



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE METHOTREXATE KAYNAKLI  
HEPATİK TOKSİSİTEYE KARŞI LİKOPENİN  
KORUYUCU ETKİSİ**

Arzu KAFALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Yavuz TEKELİOĞLU

TRABZON-2016

## ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin YENİLMEZ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Arzu KAFALI'nın hazırladığı "Farelerde Methotrexate Kaynaklı Hepatik Toksisiteye Karşı Likopenin Koruyucu Etkisi " başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgil maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Yavuz TEKELİOĞLU

\_\_\_\_\_

Yüksek Lisans Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Engin YENİLMEZ

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Yavuz TEKELİOĞLU

\_\_\_\_\_

Yrd. Doç. Dr. Züleyha ERİŞGİN

\_\_\_\_\_

Tarih: .../.../2016

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun .../.../.... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimler Enstitüsü Müdürü

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını , tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu , tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

....../....../2016

Arzu KAFALI

(İmza)

## **İthaf**

*Bu yüksek lisans tezimi çalışmanın başından beri her türlü desteğini benden  
esirgemediği için sevgili eşim Kenan KAFALI' ya ithaf ediyorum.*



## TEŞEKKÜR

“Farelerde Methotrexate Kaynaklı Hepatik Toksisiteye Karşı Likopenin Koruyucu Etkisi” isimli bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinden çalışmaların yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar her aşamasında bilgi, deneyim, destek ve görüşlerinden yararlandığım danışman hocam Prof. Dr. Yavuz TEKELİOĞLU’na minnet ve şükran borçluyum.

Çalışmam boyunca beni yönlendiren ve tezin çeşitli aşamalarında gösterdiği yardımlarından dolayı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ’e ve Prof. Dr. Esin YULUĞ’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca benden yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ersan ODACI ve Yrd. Doç Dr Gökçen KERİMOĞLU hocama sonsuz teşekkür ederim.

Tezin bütün aşamalarında büyük içtenlikle bilgi, deneyim ve tecrübelerini benden esirgemeyen çok değerli arkadaşım Arş.Gör. Gökşen Derya REİS KÖSE’ye, Arş.Gör. Uğur AKMAN’a ve Yüksek Lisans Öğrencisi Beyza AYAN’a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Arzu KAFALI

Trabzon, 2016

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

KABUL ve ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ

viii

ŞEKİLLER DİZİNİ

ix

RESİMLER DİZİNİ

x

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xi

1. ÖZET

1

2. SUMMARY

2

3. GİRİŞ ve AMAÇ

3

4. GENEL BİLGİLER

6

4.1. Karaciğer Anatomisi ve Fizyolojisi

6

4.2. Karaciğer Histolojisi

7

4.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

8

4.4. Antioksidan Sistem

10

4.5. Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi

11

4.6. MTX ve MTX'e Bağlı Karaciğer Hasarı

12

4.7. Likopen (LYC) ve Özellikleri

14

5. GEREÇ ve YÖNTEM

18

5.1. Deney Hayvanları

18

5.1.1. Labaratuar Koşulları

18

5.1.2. Deney Çalışma Planı

18

5.1.3. Doku Örneklerinin Toplanması

19

5.1.4. %10'luk Formalin Hazırlanması

19

5.1.5. Işık Mikroskopu İçin Dokuların Hazırlanması

20

5.1.6. Kesitlerin Alınması

20

5.1.7. Hematoksilen Eosin Boyama Yöntemi

20

5.2. İstatistiksel Analizler

21

|                                                 |           |
|-------------------------------------------------|-----------|
| <b>6. BULGULAR</b>                              | <b>22</b> |
| 6.1. Vücut ve Karaciğer Ağırlığına Ait Bulgular | 22        |
| 6.2. Histopatolojik Bulgular                    | 22        |
| <b>7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR</b>                  | <b>28</b> |
| <b>8. SONUÇ</b>                                 | <b>34</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR</b>                             | <b>35</b> |
| <b>10. ETİK KURUL ONAYI</b>                     | <b>43</b> |
| <b>11. ÖZGEÇMİŞ ve KİŞİSEL BİLGİLER</b>         | <b>44</b> |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                         | <b><u>Sayfa</u></b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Tablo 1.</b> Bilinen Farmakolojik (Eksojen) Antioksidanlar                                                           | 9                   |
| <b>Tablo 2.</b> Bilinen Doğal (Endojen) Antioksidanlar                                                                  | 11                  |
| <b>Tablo 3.</b> Domates, Domates Kaynaklı Gıda Ürünleri ve Bazı Meyve ile Sebzelerdeki Karotenoid Profilleri Miktarları | 17                  |
| <b>Tablo 4.</b> Çalışma Gruplarını, Uygulama ve Denek Sayısı                                                            | 18                  |
| <b>Tablo 5.</b> Deney Gruplarının Vücut ve Karaciğer Ağırlığına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar                       | 22                  |
| <b>Tablo 6.</b> Kontrol ve Deney Gruplarında Gözlenen Yapısal Değişiklikler ve Kruskal-Wallis Testi p Değerleri         | 23                  |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                       | <b><u>Sayfa</u></b> |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Şekil 1.</b> Antioksidan Sistemler                                 | 10                  |
| <b>Şekil 2.</b> Metotreksatın Kimyasal Yapısı (49).                   | 13                  |
| <b>Şekil 3.</b> LYC'nin Kimyasal Yapısı                               | 15                  |
| <b>Şekil 4.</b> İnsanlarda LYC Oksidasyonunun Olası Metabolik Yolları | 16                  |



## RESİMLER DİZİNİ

### Sayfa

- Resim 1.** Farelerden Karaciğerlerin Çıkarılması 19
- Resim 2.** Kontrol Grubuna Ait Normal Yapıdaki Fare Karaciğer Kesit Görüntüsünde; Hepatositler (■), Sinüzoidler (→) ve Santral Ven (★) Normal Görünümde İzlenmektedir (H&E, X400) 24
- Resim 3.** LYC+MTX Grubuna Ait Karaciğer Kesit Görüntüsünde; Hepatositler (■), Sinüzoidler (→) Ve Santral Ven (★) Normal Görünümde İzlenmektedir (H&E, X400) 25
- Resim 4.** Likopen Grubuna Ait Karaciğer Kesit Görüntüsünde Hepatositler (■), Sinüzoidler (→) Ve Santral Ven (★) Normal Görünümde İzlenmektedir (H&E, X400) 25
- Resim 5.** MTX Grubuna Ait Karaciğer Kesit Görüntüsünde; Parankimde İnflamatuar Hücre İnfiltrasyonu (■), Sinüzoidal Aralıkta Konjesyon (→), İzlenmektedir (H&E, X400) 26
- Resim 6.** MTX grubuna Ait Karaciğer Kesit Görüntüsünde; Parankimde Hepatositlerde Vakuolizasyon (■) Hepatositlerde Granüler Dejenerasyon (→) İzlenmektedir (H&E, X400) 26
- Resim 7.** MTX Grubuna Ait Karaciğer kesit görüntüsünde; parankimde apoptotik hücre (■), piknotik nükleus (→), Santral vende vasküler konjesyon (★) izlenmektedir (H&E, X400) 27
- Resim 8.** MTX Grubuna Ait Karaciğer Kesit Görüntüsünde; Santral Vende Yaygın Vasküler Konjesyon (▲) Ve Vena Portada Yaygın Vasküler Konjesyon (★) İzlenmektedir (H&E, X200) 27

## KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

### Kısaltmalar

|              |                                              |
|--------------|----------------------------------------------|
| <b>A.B.D</b> | Amerika Birleşik Devletleri                  |
| <b>ALL</b>   | Akut Lenfoblastik Lösemi                     |
| <b>DHFR</b>  | Dihidrofalat Redüktaz                        |
| <b>DNA</b>   | Deaksiribo Nükleik Asit                      |
| <b>LDL</b>   | Low Density Lipoprotein                      |
| <b>LYC</b>   | Likopen                                      |
| <b>MDA</b>   | Malondialdehit                               |
| <b>MTX</b>   | Methotreksat                                 |
| <b>ROP</b>   | Reaktif Oksijen Partikülleri                 |
| <b>ROS</b>   | Reaktif Oksijen Türleri                      |
| <b>SF</b>    | Serum Fizyolojik                             |
| <b>SOD</b>   | Süperoksit Dismütaz                          |
| <b>SPSS</b>  | Statistical Package for the Sciences Version |
| <b>SS</b>    | Standart Sapma                               |
| <b>USA</b>   | United States of America                     |
| <b>Vit-A</b> | Vitamin A                                    |
| <b>Vit-E</b> | Vitamin E                                    |

### Simgeler

|          |      |
|----------|------|
| $\alpha$ | Alfa |
| $\beta$  | Beta |
| $\gamma$ | Gama |

## Formüller

|                                            |                                          |
|--------------------------------------------|------------------------------------------|
| <b><math>\text{CCl}_3\text{O}_2</math></b> | Triklorometil peroksil radikali          |
| <b><math>\text{CCl}_4</math></b>           | Karbontetraklorür                        |
| <b>Fe-NTA</b>                              | Ferriknitrilotriasetat                   |
| <b><math>\text{GP}_x</math></b>            | Glutasyon peroksidaz                     |
| <b>MNNG</b>                                | N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin        |
| <b><math>\text{O}_2</math></b>             | Oksijen                                  |
| <b>PhIP</b>                                | 2-amino-1- metil-6-fenilimidazol piridin |
| <b>RO-</b>                                 | Alkoksi                                  |
| <b>ROO-</b>                                | Peroksi                                  |
| <b>-OH</b>                                 | Hidroksi                                 |

## 1. ÖZET

### **Farelerde Methotrexate Kaynaklı Hepatik Toksisiteye Karşı Likopenin Koruyucu Etkisi**

Bu çalışmada farelerde methotreksate (MTX) kaynaklı hepatik toksisiteye karşı likopenin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Deneyimizin toplam süresi 5 gün olarak belirlenmiştir. Çalışmada 24 adet balb-c tipi erkek fare 4 gruba ayrıldı. Birinci gruba (kontrol grubu) 0,5 cc serum fizyolojik (SF) verildi. İkinci gruba (MTX grubu) tek doz 20 mg/kg MTX verildi. Üçüncü gruba (MTX + LYC) deney süresinin (5 gün) ilk gün tek doz i.p (intra peritoneal) 20 mg /kg ve 5 gün boyunca gavaj yoluyla likopen 5 mg /kg verildi. Dördüncü gruba (LYC Grubu) 5 gün boyunca LYC verildi. Deney süresin bitiminde hayvanların tümü sakrifiye edilerek karaciğerleri alındı. Karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendi. Alınan karaciğer örneklerinin patolojik incelenmesi sonucu MTX alan grubun tamamında hepatositlerde granüler dejenerasyon ve vakuolizasyon, vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal aralıkta konjesyon, apoptotik hücre gözlemlendi. MTX + LYC grubunun tamamında hepatositlerde dejenerasyon ve vasküler konjesyon gözlemlendi. Kontrol ve LYC grubunda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Bulgularımız MTX 'in karaciğer hasarı meydana getirdiği ve LYC uygulamasının bu hasarı önleyebileceğini göstermektedir. Sonuç olarak methotreksate tedavisi sonrası oluşan karaciğer hasarının önlenmesinde LYC 'nin yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, fare, hepatik toksisite, karaciğer, likopen

## 2. SUMMARY

### **Protective Effects of Lycopene Against Methotrexate-Induced Hepatic Toxicity in Mice**

In this study, it is aimed to investigate the protective effects of lycopene (LYC) against methotrexate –induced hepatic toxicity in mice. The total period of our study was set as five days. In this study, twenty four balb-c type male rats were separated into four groups. 0,5 ml saline was given to the first group(control group). Single doze 20 mg/kg MTX was given to the second group ( the MTX group) as intraperitoneal. The third group ( the mice of treatment group - MTX+LYC) was enjected 20mg/kg of MTX on the first day of the study and for 5 days (including the first day) they were given 5 mg/kg of Lycopen by oral gavage. LYC was given to the 4th group (LYC group) for five days. At the end of the five days experiment, liver of the mice were taken out euthonasia were applied by exsanguination. Each of liver were divided some pieces and some of them used for histological process. These tissues were examined under a light microscope. The histopathological investigation of the second group (MTX group) preparations showed that in all MTX group preparations had granular degeneration in hepatocytes and vakuolizasyon, vaskular congestion, inflammatory cell infiltration, sinusoidal range congestion, apoptic cells and pycnotic nuclei. In all third group (MTX+LYC) had vascular congestion and degeneration in hepatocytes. There were no histopathological findings in the control group and LYC group. Our findings shows that MTX causes liver damage and LYC application can prevent this damage. Consequently, we think that LYC can be useful in the prevention of the liver damage that happens after MTX treatment.

**Key Words:** Antioxidant, mice, hepatic toxicity, liver, lycopene

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlarda yaşamın sürekliliğinin sağlanması, hareket, iş yapabilme ve büyüme gibi bütün fizyolojik olaylar enerji tarafından sağlanır. Enerji gereksinimini, oksidatif metabolizma tarafından kontrol edilen reaksiyonlar sonucu elde edilir. Oksidatif metabolizma yani erobik metabolizma, karbon ve hidrojen içeren metabolitlerin, karbondioksit ve suya tamamen yükseltgenmesini kapsar (1). Oksijen, oksidatif metabolizma sırasında enerji eldesi için suya indirgenirken çok az bir kısmı da “Serbest Radikaller” adı verilen elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelere dönüşür. Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pek çok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler. Serbest radikaller, organizmada, diğer metabolik yolların işleyişi sırasında da oluşabilmekte veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de meydana gelebilmektedir. Birçok hastalığın oluşması ve patolojik durumun ortaya çıkmasında serbest radikallerin rolü vardır (2, 3, 4). Bunun yanı sıra, bu molekülleri yakalayıp etkisiz hale getiren, “Antioksidan” adı verilen maddeler bulunur. Antioksidanlar, bu moleküllerin doku savaşlarında etkisiz hale gelmesini sağlayabilirler. Normal koşullarda vücut, doğal antioksidan sistemleriyle serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik sonucu, hücrelerin lipid tabakası peroksidasyona uğrayarak, oksidatif stres diye adlandırılan hücre hasarları meydana gelir.

