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür (Archer, 1993; Kharitonov, 1994). Diğer radikal türlerinin aksine,

NO radikalinde paylaşılmamış elektron nitrojen atomu üzerinde yerleşmemiş, fakat nitrojen ve oksijen atomları üzerinde lokalize olmamış olarak şekilde bulunur. NO' nun bu özelliği, kendi reaktivitesini baskılamakta, kararlılığını artırmakta ve biyolojik koşullarda bilinen en düşük moleküler ağırlıklı memeli salgı ürünü olarak sentezlendiği yerlerden daha uzak yerlere reseptöre bağımlı olmadan difüzyonunun kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür [Moncada, 1992].

Çevresel bir toksin olmasının yanında, endojen olarak oluşan NO' nun iltihabi bağırsak hastalığı, septik ve hemorajik şok ve belirli otoimmün bozukluklarda (Locsalzo and Welch, 1997; Nathan, 1997; Grisham et al., 1998; Hierholzer et al., 1998] rol oynadığı ileri sürülmüştür. Reaksiyonların bu şaşırtıcı durumu hakkında NO' nun kimyasının dolaylı ve doğrudan etkilerinin ayırt edilmesiyle deliller sağladı (Wink et al., 1991). 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].

2.3.2. NO Sentezi ve Metabolizması

Nitrik Oksit, insanlar, hayvanlar ve en basit canlı formlarında L- arjininin oksidasyonu sonucunda sentezlenir [Griffith and Stuehr 1997]. L- arjininden NO' nun sentezi, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamağında arjininin guanido nitrojeni (N⁰) hidroksillenecek 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 1.1' de L- arjininden NO sentezi görülmektedir.



Şekil 2.3.2.1. Nitrik oksit sentetaz tarafından katalizlenen arjinin amino asitinden NO sentezi. Mayer and Hemmens (1997)' dan değiştirilerek alınmıştır.

2.3.3. 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 işlev olarak benzer ve oksidaz domain bölgesi olarak adlandırılır. Bu bölge, hem grubu, subtrat (arjinin), tetrahidrobiobterin (BH₄) ve oksijen bağlanma bölgelerini içerir. Alt birimler arası iletişimi sağladığından dimerizasyondan sorumludur (Kılınç ve Kılınç 2003). Enzimin karboksil terminalinde ise, yapı ve işlev 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, proteolizisiz ve biofiziksel çalışmalarla ayrıntılı olarak belirlendi. NOS' un üç izoformunun yapısal olarak türden türe ve hücreden hücreye özellikle homodimer yapılarının değişiklik göstermesi ile farklı işlevler yaptıkları ortaya çıkarılmıştır [Crane et al., 1998, Fischmann et al., 1999].

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

2.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar (AO) hem direkt hem de dolaylı olarak hücre içerisinde meydana gelen toksik radikal reaksiyonların oluşturduğu oksidatif hasarın, ksenobiyotiklerin ve karsinojenlerin, olumsuz etkilerine karşı hücreleri koruyan moleküllerdir. AO' lar, lipitler, DNA ya da proteinlerin oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren moleküller olarak tanımlanırlar (Halliwell et al., 1995). Vitamin C, E, A, β - karoten, metallotionin, NADPH, adenzin, koenzim Q-10, resveratrol, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), 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 AO' lardır (Halliwell, 1999). Hücrede SOR üretimini engelleyen bu enzimler, pek çok memeli hücrelerinden izole edilmişlerdir. Küçük molekül ağırlığına sahip olan AO' lar, suda ve yağda çözülebilenler olmak üzere iki grupta toplanırlar;

Suda çözünen AO' lar;

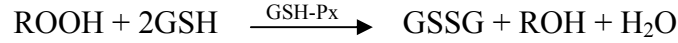
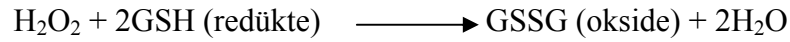
- Askorbik asit (C vitamini),
- Ürik asit,
- Biluribin,
- Glutasyon,
- Çinko ve
- Selenyum'dur.

Yağda çözülen AO' lar ise;

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

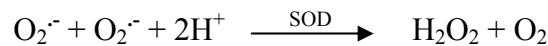
Hücre zarlarının lipit tabakalarında yer alan tokoferol ve β -karoten, lipit peroksiyonunda meydana gelen zincirleme reaksiyonları baskılar ya da durdururlar [Pratico, 2001]. Bedende hücreler arası sıvı içerisinde ise askorbik asit, bilirubin, transferin, haptoglobin, albumin, ürat ve seruloplazmin gibi sayısız AO karakterli molekül bulunmaktadır [Halliwell, 1999].

Memeli hücrelerinde sentezlenen ve hücre içi AO enzim olan glutasyon peroksidazın (GSH-P_x), SOR formlarına karşı ilk savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir. GSH-P_x, koenzim olarak glutasyonu (GSH) kullanır ve H₂O₂' yi suya ve oksijen molekülüne dönüştürür. GSH, sülfürlü bir tripeptitdir (gama glutamil sisteinil glisin) [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. Bu durum oksidatif hasara maruz kalan sıçan hepatositlerinde meydana gelen GSH seviyesindeki azalma ile gösterilmiştir [Kurose et al., 1997].



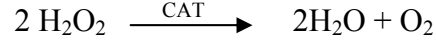
Hücrelerde meydana gelebilecek SOR hasarına karşı ikinci savunma hattını oluşturan, E vitaminin de dahil olduğu tokoferol ve trienoller, α -tokoferoller, hücre zarının yapısını oluşturan lipitler içerisinde bol miktarda bulunurlar. E vitamini, hücre zarının iç kısmında, PUFA' ların bol bulunduğu lipofilik bölgede yer alarak lipit peroksidasyonu sırasında meydana gelen zincirleme reaksiyonları durduran bir serbest radikal olarak görev yapar. 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 H_2O varlığında birleşerek E vitamini tekrar eski haline dönüşür. Suda çözünebilir bir AO olan C vitamini, ya direkt olarak SOR' u yakalayıp ya da E vitamininin eski halini almasını sağlayarak iki farklı şekilde AO savunmada görev alır [Marino, 1998].

Bir diğer hücre içi AO olan SOD ise aktif bölgesinde kofaktör olarak magnezyum, çinko ya da bakır içeren bir oksidoredüktazdır. SOD, $\text{O}_2^{\cdot-}$ i O_2 ve H_2O_2 ' ye dönüştürür.



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). Mitokondriyal SOD 'un AO savunma sisteminde temel rol oynadığı düşünülmektedir [Hamet et al., 1996; Chen et al., 1997].

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



SOD, $\text{O}_2^{\cdot-}$ i 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 moleküllü hidroperoksitlere etki etmez [Karabulut ve ark., 2002].

2.5. Likopen ve Özellikleri

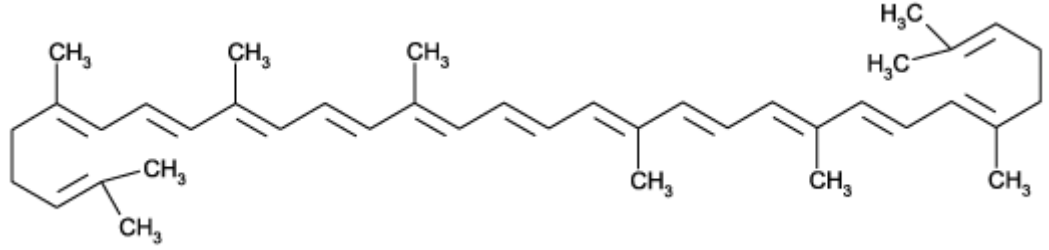
Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domateste (*Lycopersicon esculentum*) olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir [Stahl et al., 1996; Yaping et al., 2002].

Karotenoidler ise en önemli kaynağı bitkiler olan doğal olarak görülen pigmentlerin geniş oranda dağılmış bir grubudur. Genellikle kırmızı, sarı ve turuncu renklidir. 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 özütler şeklinde renklendirici olarak ilave edilir [Cadenas et al. 1996].

İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A vitamini öncülü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı β -karotendir. β -karoten A vitamini öncülü olma özelliği yanında biyolojik açıdan önemli bir lipid AO' nı 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 işlevleri onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli etkenin 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) toplamalarına 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 $C_{40}H_{56}$ (Beta-Karoten Kristal) 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 emilim 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 peroksidasyonun ölçülmesi ile belirlenmiştir. Etki oranları likopen > α -tokoferol > α -karoten > β -kriptoksantin > zeaksantin = β -karoten > lutein şeklinde sıralanabilir [Stahl et al., 1996; Canene et al., 2005]. Bugüne kadar insan serumu ve sütünde 25 karotenoid ve dokuz metaboliti saptanmış ve tanımlanmıştır. İnsan karaciğeri, akciğerleri, meme,

göz ve serviks gibi organları ve derisinde miktarları belirlenmiş, buralarda depolandığı gösterilmiştir [Khachik et al., 1997].

Likopenin de dahil olduğu diyete bağlı AO'ların reaktif oksijen türlerini inaktive ettiği 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 likopenin AO özelliklerine bağlanmıştır [Stahl and Sies, 1996; Pellegrini et al., 2000].

2.5.1. Likopen' in Etkileri

Likopenin 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 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) sinyal iletimini baskılayıcı 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 hücresel biyomolekülleri etkileyerek osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve sindirim sisteminde akut ya da kronik hastalıklara olan yatkınlığı artırmaktadırlar. Bu sebeple AO'ların 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. Bunun da oksidatif zarara karşı savunmada suda çözünen ve lipofilik AO' lar arasında gerçekleşen etkileşimden kaynaklandığı saptanmıştır [Harats et al., 1998].

Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan singlet oksijeni ($.O_2$) ortadan kaldırmada etkilidir (Conn et al., 1991). Singlet oksijenin giderildiği süreçte enerji likopen molekülüne aktırılır. 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 zar molekülleri içinde lipozomlara benzeyen bir oksijen temizleyicisi olduğunu göstermişlerdir. Likopen in vitro koşullarda güçlü bir AO özellik gösterirken, in vivo ortamlarda DNA, protein ve lipidlerin oksidasyonuna karşı koruyucudur (Matos et al., 2001). Likopenin 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 ark. (2002)' da likopen bakımından zengin diyetin prostattaki oksidatif DNA hasarını azalttığını tespit etmişlerdir.

2.5.1.2. Likopen'in Antikanserojen Etkisi

Likopenin antikanserojenik etkilerini üç ana başlık altında toplamak mümkündür.

