

Sıçanlarda Karbon Tetraklorit'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Likopen ile Önlenmesi

PREVENTION OF CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS BY LYCOPENE

Dr. Hülyam KURT,^a Dr. Ayşe BAŞARAN,^a Dr. Erinç ARAL^b

^aTıbbi Biyoloji AD, ^bHistoloji Embriyoloji AD, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, ESKİŞEHİR

Özet

Amaç: Bu çalışmada deneysel olarak, sıçanlarda oksidatif stres oluşturan kimyasal madde karbon tetraklorit (CCl₄)'e karşı, antioksidan özelliği bilinen likopenin ne derece koruyucu etkisi olduğu araştırıldı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 3 aylık 32 adet Sprague Dawley soyu erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar eşit sayıda 4 gruba ayrıldı. İlk 10 günlük uygulamada, sadece IV. gruba likopen (5 mg/kg/gün) intragastrik (i.g) olarak verildi. İkinci 10 günlük uygulamada ise, I. gruba (kontrol) sıvı yağ (0.2 ml/kg/gün) intraperitoneal (i.p) ve (i.g), II. gruba CCl₄ (0.2 ml/kg/gün) (i.p) , III. gruba likopen (5 mg/kg/gün) (i.g), IV. gruba likopen + CCl₄ belirtilen dozlarda ve aynı saatlerde günde iki uygulama ile verildi. Madde uygulaması sona erdikten sonraki 24. saatte, eter anestezisi altında uygun teknikler kullanılarak karaciğer doku örnekleri alındı. Bu örneklerden hazırlanan homojenatta malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri tayin edildi. Histolojik çalışmalar için alınan karaciğer doku örnekleri %10 nötral formalinde tespit edildi. Rutin takip sonrası kesitler H&E ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Çalışma sonunda, likopenin tek başına beklenildiği gibi kontrole benzer değerler verdiği görüldü. CCl₄ verilen grupta ise, CCl₄ metabolizmasına bağlı olarak, oluşan serbest radikallerin MDA düzeyini artırdığı, böylece oksidatif hasarın oluştuğu tespit edildi. IV. grupta bu hasarın, likopen tarafından aktiviteleri artırılan ve serbest radikal süpürücüleri olarak kabul edilen CAT ve GSH-Px tarafından, nispeten düzeltilerek kontrol değerlere yaklaştırdığı görüldü. Histolojik sonuçlarında kimyasal sonuçları desteklediği tespit edildi.

Sonuçlar: Sonuç olarak, likopenin farklı dozlarda ve kullanım süreleri ile önleyici ya da terapatik bir ajan olarak rolü hakkında önemli bilgiler sağlayacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Karbon tetraklorit, likopen, serbest radikal, sıçan

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:167-173

Abstract

Objective: In this study, the protective effect of the antioxidant lycopene with respect to carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative stress in rats was examined experimentally.

Material and Methods: In this study, thirty-two three month-old Sprague Dawley male rats were assigned to four groups in equal numbers. Group four received lycopene (5 mg/kg/day) intragastrically (i.g.) for a 10-day period as pretreatment. In the second 10-day period, group one received liquid oil (0.2 ml/kg/day) intraperitoneally (i.p.), group two CCl₄ (0.2 ml/kg/day) (i.p.), and group three lycopene (5 mg/kg/day, i.g.). During this period, the previously-treated group four received the same dose of lycopene plus CCl₄ daily in two divided doses. Within 24 hours of the last dose, liver tissue samples were collected for homogenate from the rats using appropriate techniques under ether anesthesia. Malondialdehyde (MDA) levels were measured and catalase (CAT) as well as glutathione peroxidase (GPx) activities were determined. Tissue samples were fixed in 10% neutral formalin and slices were stained with H&E and examined under a light microscope in subsequent histological studies.

Results: Results showed, as expected, that the values obtained in the lycopene only treatment groups were close to values in the control group. In the CCl₄ treated group, free radical formation secondary to CCl₄ metabolism resulted in increased MDA levels and led to oxidative damage. This damage was corrected to levels comparable to those of the controls by the free radical scavengers CAT and GPx, the activities of which were noticeably increased secondary to lycopene treatments. Histological studies supported these biochemical results.

Conclusion: These results provide promising information regarding the ability of lycopene to act as a dose- and duration of use-dependant chemo-preventive or therapeutic agent.