Kanser tedavisinde kullanılan en etkili tedavi yöntemlerinden biri kemoterapidir. Ancak kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçların ortak özelliği çoklu organ sistemlerinde toksik yan etkiler oluşturmalarıdır. Gastrointestinal sistem, hematolojik ve merkezi sinir sistemi gibi kısımlar kemoterapiden etkilenen bölgelerden bazılarıdır (4). Metotreksat (MTX) solid ve hematolojik kanserlerde antineoplastik ve bazı inflamatuvar hastalıklarda da yaygın şekilde kullanılan folik asit antagonisti bir ilaçtır (5, 6). Uzun yıllardır yani çocukluk çağı akut lösemilerinde geçici remisyon sağladığı bulunduğu beri (1948) klinikte kullanılmaktadır. Klasik olarak folik asit antagonisti olarak bilinen MTX, aktif olarak bölünen hücrelerde dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek folik asitin folinik asite dönüşümünü engeller (7,8). MTX’in gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrek, cilt ve kemik iliği üzerine olan toksik etkileri

iyi bilinmektedir (5,9). Yapılan çalışmalar MTX'in antioksidan enzim sisteminin etkinliğini azatarak, hücreleri reaktif oksijen partiküllerine (ROP)'ne karşı hassas duruma getirip hasara neden olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda MTX'e bağlı organ hasarının oksidatif stres sonucu olabileceği düşünülmektedir (10-12). Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda MTX kaynaklı oksidatif stres çeşitli organlarda özellikle karaciğerde hasar patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gözlenmiş ve karaciğerde fokal nekroz, central vende dilatasyon, inflamatuvar hücreler, yoğun sitoplazmalı apoptotik hücreler tesbit edilmiştir (13, 14). MTX'in oluşturduğu toksisiteden korunmak için antioksidanlarla birlikte kullanılmalıdır (15).

Antioksidan görevleri olan çeşitli vitaminler, minareller ve belirli enzimlerin dışarıdan vücuda alınabilmesi yanında, beslenme de iyi bir antioksidan savunma aracı olabilmektedir (3, 16). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda domates ve domates ürünlerinin, antioksidan olarak kabul edilen yüksek likopen içerikleri nedeniyle beslenme ve sağlık üzerine yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (17). Likopen serbest radikallerin etkilerini azaltan veya tamamen ortadan kaldıran bir maddedir.

Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*lycopersicum esculentum*)'de olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (18, 19). Likopen, serbest radikal süpürücü ve DNA hasarına karşı koruyucu özellikleri olan bir karotenoiddir (20). 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 özellikde onların singlet oksijen ( $O_2$ ) 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 (21, 22). 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 antioksidan-koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Likopen, cilt hücreleri arasındaki bağları da kuvvetlendirmektedir. Diğer bir yararlı etkisi, ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlamasıdır. Likopen aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliğe de sahiptir. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp

damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (23, 24). Biz bu çalışmada MTX kaynaklı hepatik toksisiteye karşı likopenin koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.



## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Karaciğer Anatomisi ve Fizyolojisi

Abdominal boşluğun üst bölümünde bulunan karaciğer, vücutta salgı yapan en büyük organdır. Yaygın damar ağına sahiptir ve iki ana loptan oluşur. Sağ lop sola oranla daha büyüktür. Hepatik hücrelerden oluşmuştur.

Karaciğerin fonksiyonları; kan dolaşımı, dışa atışla ilgili fonksiyonları, karbonhidrat metabolizması, protein metabolizması, yağ metabolizmasındaki etkinliği, hematolojik ve diğer fonksiyonlar olmak üzere 7 grupta toplanabilir.

1. Kan dolaşımı ile ilgili fonksiyonları; kanın portal dolaşımdan sistemik dolaşıma geçmesi, kanın depo edilmesi, toksik maddelerin arınması, retikuloendotelyel sistem ile bağışıklık mekanizmasının oluşması ile ilgilidir.

2. Dışa atışla ilgili fonksiyonları; safra oluşumu ve safranin bağırsak içine boşaltılması safra tuzları, kolesterol, bilirubin türevleri gibi ürünlerin safra içine geçişi, alkalen fosfataz, ağır metaller gibi bazı maddelerin safra bileşiminde dışarı atılmasını içerir.

3. Karbonhidrat metabolizmasındaki etkinliği; glikojenin yapımı ve depolanması galaktoz ve fruktozun glikoza çevrilmesi, amino asitlerin glikoza çevrilmesi (glikoneogenesis), glikojenden glikoz oluşumu (glikogenoliz), kan glikoz seviyesinin düzenlenmesi ve karbonhidrat metabolizmasındaki birçok önemli kimyasal bileşiklerin yapımı ile ilgilidir.

4. Protein metabolizmasında; amino asitlerin deaminasyonunu (azot gruplarının ayrılarak enerji için kullanımları), yağların lipoproteinlere çevrilmesinde gerekli lipotropik faktörün sağlanmasını, plazma proteinlerinin yapımını, üre yapımını (NH<sub>3</sub>-üre), birçok amino asidin birbirine veya diğer öğelere çevrilmesini (transaminasyon, aminasyon, esansiyel olmayan amino asitlerin ve pürin, pirimidin gibi moleküllerin sentezi) sağlar.

5. Yağ metabolizmasında; yağların taşınabilir şekle gelmesinde (lipoproteinlerin yapımı), yağ asitlerinin asetoasetik aside oksidasyonu ile asetil COA'ya çevrilmesi ve böylece krebs halkasında enerji sağlanmasında, kolesterol ve fosfolipidlerin yapımında,

safr tuzlarının yapımında, karbonhidrat ve proteinlerin yağa çevrilmesinde görevi vardır.

6. Hematolojik fonksiyonları; embriyo ve yetişkinde kan oluşumu, fibrinojen, protrombin, globulin ve heparinin oluşturulması, eritrosit yıkımı, demirin ferritin olarak depolanması ile ilgilidir.

7. Bunların dışında, vitamin depolar (A, D, B12 ve diğer B grubu vitaminler, K vitamini), karotenlerin A vitaminine çevrilmesini sağlar. Yabancı maddeleri (çeşitli ilaçlar gibi) kandan çıkararak koruyuculuk yapar (detoksifikasyon), kanda bağırsaktan vena-porta yolu ile emilen amonyağın ortamdan uzaklaştırılmasını ve steroid hormonların atımını sağlar (25).

#### **4.2. Karaciğer Histolojisi**

Karaciğerdeki hücrelerin 2/3'ünü hepatositler oluşturur. Geri kalan hücreler; Kupffer hücreleri (retiküloendotelial sistemin hücreleri), stellat hücreler (İto veya yağ biriktirici hücreler), endotelial hücreler, safra kanal hücreleridir. Işık mikroskopunda lobüler yapı gösterir (26). En küçük fonksiyonel ünitesi “asinus” tur. Köşelerde portal alanlar ve ortada santral venin yer aldığı yapı “lobül” olarak isimlendirilir. Portal alan, hepatik ven ve arter ile safra kanalı, lenfatikler, bir miktar kollajen ve destek dokusu içerir (27). Bir portal aralık ile komşu iki santral ven arasında kalan üçgen yapı “asinus” olarak adlandırılır. Bu ana çatı üzerinde, hepatositler biri diğerinin üzerinde olacak şekilde yerleşmesi ile “plock-kordon” denilen duvarlar yaparak portal aralıktan santral vene doğru uzanırlar. Hepatosit kordonlarını birbirinden ayıran dar aralık, sinuzoidal aralık olup, portal aralıktan santral vene doğru kan akımı olur. Saffra akımı ise kan akımının tersine santral venden portal alana hepatositler arasından akmaktadır. Sinuzoidlerin endotelial yüzeyi ve hepatositler arasında “disse aralığı” bulunur. Hepatositlerin basolateral yüzü disse aralığı ile komşudur. Hepatositin apikal yüzü ise, safra bileşiklerinin salgılandığı kanaliküler membranları teşkil eder. Bu kanaliküller portal alanları ađ gibi sarar (28). Disse aralığında; hepatosit villusları, endotelden filtre edilen plazma, fibronektin, proteoglikanlar ve kollajen bulunur.

Disse aralıđındaki kollajen fibriller (özellikle tip I ve tip IV kollajen) hepatositlere destek ičin çatı özelliđi tařır (27).

#### 4.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Canlı hücrelerin yapı taşlarını oluşturan moleküllerin atomları, kovalent bağlarla birbirine bağlıdır. Bu tip bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli bir enerji kaynağı ile (radian ısı veya çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir. Bu tip bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar “serbest radikal” olarak adlandırılırlar (29, 30). Dokularda meydana gelen reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikaller DNA, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi biyolojik açıdan önemli materyallere zarar verebilmektedir.

Serbest radikaller vücut dışından gelebileceği gibi insan metabolizmasının doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir. Serbest radikallerin endojen olarak üretimi farklı yollarla gerçekleşmektedir. Buna karşılık, canlı organizmalar serbest radikallerin potansiyel yıkıcı etkilerine karşı kendilerini korumak için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (31). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (32). Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (31).

Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen ( $1O_2$ ), süperoksit anyonu ( $\cdot O_2^-$ ), hidroksi ( $\cdot OH$ ), peroksi ( $ROO\cdot$ ) ve alkoksi ( $RO\cdot$ ) radikalleridir (33). Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol

oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir (31). Tablo 1’de prooksidan faktörler ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki denge gösterilmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (34).

**Tablo 1.** Bilinen Farmakolojik (Eksojen) Antioksidanlar (36)

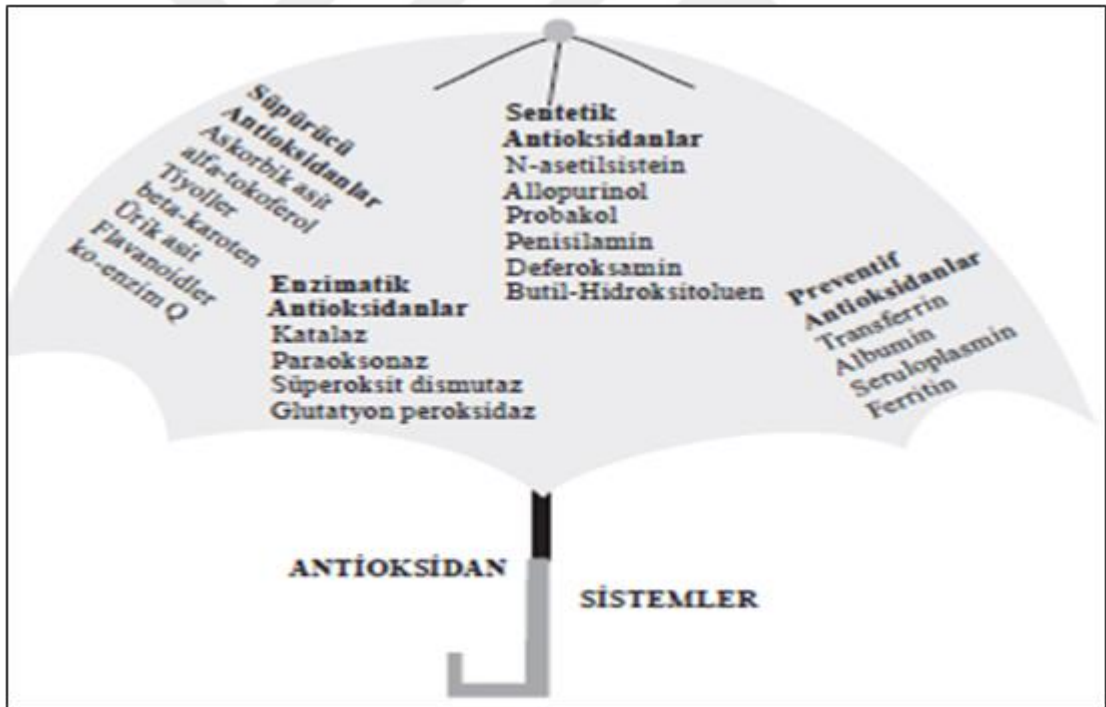
| Antioksidan Sınıfı             | Spesifik Tipi                                                                                                      | İşlevi                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ksantin oksidaz inhibitörleri  | Allopurinol, Oksipurinol, Pterin aldehit, Tungsten                                                                 | Süperoksit üretimini inhibe eder                                                                                                                                                                                                                   |
| Proteaz İnhibitörleri          | Soya tripsin inhibitör, Serin proteaz inhibitör                                                                    | Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder                                                                                                                                                                                               |
| NADPH oksidaz inhibitörleri    | Fenilmetilsülfonil , Adenozin, Lokal anestetikler, Ca <sup>++</sup> kanal blokerleri, NSAID, Cetiedil              | Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu                                                                                                                                                                                             |
| SOD                            | IgA bağımlı, Polietilen glikol SOD, Ginko Biloba (Egb 761)                                                         | Süperoksitten hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler                                                                                                                                                                                          |
| Katalazlar                     | Polietilen glikol Katalaz<br>Lipozom kapsüllü katalaz                                                              | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ’nin oksijen ve suya indirgenmesi                                                                                                                                                                                    |
| Nonenzimatik topplayıcılar     | Mannitol<br>Albumin<br>Dimetil sülfoksit<br>17-aminosteroid lazoritler<br>Glutasyon<br>Ürik asit<br>Spin tuzakları | Hidroksil radikal giderici<br>Geniş çaplı oksidan topplayıcı<br>Fe, Süperoksit ve hidroksil topplayıcı<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ve hidroksil giderici<br>Süperoksit giderici<br>Süperoksit ve hidroksil giderici<br>Tüm radikalleri toplar |
| Demir redoks zinciri inhibitör | Bilirubin<br>Desferoksamin, Apotransferrin, Seruloplazmin                                                          | Peroksidasyon zincirini bozar<br>Serbest Fe <sup>+3</sup> atomlarını bağlayarak radikal reak. önler                                                                                                                                                |
| Endojen savunma artırıcı ajan  | Antinötrofil serumu<br>Monoklonal antibodiler<br>Platelet aktive edici faktör                                      | Hücrel glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır<br>Nötrofillerin endotele adezyonunu inhibe eder<br>Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder                                                                                                    |

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest

radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (31). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (35).