3. Hücresel döngüyü durdurucu etki
4. Hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etki
5. IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) sinyal iletimini baskılayıcı etki

2.5.1.2.1. Hücresel Döngüyü Durdurucu Etki

Yapılan araştırmalarda likopenin prostat (Obermuller-Jevic et al., 2003; Şahin et al., 2004) kanser hücrelerinin gelişimlerini baskıladığı 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 Haberleşmeyi Artırıcı Etkisi

Likopenin hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etkisinin olduğu ve doku homeostazında anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur [Saez et al., 2003].

2.5.1.2.3. IGF-1 Sinyal İletimini Baskılayıcı Etkisi

Serum insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) konsantrasyonundaki artış prostat kanseri gibi kanser tiplerinde önemli rol oynar (Furstenberger and 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 artışını önemli derecede düşürmüştür. İnhibisyon gelişimi G₁/S hücre döngüsünün ilerlemesinin gecikmesiyle ilişkilidir. Bu etki IGF-1 bağlayan proteinlerin likopenle düzenlenebileceği fikrini ortaya koymuştur (Karas et al., 2000). Ayrıca Siler ve ark. (2004) sıçan prostat kanser modelinde yaptıkları çalışmada besinlere 200 ppm likopen eklenmesi ile prostat tümörlerindeki lokal IGF-1 ekspresyonunun düşürüldüğünü saptamışlardır.

2.5.1.3. Likopenin 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 tepkimelerin arasında ters bir ilişki bulunduğu belirlenmiştir. Yapılan araştırmalar kanser ve kardiyovasküler hastalıkların inflamasyon ve koagulasyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Likopen enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antiinflamatuvar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek proinflamatuvar moleküllerden prostoglandin, prostasiklin, tromboksan ve lökotrin sentezini baskılayarak yangıya yol açan reaksiyonları da önlediği ileri sürülmüştür [Pruthi et al., 2003].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

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 kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulu onayı alınmıştır (PR-07-03-15-2). Bütün deney hayvanları enjeksiyondan önce bir haftalık karantinaya alındı ve deney süresince 12:12 aydınlık/ karanlık ışıklandırılması olan, ısı (22 C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Sıçanlar Tablo 3.2.1.1' de gösterildiği gibi her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol hariç 12 ayrı gruba ayrıldı ve her kafeste 4 hayvan olacak şekilde yerleştirildi. Yeteri kadar su ve pellet yem verildi. Tüm hayvanların ilk enjeksiyonlardan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamalar

Kullanılan TNBS (C 2508-19-2), L-NAME (C 51298-62-5), likopen (C 502-65-8), hemotoksilen (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 et al., 1999].

TNBS uygulamasından bir gün sonra intraperitoneal (i.p) olarak, 40 mg/kg L-NAME (i-NOS nonselektif inhibitörü), 1 mL/kg zeytin yağı ve 5 mg/kg likopen dozları zeytin yağında (1:1) hazırlanarak, üç gün süre ile (her gün) deney gruplarına verilmiştir. TNBS verilmesinden sonra L-NAME, zeytinyağı ve likopen gruplarındaki sıçanlar birinci, ikinci ve üçüncü günlerde eter anestezisinde diseksiyonları yapılmış ve ALT,

AST, LDH parametrelerini saptamak için kan örnekleri ve karaciğer hasarını saptamak içinde karaciğerlerin birer lobları dikkatli bir şekilde alınmıştır.

Tablo 3.2.1.1. Serum fizyolojik (SF) 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(1mg/kg)	TNBS	Z.yağı	Kesim		
8.Z.yağı(1mg/kg)	TNBS	Z.yağı	Z.yağı	Kesim	
9.Z.yağı(1mg/kg)	TNBS	Z.yağı	Z.yağı	Z.yağı	Kesim
10.Likopen(5mg/kg)	TNBS	Likopen	Kesim		
11.Likopen(5mg/kg)	TNBS	Likopen	Likopen	Kesim	
12.Likopen(5mg/kg)	TNBS	Likopen	Likopen	Likopen	Kesim

Kontrol grubu hariç diğer 12 gruba 0. günde 120 mg/kg TNBS verilerek deneysel kolit oluşturulmuştur. Sadece TNBS verilen ilk 3 gruptaki hayvanlar sırasıyla 1. 2. ve 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 5 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 hematoksilin-eozin ikili boyası kullanılmıştır. Bu amaçla Harris Alum Hematoksilin ve alkollü eozin 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, hematoksilin ile 3 dakika muamele edilip distile sudan geçirilerek, 10 dakika eozin ile boyanmıştır. Musluk suyu ile fazla boyası alınan kesitler, alkol serilerinden hızla geçirilerek dehidratasyona uğrıtılıp, 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 Değerlerinin Belirlenmesi

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlardan tüplere intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 3000 devir/dakika' da 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. Biyokimyasal Parametrelerin 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.

GRUP	1.GÜN					
	ALT	<i>p</i>	AST	<i>p</i>	LDH	<i>p</i>
Kontrol	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
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	***
TNBS+ 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+ Z.yağı	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
Kontrol	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
TNBS+ Likopen	58,5±6,4		130,1±9,3		1278,9±109,1	
TNBS	75,8±7,2	0	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
TNBS+ L-NAME	78,1±8,6		143,1±13,0		1374,5±91,4	
TNBS	75,8±7,2	***	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
TNBS + Z.yağı	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
TNBS	75,8±7,2	***	154,03±9,5	***	1455,6±129,6	***
TNBS+ Likopen	58,5±6,4		130,1±9,3		1278,9±109,1	
TNBS+ L-NAME	78,1±8,6	***	143,1±13,0	0	1374,5±91,4	0
TNBS+ Z.yağı	65,6±4,2		139,9±9,9		1352,3±69,1	
TNBS+ L-NAME	78,1±8,6	***	143,1±13,0	***	1374,5±91,4	***
TNBS+ Likopen	58,5±6,4		130,1±9,3		1278,9±109,1	
TNBS+ Z.yağı	65,6±4,2	***	139,9±9,9	***	1352,3±69,1	***
5 mg/kg Likopen	58,5±6,4		130,1±9,3		1278,9±109,1	

Sig.Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138

 $p \geq 0.05$

0

0,000

 $p \leq 0.001$

ALT değerlerinin 1.gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg Likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda % 132, L-NAME grubunda % 140, zeytinyağı grubunda % 101 ve 5 mg/kg likopen grubunda % 85 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 5 mg/kg likopen grubundan % 22.8' 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, 5 mg/kg likopen grubundan %25 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan % 12 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

AST değerlerinin 1. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 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 5 mg/kg likopen grubunda % 61,6 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, 5 mg/kg likopen grubundan 15.6 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 5 mg/kg likopen grubundan %10 artma göstermiş olup istatistiksel olarak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %8 artma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 1. gününde;

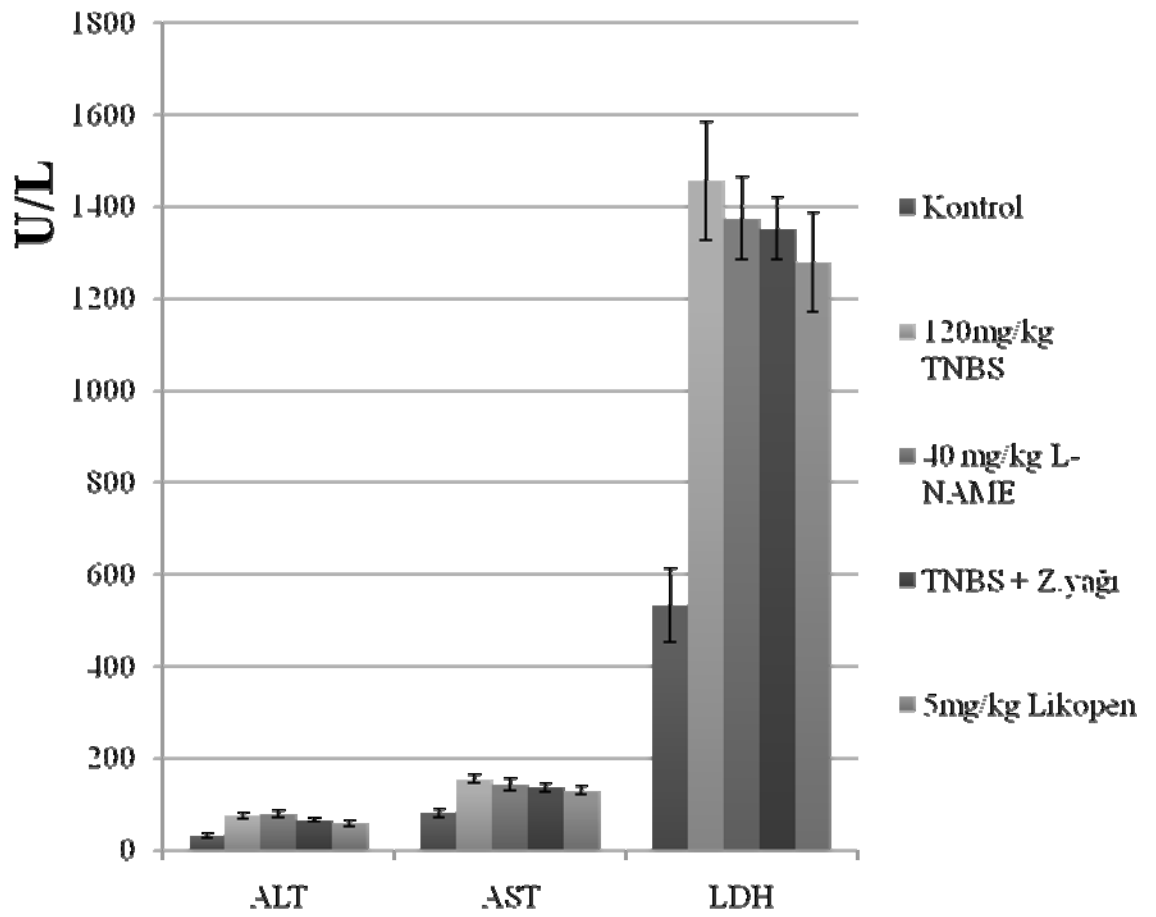
TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %173,6, L-NAME grubunda %169,6, zeytinyağı grubunda %154,2 ve 5 mg/kg likopen grubunda %140,4 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %7,5 mg/kg likopen grubundan %13 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 5 mg/kg likopen grubundan %9 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %7 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Şekil 4.1.1. 1.gün ALT, AST ve LDH değerleri.



