

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RATLARDA AFLATOKSİN B1'İN
HEPATOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE
LİKOPENİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL KARACA

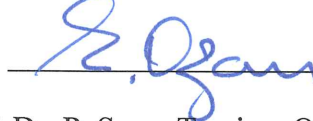
ELAZIĞ-2015

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. P. Sema Temizer OZAN

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

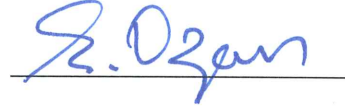
Prof. Dr. Seval YILMAZ



Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. P. Sema TEMİZER OZAN



Prof. Dr. Seval YILMAZ



Prof. Dr. Fulya BENZER



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkıda bulunan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Seval YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sema TEMİZER OZAN'a ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Necmi ÖZDEMİR'e, Prof. Dr. Mine ERİŐİR'e, Yrd. Doç. Dr. Gonca OZAN'a ve desteğini hiç esirgemeyen Arş. Gör. Emre KAYA'ya, Arş. Gör. Mehmet Ali KISAÇAM'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her an yanımda olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışması için maddi destek aldığımız Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Koordinasyon Birimine (Proje No: VF. 14.02) teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLOLAR LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XI
KISALTMALAR.....	XIII
1. ÖZET.....	XVII
2. ABSTRACT.....	XIX
3. GİRİŞ.....	1
3.1. Mikotoksin.....	1
3.1.1. Mikotoksinlerin Genel Özellikleri:.....	1
3.1.2. Mikotoksinlerin Önemi.....	2
3.2. Aflatoksin (AF).....	2
3.2.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Çeşitleri.....	3
3.2.2. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı.....	4
3.2.3. Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	6
3.2.4. Aflatoksinlerin Etki Mekanizması.....	8
3.2.5. Aflatoksinlerin Canlılar Üzerine Etkileri.....	11

3.2.5.1. Aflatoksinlerin Akut ve Kronik Toksik Etkileri	11
3.2.5.2. Aflatoksinlerin Teratojenik ve Embriyotoksik Etkileri	13
3.2.5.3. Aflatoksinlerin Mutajenik Etkileri	13
3.2.5.4. Aflatoksinlerin Karsinojenik Etkileri.....	13
3.2.5.5. Aflatoksinlerin İmmünoşüpresif Etkileri.....	14
3.2.6. Aflatoksinlerin Hayvanlar Üzerindeki Etkileri.....	14
3.2.7. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerindeki Etkileri	15
3.2.8. Aflatoksinlerin Karaciğer Üzerine Etkileri.....	16
3.3. Serbest Radikaller.....	17
3.3.1. Oksidatif Stres	17
3.3.2. Serbest Radikallerin Özellikleri.....	18
3.3.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	19
3.3.2.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$).....	19
3.3.2.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	20
3.3.2.1.3. Hidroksil Radikali ($\bullet OH$).....	21
3.3.2.1.4. Singlet Oksijen (1O_2).....	21
3.3.2.2. Diğer Reaktif Oksijen Türleri	22
3.3.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	22
3.3.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar	23
3.3.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri	23
3.3.4.1.1. Malondialdehid (MDA)	24

3.3.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri	25
3.3.4.3. Karbonhidratlara Etkisi	26
3.3.4.4. DNA Üzerine Etkileri	26
3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	27
3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	27
3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	27
3.4.1.2. Katalaz (CAT).....	29
3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	29
3.4.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)	30
3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	30
3.4.2.1. Glutasyon (GSH).....	30
3.4.3. Doğal Antioksidanlar.....	31
3.4.3.1. Likopen ve Özellikleri	32
3.4.3.1.1. Likopenin Kimyasal Yapısı	32
3.4.3.1.2. Likopenin Etkileri	33
3.4.3.1.3. Likopenin Antioksidan Etkisi	34
3.4.3.1.4. Likopenin Antikanserojen Etkisi	36
3.4.3.1.5. Likopenin Antiinflamatuvar Etkisi	37
4. GEREÇ VE YÖNTEM	38
4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	38
4.2. Kullanılan Gereçler	40