#### 4.4. Antioksidan Sistem

ROS'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar 'antioksidan savunma sistemleri' olarak bilinirler (Şekil 1). Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler (Tablo 1 ve 2) (36). Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir.



Şekil 1. Antioksidan Sistemler (36)

Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon S-transferaz,

glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (37).

**Tablo 2.** Bilinen Doğal (Endojen) Antioksidanlar (36)

| Antioksidanlar       | Yapısı                | Yerleşimi                        | İşlevi                                                 |
|----------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Sitokrom oksidaz     | Tetramerik protein    | Plazma                           | Stüperoksit nötralizanı                                |
| SOD                  | CuZn, Mn SOD          | Mitokondri, serum                | Stüperoksiti H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye çevirir |
| Katalaz              | Hemoprotein           | Peroksizomlar                    | Peroksit nötralizanı                                   |
| GPx                  | Selonoprotein         | Sitosol, mitokondri              | Lipit peroksidasyon türlerini indirger                 |
| GSH-redüktaz         | Dimerik protein       | Sitosol, mitokondri              | Distülfiteri indirger                                  |
| $\alpha$ - tokoferol | Yağda çözünen vitamin | Membranlar, ekstrasellüler ortam | Peroksidasyonu azaltır                                 |
| $\beta$ - karoten    | Vit-A prekürsörü      | Hücre membranları                | Peroksil temizleyicisi                                 |
| Glutasyon            | Tripeptit             | İntrasellüler ortam, alveoller   | Rredoks substratı                                      |
| Ürik asit            | Okside pürin bazı     | Geniş bir dağılım gösterir       | Hidroksil toplar, Vit C'yi korur                       |
| Sistein              | Amino asit            | Geniş bir dağılım gösterir       | Organik bileşikleri indirger                           |
| Albumin              | Protein               | Plazma, serum                    | Serbest radikal giderici                               |
| Bilirubin            | Hemoprotein türün     | Dolaşım kanı, dokular            | Zincir kırıcı antioksidan                              |
| Seruloplazmin        | Protein               | Dolaşım kanı, dokular            | Stüperoksiti H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye çevirir |
| Transferrin          | Glikoprotein          | Plazma                           | Demir iyonlarını bağlar                                |
| Laktoferrin          | Protein               | Plazma                           | Demir iyonlarını bağlar                                |
| Ferritin             | Glikoprotein          | Dolaşım kanı, dokular            | Doku demiri bağlayıcısı                                |
| Askorbik asit        | Suda çöz. vitamin     | Hücre içi ve dışı sıvıları       | Vit E'yi rejenere eder                                 |

#### 4.5. Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi

Vücudun antioksidan dengesi diyetten büyük ölçüde etkilenmektedir. Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik koşullar oluşabilmektedir. Reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma

sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına ve “oksidatif stres” koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; E vitamini, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterince alınmasına bağlıdır (37).

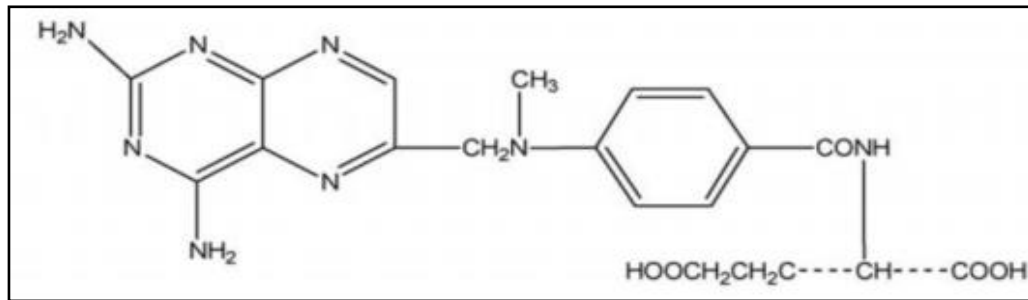
Bu vitaminler birlikte etkin bir şekilde çalışarak hastalık ve hasarlara neden olan zararlı reaktif oksijen türlerinin etkisini yok etmektedir. E vitamini (tokoferoller), yağda çözünebilir başlıca antioksidanlardan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır (31). E vitamininin yüksek dozlarda diyet ilavesinin LDL düzeylerini önemli ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir (38). Askorbik asit de vücudun ekstraselüler sıvılarında bulunan ve suda çözünebilir önemli bir antioksidandır. Vücutta sentezlenemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gerekmektedir. Askorbik asidin indirgen bir ajan olmasının yanı sıra E vitaminini rejenere etme özelliğine de sahiptir (31). Karotenoidler ise; antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler (39). Önemli diyet karotenoidlerinden  $\beta$ - karoten; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, likopen; domateste ve lutein; brokoli ve lifli yeşil sebzelerde bulunmaktadır (31). Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal kelatör olmaları nedeniyle önemli antioksidanlar arasında sayılmaktadır (40). Selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi mineraller de koruyucu enzimlerin yapıları ve katalitik aktiviteleri için gereklidir (31)

#### **4.6. MTX ve MTX'e Bağlı Karaciğer Hasarı**

Metotreksat, 2, 4-diamino-N10-methyl propylglutamic acid (şekil 2), çok sayıda hematolojik rahatsızlıkların, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir. Ayrıca meme kanseri, akut lenfoblastik lösemi (ALL), osteojenik sarkom, akciğer kanseri ve mesane kanserinin tedavilerinde de kullanılmaktadır (41). Hücre bölünmesini inhibe etmesi nedeni ile kanser tedavisinde uzun zamandan beri kullanılan ilacın, santral sinir sistemi hariç, oral ve intravenöz uygulamalarında, doku dağılımı iyidir (42). Kanser tedavisinde kemoterapötik ajan olarak kullanımının dışında psöriasis, multiple skleroz gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (41). Metotreksatın hem tedavideki

etkinliği hem de toksik etkileri hastadan hastaya değişkenlik gösterebilir (43). Bu yüzden diğer antineoplastik ilaçlardan farklı olarak metotreksat geniş bir doz aralığında kullanılmaktadır. Akut lenfoblastik lösemi idame tedavisinde ve romatoid artrit, psöriazis gibi hastalıkların tedavisinde haftada 20 mg/m<sup>2</sup> dozda kullanılırken, onkolojik hastalıklarda 1000-33000 mg/m<sup>2</sup> gibi yüksek dozlarda uygulanmaktadır (44). Metotreksat, sentez fazındaki hücreleri etkileyip hücre replikasyonunda anahtar enzim olan dihidrofolat redktaza bağlanarak pürin ve pirimidin yapımı için gerekli tetrahidrofolat sentezini inhibe eder (45). Metotreksat, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek DNA, RNA ve ATP sentezi için gerekli olan tetrahidrofolat sentezini durdurur, sonuçta timidilat, pürin nükleotidleri ve aminoasitlerin sentezinde azalmaya neden olur. Böylece nükleik asid ve protein sentezininler (46). Akut metotreksat toksisitesinde; metotreksat enjeksiyonunu takiben 2-4 saat içinde başağrısı, ense sertliği, bulantı, kusma ve ateş ortaya çıkar. Bazen bacaklara yayılan bel ağrısı, takiben duyu kaybı, parapleji, barsak veya mesane disfonksiyonu ile beyin ve spinal kordda demiyelinizasyon oluşabilir. Tranvers myelopati intratekal metotreksat tedavisinin nadir komplikasyonu olup genellikle birkaç enjeksiyondan sonra ortaya çıkar (47). Metotreksat pürin ve pirimidin sentezini inhibe ederek apoptozisle sonuçlanan DNA defektlerine yol açabilir (48).

Metotreksat tedavisi alan romatoid artritli hastaların karaciğer biyopsisinde, hem folat eksikliği hem de metotreksat poliglutamatlarının birikimi gösterilmiştir (49).

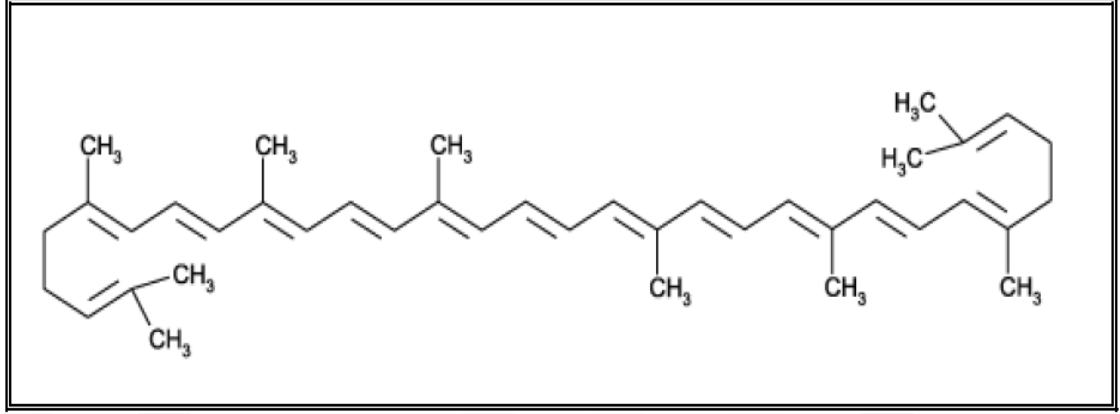


**şekil 2.** Metotreksatın kimyasal yapısı (4).

#### 4.7. Likopen ve Özellikleri

Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*Lycopersicum esculentum*)’de olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (50, 51). Karotenoidler 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 ekstraktlar şeklinde renklendirici olarak ilave edilir (52). İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-Vitamiini prekürsörü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten ve  $\beta$ -kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı  $\beta$ -karotendir.  $\beta$ -karoten A vitamini prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipid antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir (53). Karotenoidler insan sağlığı için önemli bileşiklerdir (54). Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli faktörün özellikle tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C ünيتينin ( $C=C$ ) kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen ( $1O_2$ ) toplamalarına izin verir. Karotenoidleinin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik olan çalışmalarla, kanser, kalp rahatsızlıkları, dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (50-56). Likopen tüm karotenoidlerde olduğu gibi asiklik  $C_{40}H_{56}$  yapısından türemiştir. 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağlı açık zincirli bir hidrokarbondur (Şekil 3) (57, 58). Likopen pro-vitamin A aktivitesine sahip değildir, insan serumunda da bulunur.  $\alpha$ -Karoten  $\beta$  Karoten Likopen  $\beta$ -Kriptoksantin Zeaksantin Lutein Kanthaksantin Astaksantin 25 Likopen  $\beta$ -karotene göre in-vitro sistemlerde antioksidan olarak daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir (59). Şekil 3- Likopen kimyasal yapısı (57) Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre

insanlar 50 den fazla diyetle bağı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir.

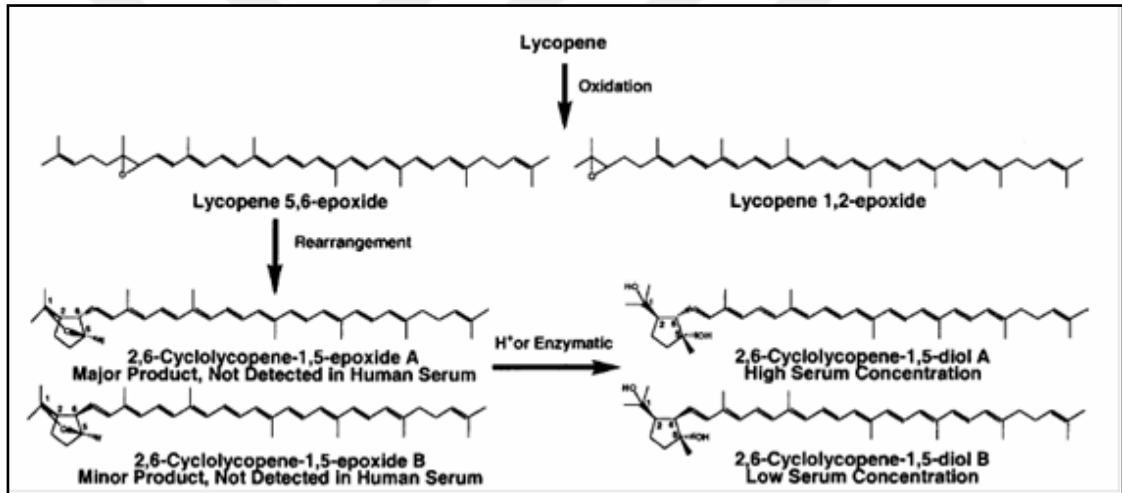


Şekil 3. LYC' nin Kimyasal Yapısı (57)

$\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -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 (17, 60, 61). Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri multilamellar lipozomlarda lipid peroksidasyonun ölçülmesi ile belirlenmiştir. Etki oranları likopen >  $\alpha$ -tokoferol >  $\alpha$ -karoten >  $\beta$ -kriptoksantin > zeaksantin =  $\beta$ -karoten > lutein şeklinde sıralanabilir (50, 55).