Serum Parametreleri

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

GRUP	2.GÜN					
	ALT	<i>p</i>	AST	<i>p</i>	LDH	<i>p</i>
Kontrol	32,6±5,3	****	80,5±10,6	***	532±80,2	***
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	***
TNBS+ 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 + Z..yağı	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
Kontrol	32,6±5,3	***	80,5±10,6	***	532±80,2	***
TNBS+ Likopen	54,7±8,5		114,5±14,1		1157,3±10,8	
TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
TNBS+ L-NAME	60,2±6,3		134,2±12,5		1267,3±109,6	
TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
TNBS + Z..yağı	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
TNBS	65,2±8,4	***	143,5±11,1	***	1341,3±80,5	***
TNBS+ Likopen	54,7±8,5		114,5±14,1		1157,3±103,8	
TNBS+L-NAME	60,2±6,3	0	134,2±12,5	0	1267,3±109,6	0
TNBS + Z..yağı	58±6,2		131,2±18,4		1226,5±93,3	
TNBS+ L-NAME	60,2±6,3	***	134,2±12,5	***	1267,3±109,6	***
TNBS+ Likopen	54,7±8,5		114,5±14,1		1157,3±103,8	
TNBS + Z..yağı	58±6,2	***	131,2±18,4	***	1226,5±93,3	***
TNBS+ Likopen	54,7±8,5		114,5±14,1		1157,3±103,8	

Sig.

Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138

 $p \geq 0.05$

0

0,000

 $p \leq 0.001$

ALT değerlerinin 2. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg Likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda %100, L-NAME grubunda %84, zeytinyağı grubunda %80,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %67,8 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, 5 mg/kg likopen grubundan %16.1 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 5 mg/kg likopen grubundan %9.1 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %6.5 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 5 mg/kg likopen grupları AST bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında AST değerleri sırasıyla TNBS grubunda %78, L-NAME grubunda %66,7, zeytinyağı grubunda %63,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %42 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, 5 mg/kg likopen grubundan %20 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 fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 5 mg/kg

likopen grubundan %15 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %15 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 2. gününde;

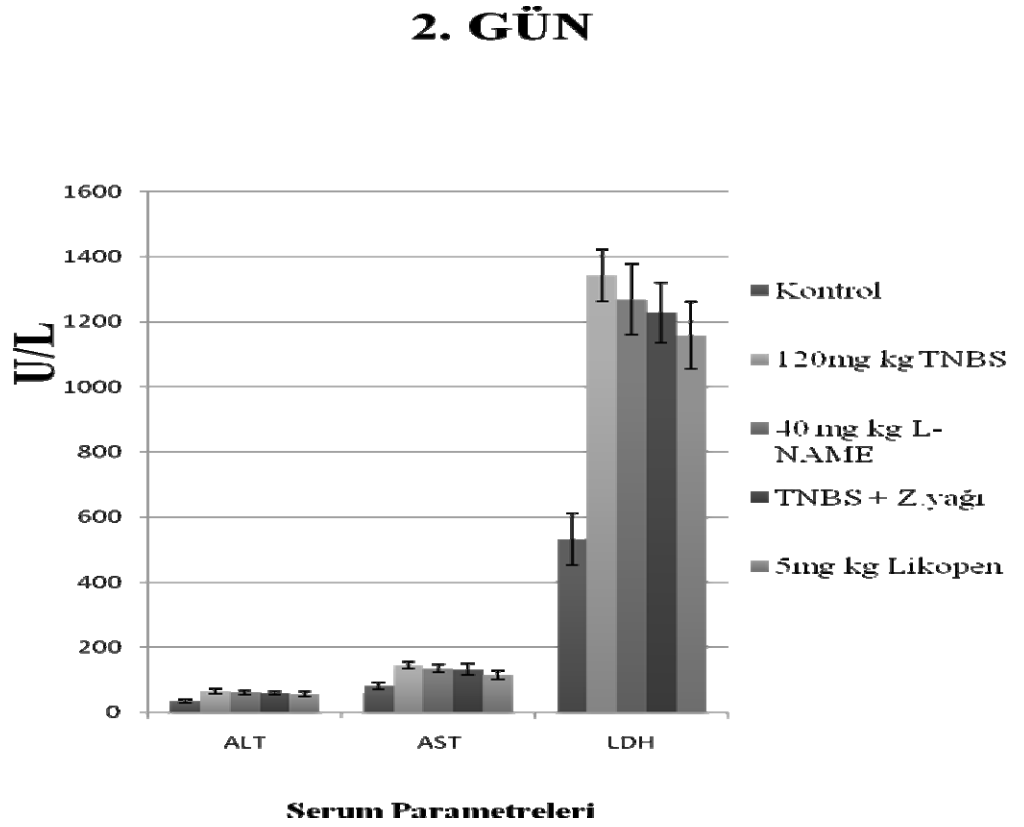
TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %152, L-NAME grubunda %138,4, zeytinyağı grubunda %130,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %117,5 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %6, zeytinyağı grubundan %9,5 mg/kg likopen grubundan %14 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 fark görülmemiştir ($p>0.05$), buna karşın 5 mg/kg likopen grubundan %10 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %8 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Şekil 4.1.2. 2.gün ALT, AST ve LDH değerleri.



Tablo 4.1.3. 3.gün ALT, AST ve LDH değerleri.

GRUP	3.GÜN					
	ALT	P	AST	p	LDH	p
Kontrol	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
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	***
TNBS+ 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 + Z. yağı	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
Kontrol	32,6±5,3	***	80,5±10,06	***	532±80,2	***
TNBS+ Likopen	43,3±4,9		100,9±12,3		996,5±86,8	
TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
TNBS+L-NAME	51±5,5		120,4±15,5		1157,1±134,4	
TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
TNBS + Z. yağı	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
TNBS	60,1±8,5	***	132,9±6,6	***	1290,4±94,6	***
TNBS+ Likopen	43,3±4,9		100,9±12,3		996,5±86,8	
TNBS+L-NAME	51±5,5	0	120,4±15,5	***	1157,1±134,4	0
TNBS +Z. yağı	51±7,4		110,7±16,6		1035,2±134,8	
TNBS+ L-NAME	51±5,5	***	120,4±15,5	***	1157,1±134,4	***
TNBS+ Likopen	43,3±4,9		100,9±12,3		996,5±86,8	
TNBS + Z. yağı	51±7,4	***	110,7±16,6	***	1035,2±134,8	***
TNBS+Likopen	43,3±4,9		100,9±12,3		996,5±86,8	

Sig.Belirtmemiz gereken ifadeler

0,138

 $p \geq 0.05$

0

0,000

 $p \leq 0.001$

ALT değerlerinin 3. gününde;

TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg likopen grupları ALT bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında ALT değerleri sırasıyla TNBS grubunda %84, L-NAME grubunda %56, zeytinyağı grubunda %56,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %33 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, 5 mg/kg likopen grubundan %28 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

L-NAME grubu; zeytinyağı grubu ile değere sahip olup istatistiksel fark yoktur ($p>0.05$), buna karşın 5 mg/kg likopen grubundan %15' lik artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 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 5 mg/kg likopen grupları AST bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında AST değerleri sırasıyla TNBS grubunda %65, L-NAME grubunda %49,5, zeytinyağı grubunda %37,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %25,3 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 %17,5 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 %8, 5 mg/kg likopen grubundan %16 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %9 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

LDH değerlerinin 3. gününde;

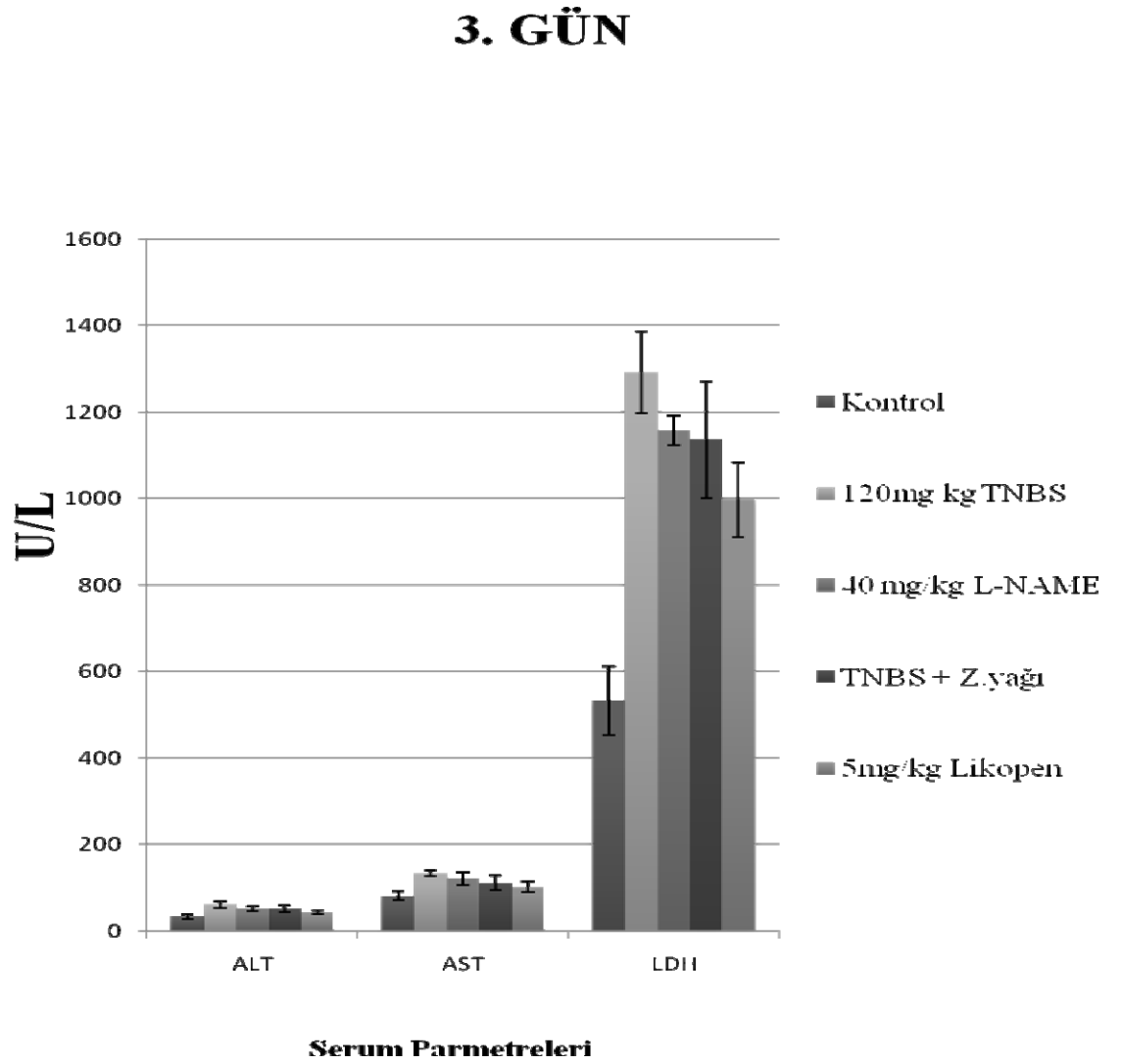
TNBS, L-NAME, zeytinyağı ve 5 mg/kg likopen grupları LDH bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında LDH değerleri sırasıyla TNBS grubunda %142,5, L-NAME grubunda %117,5, zeytinyağı grubunda %113,5 ve 5 mg/kg likopen grubunda %87,3 oranında artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

TNBS grubu; L-NAME grubundan %10,5, zeytinyağı grubundan %12,5 mg/kg likopen grubundan %23 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 5 mg/kg likopen grubundan %15 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Zeytinyağı grubu; 5 mg/kg likopen grubundan %13 artma göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan ileri derecede önemli artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$).