Key Words: Carbon tetrachloride, lycopene, free radicals, rats

Geliş Tarihi/Received: 21.09.2004

Kabul Tarihi/Accepted: 10.01.2005

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Hülyam KURT
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji AD, 26480, ESKİŞEHİR
hkurtayda@yahoo.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25

Serbest radikaller paylaşılmamış 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.¹ Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler.²

Oksidatif stres oluşumunda rol alan ve birçok araştırmacı tarafından karaciğer hasarı oluşturduğu tespit edilen en önemli kimyasallardan biri karbon tetraklorit (CCl₄)'tir.^{3,4} CCl₄, kuru temizleme, otomobil tamiri ve farmasötikal üretim gibi bazı iş alanlarında kullanılmaktadır.⁵ CCl₄, toksik etkisini, bir serbest radikal olan triklorometil radikali oluşumu ile gösterir. Bu radikalin daha sonra oksijenle birleşmesi sonucu oluşan peroksil radikali de hücre zar yapısını bozarak hücre hasarı oluşmasında birincil mekanizma olarak rol oynayan kuvvetli bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır.⁶⁻⁸

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Bunlardan biri de likopen'dir. Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*Lycopersicon esculentum*)'de olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir.^{9,10} Karotenoid özellik ve fonksiyonları onların kimyasal yapılarından kaynaklanır. Çünkü bu yapıda tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C üniti (C=C) kuyruk kuyruğa bağlanarak tetraterpen yapıda uzar. Bu özellik de onların singlet oksijen (¹O₂) toplamalarına izin verir. Bu radikal toplama özellikleri sayesinde kanser, kalp rahatsızlıkları ve dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu birçok epidemiyolojik çalışmada gösterilmiştir.¹¹⁻¹³ Domates; domates suyu, sos, salça veya ketçap şeklinde işlendiği zaman, likopenin, kimyasal yapısı

ısıya bağlı olarak değişmekte bu da vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesini sağlamaktadır. Buna göre işlenmiş ya da pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır.¹⁴ Biz de bu çalışmada, deneysel olarak, CCl₄ ile oluşturulan oksidatif strese karşı, antioksidan özellikleri bilinen likopenin ne derece koruyucu etkisi olduğunu araştırmayı planladık.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma için Osmangazi Üniversitesi (OGÜ) Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan gerekli izin alındı. Çalışmada, OGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TI-CAM)'nden temin edilen, 3 aylık 200-250 g ağırlığında 32 adet Sprague-Dawley soyu erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, pellet yem ile *ad libitum* beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi. Her grupta 8 hayvan olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Tüm gruplara belirtilen uygulamalar her gün aynı saatlerde 2 uygulama şeklinde verildi (Tablo 1).

Çalışmada kullanılan CCl₄ Sigma firmasından, likopen ise aseptik torba içerisinde gönderilmiş 28/30 bx CB domates salçası numunesinde yapılan analiz sonucunda 65-70 mg/100 g olarak belirlenmiş olup, Demko Demirci Konservelik A.Ş'den analiz raporlu olarak temin edildi. CCl₄'in uygulama dozu 0.2 ml/kg/gün, likopen'in 5 mg/kg/gün olarak belirlendi.^{8,15} CCl₄ sıvı yağda, likopen ise distile suda çözündürülerek, sıçanlara daima taze hazırlanarak, numuneden gerekli likopen miktarı hesaplanarak verildi.

Deney bitimi olan 21. günde tüm sıçanlardan etik kurallara uygun olarak eter anestezisi altında karaciğer örnekleri alındı. Bunlardan malondialdehit (MDA) için %1 KCl, katalaz (CAT) için sodyum-

Tablo 1. Deney gruplarına maddelerin veriliş dozu, uygulama şekli ve süresi.