Bu güne 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 (62). İnsanlarda likopenin olası metabolik dönüşümü Şekil 4'de gösterilmiştir. Likopenle m-kloroperbenzoik asit oksidatif reaksiyonları ile ilk ürünün 1,2 ve 5,6 pozisyonlarında okside olduğu saptanmıştır. Likopen 1,2-epoksit oldukça stabil özellikte iken 5,6 epoksit türevi anstabildir ve kolayca siklize olarak 2,6 siklolikopen -1,5- epoksit A ve B karışımları haline gelir. Her ne kadar insan serumunda bu ilk türevler saptanamamışsa da uygun olan siklik dioller 2,6 -siklolikopen1,5- diolleri tesbit edilmiştir. Bu likopen metabolitleri domates kökenli ürünlere bağı olabilir. Ancak serumdaki bu metabolitlerin miktarı sadece çiğ domates ve domates kökenli ürünlerdeki düşük miktarlarla açıklanamaz. Bu nedenle şu anda insan serumundaki likopen

metabolitlerinin kaynağı çok iyi anlaşılamamaktadır (63, 64). Domates salçası, domates suyu gibi sıklıkla tüketilen yiyeceklerde yüksek oranda likopen bulunur (Tablo1) (65). 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 yada pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (65, 59). Likopenin de dahil olduğu diyetle bağlı antioksidanların reaktif oksijen türlerini inaktive ettiği ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayarak, prostat kanserinin önlenmesinde potansiyel moleküller olabilecekleri düşünülmektedir (66). Yine domates ve domates ürünlerinin, bazı kanser tiplerinin ve plazma lipid peroksidasyonunun gelişimi ile ters bir ilişki göstermesi de likopenin antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (50, 67).



Şekil 4. İnsanlarda Likopen Oksidasyonun Olası Metabolik Yolları (58)

**Tablo 3.** Domates, Domates Kaynaklı Gıda Ürünleri ve Bazı Meyve ile Sebzelerdeki Karotenoid Profilleri Miktarları (58)

| <b>KAROTENOİD KONSANTRASYONLARI (MG/100G)*</b> |         |                   |                  |                   |            |                  |           |         |        |             |
|------------------------------------------------|---------|-------------------|------------------|-------------------|------------|------------------|-----------|---------|--------|-------------|
| <b>Gıdalar</b>                                 | likopen | $\alpha$ -karoten | $\beta$ -karoten | $\gamma$ -karoten | nörosporen | $\zeta$ -karoten | fitofluen | fitoten | lutein | Zeakksantin |
| Salça                                          | 55,45   | 0                 | 1,27             | 9,98              | 6,95       | 0,84             | 3,63      | 8,36    | 0,34   | 0           |
| Domates sosu                                   | 17,98   | 0                 | 0,45             | 3,17              | 2,48       | 0,29             | 1,27      | 2,95    | eser   | 0           |
| Ketçap                                         | 17,23   | 0                 | 0,59             | 3,03              | 2,63       | 0,33             | 1,54      | 3,39    | 0      | 0           |
| Domates püresi                                 | 16,67   | 0                 | 0,41             | 2,94              | 2,11       | 0,25             | 1,08      | 2,40    | 0,09   | 0           |
| Makarna sosu                                   | 15,99   | 0                 | 0,44             | 3,02              | 3,15       | 0,34             | 1,56      | 2,77    | 0,16   | 0           |
| Domates suyu                                   | 10,77   | 0                 | 0,27             | 1,74              | 1,23       | 0,18             | 0,83      | 1,90    | 0,06   | 0           |
| Domates                                        | 9,27    | 0                 | 0,23             | 1,50              | 1,11       | 0,21             | 0,82      | 1,86    | 0,08   | 0           |
| Greyfurt                                       | 3,36    | 0                 | 2,34             | 1,38              | 0,38       | 0                | 0,01      | 0,02    | 0      | 0           |
| Papaya                                         | 2,52    | 0,02              | 0,22             | 0,01              | 0,05       | 0,19             | 0,44      | 0,68    | 0,02   | 0,02        |
| Kayısı                                         | 0,01    | 0,02              | 1,59             | 0,08              | 0          | 0,04             | 0,36      | 0,59    | 0,09   | 0           |
| Kuru Kayısı                                    | 0,86    | 1,60              | 8,56             | 0,13              | 0          | 0,14             | 2         | 2,27    | 0,36   | 0           |
| Portakal                                       | 0       | 0,02              | 0,06             | 0,004             | 0,01       | 0,1              | 0,06      | 0,08    | 0,35   | 0,25        |

\* LYC oranı iklim şartları, toprak yapısı ve ürünün çeşidine göre de değişiklik göstermektedir.

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya KTÜ Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan onay alındıktan sonra başlandı. Çalışmada ağırlıkları 25-30 gram arasında olan 24 adet 12 haftalık balb-c tipi erkek fare kullanıldı. Çalışma grubunu oluşturan farelerin tamamı KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Çalışma süresince farelerin bakımı beslenmesi ve barınması için KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde bulunan fare takip odaları kullanıldı. Deney için kullanılan farelerin tamamı Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildiği için çevre stresi ve uyum sorunu yaşamadı.

#### 5.1.1. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince laboratuvarın sıcaklığı  $22\pm 2$  C°, nisbi nem ortalama  $\%50\pm 5$  olarak ayarlandı. 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılma sağlandı. Farelere içme suyu olarak çeşme suyu verildi ve standart sıçan yemi ile beslendi. Çalışma süresince farelerin barındırılmasında standart kafesler kullanıldı.

#### 5.1.2. Deney Çalışma Planı

Çalışmada balb-c tipi erkek fare kullanıldı. 24 adet fare ağırlıklarına göre rastgele her bir grupta 6 fare olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Grupların özellikleri ve çalışma sırasında gruptaki sıçanlara uygulanan işlemler şu şekildedir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Çalışma Gruplarını, Uygulama ve Denek Sayısı

| Gruplar          | Uygulama                                                      | Denek Sayısı |
|------------------|---------------------------------------------------------------|--------------|
| 1. Kontrol grubu | Serum fizyolojik (SF) verildi(gavaj yoluyla)                  | 6            |
| 2. MTX grubu     | Tek doz i.p. MTX (20 mg/kg)                                   | 6            |
| 3. MTX + LYC     | Tek doz MTX (20mg/kg) i.p. + likopen (5mg/kg) (gavaj yoluyla) | 6            |
| 4. LYC           | LYC (5 mg/kg) (gavaj yoluyla)                                 | 6            |

1. Grup: Kontrol grubu (n: 6); Kontrol grubuna 5 gün boyunca gavaj yoluyla 0.5 cc serum fizyolojik (SF) verildi.

2. Grup: MTX grubu (n: 6); Deneyin ilk günü tek doz MTX (20 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı.

3. Grup: MTX + Likopen(LYC) (n: 6); Deneyin ilk günü tek doz MTX (20mg/kg) intraperitoneal olarak + 5 gün boyunca likopen (5mg/kg) 2 ml % 0.9'luk NaCl çözeltisinde (SF) süspansiyon haline getirildi ve gavaj yolu ile uygulandı.

4. Grup: LYC (n: 6) 5 gün boyunca lyc (5 mg/kg) 0.5 ml % 0.9'luk NaCl çözeltisinde (SF) süspansiyon haline getirildi ve gavaj yolu ile uygulandı.

### 5.1.3. Doku Örneklerinin Toplanması

Tüm hayvanlar deney süresinin bitiminde derin anestezi altındayken (Ketalar 50 mg/kg) hayvanların karın bölgesi açılarak karaciğerleri çıkarıldı (Resim 1). Karaciğerden parçalar alındı her bir karaciğerden ikişer örnek alındı. Formaldehit solüsyonuna histolojik incelemeler için tespit etmek amacıyla atıldı.

### 5.1.4. %10'luk Formalin Hazırlanması

Formaldehit 100cc

Distile su 900cc

Distile su ve formaldehit karıştırılıp %10'luk formalin hazırlanıp kavanozlara bölünmüştür.



**Resim 1.** Farelerden karaciğerlerin çıkarılması

### 5.1.5. Işık Mikroskopi İçin Dokuların Hazırlanması

Dokuların takip kesit alma ve boyama işlemlerinin tamamı KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Formal solüsyonuna alınan kesitler 3 gün ışık almayan kuru ortamda oda sıcaklığında saklandıktan sonra aşağıdaki aşamalardan sırasıyla geçirildikten sonra parafin blok haline getirildi.

1. %70'lik alkol 1 gün
2. %90'lık alkol 1 gün
3. %96'lık alkol 1 gün
4. %100'lük alkol 1 gün
5. %100'lük alkol 1 saat (2kez)
6. Ksilen 5 dakika (3kez)
7. Dokular eritilmiş parafin içerisinde 58 °C'de etüvde 3 kez 15 dakika bekletildi ve sonrasında tekrar etüv içerisinde 2 saat bekletildi.
8. Dokular bloklandı.

### 5.1.6. Kesitlerin Alınması

Kesitler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarındaki tam otomatik mikrotom (LEICA RM 2255) yardımıyla dokunun başlangıcına kadar 20µm'lik kesitlerle trimlendi, dokuya ulaşıncaya 4µm'lik ince kesitler alındı. Alınan kesitler 45°C de benmari içindeki sıcak su üzerinde kırışıkların açılması bekletildi ve lam üzerine alındı.

### 5.1.7. Hematoksilen Eosin Boyama Yöntemi

Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınan dokular Hematoksilen & Eozin boyaması için zembile yerleştirildi. Parafinin erimesi için 1 saat 58°C etüvde bekletildi ve sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

1. Ksilen 5 dakika
2. Ksilen 5 dakika
3. %100'lük alkol 5 dakika
4. %96'lık alkol 5 dakika
5. %70'lik alkol 5 dakika

|     |                         |                            |
|-----|-------------------------|----------------------------|
| 6.  | Distile su              | 2-3 dakika                 |
| 7.  | Hematoksilen            | 35 saniye                  |
| 8.  | Musluk suyu             | 5 dakika                   |
| 9.  | Asit alkol              | 1 kez batırılıp çıkartılır |
| 10. | Distile su              | 1 dakika                   |
| 11. | Amonyaklı su            | 10 saniye                  |
| 12. | Distile su              | 1 dakika                   |
| 13. | Eozin                   | 30 saniye                  |
| 14. | Distile su              | 1 dakika                   |
| 15. | %70'lik alkol           | 5 dakika                   |
| 16. | %96'lık alkol           | 5 dakika                   |
| 17. | %100'lük alkol          | 5 dakika                   |
| 18. | Ksilen                  | 5 dakika                   |
| 19. | Ksilen                  | 5 dakika                   |
| 20. | Entellan ile kapatıldı. |                            |

Hazırlanan preparatlara KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı histopatolojik değerlendirme Olympus BX 51 mikroskobunda yapıldı.

Karaciğer dokularına ait hasar skorlamasında her bir gruba ait karaciğer preparatında, yüksek büyütmede (400x) 5 farklı alan yarı kantitatif olarak değerlendirildi yine aynı mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekilerek dijital ortama aktarıldı.

## 5.2. İstatistiksel Analizler

Verilen istatistiksel analizinde SPSS (Statistical Package for the Sciences version 13.1, SSPS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Her bir gruba ait biyokimyasal ve diğer sayısal veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SS) olarak verildi ve Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi) ile karşılaştırıldı. Tüm karşılaştırmalarda  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edilmiştir.

## 6. BULGULAR

### 6.1. Vücut ve Karaciğer Ağırlığına Ait Bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait farelerin vücut ağırlıkları ile karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması Tablo 3'de verilmiştir. Elde edilen istatistiksel verilere göre kontrol grubuna ait farelerin vücut ve karaciğer ağırlıkları diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı.

**Tablo 5.** Deney gruplarının vücut ve karaciğer ağırlığına ait ortalama ve standart sapmalar

| Gruplar                             | Deney Öncesi<br>Fare Ağırlığı | Deney Sonrası<br>Fare Ağırlığı | Karaciğer<br>Ağırlığı | Tez İstatistiğinin<br>Olasılık Değeri |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 1. Kontrol grubu                    | 28.43(±1.68)                  | 28.70(±1.63)                   | 1.71(±1.71)           | 0,066                                 |
| 2. MTX grubu                        | 27.80(±1.56)                  | 26.70(±1.07)                   | 2.08(±0.25)           | 0,042*                                |
| 3. MTX + LYC                        | 27.88(±1.24)                  | 28.00(±1.13)                   | 2.16(±0.42)           | 0,039*                                |
| 4. LYC                              | 27.40(±1.42)                  | 28.35(±1.40)                   | 1.73(±0.32)           | 0,336                                 |
| Test istatistiğinin Olasılık Değeri |                               |                                |                       | 0,911                                 |

\*: 0,05 anlamlılık düzeyinde iki ölçüm arasında fark vardır.

Bir değişken açısından aynı deneklerin farklı iki zaman ya da durumda ölçmesi sonrasında iki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığını sınamak amacıyla Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi kullanılmaktadır. Parametrik olmayan bir test olan Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testinin temel hipotez, ölçümler arasında fark olmadığını göstermektedir.

MTX ve Likopen için P value değerleri sırasıyla 0,042 ve 0,039 olduğundan anlamlı fark vardır. Karaciğer ağırlığı açısından dört grup arasında fark olup olmadığını sınamak amacıyla Kruskal Wallis Testi uygulanmıştır. Testin temel hipotezi; fark olmadığını göstermektedir.