Şekil 4.1.3. 3.gün ALT, AST ve LDH değerleri.



4.2. Mikroskopik İnceleme

Tüm hayvanlara ait seri doku kesitlerinin ışık mikroskobu (x40) altında değerlendirilmesiyle elde edilen bulgularımız aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 4.2.1. Gruplara göre histolojik puanlar.

GRUPLAR	Ödem	Vakuolizasyon	Nekroz	Portal ven dilatasyonu	Sinüzoidal dilatasyon	İltihabi hücreler	Skor Toplamı
Kontrol	-	-	-	-	-	-	0
1.gün 120 mg/kg TNBS	2	2	-	2	1	2	9*
1.gün.120mg/kgTNBS+40 mg/kg L-NAME	-	-	2	-	1	1	4**
1.gün 120 mg/kg TNBS+1 mg/kg z.yağı	-	-	-	1	1	1	3**
1.gün 120 mg/kgTNBS+5mg/kg likopen	-	-	-	-	1	1	2**
2.gün TNBS+120 mg/kg	2	1	1	2	1	3	10*
2.gün120mg/kgTNBS+LNAME40mg/kg	-	-	-	-	2	2	4**
2.gün 120 mg/kg TNBS+1 mg/kg z.yağı	-	-	-	-	2	1	3**
2.gün 120 mg/kg TNBS+5mg/kg likopen	-	-	-	-	1	1	2**
3.gün 120mg/kg TNBS	3	-	2	2	1	3	11*
3.gün 120 mg/kg TNBS+40 mg/kgL-NAME	-	-	-	-	2	2	4**
3.gün 120 mg/kg TNBS+1 mg/kg z.yağı	-	-	1	-	1	1	3**
3.gün 120 mg/kg TNBS+5mg/kg likopen	-	-	-	-	1	1	2**

* $p < 0.05$ kontrolden farklı ** $p > 0.05$ hiçbir grupla fark yok

1: az hasar, 2: orta hasar, 3: çok hasar.

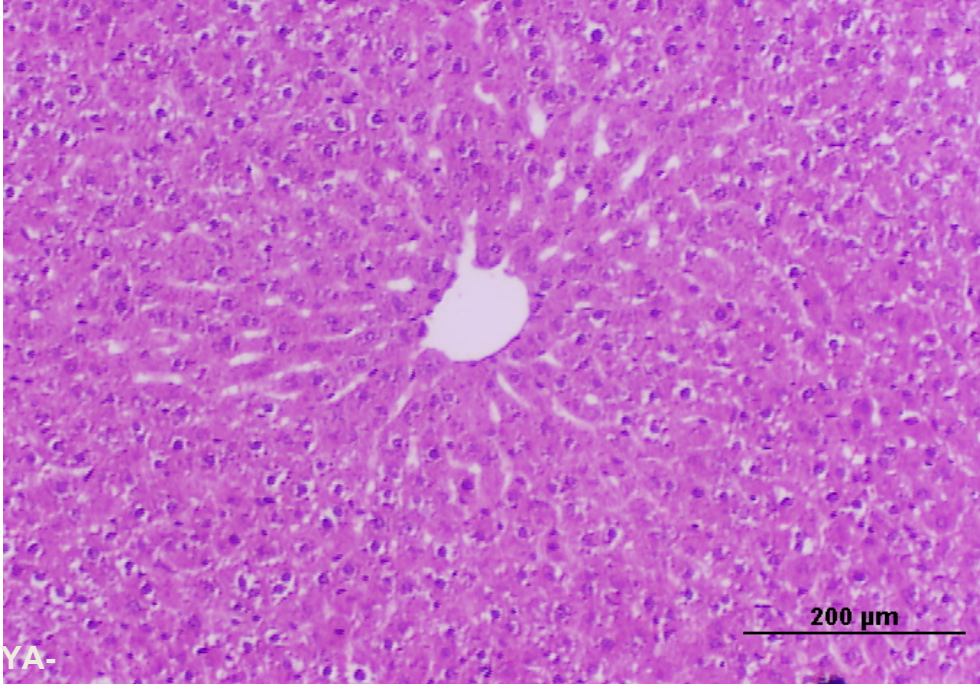
Tablo 4.2.1' de yer alan veriler değerlendirildiğinde kontrol grubu ile 1.2. ve 3. günlerde sadece TNBS verilen gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile 1. 2. ve 3. günlerde TNBS+L-NAME (40mg/kg) gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

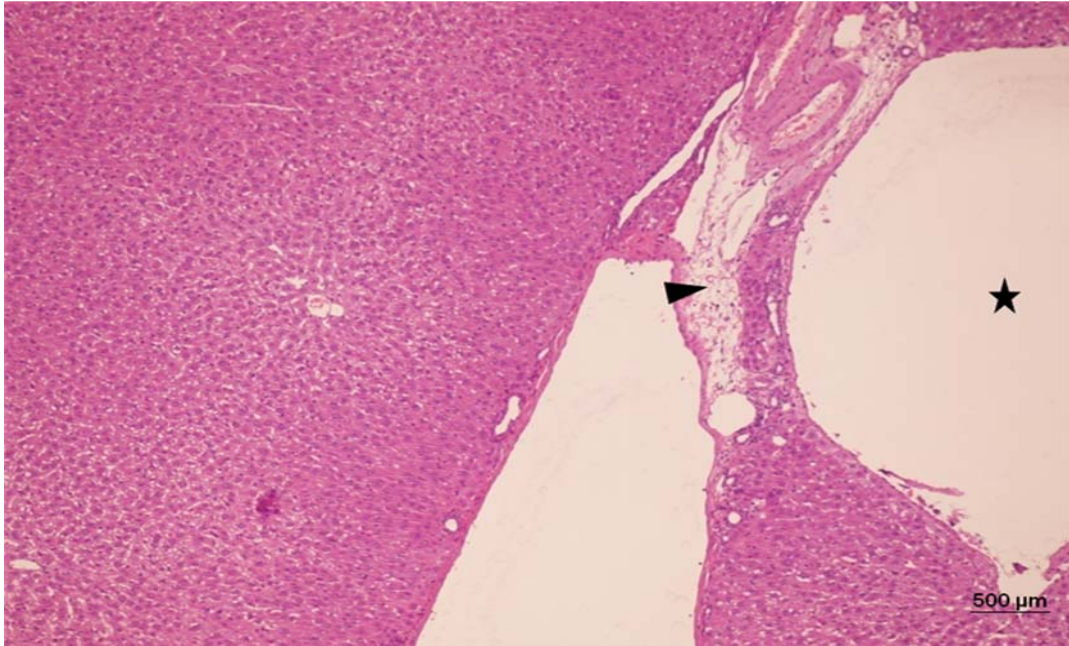
Kontrol grubu ile 1. 2. ve 3. günlerde TNBS+zeytinyağı gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Kontrol grubu ile 1. 2. ve 3. günlerde TNBS+5mg/kg likopen gruplarıyla ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

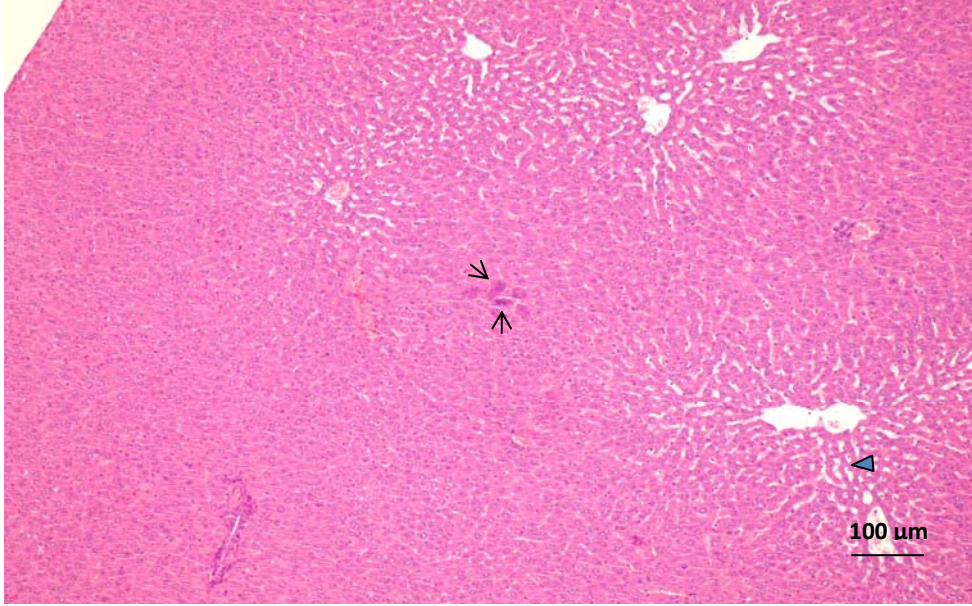
Bu alışma büyük bir çalışmanın parçası olarak gerçekleştirildiğinden bazı ortak parametreler iki farklı tezde kullanılmıştır. Bu çalışmada bazı doku resimleri Bilge ÖZKAL'ın izniyle ortak olarak kullanılmıştır.