4.3. Kimyasal Maddeler	40
4.4. Yöntemlerin Uygulanması	40
4.4.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması.....	40
4.4.2. Aflatoksin ve Likopen Uygulanması.....	41
4.5. Örneklerin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler	41
4.6. Kan Örneklerinin Hazırlanması.....	42
4.6.1. MDA Tayini için Hazırlanması	42
4.6.2. GSH Tayini için Hazırlanması.....	42
4.6.3. CAT Tayini için Hazırlanması.....	42
4.6.4. GSH-Px Tayini için Hazırlanması	42
4.7. Doku Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Homojenizasyonu.....	43
4.7.1. MDA, GSH, CAT ve GST Tayini için Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	43
4.7.2. GSH-Px Tayini için Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	43
4.8. Kullanılan Yöntemler	43
4.8.1. Plazmada ve Dokuda MDA Düzeyinin Tayini.....	43
4.8.2. Kanda ve Dokuda GSH Düzeyinin Tayini	45
4.8.3. Kanda ve Dokuda CAT Aktivitesinin Tayini	47
4.8.4. Dokuda GST Aktivitesinin Tayini.....	48
4.8.5. Kanda ve Dokuda GSH-Px Aktivitesinin Tayini.....	50
4.8.6. Hemogloblin Tayini.....	52

4.8.7. Dokuda Protein Tayini.....	54
5. BULGULAR.....	57
5.1. Kan Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri.....	57
5.1.1. Kan MDA Düzeyi.....	58
5.1.2. Kan GSH Düzeyi.....	59
5.1.3. Kan CAT Aktivitesi.....	59
5.1.4. Kan GST Aktivitesi.....	60
5.1.5. Kan GSH-Px Aktivitesi.....	60
5.2. Karaciğer Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri.....	61
5.2.1. Karaciğer MDA Düzeyi.....	62
5.2.2. Karaciğer GSH Düzeyi.....	63
5.2.3. Karaciğer CAT Aktivitesi.....	64
5.2.4. Karaciğer GST Aktivitesi.....	65
5.2.5. Karaciğer GSH-Px Aktivitesi.....	66
5.3. Plazmada AST, ALT, LDH, Glukoz, Total Protein Düzeyleri.....	67
5.3.1. Plazma AST Düzeyi.....	68
5.3.2. Plazma ALT Düzeyi.....	69
5.3.3. Plazma LDH Düzeyi.....	70
5.3.4. Plazma Glukoz Düzeyi.....	71
5.3.5. Plazma Total Protein Düzeyi.....	72
6. TARTIŞMA.....	74

7. KAYNAKLAR	90
8. ÖZGEÇMİŞ	112



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1 AF'lerin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri (19).....	6
Tablo 2 Rat Yeminin Bileşimi ve Kalori Değeri	39
Tablo 3 Plazma ve Doku MDA Düzey Ölçümü	44
Tablo 4 Kan ve Doku GSH Düzey Ölçümü.....	46
Tablo 5 Kan ve Doku CAT Aktivite Ölçümü	47
Tablo 6 Doku GST Aktivite Ölçümü.....	49
Tablo 7 Kan ve Doku GSH-Px Aktivite Ölçümü	51
Tablo 8 Hb Düzey Ölçümü	53
Tablo 9 Protein Düzey Ölçümü	55
Tablo 10 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Kan Oksidan ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi	57
Tablo 11 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Karaciğer Oksidan ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi	62
Tablo 12 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Bazı AF Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları (20)	5
Şekil 2 AFB1 Metabolizması (11)	8
Şekil 3 Oksidatif Stres (85).....	17
Şekil 4 MDA Oluşumu (103).....	24
Şekil 5 Likopenin Kimyasal Yapısı (130).....	33
Şekil 6 Likopenin İnsan Sağlığındaki Rolü (131).....	34
Şekil 7 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma MDA Düzeyleri	58
Şekil 8 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan GSH Düzeyleri...	59
Şekil 9 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan CAT Aktiviteleri	60
Şekil 10 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan GSH-Px Aktiviteleri	61
Şekil 11 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer MDA Düzeyleri.....	63
Şekil 12 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GSH Düzeyi	64
Şekil 13 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer CAT Aktiviteleri	65
Şekil 14 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GST Aktiviteleri	66