P-value değeri 0,05 ten büyük olduğundan temel hipotez reddedilememektedir. Yani fark yoktur.

### 6.2. Histopatolojik Bulgular

Gruplardaki sıçanlar isimlendirilirken ilk önce grubunu simgeleyen rakam (1,2,3,4) gibi daha sonra kaçınıcı fare olduğu (A, B, C, D, E, F gibi) belirtildi. Her fareden alınan karaciğer kesitleri değerlendirilerek karaciğer hasarı miktarı saptandı ve

gruplara göre kaydedildi. Kontrol grubundaki karaciğer dokularında patolojik özellik görülmedi. MTX grubunda, MTX ve likopen verilenlere oranla hem nitelik hem de nicelik bakımından daha fazla karaciğer harabiyeti olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu ve deney grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Abdel – Wahhab ve arkadaşlarının (68) yapmış olduğu skorlamaya göre değerlendirildi (Tablo 6).

**Tablo 6.** Kontrol ve Deney Gruplarında Gözlenen Yapısal Değişiklikler ve Kruskal-Wallis Testi P Değerleri

| Deney Grupları                             | Grup I<br>(Kontrol)<br>n=6 |   |    |     |   | Grup II<br>( MTX)<br>n=6 |   |    |     |     | Grup III<br>( MTX+LYC)<br>n=6 |   |    |     |   | Grup IV<br>( LYC)<br>n=6 |   |    |     |   | Kruskal-<br>Wallis Testi p<br>Değerleri |        |
|--------------------------------------------|----------------------------|---|----|-----|---|--------------------------|---|----|-----|-----|-------------------------------|---|----|-----|---|--------------------------|---|----|-----|---|-----------------------------------------|--------|
| Parametreler /<br>Skor                     | -                          | + | ++ | +++ | o | -                        | + | ++ | +++ | o   | -                             | + | ++ | +++ | o | -                        | + | ++ | +++ | o | <0.001                                  |        |
| Hepatositlerde<br>Granüler<br>Dejenerasyon | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 0  | 0   | 6   | +++                           | 0 | 6  | 0   | 0 | +                        | 6 | 0  | 0   | 0 | -                                       | <0.001 |
| Vasküler<br>Konjesyon                      | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 0  | 0   | 6   | +++                           | 0 | 6  | 0   | 0 | +                        | 6 | 0  | 0   | 0 | -                                       | <0.001 |
| İnflamatuvar Hücre<br>İnfiltrasyonu        | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 3  | 3   | +++ | 0                             | 6 | 0  | 0   | + | 6                        | 0 | 0  | 0   | - | <0.001                                  |        |
| Sinüzoidal<br>Aralıkda<br>Konjesyon        | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 6  | 0   | ++  | 0                             | 6 | 0  | 0   | + | 6                        | 0 | 0  | 0   | - | <0.001                                  |        |
| Hepatositlerde<br>Vakuolizasyon            | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 0  | 6   | +++ | 0                             | 6 | 0  | 0   | + | 6                        | 0 | 0  | 0   | - | <0.001                                  |        |
| Apoptotik Hücre                            | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 6  | 0   | ++  | 0                             | 6 | 0  | 0   | + | 6                        | 0 | 0  | 0   | - | <0.001                                  |        |
| Piknotik Nükleus                           | 6                          | 0 | 0  | 0   | - | 0                        | 0 | 0  | 6   | +++ | 0                             | 6 | 0  | 0   | + | 6                        | 0 | 0  | 0   | - | <0.001                                  |        |

DeneySEL parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirmesi skorlandı.

(-) skor (negatif skor): hiç bir yapısal değişikliğin olmaması,

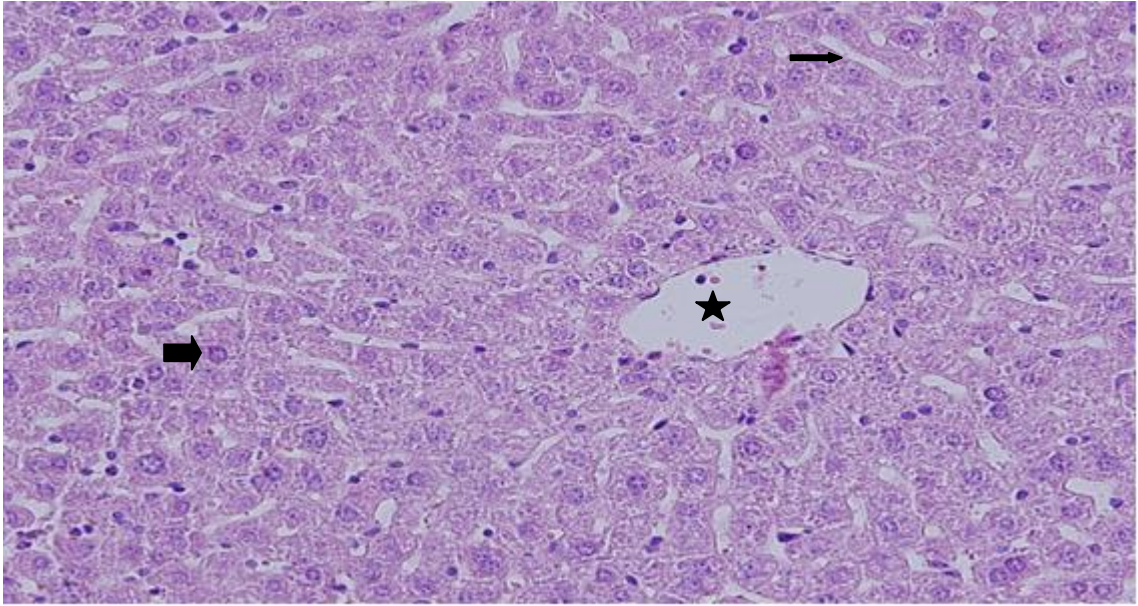
(+) skor (1 pozitif skor): hafif derecede,

(++) skor (2 pozitif skor): orta derecede,

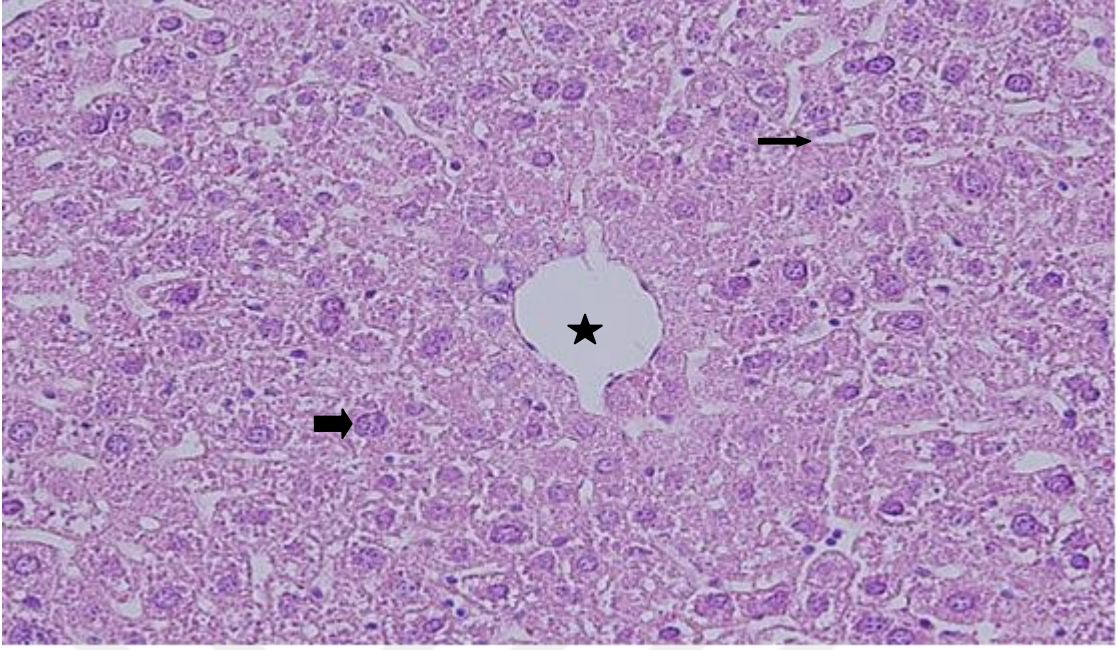
(+++ )skor(3 pozitif skor): ciddi derecede yapısal değişikliğin olması.

Kontrol grubu farelere ait karaciğer doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, bu organa has histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Hepatositler, portal alan ve sinüzoidler normal histolojik görünümde izlendi (Resim 2). MTX uygulanan farelerin karaciğer doku kesitlerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) bazı histopatolojik değişiklikler gözlemlendi (Tablo 6).

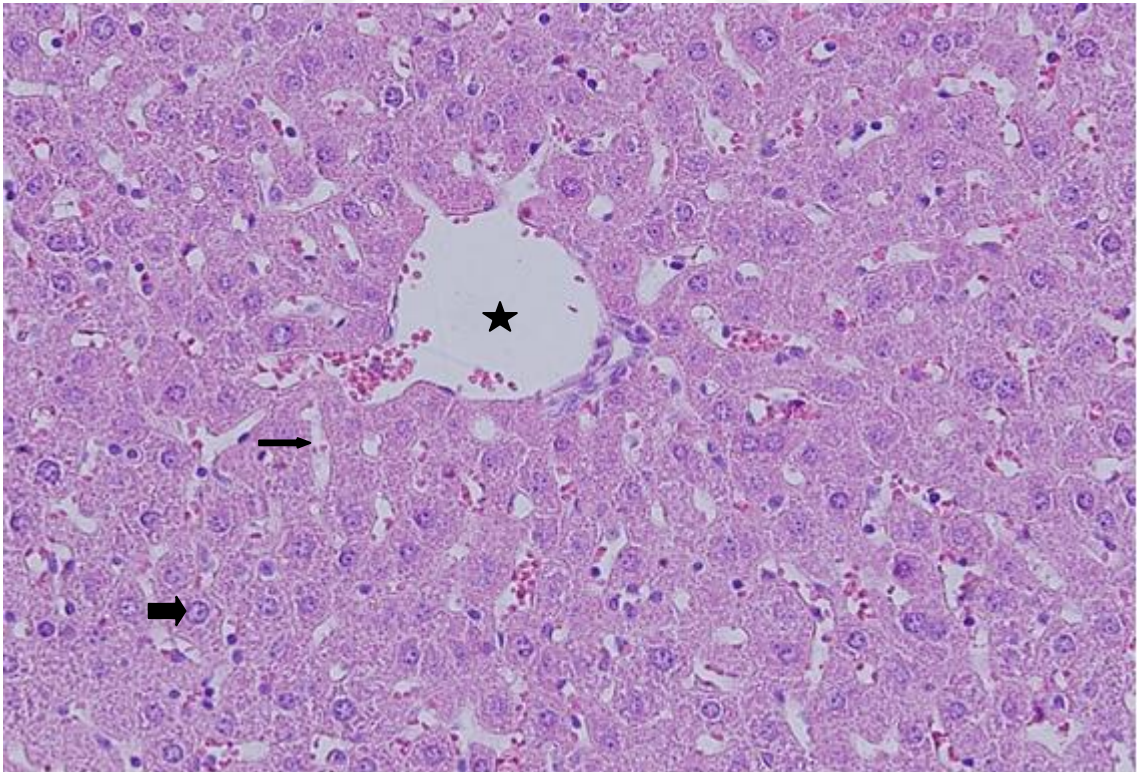
Bu değişiklikler, parankimde hepatositlerde granüler dejenerasyon ve vakuolizasyon, portal alan ve santral vende yaygın vasküler konjesyon, parankimde İnflamatuar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal aralıkta konjesyon, parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, parankimde apoptotik hücre, hepatositlerde piknotik nükleus şeklinde gözlemlendi.



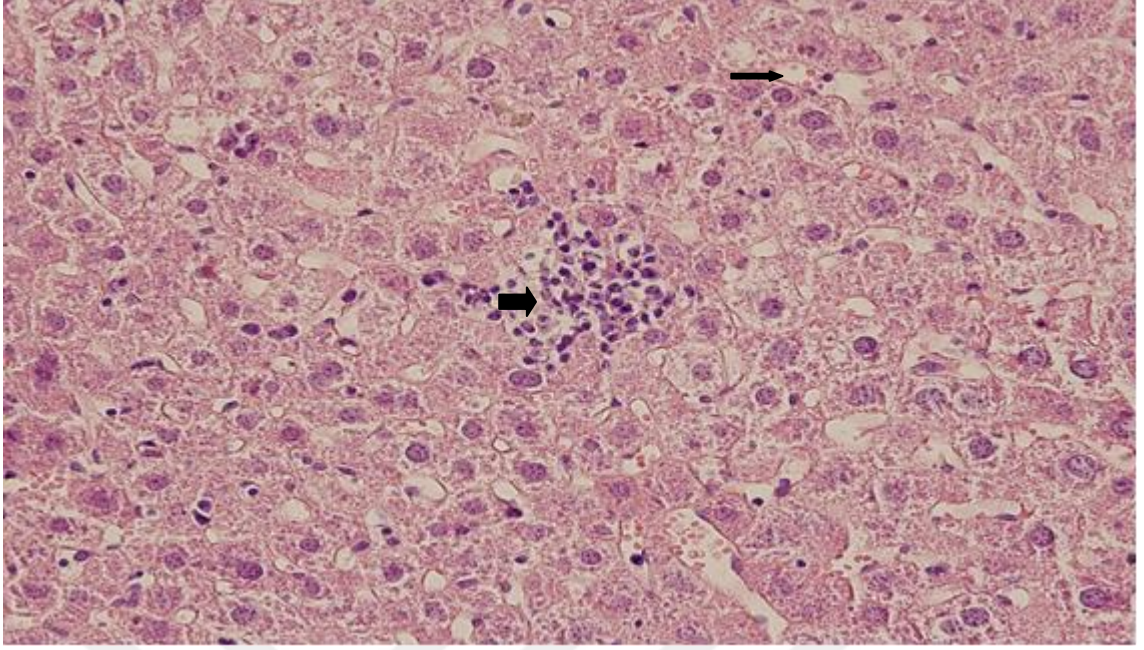
**Resim 2.** Kontrol grubuna ait normal yapıdaki fare karaciğer kesit görüntüsünde; Hepatositler (➡), sinüzoidler (➡) ve santral ven (★) normal görünümde izlenmektedir (H&E, X400).