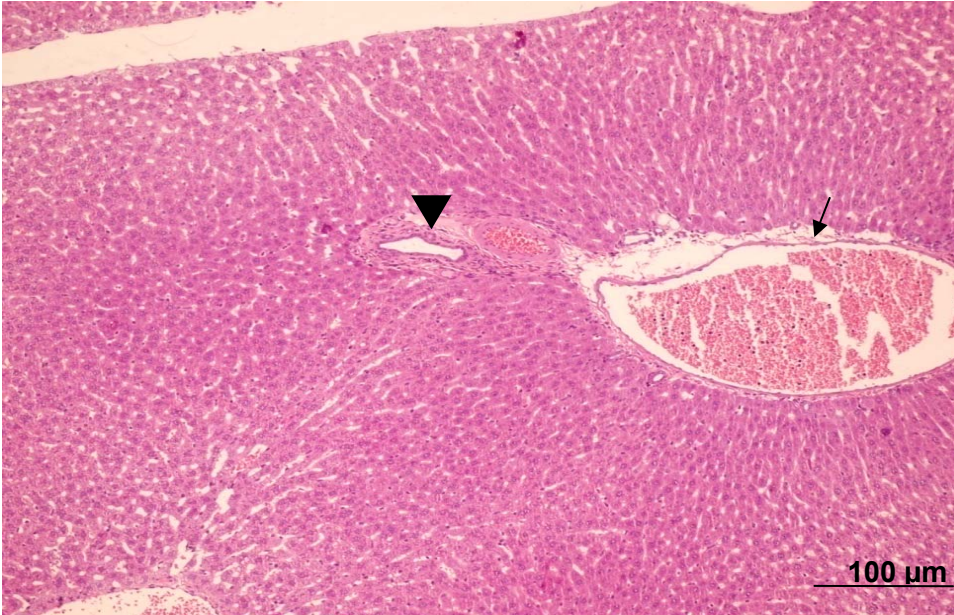
Şekil 4.2.1. Kontrol grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE,X40) vena sentralis yapısı (v), sinüzoidleri ve hepatosit hücre yapılarıyla normal histolojik yapıdaki KC yapısı.



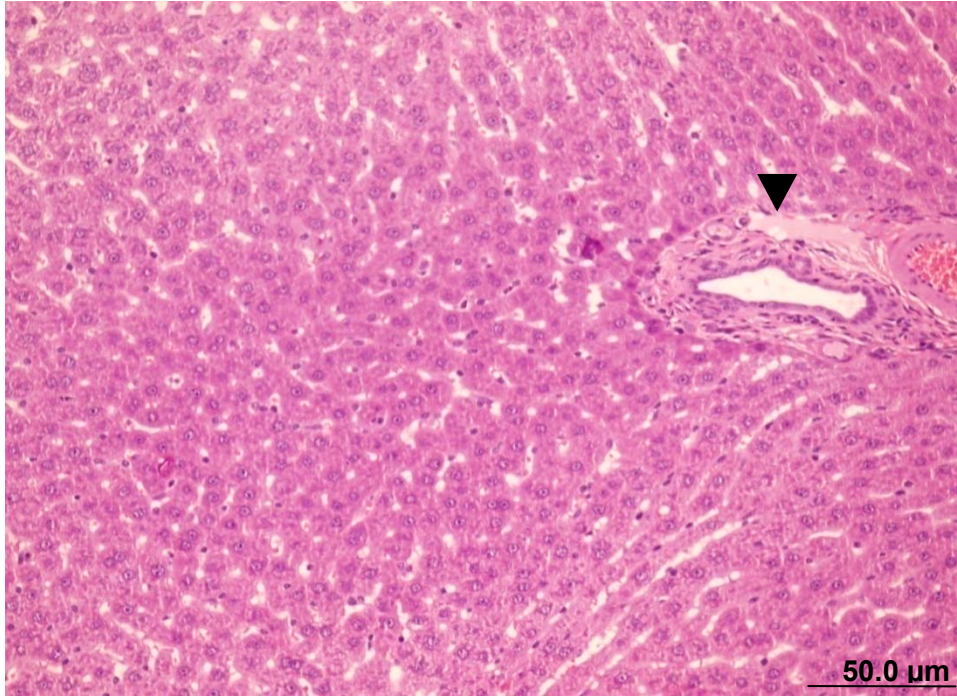
Şekil 4.2.2. 1.gün TNBS grubunda parankimde hepatosit hücrelerinde vakuolizasyon, portal alanda kısmi ödem (ok başı) portal venlerde ise dilatasyon görülmekte (HE,X20).



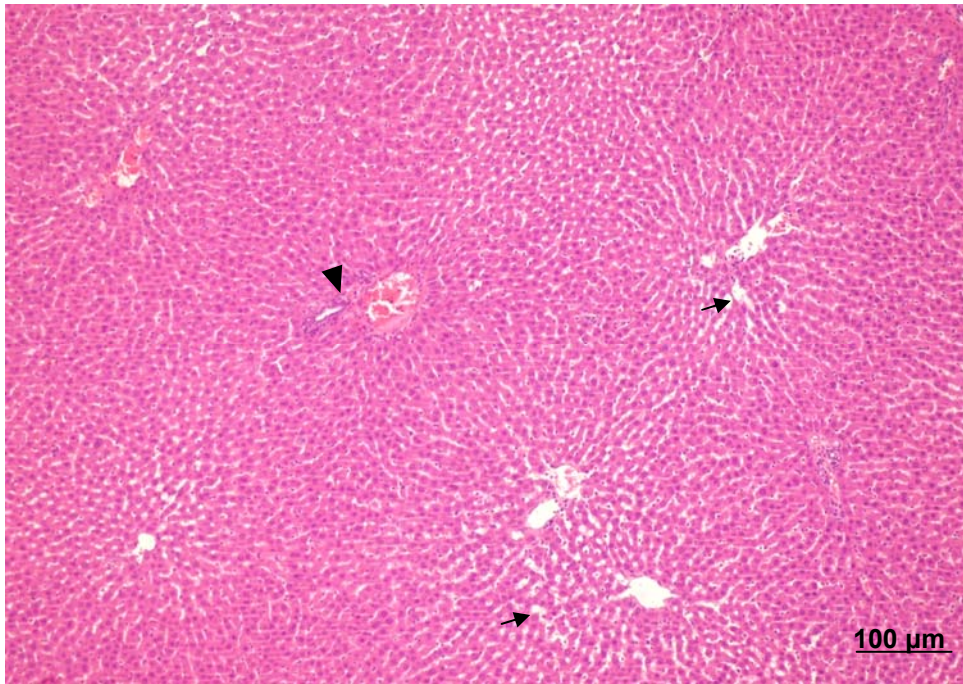
Şekil 4.2.3. 1.gün TNBS+L-NAME grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE,X10) parankimde eozinofilik sitoplazmalı koyu renk nükleuslarıyla birkaç nekrotik hücre dikkat çekmekte (ok) ayrıca az da olsa sinüzoidal dilatasyon görülmekte (ok başı).



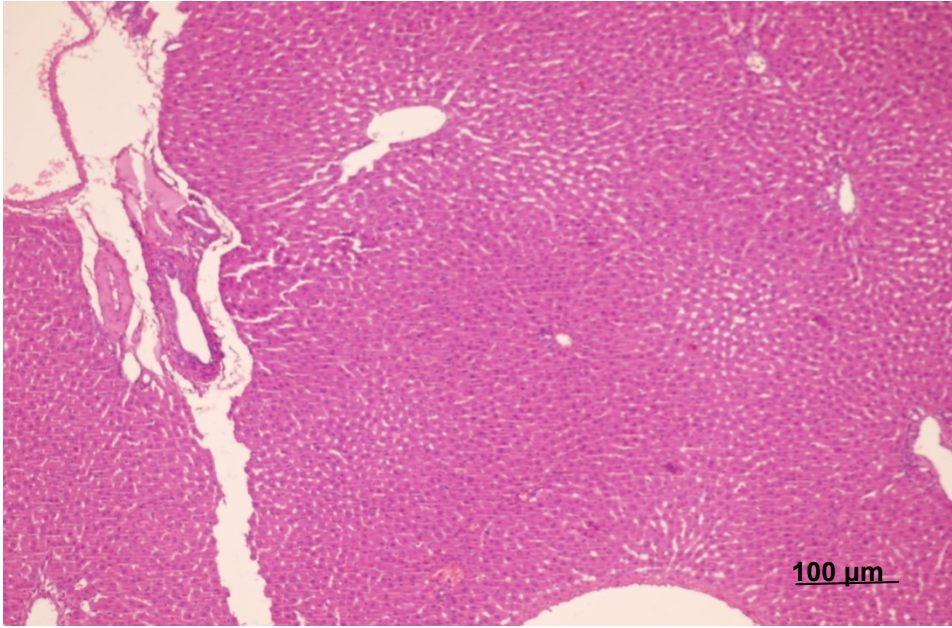
Şekil 4.2.4. (a) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X10,20) portal venlerde kısmi genişleme (ok) ve portal alanda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



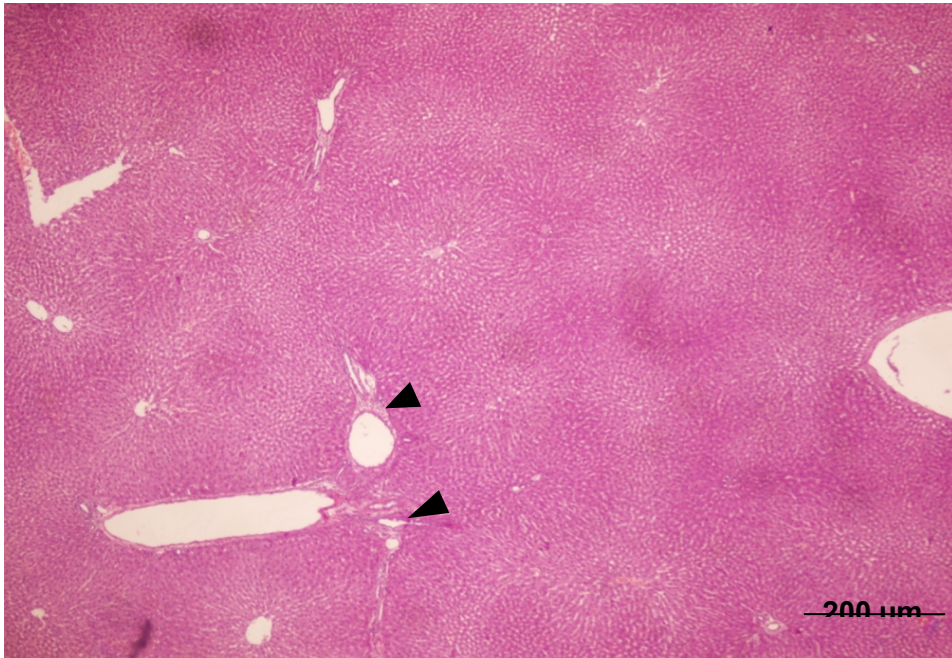
Şekil 4.2.4. (b) 1.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X10,20) portal alanda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