Şekil 15 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GSH-Px Aktiviteleri.....	67
Şekil 16 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma AST Düzeyleri.....	69
Şekil 17 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma ALT Düzeyleri.....	70
Şekil 18 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma LDH Düzeyleri.....	71
Şekil 19 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma Glukoz Düzeyleri.....	72
Şekil 20 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma Total Protein Düzeyleri.....	73

KISALTMALAR

Simgeler	Kısaltmalar
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
AF	Aflatoksin
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransaminaz
AST	Aspartat aminotransaminaz
BSA	Sığır serum albumin
CAT	Katalaz
CDNB	1-klor-2,4-dinitrobenzen
CDNB	1-klor-2,4-dinitrobenzen
CK	Kreatin kinaz
Cu	Bakır
dl	Desilitre
DMSO	Dimetilsülfat
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit)
Fe	Demir

g	Gram
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GGT	Gama glutamat dehidrogenaz
GGT	Gama glutamat transferaz
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Okside glutatyon
GST	Glutatyon-S-transferaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
Hb	Hemoglobin
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü
k	Katal
kg	Kilogram

Kısaltmalar	Açıklamalar
L	Litre
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LO[·]	Alkoksil radikali
LOO[·]	Peroksil radikali

LOOH	Lipid hidroperoksit
M	Mol
MDA	Malondialdehid
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimol
Mn	Manganez
N	Normal
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
nm	Nanometre
O₂	Oksijen
O₂⁻	Süperoksit radikali
OD	Optik dansite
ppm	Milyonda kısım
R[·]	Organik radikal
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RS[·]	Tiyil radikali
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiobarbutirik asit

t-BOOH	t-bütilhidroperoksit
TCA	Triklorasetik asit
U	Ünite
Zn	Çinko
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol



1. ÖZET

RATLARDA AFLATOKSİN B1'İN HEPATOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE

LİKOPENİN ETKİSİ

Çalışmanın amacı; Aflatoksin (AF) uygulanan ratlarda oksidatif stres üzerine likopenin etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmada, 3 aylık toplam 34 adet erkek Wistar Albino ırkı rat kullanılmıştır. Hayvanlar 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar; 1. grup: Kontrol grubu (ratlara tedavi verilmemiştir), 2. grup: Likopen uygulanan grup (5 mg/kg/gün, oral), 3. grup: AFB1 uygulanan grup (0,5 mg/kg/gün, oral 7 gün) ve 4. grup: AFB1+Likopen uygulanan grup şeklinde oluşturulmuştur. Toplam 15 gün süren uygulama sonunda kan ve karaciğer doku örneklerinde malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri, katalaz (CAT), glutatyon-S-trasferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçülmüştür.

AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kan ve karaciğer MDA düzeyinde önemli artış, GSH düzeyinde, CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerinde ise önemli bir azalış gözlenmiştir ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulana gruplar kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında MDA ve GSH düzeylerinde, CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli azalış, GSH düzeyinde CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerinde ise artış

saptanmıştır ($p<0.05$). Kanda GST aktivitesi okunamayacak düzeyde olduğu için ölçülememiştir.

Plazma aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerinde AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede artış, plazma protein düzeyinde ise düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AST, ALT ve LDH düzeylerinde önemli fark gözlenmemiştir. AFB1 uygulanan gruba göre AFB1+Likopen uygulanan grupta plazma AST, ALT ve LDH düzeylerinde düşüş, plazma protein düzeyinde ise artış gözlenmiş ve istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma glukoz düzeyinde azalma saptanmış olup, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p<0.05$).

Çalışmamızda AFB1 nedenli hepatotoksisiteden antioksidan özelliği olan likopen ile korunulabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, likopen, malondialdehid, glutatyon, katalaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz

2. ABSTRACT

THE EFFECT OF LYCOPENE ON HEPATOTOXICITY OF AFLATOXIN B1 IN RATS

The purpose of this study was to investigate the effect of lycopene on oxidative stress in aflatoxin (AF) treated rats.

In the study, a total number of 34 male, 3 months old Wistar-Albino rats were used. Rats were divided into four groups. Groups were formed as; 1st group: control group (not treated rats), 2nd group: Lycopene treated group (5 mg/kg/day, orally), 3rd group: AFB1 treated group (0,5 mg/kg/day, orally for 7 days) and 4th group: AFB1+Lycopene treated group. After the total number of 15 days of application, malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) levels, catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) activities were measured in blood and liver tissue samples.