Gruplar	n	Ön uygulama ilk 10 gün	Ön uygulamayı takip eden son 10 gün	Uygulama şekli
I. Kontrol	8	-	0.2 ml/kg/gün sıvı yağ	(i.p) (i.g)
II. CCl ₄	8	-	0.2 ml/kg/gün CCl ₄	i.p
III. Likopen	8	-	5 mg/kg/gün Likopen	i.g
IV. Likopen + CCl ₄	8	5 mg/kg/gün Likopen	5 mg/kg/gün Likopen ve 0.2 ml/kg/gün CCl ₄	(i.p) (i.g)

i.p: İntra peritoneal, i.g: İntra gastrik.

potasyum fosfat tamponu (pH: 8) kullanılarak karaciğer örnekleri +4°C'de 4000 min⁻¹ rpm'de (veya 3113 x g'de) 15 dk. santrifüj edilerek (Soğutmalı santrifüj; Heraeus Biofuge Stratos) homojenize edildi. Karaciğer homojenatlarından elde edilen süpernatantlar, spektrofotometrenin distile su ile sıfırlanmasından sonra 532 nm'de MDA düzeyi ve 405 nm'de de CAT aktivitesi için ölçüldü. Literatürlere bağlı kalınarak değerlendirildi.^{16,17}

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi (Calbiochem® Kat. No: 354104) ticari kiti kullanılarak, kit protokolüne uygun olarak hazırlanan homojenatta ölçüldü. Bu kit homojenattaki GSH-Px aktivitesini indirek olarak ölçmektedir. GSH-Px ortamdaki organik peroksit varlığında redükte glutasyon GSH'ı okside glutasyona (GSSG) dönüştürür. Daha sonra dışarıdan ortama eklenen NADPH ve GR ile okside glutasyon tekrar redükte glutasyona dönüşmekte, böylece GSH derişimi sabit tutulmaktadır. Oluşan kimyasal tepkimede NADPH'ın NADP'ye dönüşmesi esnasında spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda absorbanstaki azalma izlenerek okside glutasyon oluşum hızı ölçülmüş ve GSH-Px enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

Hazırlanan örneklerde aynı gün ölçüm yapılacaktır. +4°C'de, daha sonra ölçüm yapılacaktır, -70°C'de saklandı. Ayrıca hesaplamada kullanılmak üzere Biüret yöntemine göre total protein kiti (Bio-Clinica) kullanılarak örneklerde total protein ölçümü yapıldı.¹⁸

Histolojik değerlendirme için tüm sıçanlardan total karaciğeri kapsayacak örnekler alınarak %10 tamponlanmış nötral formaline konuldu. Bu örneklerden rutin histolojik yöntem ile hazırlanan karaciğer doku preparatları ışık mikroskopunda değerlendirilip fotoğraflandı.

İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışma değişkenlerine normal dağılım Shapiro-Wilk testi yapıldı. Grupların ortalama farklılığı ANOVA ile karşılaştırıldı. Kontrole göre her bir deney grubunun önemliliği ise Dunnet testi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular

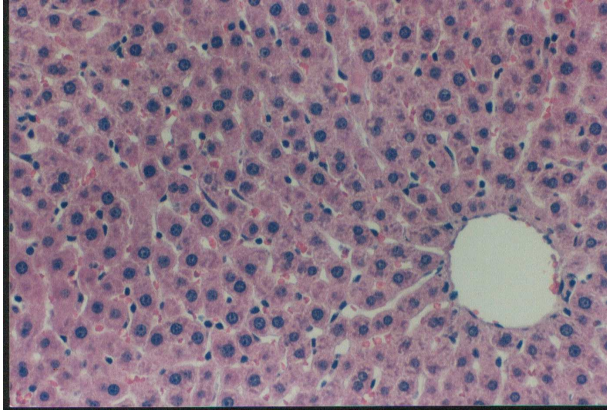
Kontrol grubu (I. grup) ile likopen verilen grubun (III. grup) MDA düzeyi, CAT ve GSH-Px aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmedi (p> 0.05). MDA düzeyi CCl₄ verilen grup (II. grup) ve likopen + CCl₄ verilen grupta (IV. grup) kontrole göre, istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek bulundu (p< 0.05) (Tablo 2). CAT aktivitesi II. grupta kontrole göre oldukça düşük olmasına rağmen, bu değer anlamlı bulunmadı (p> 0.05). IV.