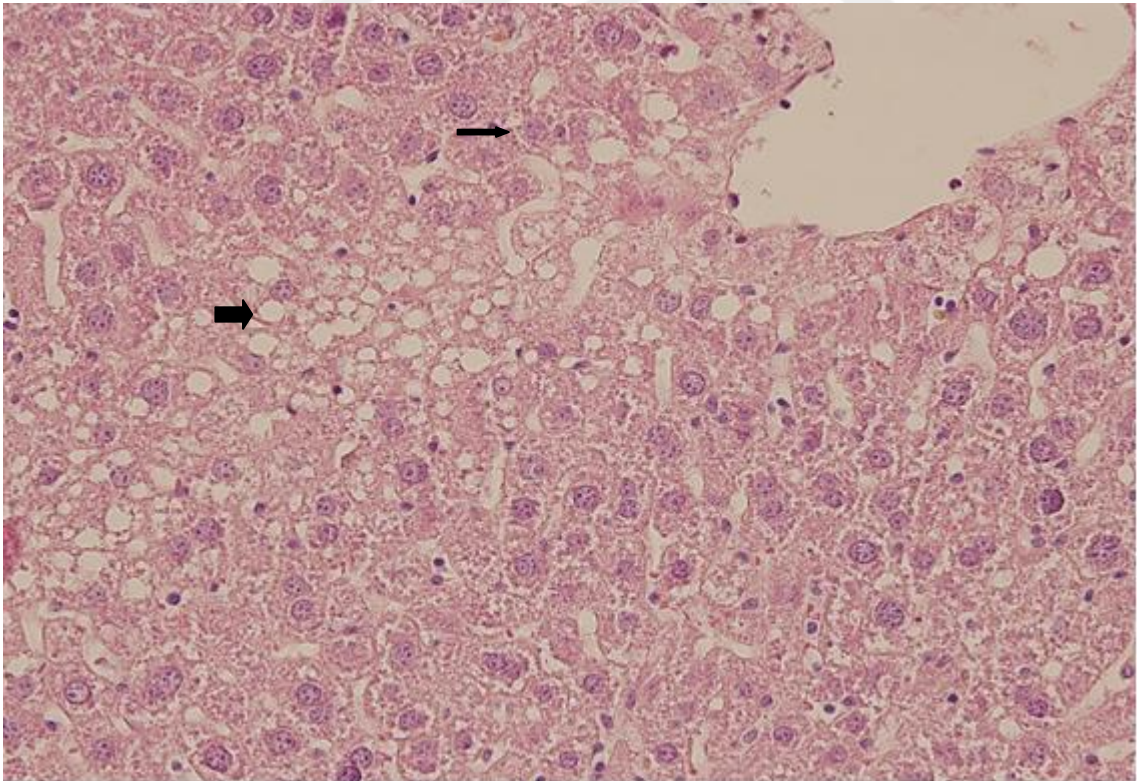
**Resim 3.** LYC+MTX grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde; Hepatositler (■), sinüzoidler (→) ve santral ven (★) normal görünümde izlenmektedir. (H&E, X400).



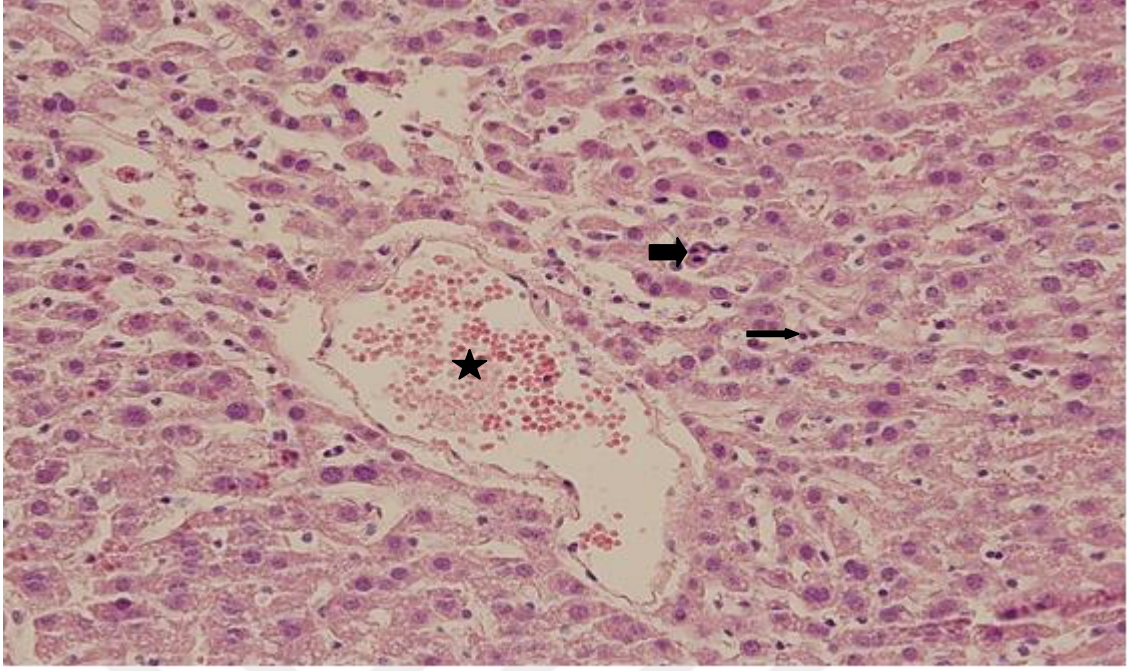
**Resim 4.** Likopen grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde Hepatositler (■), sinüzoidler (→) ve santral ven (★) normal görünümde izlenmektedir. (H&E, X400).



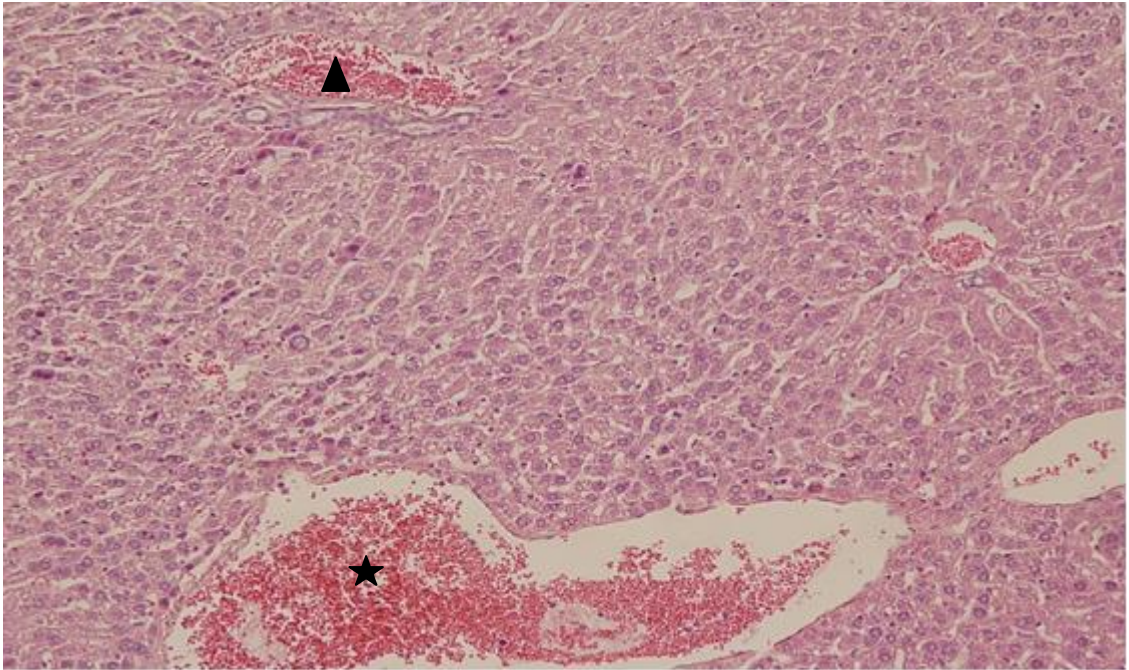
**Resim 5.** MTX grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde; parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonu (■), sinüzoidal aralıkta konjesyon (→), izlenmektedir (H&E, X400).



**Resim 6.** MTX grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde; parankimde hepatositlerde vakuolizasyon (■) Hepatositlerde granüler dejenerasyon (→) izlenmektedir (H&E, X400).



**Resim 7.** MTX grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde; parankimde apoptotik hücre (➡), piknotik nükleus (➡), santral vende vasküler konjesyon (★) izlenmektedir (H&E, X400).



**Resim 8.** MTX grubuna ait karaciğer kesit görüntüsünde; santral vende yaygın vasküler konjesyon (▲) ve vena portada yaygın vasküler konjesyon (★) izlenmektedir (H&E, X200).

## 7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Kanser tedavisinde kullanılan en etkili tedavi yöntemlerinden biri kemoterapidir. Ancak kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçların ortak özelliği çoklu organ sistemlerinde toksik yan etkiler oluşturmalarıdır. Gastrointestinal sistem, hematolojik ve merkezi sinir sistemi gibi kısımlar kemoterapiden etkilenen bölgelerden bazılarıdır (4). Metotreksat (MTX) solid ve hematolojik kanserlerde antineoplastik ve bazı inflamatuvar hastalıklarda da yaygın şekilde kullanılan folik asit antagonisti bir ilaçtır (5, 6). Uzun yıllardır yani çocukluk çağı akut lösemilerinde geçici remisyon sağladığı bulunduğundan beri (1948) klinikte kullanılmaktadır. Klasik olarak folik asit antagonisti olarak bilinen MTX, aktif olarak bölünen hücrelerde dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek folik asitin folinik asite dönüşümünü engeller (7,8). MTX'ın gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrek, cilt ve kemik iliği üzerine olan toksik etkileri iyi bilinmektedir(5, 9).Yapılan çalışmalar MTX'ın antioksidan enzim sisteminin etkinliğini azatarak, hücreleri reaktif oksijen partiküllerine (ROP)'ne karşı hassas duruma getirip hasara neden olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda MTX'e bağlı organ hasarının oksidatif stres sonucu olabileceği sonucuna varılmıştır (10, 11, 12). Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda oksidatif stres MTX kaynaklı çeşitli organlarda özellikle karaciğerde hasar patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gözlenmiş ve karaciğerde fokal nekroz, sentral vende dilatasyon, inflamatuvar hücreler, yoğun sitoplazmalı apoptotik hücreler tesbit edilmiştir (13, 14). Buyüzden MTX toksisitesinden korunmak için MTX antioksidanlarla birlikte kullanılmalıdır (15).

Likopen serbest radikallerin etkilerini azaltan veya tamamen ortadan kaldıran bir maddedir. Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*lycopersicum esculentum*)'de olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (18, 19). Likopen, serbest radikal süpürücü ve DNA hasarına karşı koruyucu özellikleri olan bir karotenoiddir (50). 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 özellikte onların singlet oksijen ( $O_2$ ) 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 (21, 22).

1992 yılında Rouso ve arkadaşları oksijene bağılı sitotoksisite ve genotoksisiteye karşı karotenoidlerin etkisini araştırdılar. Bu sırada karotenoidlerin bir çoğunun  $\beta$ -karotenden daha aktif olduğunu ve likopenin bioaktivitesinin en fazla olduğunu saptadılar (24).

Okajima ve arkadaşları 1998 yılında kimyasal yolla mesane kanseri oluşturdukları sıçanlara verdikleri domates suyu ile likopenin karsinogenezise inhibitör etkilerini gösteren araştırmalarında, 12 hafta boyunca dilue domates suyu verilen sıçan karaciğerlerinde likopen konsantrasyonunun arttığı, mesane değişken epitel karsinomlarının gelişmesini önlediğini göstermişlerdir (69).

1996'da Clinton ve arkadaşları domates ve domates ürünlerini bol alan insanlarda gözledikleri düşük prostat kanseri riskinden yola çıkarak prostatektomi yapılmış erkek hastalarında benign ve malign patolojiler gösterenleri ayırarak bunlardaki likopen ve diğer karotenoidlerin prostat dokusundaki konsantrasyonlarına baktılar, karotenoidler ve likopenin çeşitli izomerlerini inceleyip, domates ve domates bazlı gıdalar alanlarda likopenin prostat dokusunda arttığını göstermişlerdir, ama tümörlerin malignitesi ile direkt bir ilişki saptayamamışlardır (70).

Leal ve arkadaşları 1999'da, bir mikotoksin olan T-2 toksininin tavuk karaciğerinde lipit peroksidasyon düzeyini arttırdığı, T-2 toksini ve likopen birlikte verildiğinde ise azalttığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada likopen, GPx aktivitesini de artırmıştır (71).