It was observed a significant increase in MDA level, decrease in GSH level, CAT, GST and GSH-Px activities in the blood and liver of AFB₁ treated group when compared with the control group ($p < 0.05$). MDA and GSH levels, CAT, GST, GSH-Px activities were observed no statistically significant difference in Lycopene and AFB1+Lycopene treated groups when compared separately with the control group. It was determined a significant decrease in MDA level and an increase in GSH level, CAT, GST, GSH-Px activities IN AFB1+Lyconpene

treated group when compared with AFB1 group ($p < 0.05$). GST activity in the blood could not be measured because it cannot be read at the level.

It was determined to significantly increase in plasma aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) levels and decrease in the plasma protein level in AFB1 treated group when compared with the control group ($p < 0.05$). It wasn't observed significant differences in AST, ALT and LDH levels in the Lycopene and AFB1+Lycopene treated groups when compared with the control group. It was observed decrease in plasma AST, ALT and LDH levels, increase in plasma protein level IN AFB1+Lycopene treated group when compared with the AFB1 treated group and this difference statistically significant ($p < 0.05$). Plasma glucose level was decreased in AFB1 treated group when compared with the control group and this decrease was found statistically significant ($p < 0.05$).

This study suggests that lycopene which has antioxidant properties can be prevented from AFB1 induced hepatotoxicity.

Key Words: Aflatoxin, lycopene, malondialdehyd, glutathione, catalase, glutathione-S-transferase, glutathione peroxidase

3. GİRİŞ

3.1. Mikotoksin

Mikotoksin terimi Yunanca mantar anlamına gelen ‘mukes’ ve Latince zehir anlamına gelen ‘toxicum’ yani toksin kelimelerinin birleşiminden türetilmiştir. Mikotoksinler, çeşitli fungus türleri tarafından üretilen kimyasal özellikli toksinler olup, bu toksinlerle kontamine olan gıdaları tüketen insanlar ve hayvanlarda karsinojenik ya da toksik etkilere yol açabilmektedirler. Mikotoksinler küflerin sekonder metabolitleridir ve iz miktarda (mg-µg seviyelerinde) üretilirler. Mikotoksinleri belirli funguslar üretmekte olup, her birinin ürettiği mikotoksin farklı yapıdadır. Küf mantarı gıda maddesinde gelişip toksin oluşturduktan sonra, tamamen elimine olsada ürettiği toksin gıda maddesinin tüketilmesi sonucu toksik etkisini gösterir (1-3).

3.1.1. Mikotoksinlerin Genel Özellikleri:

- Bulaşıcı değildir.
- Mikotoksikozis üzerine ilaç ve antibiyotik tedavisinin çok az etkisi vardır.
- Mikotoksikozislerin görülmeleri mevsimlere göre değişkendir.
- Salgın şeklinde görülmeleri kontamine olmuş bir besin veya yemle ilişkilidir.

- Toksisitenin derece ve şiddetini sık olarak konakçının yaş, cins ve beslenme durumu etkilemektedir.

Mikotoksinlerin, gözle teşhisi yapılamamaktadır. Bununla beraber, mikotoksinleri üreten küfler gözle görülebilir ya da görülmeyebilmektedir (2, 3).

3.1.2. Mikotoksinlerin Önemi

Mikotoksinler, günümüzde gıda ve yemlerdeki en önemli bulaşanlardan biri olarak kabul edilmektedir. Toprak, hava, su gibi doğal kaynaklar ile depolama ve taşıma sırasında yem hammaddeleri ve işlenmiş yem ürünlerine bulaşan küfler, oluşturdukları kalite bozuklukları ve ürün kayıplarıyla ekonomik zararlara yol açarken, ikincil metabolizma ürünleriyle insanlarda ve hayvanlarda sağlık risklerine neden olmaktadır. Bu nedenle yem hammaddelerinde ve yemlerdeki mikotoksin düzeyleri, gıda güvenliği zincirinin önemli bir unsuru olarak ortaya çıkmaktadır (1-5). Mikotoksinlerle kontamine gıdalar, hayvanların sağlığı için önemli bir risk teşkil eder ve çiftlik hayvanlarının verimlerinin düşmesinden dolayı büyük ekonomik kayıplara neden olurlar (6-8).