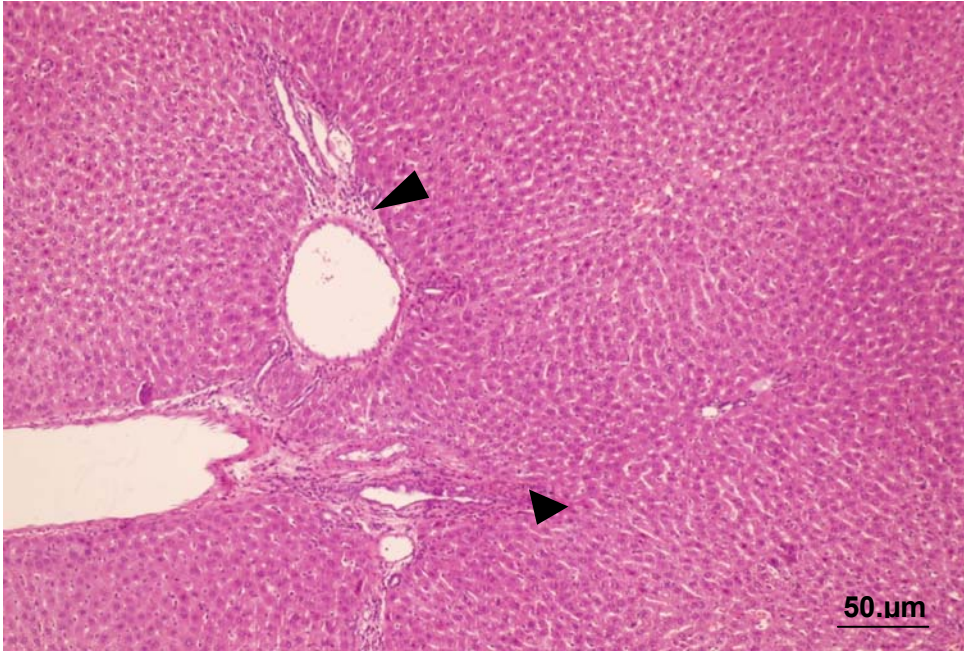
Şekil 4.2.5. 1.gün TNBS+likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde portal alanlarda nonspesifik hafif iltihabi hücreler (ok başı) ve bazı alanlarda kısmi sinüzoidal genişleme (ok) (HE,X10).



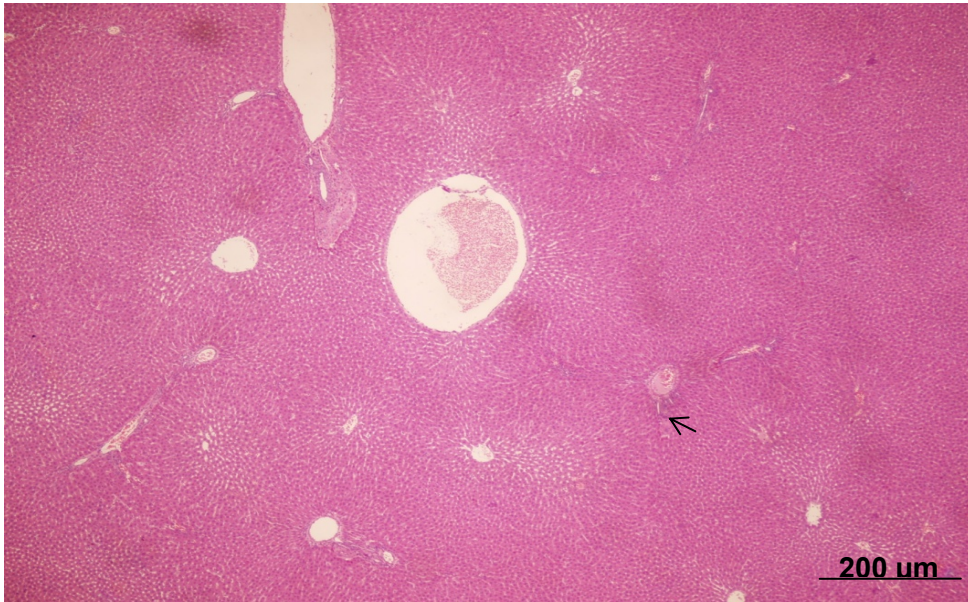
Şekil 4.2.6. 2.gün TNBS 120 mg/kg grubu deneklere ait karaciğer dokusu (HE,X20). Portal alanlarda hafif nonspesifik iltihabi hücreler, portal venlerde genişleme ve sinuozidlerde hafif genişleme görülüyor.



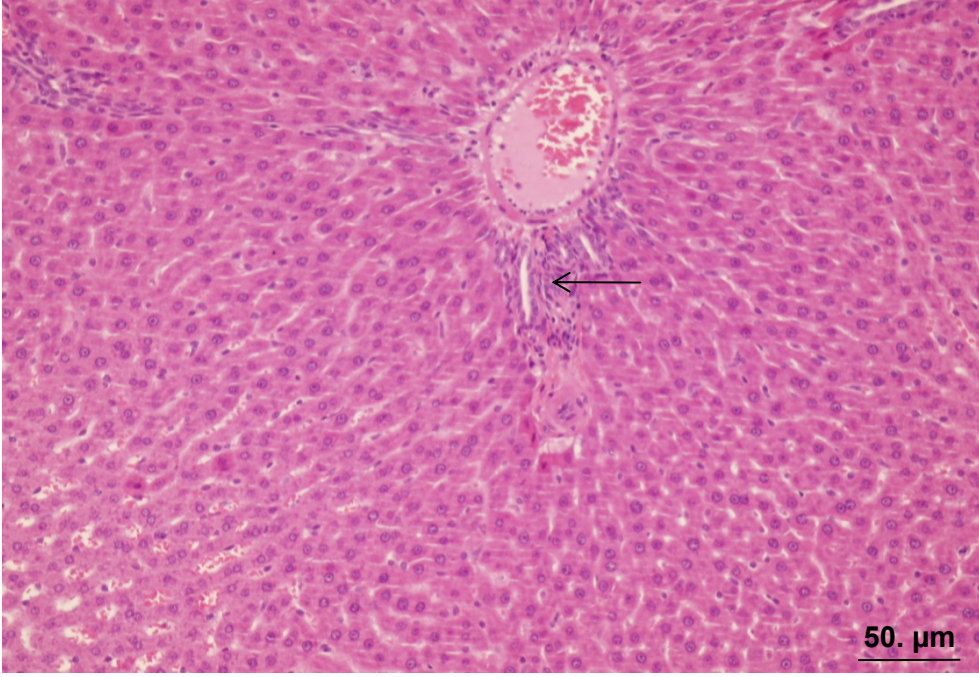
Şekil 4.2.7. (a) 2. gün TNBS+L-NAME 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4,20) gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



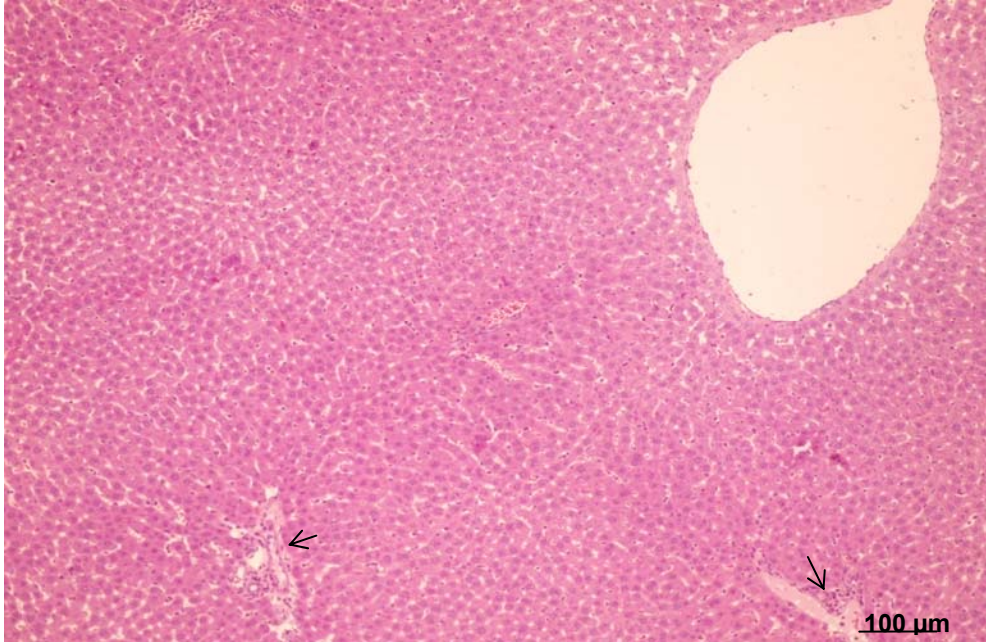
Şekil 4.2.7. (b) 2. gün TNBS+L-NAME 40mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4,20) gözlenen portal alanlarda kısmi iltihabi hücreler (ok başı).



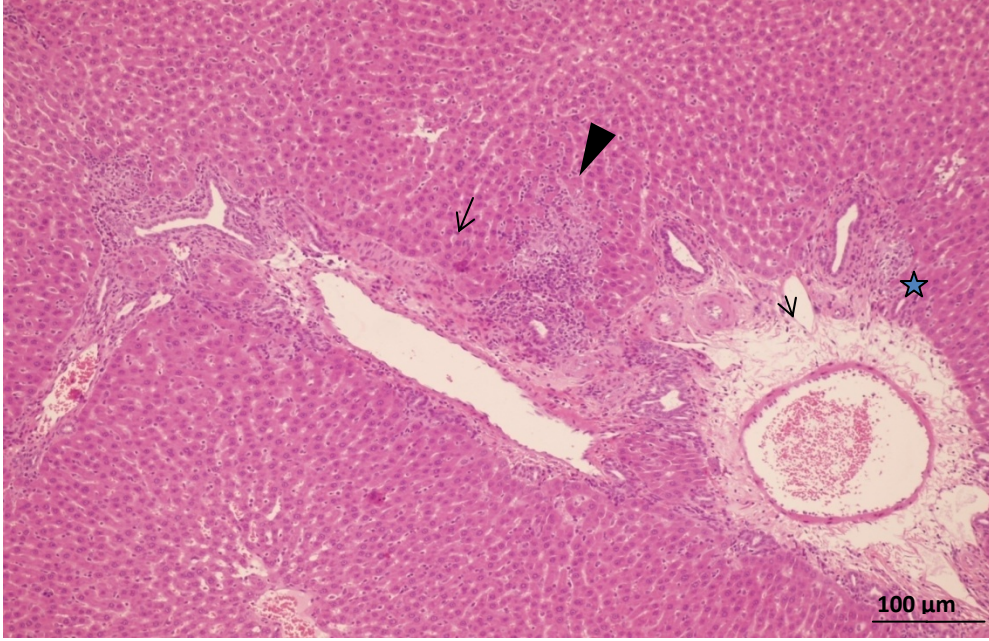
Şekil 4.2.8. (a) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4,20) normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler (ok) gözlenmekte.