Tablo 2. Karaciğer homojenatlarında MDA düzeyleri ile CAT ve GSH-Px aktivitelerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

Gruplar		MDA (nmol/g yaş doku)	Dunnet Çoklu Karşılaştırma Testi
		Ort ± St. Hata	Kontrol Grubu
MDA (nmol/g yaş doku)	I. Kontrol	16.71 ± 0.83	
	II. CCl ₄	26.48 ± 2.21	< 0.05
	III. Likopen	13.53 ± 0.52	> 0.05
	IV. Likopen + CCl ₄	21.39 ± 0.53	< 0.05
		F _(5;42) = 15.28 p< 0.001	
CAT (KU/g protein)	I. Kontrol	63.12 ± 15.51	
	II. CCl ₄	48.63 ± 11.15	> 0.05
	III. Likopen	68.60 ± 9.71	> 0.05
	IV. Likopen + CCl ₄	55.56 ± 10.76	> 0.05
		F _(5;42) = 0.44 p> 0.05	
GSH-Px (mU/mL)	I. Kontrol	28.90 ± 1.01	
	II. CCl ₄	14.41 ± 1.40	< 0.001
	III. Likopen	30.59 ± 1.00	> 0.05
	IV. Likopen + CCl ₄	22.92 ± 2.59	> 0.05
		F _(5;42) = 14.14 p< 0.001	

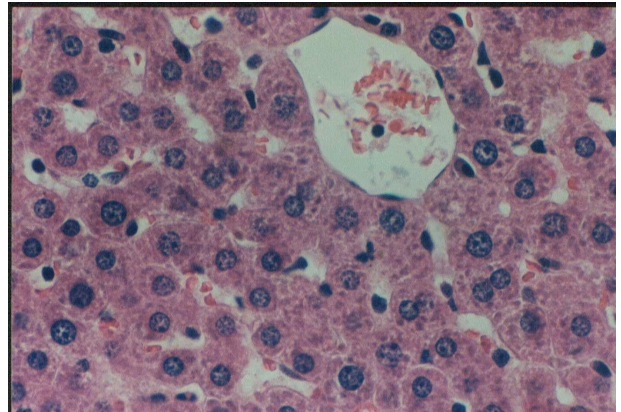
grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklılık göstermedi ($p > 0.05$) (Tablo 2). GSH-Px aktivitesi, II. grupta kontrole göre oldukça düşük olup, bu değer istatistiksel açıdan önemli derecede farklıydı ($p < 0.001$). IV. grupta kontrole göre, istatistiksel açıdan farklı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Histolojik olarak, kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinde, normal parankimal yapı gözlenmiştir. Bu yapıda, hepatositler *Vena centralis* çevresinde ışınal olarak kordonlar tarzında düzenlenmiş olup portal alanlarda ve terminal venlerde değişimler bulunmamaktadır (Resim 1). III. gruba

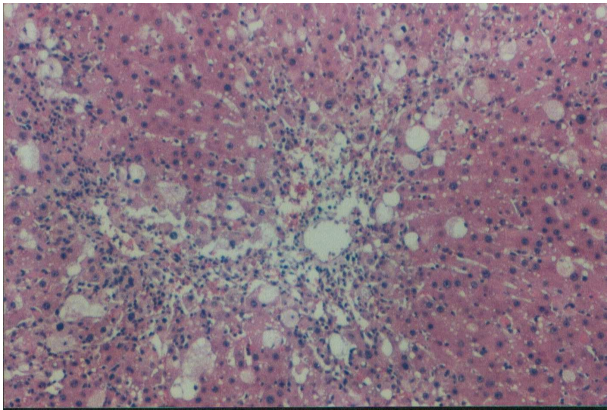


Resim 1. Kontrol grubuna ait karaciğer örneğinde *Vena centralis* çevresinde kordonlar tarzında düzenlenmiş hepatositler gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 66. H&E.

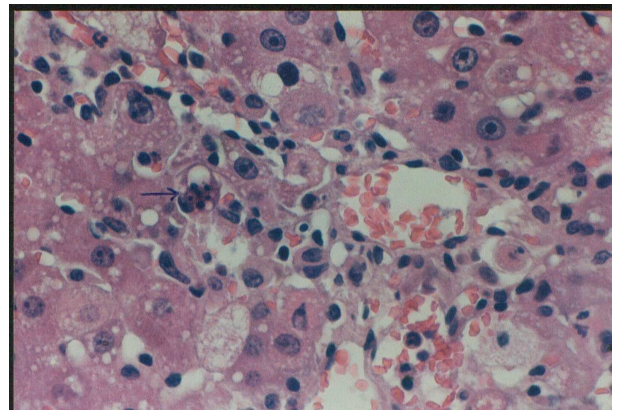
ait karaciğer örneklerinde de kontrol grubuna benzer bir yapı gözlenirken, II. grupta çok önemli karaciğer hasarı tespit edilmiştir (Resim 2). Bu hasar yaklaşık %50-60 oranında olup, hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, balonlaşma ve yağlı dejenerasyon şeklindedir. Ayrıca diffüz sentrilobüler nekroz ve parankimal yapıda düzensizlikler gözlenmiştir. Kesitlerde klasik karaciğer lobül yapısı ayırt edilememiştir. Bunlara ek olarak mononükleer (MNL) ve polimorf nükleer hücre (PMNL) infiltrasyonu vardır. Bazı hepatositlerde sitoplazma eozinofilisi iyice artmış olup, piknotik nükleuslar dikkati çekmektedir (Re-