3.2. Aflatoksin (AF)

AF'ler, *Aspergillus* cinsinin toksijenik türleri tarafından, özellikle de tarımsal ürünlerde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen sekonder toksik küf metabolitleridir. AF'lere bu isim *Aspergillus* cinsinin "A"sı *flavus*'un "fla"sı alınarak sonuna "toksin" eklenmesiyle oluşturulmuştur. Tahıl

tanelerine küf bulaşması yaygın olarak, böcekler, kuşlar, dolu, don, sıcaklık ve kuraklık süresi, rüzgar ve diğer öngörülemeyen zararlar sonucu gerçekleşir (9-11).

3.2.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Çeşitleri

AF'ler birçok biyolojik etkiye yol açan, akut ve kronik patolojik etkiler gösteren güçlü biyolojik toksinlerdir (11-13). Lancaster ve ark. (14) yer fıstığı ve pamuk tohumu unlarından hazırlanan rasyonla beslenen alabalıklarda kanserin oluştuğunu bildirmişlerdir.

18 ayrı türü olan AF'in yem ve yem hammaddelerinde en fazla tespit edilen türleri AFB1, B2, G1 ve G2'dir. *A. flavus*, *A. pseudotamarii* ve *A. ochraceoroseus* sadece AFB'leri; *A. nomius*, *A. bombycis* ve *A. parasiticus* hem B hem de G toksinleri üretmektedir (15, 16).

Ayrıca bu 4 ana AF dışında AF'li yemlerle beslenen hayvanların sütlerinde bulunan ve "süt toksini" olarak adlandırılan AFM1 ve AFM2 süt, süt ürünleri ya da ette bulunabilen AFB1 ve AFB2'in hidroksile olmuş türevleridir (11, 12).

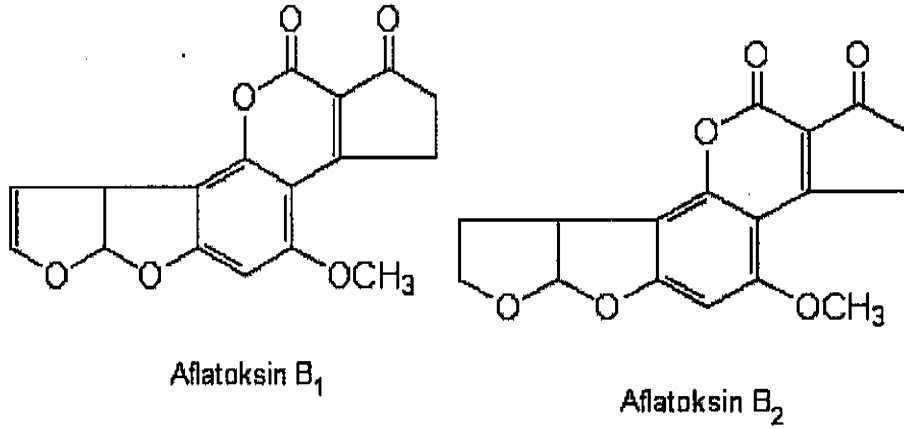
Yem ve besinlerle alınan AF'ler sindirim kanalından sınırlı ölçüde emilirler. Dolaşıma katılan AF'ler başlıca karaciğer ve kaslarda dağılım gösterirler. Vücuda giren AF'in % 75'lik kısmı ilk 24 saat içinde dışkı ile, % 15-20'lik kısmı idrarla ve geri kalanı da değişmemiş ya da metabolitleri halinde süt ile atılırken % 5-6'lık kısmı karaciğerde tutulur (16, 17).