Rao ve arkadaşları 1998'de, 20 sağlıklı insanda sigara içimi ve diyetin, serum likopen seviyesi ve lipit peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, likopenden eksik diyet uygulanan örneklerde lipit peroksidasyon seviyesinin %25 arttığı, likopen seviyesinin de %50 azaldığı tespit edilmiştir. Serum likopen seviyesi bakımından sigara tiryakileri ile sigara kullanmayanlar karşılaştırıldığında önemli bir farklılık bulunmazken, sigara içenlerde peş peşe içilen 3 sigaradan önce ve son sigaradan hemen sonra alınana kan örnekleri karşılaştırıldığında, sigara sonrası serum likopen seviyesinin %40 azaldığı, lipit peroksidasyon seviyesinin ise %40 arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre serum likopen seviyesi ile lipit peroksidasyon seviyesi arasındaki ters ilişki likopenin antioksidan özellikleri olduğunu vurgulamaktadır (72).

Agarwal ve arkadaşlarının 1998’de yaptığı çalışmada, domates ürünlerinden sağlanan günlük 40 mg’lık likopen tüketiminin koroner kalp hastalıkları ve 44 atherosklerozis’in gelişiminde önemli payı olan artan Low Density Lipoprotein (LDL) seviyesinin düştüğünü bildirilmişlerdir (73).

Astorg ve arkadaşları 1997’de, 3-4 hafta boyunca farklı diyet ekleri ile takip ettikleri ratlarda kimyasal uyarı ile karaciğerde preneoplastik alanlar oluşturmuş, likopen alanlarda bu alanların sayılarında değil ancak çaplarında azalma olduğu gösterilmiş, bu etkinin likopenin preneoplazi oluşması için verilen dietilnitrozamini yıkan karaciğer enzimlerini (sitokrom P450 2E1) aktifleyerek olduğunu ileri sürmüşlerdir (74).

Nagasava ve arkadaşları 1995’te, yüksek spontan meme tümörü oluşturan SHN virgin farelerde, saf likopen vererek meme tümörü gelişiminin likopenden zengin diyet sayesinde belirgin şekilde azaldığını göstermişlerdir (75).

1997’de yapılan bir araştırma ile Kolombiya ve Missouri eyaletinde (A.B.D) 1977-1987 arasında meme kanseri serum bankasına kan vermiş meme kanseri olmayan kadınlardan 10 yıl içinde meme kanseri gelişenlerin serumlarında beta-kriptoksantin, likopen ve lutein/zeaksantin düzeyleri incelenmiş, kanser olmayanlarda daha yüksek serum değerleri bulunmasıyla, meme kanseri açısından koruyucu olabilecekleri sonucuna varılmıştır (76).

2001 yılında, İsrailde yapılan bir çalışmada Wardi ve arkadaşları, tioasetamin verilerek siroz yapılan farelerde likopenin karaciğerdeki etkisini araştırmış, fibrozisin azaldığı gösterilmiş, ancak marker olarak kullanılan hepatik hidroksiprolin seviyelerinde istatistiksel anlamlı bir sonuca ulaşamamıştır (77).

Yaping ve arkadaşları 2002 yılında, yaptıkları bir çalışmada, insan ve hayvanlarda hepatotoksisite oluşturan bir ksenobiyotik olan  $CCl_4$  metabolizmasında oksijen varlığında oluşan triklorometil peroksil radikaline ( $CCl_3O_2$ ) karşı likopenin antioksidan aktivitesini araştırmıştır. Çalışmada, likopenin absorbe edildiği yerde renginin açıldığı görülmüştür. Bu da likopenin  $CCl_3O_2$  ile kolayca reaksiyona girdiğini göstermektedir. Çalışmanın sonucunda  $CCl_4$  ile hasar verilmiş sıçanlarda hayatta kalma süresinin artması üzerine, likopenin faydalı etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır (49).

Velmurugan ve arkadaşlarının 2002’de yaptığı çalışmada, sodyum kloritin varlığında N-metil-N- nitro-N-nitrosoquanidin (MNNG) ile tümör geliştirdikleri sıçanların 45 kanında lipit peroksidasyonun seviyesinin arttığı, antioksidan bir enzim olan GPx aktivitesinin de düştüğü görülmüş, likopen verilmesinden sonra lipit peroksidasyon seviyesinin düştüğü, GPx enzim aktivitesinin de arttığı bulunmuştur (78).

Yine 2002’de, Polidori ve arkadaşları, sağlıklı kişiler ile orta derece konjestif kalp rahatsızlığı olan (sınıf II) ve ileri derece kalp rahatsızlığı olan (sınıf III) kişilere Vit- A ve çeşitli antioksidan maddeler (likopen, Vit-E, lutein, zeaksantin,  $\beta$ -kriptoksantin,  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten) verilerek bu bileşiklerin hasta plazmasındaki düzeyleri ile MDA düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kontrollere göre hasta gruplarında, verilen bu maddelerin hepsinin plazmadaki seviyeleri önemli derecede düşük, MDA düzeyleri ise yüksek bulunmuştur. Yine bu çalışmada sınıf III hastalar göre sınıf II hastaların MDA düzeyinin önemli derecede düşük, Vit-A, Vit-E, lutein ve likopen seviyelerinin önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara dayanarak bu tip bileşiklerin tüketilmesinin kardiyovasküler hastalıklara faydalı olacağı ileri sürülmüştür (79).

1997’de Fhurman ve arkadaşları, makrofajlarda, likopen veya  $\beta$ -karotenin, kolesterol metabolizması üzerine etkisi konulu yaptıkları çalışmada, zengin miktarda likopen veya  $\beta$ -karoten içeren makrofajlarda, hücrel kolesterol sentezinin engellenmesi ve LDL reseptör aktivitesinin yükseldiği açık bir şekilde gösterilmiştir (80).

Bu da, karotenoidlerin, belki de hipokolesterolemik ajanlar olarak tanımlanabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Humberto ve arkadaşlarının 2001’de yaptığı bir çalışmada, ferriknitriotriasetat’ın (Fe-NTA) sıçanlarda neden olduğu oksidatif strese karşı, likopenin koruyucu etkisine bakılmıştır. Sonuçta, kontrole göre sadece Fe-NTA ile verilen hayvanlarda MDA düzeyi %75 artarken, Fe-NTA uygulamadan 5 gün önce likopen verilen grupta MDA düzeyinin önemli derecede düştüğü belirlenmiştir. Histolojik olarak da yine likopenli grupta oksidatif hasarın engellendiği gösterilmiştir (81).

Breinholt ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları, sıçanlarda, PhIP (2-amino-1-metil-6-fenilimidazol piridin)’in neden olduğu plazma lipit peroksidasyonuna likopenin antioksidan enzim aktivitelere etkisi konulu bir çalışmada, likopenin GPx ve SOD 46

aktivitesini arttırdığı, katalaz aktivitesinde herhangi bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır (60).

Stahl ve arkadaşlarının 1998’de yaptıkları bir çalışmada, diyetle sağlanan havuç suyu yada domatesin DNA tamir yeteneğini artırıcı etkisi bildirilmiştir (82).

Yaping ve arkadaşları’nın 2002’de 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 (51).

Biz de bu çalışmada Metotreksat’ın karaciğerde oluşturduğu hasar ve Metotreksat ile birlikte koruyucu amaçla uygulanan likopen’in karaciğer dokusu üzerine olan etkilerinin inceledik. Yapılan çalışmalarda MTX’in vücut ve karaciğer ağırlığında anlamlı bir azalmaya neden olmadığı belirtilmiştir (4). Bizim çalışmamızda da MTX’in karaciğer ağırlığında anlamlı bir azalmaya neden olmadığı fakat vücut ağırlığında anlamlı bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. 5 gün boyunca farelere verilen likopen miktarı, ağırlıklar ile oranlandığında bizim diyet alışkanlıklarımız günlük alım oranlarımıza göre çok fazladır, bu dozlar ancak likopen tabletleri alındığında sağlanabilmektedir. Buna rağmen likopen kaynağı olarak domatesin tüketilmesi de araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir .

Şener ve ark. yaptığı çalışmada (83), tek doz metotreksat 20 mg/kg/i.p olarak uygulanmış ve sonrasında beş gün süre ile L-Karnitin 500 mg/kg uygulanmış ve çalışma sonunda karaciğer dokuları alınarak histolojik açıdan incelenmiştir. Çalışmada MTX grubunda dejenere hepatositler, sinüzoidlerde dilatasyon, vasküler konjesyon, bulgularının olduğu gözlenmiştir. Bu parametreler dikkate alındığında bizim çalışmamızda da benzer bulguların meydana geldiğini söyleyebiliriz. Uraz ve ark. yapmış olduğu (84) MTX’in karaciğer üzerindeki hasarına karşı UDCA (Urseloksikolik asit)’nin koruyucu etkisini araştırdığı çalışmasında; MTX tek doz olarak 20 mg/kg/i.p olarak uygulanmıştır. MTX uygulanan grupta yalnızca hepatosit nekrozu meydana geldiği görülmüştür. Bizim yaptığımız çalışmada ise sinüzoidal aralıkta konjesyon, hepatositlerde granüler dejenerasyonu, vasküler konjesyon , inflamatuvar hücre infiltrasyonu, apoptotik hücre, piknotik nükleus bulguları gözlenmiştir. Al-Motabagani’nin yaptığı çalışmada (85), iki haftalık çalışma süresi boyunca 3, 6 ve 9.

haftalarda MTX 0.5 mg/kg/i.p (düşük doz) olarak uygulanmış ve çalışma sonunda karaciğer dokuları histolojik açıdan değerlendirilmiştir. MTX grubunda ağır hücre infiltrasyonuna, hepatosit stoplazmasında vakualizasyona rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise; bu sonuçlara ek olarak sinüzoidal aralıkta konjesyon, vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, apoptotik hücre, piknotik nükleus bulgularının meydana geldiği izlenmiştir. Dozun artırılmasının bu sonuçta etkili olabileceğini düşündürmektedir.

MTX'ın hepatotoksik etkilerinin üzerine likopenin koruyucu etkisinin biyokimyasal parametrelere bakılmaksızın sadece histopatolojik skorlarla değerlendirilmesi çalışmamızın sınırlayıcı faktörüdür.

Denek sayısı artırılarak veya doz değişikliğine gidilerek çalışmanın benzeri tekrar edilebilir. Biyokimyasal parametreler de kullanılarak çalışma daha geniş açıdan gözlemlenebilir.

## 8. SONUÇ

Bir grup fareye MTX ile karaciğer hasarı oluşturuldu. Karaciğer doku örneklerinin histopatolojik incelenmesi sonucu MTX'in karaciğer hasarı yaptığı tespit edildi. Karaciğer dokusunda meydana gelen; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal aralıkta konjesyon, hepatositlerde vakuolizasyon ve dejenerasyon, parankimde apoptotik hücre ve piknotik nükleus, vasküler konjesyon MTX grubunda artmış olduğu ve MTX' in karaciğerde ciddi derecede yapısal hasar meydana getirdiği tespit edildi.

Kontrol grubu sıçanlara ait karaciğer doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, bu organa has histolojik yapılar dışında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Kontrol grubundan alınan farelerin karaciğer kesitlerinde normal histolojik görünümde oldukları gözlemlendi. Karaciğer parankim hücreleri olan hepatositlerin santral venler etrafında düzenli şekilde yerleşerek hepatosit kordonlarını oluşturduğu,

Hepatosit kordonları arasında sinüzoidlerin yer aldığı gözlemlendi. Hepatositler veziküler nükleusa ve asidofilik stoplazmaya sahipti. LYC grubu kontrol grubuyla benzer özellikler gösterdi. LYC grubunun hiçbirinde patolojik özellik gözlemlenmedi.

MTX+LYC grubunda santral ven, portal alan, hepatositler, sinüzoidler ve safra kanalları histopatolojik olarak değerlendirildi. Çalışmamızda MTX+LYC grubunda histopatolojik bulgular kontrol grubuyla yakınlık gösterdi. MTX+LYC grubunda hafif derecede yapısal değişikliğin olduğu yani MTX' in oluşturduğu ciddi yapısal değişiklikleri azalttığı tespit edildi. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal aralıkta konjesyon, hepatositlerde vakuolizasyon ve dejenerasyon, parankimde apoptotik hücre ve piknotik nükleus, vasküler konjesyon önemli ölçüde tedavi edilmiştir. Karaciğer doku kesitlerinin patolojik incelenmesi sonucu bu gruptaki karaciğer hasarının MTX grubuna göre daha az olduğu gözlemlendi.

Tüm bu sonuçlarla beraber oksidatif MTX in oluşturduğu karaciğer hasarına karşı deneysel olarak antioksidan özellikleri bilinen likopenin koruyucu etkisi olduğu ortaya konuldu.

MTX alan hastalara MTX 'in toksisitesini en aza indirmek için likopenden zengin diyetle beslenmesi yada likopen tabletlerin alınması tavsiye edilebilir.