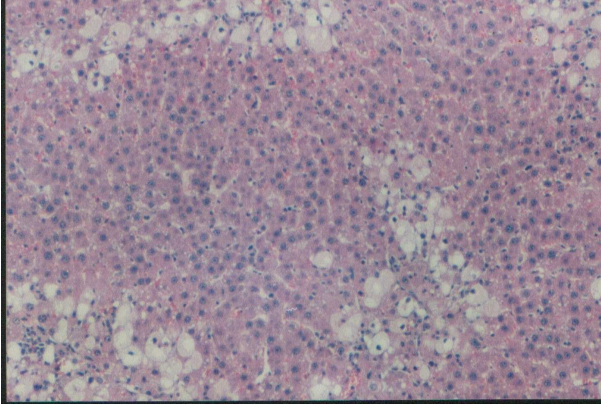
Resim 2. Likopen grubuna ait karaciğer örneğinde *Vena centralis* ve çevresinde normal yapı gösteren hepatositler gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 132. H&E.



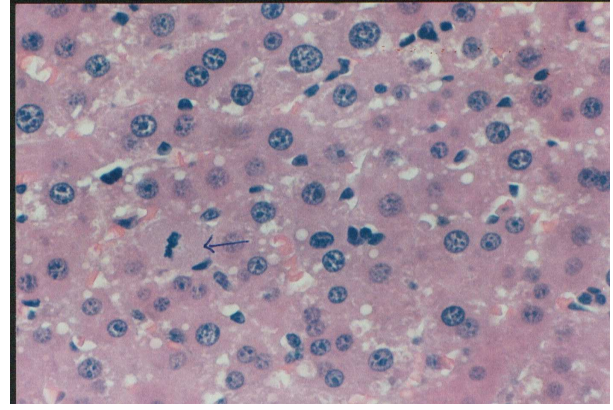
Resim 3. CCl₄ uygulanan gruba ait karaciğer örneğinde diffüz sentrilobüler nekroz, vakuolizasyon ve yağ dejenerasyonu gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 33. H&E.



Resim 4. CCl₄ uygulanan gruba ait karaciğer örneğinde nekroz alanına ait görüntüde hepatositlerde yaygın dejenerasyon, PMNL ve MNL infiltrasyonu ve (→) apoptotik cisimcikler gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 132. H&E.



Resim 5. Likopen + CCl₄ uygulanan gruba ait karaciğer örneğinde parankimal yapının kısmen korunduğu gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 33. H&E.



Resim 6. Likopen + CCl₄ uygulanan gruba ait karaciğer örneğinde hepatositlerde vakuolizasyon ve mitoz gözlenmektedir. Orijinal büyütme X 132. H&E.

sim 3, 4). CCl₄ ile birlikte likopenin uygulandığı IV. grupta karaciğerde yine diffüz nekroz gözlenmekle birlikte, hasar yaklaşık %40-50 oranında olup, minimal bir iyileşme söz konusudur. Hepatositler nekroz alanları dışında, kordonlar tarzında bir düzen göstermektedir (Resim 5, 6).

Tartışma

Araştırmamızın sonuçlarına göre, likopenin tek başına uygulandığı gruptan elde edilen kimyasal ve histolojik sonuçların kontrole yakın olması, beklenildiği gibi herhangi bir yan etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu nedenle, tartışmanın bundan sonraki kısmında aynı tekrarları ortadan kaldırmak amacı ile likopen verilen III. grup ele alınmadı.