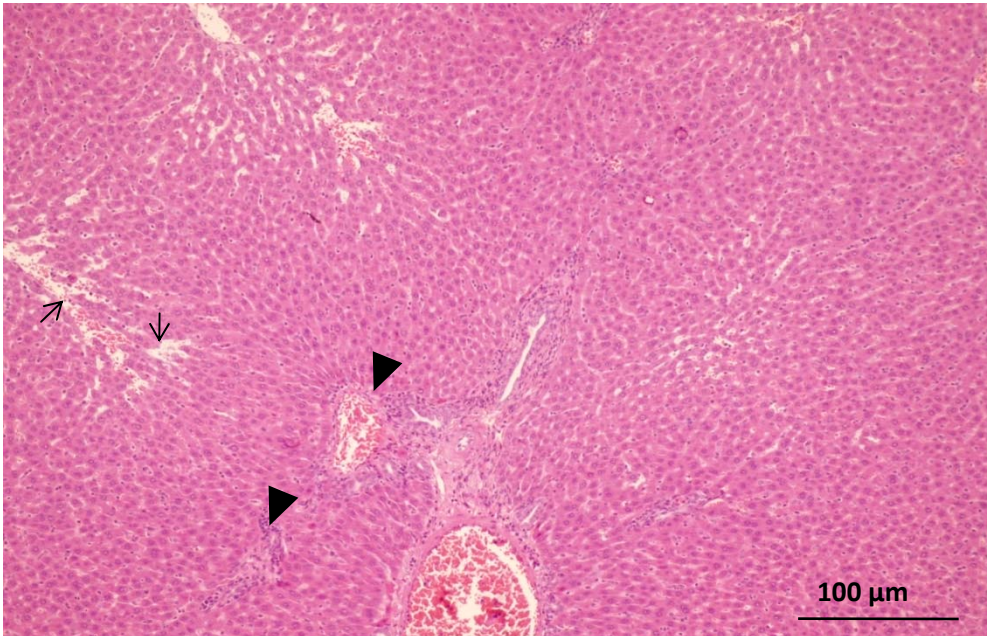
Şekil 4.2.8. (b) 2.gün TNBS+zeytinyağı grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde aynı grubun 2 farklı büyültmesinde (HE,X4,20) normale yakın KC yapısı görülmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler (ok) gözlenmekte.



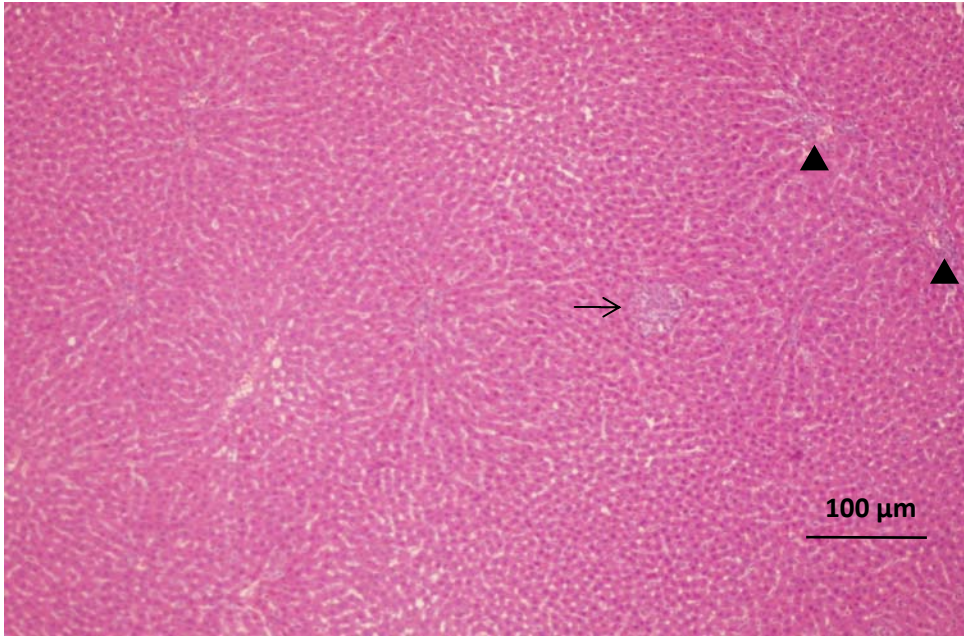
Şekil 4.2.9. 2.gün TNBS+likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde normale yakın KC yapısı gözlenmekte. Ancak portal alanda az da olsa nonspesifik iltihabi hücreler (ok) görülmekte (HE, X10).



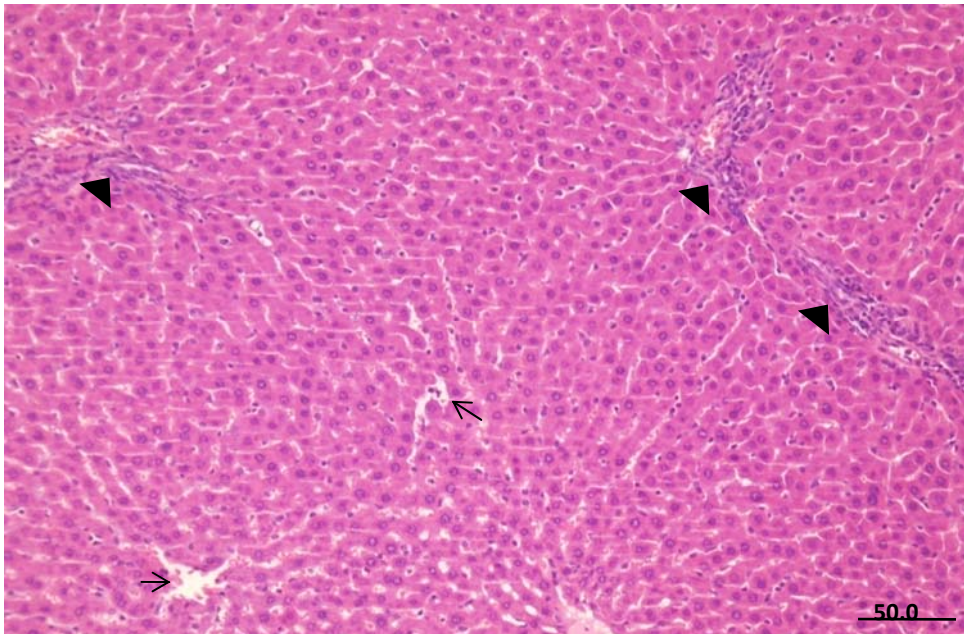
Şekil 4.2.10. 3.gün 120mg/kg TNBS grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde (HE, X10) diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında KC’ de daha fazla hasar gözlemlendi. Özellikle portal alanda safra kanalının etrafında yoğun iltihabi hücreler (ok başı), portal venlerde dilatasyon (ok) ve periportal alanda ödem görüldü (*).



Şekil 4.2.11. 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 (ok başı) ve parankimde bazı alanlarda sinüzoidlerde dilatasyon (ok) görüldü.



Şekil 4.2.12. 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)(HE, X10).



Şekil 4.2.13. 3.gün TNBS+likopen 5mg/kg grubu: KC dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde portal alanda TNBS grubuna oranla daha az olmakla beraber kısmi iltihabi hücreler (ok başı) görüldü. Ayrıca bazı alanlarda az da olsa sinüzoidal dilatasyonlar görüldü (ok) (HE,X20).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada TNBS nedenli kolitin karaciğerdeki toksik etkisini ve dolayısıyla koruyucu özelliği bilinen sentetik bir i-NOS baskılayıcısı olan nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) ile likopene bağlı olarak gelişen değişiklikleri belirlemek için biyokimyasal değişkenler (ALT, AST, LDH), histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır.

TNBS, deneysel olarak kolit oluşturmada yaygın kullanılan bir kimyasal ilaçtır [Morris et al.,1989; Neurath et al., 1995; Dohi et al.,2000].

Kolit, etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış, ekstraintestinal bulguları olabilen bağırsağın, kronik nonspesifik inflamatuvar hastalığıdır (Dieleman et al., 1994). Ekstraintestinal bulguların spektrumu oldukça geniştir; göz, eklem, hematolojik sistem tutulumu başta olmak üzere, kemik, renal ve hepatobiliyer sistem dahil birçok sistemi kapsamaktadır (Higuchi et al., 2001). 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.

Broome ve ark. (1994)' nın yaptıkları çalışmada kolit olan bireylerde çeşitli karaciğer-safra kanalı anormallikleri ve aminotransferaz (ALT ve AST) aktivitelerinin arttığı vurgulanmıştır. Ülseratif kolit ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki ilk kez 1873 yılında tanımlanmış ve bunu ülseratif kolitte karaciğer işlev bozuklukları ile ilgili bir çok makaleler takip etmiştir [Kleckner MS et al., 1952]. Her ne kadar inflamatuvar bağırsak hastalığı ile hepatobiliyer anormallikler arasındaki ilişki iyi tanımlanmış ise de bu olgunun patolojik temeli hala tam olarak açıklanamamıştır. Bu ilişkiyi açıklamak için otoimmünite, genetik faktörler, virüs enfeksiyonları ve bağırsak kaynaklı toksinler dahil bir çok faktörün rol oynadığı hipotezler öne sürülmüştür [Chapman, 1991]. İnflamatuvar bağırsak hastalığı sırasında, bağırsak epitelyumunun geçirgenliğinin 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]. Brand ve ark. (1994)' nın yaptıkları deneysel bir çalışmada hepatobiliyer değişim olmaksızın düşük düzeyde portal ve sistemik endotoksemi gözlenmiştir. Öte yandan bazı deneysel çalışmalarda TNBS nedenli kolitli sıçanlarda karaciğer hücrelerinde sıkı bağlantı bölgelerinin geçirgenliğinin arttığı ve hepatobiliyer komplikasyonlar nedeniyle karaciğer hasarının olduğu belirlenmiştir [Lora et al., 1997; Kawaguchi et al., 2000]. Son zamanlarda ülseratif kolitli hastaların % 2,3' ünde karaciğer bozuklukları rapor edilmiştir [Wever et al., 1991].