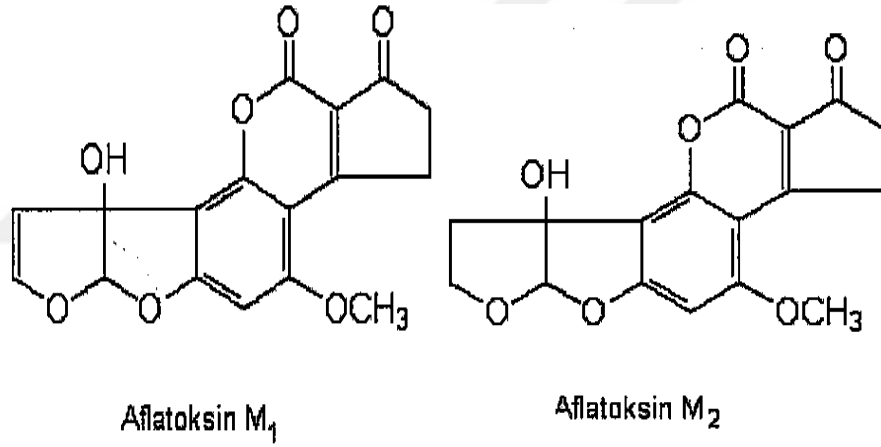
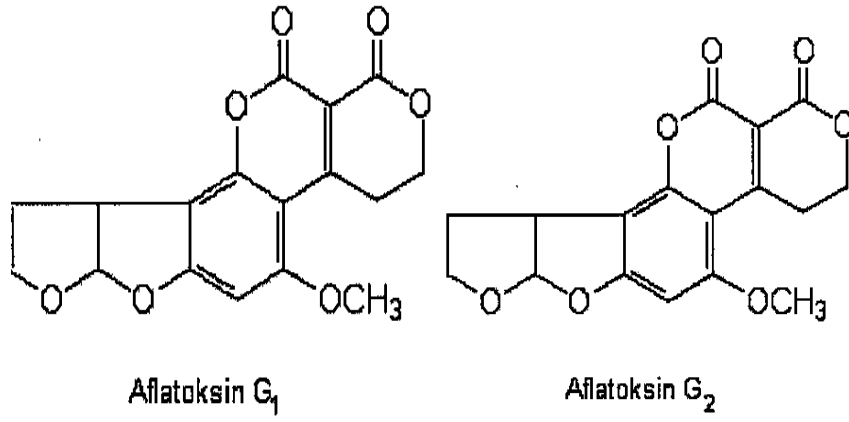
AF'ler içerisinde en yaygın ve en toksik olanı AFB1 bunu azalan sırayla AFG1, AFB2 ve AFG2 izlemektedir. Hayvanların çoğunda AFB1'in LD50 değeri

0,5–10 mg/kg arasında değişir (LD50: AF'in hayvanlara verildiğinde % 50 oranında ölüme neden olan dozdur) (18).

3.2.2. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı

AF'ler, difurokumarosiklopentenon ile difurokumarolakton gruplarında sınıflandırılmıştır. AF'lerin AFB1, B2, G1 ve G2 olmak üzere dört ana fraksiyonu vardır (19, 20). Bu dört AF dışında AFM1 ve AFM2 olarak isimlendirilen önemli iki AF türevi daha bulunmaktadır. M toksinleri AF'li yemle beslenen laktasyon devresindeki memeli hayvanların sütlerinden ve idrarlarından izole edilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde, UV ışığı altında AFB1, B2 mavi, AFG1 ve G2 ise yeşil floresan vermektedir. B toksinleri kumarin yapıdaki lakton halkasına eklenmiş siklopentenon halkası, G toksinleri ise ek bir lakton halkası içermektedir. AFB2, B1'in, AFG2 de G1'in dihidro türevleridir ve "in vivo" koşullarda metabolik olarak B1 ve G1'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler (16, 20).





Şekil 1 Bazı AF Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları (20)

AF'ler hekzan, petrol eteri, izooktan gibi yağ çözücülerini dışındaki organik çözücülerde (aseton, kloroform, benzol, asetonitril vb.) ve suda iyi çözümler. Sudaki çözümlükleri 10-20 mg/L arasındadır. AF'ler, alkaloidlerle ve

oksidasyon maddeleriyle kolayca parçalanabilir fakat normal gıda işleme sıcaklıklarında parçalanmaz (20, 21).

Tablo 1 AF'lerin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri (19)

AF Türü	Formülü	Relatif Molekül Ağırlığı	Erime Noktası	Floresans Rengi
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₅	312	268-269	Mavi
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	Mavi
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	Yeşil-Sarı
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240	Yeşil-Sarı
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	-
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	-

Toksijenik *A. flavus* kültürleri ve AF ile kontamine olmuş ürünlerdeki biyolojik aktiviteden AFB1 ve daha az olarak da AFG1 sorumludur. Bu durum, her iki toksinin terminal furan halkasınının 8, 9 karbon pozisyonunda bir doymamış bağa sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir (20, 22).