## 9. KAYNAKLAR

1. Montgomery R, Conway T, Spector A, Chappell D (1996). Biochemistry A Case-Oriented Approach, 6th edition. 5. p.140 Mosby- Year book.
2. Aruoma O, Kaur H, Halliwell B, Oxygen free radicals and human diseases. J R Soc Health. 111(5).172-7. Review.
3. Southorn PA, Powis G (1988). Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc.63(4):381-9. Review.
4. Padmanabhen S, Tripathi DN, Vikram A, Ramara P, Jena GB (2009). Methotrexate-induced cytotoxicity and genotoxicity in germ cells of mice, intervention of and folic acid.Mutat Res673 (1) : 43-52.
5. O Yılmaz, H Ş Coşkun (2008). Probiyotiklerin ratlarda metotreksat toksisitesi üzerine olan etkileri, SDÜ ,Tıp fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı
6. Kayaalp O (2002). Tıbbi Farmakoloji,; 91:1484-1489.
7. Perez A, Woods A, Grattan CE (2009). Methotrexate: a useful steroid-sparing agent in recalcitrant chronic urticaria. Br J Dermatol 2010, 162 (1) : 191-4. Epub.
8. Bleyer WA, Poplack DG (1985). Prophylaxis and treatment of leukemia in the central nervous system and other sanctuaries [Review]. Semin Oncol 12: 131-148.
9. Sener G, Eksioğlu Demiralp E, Cetiner M, Ercan F, Yegen BC (2006). Beta-glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. Eur J Pharmacol. 7;542(1-3):170-178.
10. Gao F, Tomitori H, Igarashi K, Horie T (2002). Correlation between methotrexate induced intestinal damage and decrease in polyamide content.Life Sci;72(6):669-76
11. N Ali, S Rashid, S Nafee, S K Hasan, S Sultana (2002). Beneficial effects of chrisin against methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis. Moleküler and Cellular Biochemistry. Value 385,issue 1-2.pp 215-223.
12. Devrim E, Cetin R, Kiliçoğlu B, Ergüder B I, Avcı A, Durak I (2005). Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues. Ren Fail. 27(6):771-773
13. Hersh EM, Wong VG, Henderson ES, Freirich EJ (1966). Hepatotoxic effects of methotrexate. Cancer, 19: 600-6.

14. Ismail Demiryilmaz, Ebru Sener, Nihal Cetin, Durdu Altuner, Bahadir Suleyman, Fatih Albayrak, Fatih Akcay, Halis Suleyman (2012). Biochemically and histopathologically comparative review of thiamine's and thiamine pyrophosphate's oxidative stress effects generated with methotrexate in rat liver. *Med Sci Monit*, 18(12): BR475-481.
15. Jahovic N, Cevik H, Sehirli A O, Yegen BC, Sener G (2003). Melatonin prevents methotrexate- induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pineal Res*. 34: 2827
16. Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr (1998). Relationships of serum carotenoids, retinol, alpha-tocopherol and selenium with breast cancer risk, results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States). *Cancer Causes Control*. 9(1):89-97.
17. Giovannucci E (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer, review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*. 17;91(4):317-31.
18. Giovanelli G, Zanoni B, Lavelli V, Nani R (2002). Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. *J Food Engineering* 52:135-41.
19. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y (2002), et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethylperoxyl radical CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. *Food Chem*;77:209-12.
20. Sendão MC, Behling EB, dos Santos RA, Antunes LM, de Lourdes Pires Bianchi M 2006 Aug. Comparative effects of acute and subacute lycopene administration on chromosomal aberrations induced by cisplatin in male rats. *Food Chem Toxicol*.;44:1334-1339.
21. Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki K (2000). Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett* 151:111-5.
22. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys* 2001;385:20-7.
23. Mashima R, Witting PK, Stocker R (2001). Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 12(4):411-418.

24. Rousseau E J, Davison AJ, Dunn B (1992), Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity. Implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 13(4):407-433, Review 53.
25. Mercanlıgil, SM 2008. Karaciğer, safra kesesi ve pankreas hastalıklarında beslenme. *Diyet El Kitabı*. Hatipoğlu Yayınları: 116, Yükseköğretim Dizisi: 36, 5. Baskı, s.179-213, Ankara.
26. McCuskey RS (2006). Anatomy of the liver. In, Boyer TD, Wright TL, Manns MP (Eds.). *Zakim end Boyer's hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Hepatology. 5th ed. Philadelphia, WB, Saunders Company. 3-21.
27. Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Sage PB, Balabaud C et al (2006). Hepatic fibrosis and cirrhosis: The (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol*;38:135–51.
28. Roy-Chowdhury N, Roy-Chowdhury J (2006). Liver Physiology and Energy Metabolism. In. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ (Eds.). *Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: Pathophysiology/Diagnosis/Management*. 8th ed. Philadelphia. WB Saunders; 1551-73.
29. Deby C, Pincemail J (1988). Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms. In: Rökan (Ginkgo Biloba). *Recent result in pharmacology and clinic*. Ed: Fünfgeld EW. Springer- Verlag, Berlin pp:57-70, 2.
30. Murray RK (1990). *Harper's Biochemistry* 13:110-5, 23 th ed. Appleton and Lange.
31. Diplock, A (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity. Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59 p, Belgium.
32. Nawar, W W (1996). Lipids. In "Food Chemistry", O R Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.
33. Kaur, C and Kapoor, H C (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36; 703-725.

34. Elliot, J.G. 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Tech. 53(2); 46-48.
35. Ou, B, Huang, D, Hampsch-Woodill, M, Flanagan, J A, and Deemer, E K (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. J. Agric. Food Chem. 50(11); 3122-3128.
36. Aslan R (1999), Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımında antioksidanlar. İlaç ve Tedavi Dergisi, Cilt:12, sayı:8, 475-480.
37. Duthie, G G , Wahle, K W J and James, W P T (1989). Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2; 51-62.
38. Reaven, P D, Khouw, A, Beltz, W F, Parthasarathy, S and Witztum, J L (1993). Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by  $\beta$ -carotene. Arterioscler. Thromb. 13(4);590-600.
39. Di Mascio, P Murphy, M E, Sies, H (1991). Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. Am. J. Clin. Nutr. 53; 194-200.
40. Rice-Evans, C A, Miller, N J, Bolwell, P G, Bramley, P.M. and Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Rad. Res.
41. Abolmaali SS, Tamaddon AM, Dinarvand R (2013). A review of therapeutic challenges and achievements of methotrexate deli-very systems for treatment of cancer and rheumatoid arthritis. Cancer Chemother Pharmacol; 71: 1115-30.
42. Işık A, Işılay L, Erdemli EA, Akbay C, Anafarta K (1997). Sıçan testisinde metotreksat'ın ışık ve elektron mikroskop düzeyinde etkileri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası; 50:125-29.
43. Widemann BC, Adamson PC (2006). Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. Oncologist 11: 694-703.
44. Bruton L, Chapner B (2011). Knollman B Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12 th Edition, USA: The McGraw-Hill Companies, 1665-771.

45. Chabner BA, Allegra A, Curt C (1985). Polyglutamation of methotrexate. Is methotrexate a prodrug? J Clin Invest, 76:907-12.
46. Bruton LL, Lazo JS, Parker KL (2009). Goodman & Gilman's tedavinin farmakolojik temeli. Süzer Ö (Çeviri Editörü).1. Baskı, İstanbul: Nobel.
47. Brock S, Jennings HR (2004). Fatal acute encephalomyelitis after a single dose of intrathecal methotrexate. Pharmacotherapy, 24: 673-76.
48. Uraz S, Tahan V, Aygun C (2008). et al. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. Dig Dis Sci , 53: 1071-77.
49. Kremer JM, Maini RN, Romain PL (2009). Major side effects of low-dose methotrexate. Uptodate 53:17-21.
50. Stahl W, Sies H (1996). Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. Arch Biochem Biophys. 1;336(1):1-9, Review.
51. 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<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Food Chemistry, 77, 209-212.
52. Cadenas E, Packer L (1996). Handbook of antioxidants. Marcel Dekker. Inc. New York.
53. Handelman GJ (2001). The evolving role of carotenoids in human biochemistry. Nutrition.17(10):818-22.
54. D Meydan, B Gürsel, B Bilgici, B Can, and N Ozbek (2011). Protective effect of lycopene against radiation-induced hepatic toxicity in rats.Journal of International Medical Research 39:1239.
55. Stahl W, Sies H (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids BBAMolecular basis of disease vol. 1740:2:101-107.
56. Mannisto S, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Albanes D., Anderson K., van den Brandt PA, Cerhan JR, Colditz G, Feskanich D, Freudenheim JL, Giovannucci E., Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, Rohan TE, Virtamo J, Willett WC, Hunter DJ (2004). Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.13(1):40-8, Review.

57. Bramley PM (2000). Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry*. 54(3):233-6, Review.
58. 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, Review.
59. 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.
60. Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr, (2000). Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*. 30;154(2): 201-10.
61. Erhardt JG, Meisner C, Bode JC (2003). Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr*. 78(6):1219-24.
62. 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.
63. Tanumihardjo SA., Furr HC, Amedee-Manesme O, Olson JA (1990). Retinyl ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. *Int J Vitam Nutr Res*. 60(4):307-13.
64. 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.
65. Canene-Adams K, Campbell JK, Zaripheh S, Jeffery EH, Erdman JW Jr, (2005). The tomato as a functional food. *J Nutr*. 135(5):1226-30.
66. Rao AV, Fleshner N (1999). Agarwal S Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer*. 33(2):159-64. 58.

67. Pellegrini N, Riso P, Porrini M (2000). Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition*. 16(4):268-71.
68. Abdel Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS (1999). Ochratoxicosis: Prevention of Developmental Toxicity by L-Methionine in Rats. *J Applied Toxicol*. 19: 7-12.
69. Okajima E, Tsutsumi M, Ozono S, Akai H, Denda A, Nishino H, Oshima S, Sakamoto H, Konishi Y (1998). Inhibitory effect of tomato juice on rat urinary bladder carcinogenesis after N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine initiation. *Jpn J Cancer Res*. 89(1):22-6.
70. Clinton SK, Emenhiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ, Erdman JW Jr (1996). cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 5(10):823-33.
71. Leal M, Shimada A, Ruiz F, Gonzalez de mejia (1999) . Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. *Toxicol Lett*. 20;109(1-2):1-10.
72. Rao A V, Agarwal S (1998). Effect of diet and smoking on serum lycopene and lipid peroxidation, *Nutrition Research*, Vol:18, No:4, 713-721.
73. Agarwal S, Rao A V (1998). Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids*. 33(10):981-4.
74. Astorg P, Gradelet S, Berges R, Suschetet M (1997). Dietary lycopene decreases the initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in the rat. *Nutr Cancer*. 29(1):60- 8.
75. Nagasawa H, Mitamura T, Sakamoto S, Yamamoto K (1995). Effects of lycopene on spontaneous mammary tumour development in SHN virgin mice. *Anticancer Res*. 15(4):1173-8.
76. Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr (1998). Relationships of serum carotenoids, retinol, alpha-tocopherol and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States). *Cancer Causes Control*. 9(1):89-97.

77. Wardi J, Reifen R, Aeed H, Zadel L, Avni Y, Bruck R, (2001). Beta-carotene attenuates experimentally induced liver cirrhosis in rats. *Isr Med Assoc J.* 3(2):151-4.
78. Velmurugan B, Bhuvaneswari V, Balasenthil S, Nagini S (2002). Lycopene, an antioxidant carotenoid modulates glutathione-dependent hepatic biotransformation enzymes during experimental gastric carcinogenesis, *Fitoterapia*, 73, 604-611.
79. Polidori M C, Savino K, Alunni G, Freddio M, Senin U, Sies H, Stahl W, Merocci P (2002). Plasma lipophilic antioxidants and malondialdehyde in congestive heart failure patients: relationship to disease severity. *Free Radic Biol Med.* 15;32(2):148-52, 60.
80. Fuhrman B, Elis A, Aviram M (1997). Hypocholesterolemic effect of lycopene and betacarotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 28;233(3):658-62.
81. 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.* 15;396(2):171-7.
82. 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.
83. Şener G, Ekşioğlu- Demiralp E, Çetiner M, ve ark. (2006). L-Carnitine Ameliorates Methotrexate-Induced Oxidative Organ Injury and Inhibits Leukocyte Death. *Cell Biology and Toxicology* 22, 47-60.
84. Uraz S, Tahan V, Aygun C, ve ark. (2007). Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver Toxicity. *Dig Dis Sci* DOI 10.1007/s10620- 007-9949-3.
85. Al- Motagabani M A, (2006). Histological and Histochemical Studies on the Effects of Methotrexate on the Liver of Adult Male Albino Rat. *Int. J. Morphol* 24(3), 417-422.

## 10. ETİK KURUL ONAYI

T.C. KARADENİZ  
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ  
YEREL ETİK KURUL  
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ  
TECHNICAL UNIVERSITY  
ANIMAL CARE AND ETHICS  
COMMITTEE

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI  
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ

Çalışmasının Adı : "Farelerde Metotreksat Kaynaklı Hepatik Toksisiteye Karşı Likopen"  
Çalışmacılar : Prof.Dr.Yavuz TEKELİOĞLU, Yük.Lis.Öğr.Arzu YILMAZ,  
Arş.Gör.Gökşen Derya REİS KÖSE  
Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji

|                                    |                                             |                                      |                             |
|------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Etik Kurul<br>Dosya No<br>2014/ 11 | Etik Kurul<br>Toplantı Tarihi<br>11.03.2014 | Etik Kurul<br>Toplantı No<br>2014/05 | Etik Kurul<br>Karar No<br>3 |
|------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Eczacılık Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu'nda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN'ın başkanlığında; "Farelerde Metotreksat Kaynaklı Hepatik Toksisiteye Karşı Likopen" başlığını taşıyan tez çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (11.03.2014)

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

## 11. ÖZGEÇMİŞ ve KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport No:

Soyadı , Adı : KAFALI, Arzu

Doğum tarihi ve yeri : 16.03.1986

Medeni hali : Evli

Telefon : 05351025756

E-posta : kafaliarzu60@gmail.com

Yazışma adresi : KTÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji  
ve Embriyoloji Ana Bilim dalı

### Eğitim Bilgileri

| Derece        | Mezun Olduğu Kurumun Adı                                                    | Mezuniyet Yılı |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Yüksek lisans | : KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim dalı                               | 2016           |
| Lisans        | : Ondokuzmayıs Üniversitesi Amasya Sağlık<br>Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümü | 2008           |
| Lise          | : Samsun / Havza Anadolu Lisesi                                             | 2004           |

### Akademik/Mesleki Deneyim:

| Görevi | Kurum | Süre(yıl-yıl) |
|--------|-------|---------------|
|--------|-------|---------------|

### Yabancı Dil:

İngilizce