Bizim çalışmamızda tablo 4.2.1. de görüldüğü gibi 120 mg/kg TNBS grubunda karaciğer dokusunda ödem, vakuolizasyon, portal ven dilatasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve iltihabi hücreler gibi karaciğer hasarını gösteren değişimler (şekil 4.2.2.) meydana gelmiş ve bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). TNBS ile birlikte L-NAME, zeytinyağı ve likopen verilen gruplarda gelişen küçük çaplı karaciğer hasarları istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir ($p > 0.05$). Bu durum kolitte karaciğer hasarını önlemek için kullandığımız L-NAME, zeytinyağı ve likopenin koruyucu oldukları anlamına gelmektedir. En fazla koruma 5 mg/kg likopen verilen deney grubunda görülmüştür. Nitekim bu düşünce biyokimyasal parametrelerimizle de desteklenmiştir.

TNBS nedenli kolitte gelişen karaciğer hasarının inflamasyonun büyüklüğüne göre değişim gösterebileceği çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda ortaya konmuştur. Zira Neilly ve ark. (1995) yaptığı çalışmada karaciğer hasarına neden olacak kadar yüksek olmayan endotoksin konsantrasyonundan dolayı 100 mg/kg TNBS nedenli kolitli sıçanlarda karaciğer hasarına dair bir işaret bulunamamıştır. Diğer taraftan Masubuchi ve ark. (2007) yaptığı çalışmada portal endotoksin miktarı artmasına rağmen, 100 mg/kg TNBS nedenli kolitli hayvanlarda karaciğer hasarına dair bir bulgu bulunamamış ancak portal alanda artan interlökin-6 düzeyleri saptanmış ve bununda endotoxin nedenli karaciğer hasarını önlediği düşünülmüştür. Bu durum kolit nedenli karaciğer hasarının birçok faktöre bağlı gelişen bir anomali olduğu anlamına gelebilir. Dahası, deneysel kolit oluşturmak üzere kullanılan ajanın dozu ve uygulanma süresi de oluşan hasarın büyüklüğünü etkileyebilmektedir.

Nitekim ülseratif kolitli hastaların karaciğer biyopsilerinde yağlı karaciğer, portal alanların inflamasyonu, kolanjit, perikolanjit ve sklerozis kolanjit dahil karaciğer anomalilerine rastlanılmasının yanı sıra (Williams and Harned, 1987), ülseratif kolit ve Kron (Crohn) hastalığı olan insanlarda anormal karaciğer işlev testlerinin sıklığının yaklaşık %17' ye ulaşması (Wever et al., 1991) bizim çalışmamızdan elde edilen bulguları ve düşüncelerimizi destekler niteliktedir.

Deneysel çalışmamızın immünohistokimyasal (TNF- α) sonuçları karaciğer doku hasarını çok az yansıtmış ve bu yüzden de dikkate alınmamıştır. Ancak biyokimyasal parametrelerle ilgili sonuçlarımız (şekil 4.1.1, 4.1.2, ve 4.1.3) ve histopatolojik sonuçlarımız 120 mg/kg TNBS nedenli kolitte karaciğer dokusunun hasarlandığını çok açık bir şekilde göstermektedir (şekil 4.2.2, 4.2.6. ve 4.2.10). Şekil 4.1.1, 4.1.2, ve 4.1.3' te görüldüğü gibi 120 mg/kg TNBS nedenli kolitte karaciğer dokusu biyokimyasal parametreleri oldukça yükselmiş ve bu hasar da kontrole göre oldukça yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Kolit nedenli hasarın giderilmesinde TNBS ile birlikte koruyucu olarak kullandığımız maddelerden 40 mg/kg L-NAME ve 1 ml/kg zeytinyağı yeteri kadar koruyucu olamamışlardır. Ama TNBS ile birlikte koruyucu olarak kullandığımız 5 mg/kg likopen oldukça ciddi sayılabilecek bir koruma sağlamıştır. Bu koruma serum aminotransferaz ve laktik dehidrojenaz enzim düzeylerinin düşmesinin yanı sıra karaciğer dokusunda histopatolojik olarak da izlenmiştir.

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). NO, mitokondri iç zarında nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığıyla L-arginin' den sentezlenir. NOS enzimi sitokrom P450 protein ailesindedir ve L-NAME gibi bazı arginin analogları ile baskılanır (Gaskin et. al., 2004). Masubuchi ve ark. (2007) yaptıkları deneysel çalışmada kolitte portal alanda NO ve metabolitlerinin konsantrasyonun arttığı gözlenmiştir. Değişik in vivo modellerde kronik NOS inhibisyonu yapmak için L-NAME kullanılmaktadır [Khaül et al., 1998].

Bizim çalışmamızda kolit nedenli karaciğer hasarını önlemede kullandığımız sentetik bir İNOS inhibitörü olan L-NAME likopen kadar koruyucu olamamıştır. Gerek biyokimyasal bulgularımız gerekse histolojik verilerimiz 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 antioksidan (AO) sistemi ile kontrol edilir (Kurt et al., 2005; Karataş et al., 2006). 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 dismutaz (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 ksenobiyotiklerin 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 (Gupta et al., 2004). Likopen, singlet oksijen ile serbest radikallerin etkilerini önleme kapasitesi ve yüksek derecede AO etkisi yönünden son zamanlarda yapılan çalışmalarda dikkatleri üzerine çekmektedir. Likopen tarafından güçlü bir şekilde oluşturulan AO aktivite, çeşitli oksidatif hasarlar, toksisite ve diğer hastalıkların önlenmesine katkıda bulunmaktadır. 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 yada korunmasına katkıda bulunmaktadır (Reifen et al., 2004; Matos et al., 2000; Velmurugan et al., 2002). Stahl ve ark., (1998) yaptıkları bir çalışmada, diyetle sağlanan havuç suyu ya da domatesin DNA tamir yeteneğini artırıcı etkisi bildirilmiştir.

Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir [Mashima et al., 2001; Boileau et al., 2001; Rousseau et al., 1992].

Yaping ve ark., (2002) yaptıkları çalışmaya göre, likopen singlet oksijen süpürücü, nitrojen dioksit, sülfonil serbest radikallerini toplayıcı, lenfosit DNA' sı ve hücre zarlarındaki oksidatif hasarı engelleyici özellikleri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada, insan ve hayvanlarda hepatotoksisite oluşturan bir ksenobiyotik olan CCl₄ (karbon tetraklorür) metabolizmasında oksijen varlığında oluşan triklorometil peroksil radikale karşı likopenin antioksidan aktivitesini araştırmış ve likopenin emildiği yerde renginin açıldığı görülmüştür. Bu da likopenin triklorometil ile kolayca reaksiyona girdiğini göstermektedir. Çalışmanın sonucunda CCl₄ ile hasar verilmiş sıçanlarda hayatta kalma süresinin artması üzerine, likopenin faydalı etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Bizim çalışmamızda da 120 mg/kg TNBS nedenli kolite bağlı olarak gelişen karaciğer hasarının giderilmesinde 5 mg/kg likopenin oldukça etkili olduğu gerek serum aminotransferaz düzeyleri ve gerekse histopatolojik olarak karaciğer dokusunda oluşan hasarın giderilmesiyle kanıtlanmıştır.

Bu sonuçlar diğer araştırmacıların ileri sürdüğü gibi likopenin sitoprotektif etkilerinin olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla likopen kaynağı olarak domatesin toplumumuzda tüketilmesinin şiddetle önerilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- 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., Yermiah, T., Levy, J., Sharoni, Y., (1999) Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin-D3 cooperate in the inhibition of cell 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. (2000) Protective effects of vitamin C against cisplatin- induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats. *Pharmacol Res*; 41 (4): 405-11.
- Baskin SL, Salem H. (1997) *Oxidants, antioxidants, and free radicals*. Washington, D.C. Taylor & Francis. 364 p. Cheng TO. 2006. All teas are not created equal: the Chinese.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

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 resaerch 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.

Bramley PM., (2000) Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry.* 54(3): 233-6.

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

Brown M.S., and Goldstein, J.L., R.G.W. Anderson (1979) Coated pits, coated vesicles, andreceptor-mediated endocytosis. *Nature* 279: 679-685; Brown, M.S., R.G.W. Anderson, and J.L. Goldstein, (1983) Recycling receptors: The round-trip itinerary of migrant membrane proteins. *Cell* 32: 663-667.

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

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Conn, P.F., Schalch, W., Truscott, T.G., (1991) The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Photobiol.* B11: 41-47.
- Curtin, J.F., Donovan, M., Cotter, T.G., (2002) Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis, *J. Immunol Methods*, 265: 49-72.
- 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.
- 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

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

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

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., (1998) 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma, SD. (2004) Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutr* 2003; 19: 794-799, Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharma* 58: 100-110.

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

Halliwell, B., (1999) Antioxidant defencemechanism: from the begining to the end (of the begining), *Free Radical Res.*, 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., (1998) 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 (devam ediyor)

- Ikeda T, Schmitt B, Pouyssegur J, Wakabayashi S, Shigekawa M. (1997) Identification of cytoplasmic subdomains that control pH-sensing of the Na⁺/H⁺ exchanger (NHE1): pH-maintenance, ATP-sensitive, and flexible loop domains *J Biochem (Tokyo)* 121:295-303. (AN : 97244627).
- Kankuri E, Asmawi MZ, Korpela R, Vapaatalo H, Moilanen E (1999) *Induction of iNOS in a rat model of acute colitis. Inflammation* 23:141–152.
- Karataş F, Aşkın U, halifeoğlu İ, Dönder E (2006) Guatrlı Hastalarda Antioksidan Vitaminler(A,E,C), Selenyum Glutatyn Peroksidaz (GSH-Px) düzeylerinin Araştırılması, F.Ü. Sağ. Bil.Der., 20(4):277-280.
- 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: pp77-96.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY., Katz NB. (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, Barger 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.
- 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

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. (1990) Hepatic inflammation in rats with experimental small intestinal bacterial overgrowth *Gastroenterology*; 98: 414-423.

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.

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

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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- Mayer, B. & Hemmens, B. (1997) Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem. Sci.*, **22**, 477-481.
- McMichael, M., D., Moore, R.M., (2004) İschemia-reperfusion injury: pathophysiology, part I, *Journal of Veterinary and Critical Care*, 14(4): 231-241.
- McMichael, M., D., Moore, R.M. (2004) İschemia-reperfusion injury: assessment and treatment, 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.
- 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- 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.
- 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. (1997) Oxidative damage and fibrogenesis, *Free Radical Biology and Medicine*, 22: 287-305.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

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.

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.

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

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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

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): 407-4.

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

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.

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 heatprocessed 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

Stahl W., Sies H., (2005) Bioactivity and protective effects of natural carotenoids
BBAMolecular 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.

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.

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.

Wallach J. (2000) Interpretation of Diagnostic Tests., 7th edition, Lippincott
Williams Wilkins, 8:199-235.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

Wewer V, Gluud 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 antherosclerosis.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 CCl_3O_2 Food Chemistry, 77: 209-212.