Homojenat MDA düzeyi, CCl₄ verilen II. grupta kontrole göre yüksek bulunurken, CCl₄ ile likopenin verildiği IV. grupta ise kontrol değere göre yüksek olmasına rağmen II. gruba göre nispeten daha düşüktü. Sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulan oksidatif strese karşı Chitosan'ın antioksidan etkisine bakıldığı bir çalışmada, CCl₄'in karaciğer homojenatında lipid peroksidasyon sonuç ürünlerinden tiyobarbitirik asit reaktif substratları (TBARS) düzeyini arttırdığı gösterilmiştir.¹⁹ CCl₄ ile yapılan diğer bazı çalışmalarda da lipid peroksidasyonu sonucu artan MDA düzeyi bulguları, bizim bulgularımızla uyumlu bulundu.^{5,8,20} Oksidatif stres oluşturan ve tahıllarda bulunan bir mikotoksin olan T-2 toksininin tavuklarda neden

olduğu lipid peroksidasyona likopenin etkisi konulu bir çalışmada, likopenin tek başına verildiği gruptaki karaciğer homojenatında kontrole yakın bulunan değerleri, bulgularımızla uyumlu iken, likopenin T-2 toksini ile birlikte verildiği grupta görülen MDA düzeyindeki azalma bulgularımızla ters düşmektedir.²¹

Homojenatta CAT aktivitesi CCl₄ verilen II. grupta kontrol ve diğer gruplara göre düşük, IV. grupta ise kontrole yakın bulunmasına rağmen bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmadı. CCl₄ ile yapılan bazı çalışmalarda, CCl₄'in homojenatta CAT aktivitesinin düştüğünü gösteren sonuçlar bulgularımızla uyumlu bulunmadı.²²⁻²⁵ Homojenatta GSH-Px aktivitesi, CCl₄ verilen II. grupta kontrole göre önemli derecede düşük bulundu. Sıçanlarla yapılan birkaç çalışmada CCl₄'in kontrole göre düşürdüğü hepatic GSH-Px aktivitesine ait bulgular, bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.^{8,23,26} Likopenin CCl₄ ile birlikte verildiği IV. grubun kontrole yaklaşan değeri ise likopenin olumlu etkileri olduğunu ortaya koymaktadır. Likopenin homojenatta ki GSH-Px aktivitesi üzerine etkisi konulu literatüre rastlanmadığı için karşılaştırma yapılamadı.

Histolojik yönden baktığımızda kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinde normal parankimal yapı gözlenmiş olup hepatositler *Vena centralis* çevresinde ışınal olarak kordonlar tarzında düzenlenmiştir. Likopen grubuna ait karaciğer ör-

neklerinde kontrol grubuna benzer görünüm gözlenmiştir. CCl₄ verilen grupta yaklaşık %50-60 oranında çok önemli düzeyde karaciğer hasarı gözlenmiştir. Bu hasarda hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, balonlaşma ve yağlı dejenerasyon, diffüz sentrilobüler nekroz ve parankimal yapıda düzensizlik gözlenmiş olup klasik lobül yapısı ayırt edilememektedir. Ayrıca MNL ve PMNL infiltrasyonu vardır. Bazı hepatositlerde sitoplazma eozinofilisi artmıştır ve piknotik nükleus dikkati çekmektedir. CCl₄ ile birlikte likopenin uygulandığı grupta ise, karaciğerde yine diffüz nekroz gözlenmekte, ancak hepatositler nekroz alanları dışında, kordonlar tarzında düzenlenmekte olup hasar yaklaşık %40-50 civarındadır. Bu açıdan bakıldığında minimal bir iyileşme söz konusudur.

Sadece CCl₄ kullanılarak karaciğer histolojisine bakılan bir çalışmada, 15 gün boyunca sıçanlara 1.5 ml/kg CCl₄ uygulanmıştır. Çalışma sonunda karaciğer lobçuklarında periasiner ve portal bölgelerde hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu ve fibrozis ile çoğunluğu MNL daha az nötrofil lökositlerden oluşan hücrel eksudasyon saptandığı bildirilmiştir.⁵ Yine bir başka çalışmada 3 mg/kg CCl₄ uygulandıktan 24 saat sonra sitoplazmik vakuolizasyon, yağlı karaciğer ve sentrilobüler alanda orta derecede hepatosit nekrozu gözlemlendiği bildirilmiştir.³ CCl₄'in karaciğerde ödem, sitoplazmik şişme ve nükleer piknozis ile karakterize hepatosit bozulmasına neden olduğunu bildiren bir diğer çalışma da mevcuttur.²⁷ CCl₄ ile likopenin birlikte kullanılıp karaciğer histolojisine etkisine ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlanılmadı.