3.2.3. Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

AF oluşumu fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerden etkilenir. Fiziksel faktörler sıcaklık, pH ve nem gibi faktörlerdir. Kimyasal faktörler havanın bileşimi ve besin ortamı gibi faktörlerdir. Biyolojik faktörler ise hâkim mikroflora ve toksijenik suşlar gibi faktörlerdir. *A. flavus* ve *A. parasiticus* küfleri tarafından

AF üretimi 12- 41 °C sıcaklıklar arasında olurken, optimum üretimin 25- 32 °C olduğu rapor edilmiştir. Yemlere bulaşan küflerin AF sentezinin 27 °C'nin üzerinde hava sıcaklığı ve % 62'nin üzerinde hava neminde ve yemlerin % 14 üzerinde nem içeriklerinde arttığı rapor edilmiştir (20, 21).

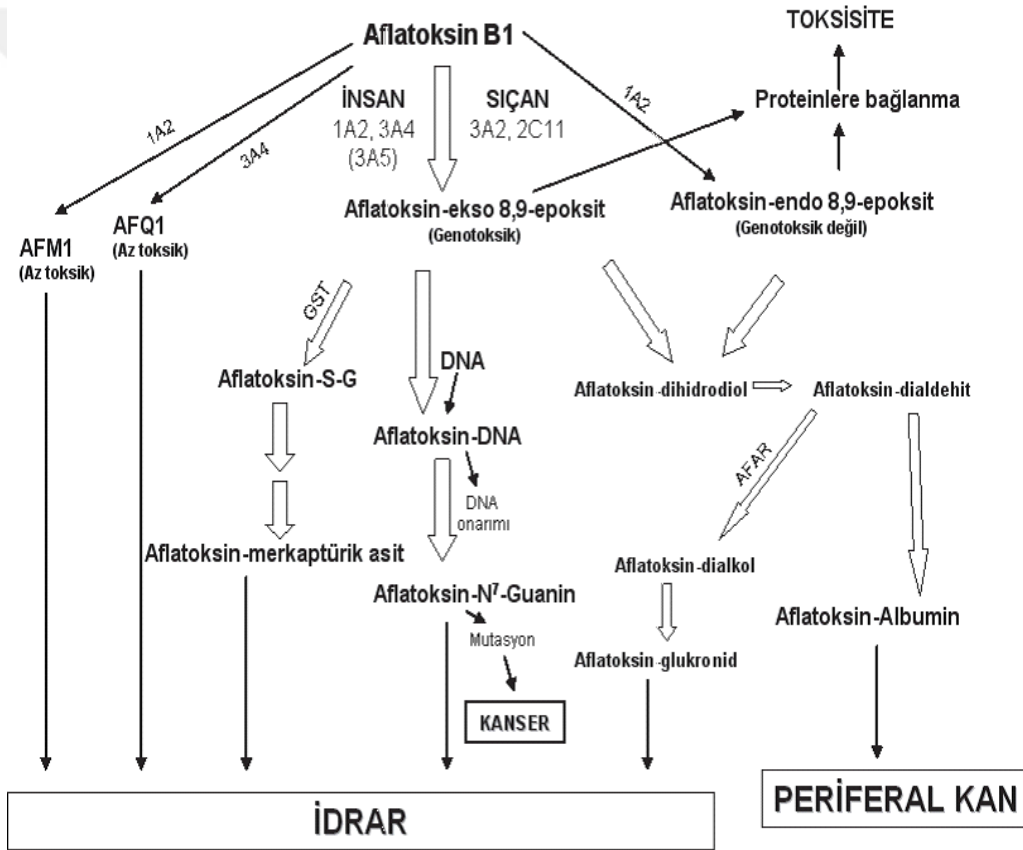
AF'ler gıda ve yem maddelerinde oldukça stabildir, ancak çok düşük veya yüksek pH'larda (3'ten az ve 10'dan büyük), okside edici ajanlarla ve oksijen (O₂) olan ortamda UV ışığına maruz kaldıklarında hızla aktivasyonlarını yitirmektedirler (7, 20, 21, 22).