Yapılan bu çalışma sonucunda, CCl₄'in bilinen bozucu etkisi, artan MDA düzeyi, azalan CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri ve histolojik bulgularımız ile tekrar doğrulandı. CCl₄'in bu bozucu etkilerini likopenin az da olsa kontrol değerlere yaklaştırdığı tespit edildi. Histolojik tetkikler de kimyasal sonuçlarımızı destekler nitelikte olup likopenin karaciğer hasarını minimal düzeyde tamir ettiği gözlemlendi. Bu bulguların ışığında, likopenin daha üst düzeyde iyileştirici antioksidan

etkisini ortaya koyabilmek için, likopenin farklı doz seviyeleri ve uygulama süresi ile ilgili ileride yapılacak yeni çalışmaların, bu etken maddenin daha da iyi anlaşılmasına olanak sağlayacağı kanısındayız.

Teşekkür

Değerli katkılarından dolayı İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Öğr. Üyesi sayın Prof.Dr. Tuncay ALTUĞ'a ve OĞÜ Tıp Fak. Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Fezan ŞAHİN MUTLU'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-45.
2. Özdemir G. Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller). İstanbul: Roche Bilimsel Eserler Serisi; 1993. p.20-6.
3. Arosio B, Gagliano N, Fusaro LMP, et al. Aloe-emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride. *Pharmacol & Toxicol* 2000;87:229-33.
4. Lu KL, Tsai CC, Ho LK, Lin CC, Chang YS. Preventive effect of the Taiwan folk medicine *Ixeris laevigata* var. *oldhami* on α -Naphthyl-isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Phytother Res* 2002;16:45-50.
5. Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G, Dede S, Oto G, Alkan M. Karbontetraklorit (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda vitamin E + selenyum ve *Nigella sativa* (Çörekotu)'nın karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. *Türk J Vet Anim Sci* 2003;27:141-52.
6. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995. p.1-74.
7. Leon OS, Menendez S, Merino N, et al. Ozone oxidative preconditioning: A protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm* 1998;7:289-94.
8. Yalçın AS, Koçak-Toker N, Uysal M, Aykaç G, Sivas A, Öz H. Stimulation of lipid peroxidation and impairment of glutathione. *J App Toxicol* 1986;4:303-6.
9. Giovanelli G, Zanoni B, Lavelli V, Nani R. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. *J Food Engineering* 2002;52:135-41.
10. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl₃O₂. *Food Chem* 2002;77:209-12.
11. Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki K. Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett* 2000;151:111-5.
12. Stahl W, Sies H. Perspectives in biochemistry and biophysics lycopene; a biological important carotenoid for humans. *Arch Biochem Biophys* 1996;336:1-9.

13. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys* 2001;385:20-7.
14. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 1992;122:2161-6.
15. Matos HR, Capelozzi VL, Gomes OF, Mascio PD, Medeiros MH. Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys* 2001;396:171-7.
16. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;86:279-86.
17. Goth LA. Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chem Acta* 1991;196:143-52.
18. İmren AH, Turan O. Klinik tanıda laboratuvar. 3. Baskı. İstanbul: Sermet Matbaası; 1998. p.708-9.
19. Jeon Tae II, Hwang SG, Park NG, et al. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Toxicology* 2003;187:67-73.
20. Lee MK, Yeo H, Kim J, Kim YC. Protection of rat hepatocytes exposed to CCl₄ in-vitro by Cynandione A, a biacetophenone from *Cynanchum wilfordii*. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:341-5.
21. Leal M, Shimada A, Ruiz F, Gonzalez De Mejia E. Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. *Toxicol Lett* 1999;109:1-10.
22. Mansour MA. Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice. *Life Sciences* 2000;66:2583-91.
23. Murthy KNC, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J Agric Food Chem* 2002;50:4791-5.
24. Murthy KNC, Singh RP, Jayaprakasha GK. Antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts. *J Agric Food Chem* 2002;50:5909-14.
25. Nomura T, Yamaoka K. Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl₄ in mouse liver. *Free Radic Biol & Med* 1999;27:1324-33.
26. Cabre M, Camps J, Patermain JL, Ferre N, Joven J. Time-course of changes in hepatic lipid peroxidation and glutathione metabolism in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:694-9.
27. Sotelo-Felix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, Santillan RL, Castillo D, Yahuaca P. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J Ethnopharmacol* 2002;81:145-54.