Karbondioksit ve O₂ varlığı AF üremesi ve küfün oluşumunda etkilidir. Havadaki % 20 karbondioksit seviyesi AF üretimini ve küfün gelişimini görünür şekilde baskılamaktadır. Havadaki O₂ konsantrasyonunun % 10 azalması AF üretimini baskılar. Mantarlar, hasar görmüş dokular üzerinde (tane ve tohumlarda oluşan ezilme, zedelenme, kırılma ve çatlama gibi) daha kolay geliştiğinden bitkiyi buralardan kolayca etkilemektedir. Böylece mantarlar bitki dokularını fiziksel olarak yaralamak suretiyle yemlere zarar verdikleri gibi, salgıladıkları mikotoksinlerle de yemleri yiyen hayvanlara zarar verebilmektedir. AF üretimi için mineraller, vitaminler, yağ asitleri, amino asitler ve özellikle enerji kaynağı olarak nişasta gibi özel besinler gereklidir. Bu nedenle AF birikimi buğday, pirinç, mısır, pamuk tohumu, soya ve yer fıstığında daha çok meydana gelir (2, 7, 20).

Biyolojik faktörler ise; mikroorganizma yükü ve mikrobiyal flora, bitki çeşidi, böcek hasarı, ayrıca birden fazla parazit veya mantar türünün mevcut olması da mantarların üremesini ve mikotoksin oluşturmasını etkilemektedir (20, 22).

3.2.4. Aflatoksinlerin Etki Mekanizması

Oral yolla alınan AFB1 en etkili şekilde ince bağırsaklardan emilmekte, lipid peroksidasyonu ve hücresel zedelenmeye yol açan AFB1-8,9-epoksit gibi reaktif ara ürünleri şekillendiren hücresel sitokrom P-450 enzim sistemi ve aril hidrokarbon hidroksilaz enzimi etkisiyle karaciğerde metabolize edilmektedir (23-27).



Şekil 2 AFB1 Metabolizması (11)

AF'lerin epoksit türevleri, karaciğerde GSH-S-transferaz (GST) enzimince katalize edilen tepkimeler sonucunda indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge

edilerek veya epoksit hidrataz enziminin aflatoksikole çevrilerek zararsız hale getirilmeye çalışılır. Ancak uzun süre ve fazla miktarda AF alımı halinde açıklanan detoksifikasyon işlevi yetersiz kalır ve ciddi sağlık sorunları gözlemlenebilir (28-30).

GSH AFB1'in detoksifikasyonunda önemli bir rol almaktadır. AFB1 8,9 ekzo- ve endo-epoksitler, GST tarafından katalize edilen AFB-merkapturatin oluşması sonucu GSH ile konjuge olabilmektedir (11). GST GSH'a 8,9-epoksitin konjugasyonunu sağlayarak 8,9-epoksitin toksik gücünü nötralize edebilmektedir. GSH seviyesi karaciğer ve böbrekte önemli ölçüde azalmaktadır. Düşük GSH seviyeleri AF'in toksik etkilerini arttırabilmektedir. Maymunda GST aktivitesi ratlara göre 3-5 kat daha fazla olduğundan maymunlar AF karsinogenezine daha dayanıklıdır. GST aktivitesi ya da 8,9-epoksit konjugasyonu daha düşük olan insanlarda ise ratlara ve maymunlara göre AF detoksikasyonu daha az etkili olmaktadır (13, 29).

Biyokimyasal süreçler sonunda ayrıca lipid metabolizması, mitokondriyal mekanizma, lizozomal enzim aktiviteleri ve membran transportu da etkilenmektedir (29). AFB1'i hem aktive hem de detoksifiye edebilen sitokrom P-450 3A4 enzimi karaciğerde ve ince bağırsaklarda vardır. Sitokrom P-450 3A4 ve sitokrom P-450 1A2 enzimleri AFB1'i ekzo-8,9-epoksite yüksek bir şekilde reaktifte ederek AFB1'in biyotransformasyonunu katalize etmektedirler (11, 30, 31).

Karaciğerdeki DNA, RNA ve proteinlerin biosentezlerinin engellenmesi AFB1'in metabolik aktivasyonuna ve detoksifikasyonuna bağlanmıştır. Özellikle DNA gibi hücresel makromoleküllere kovalent bağlanma affinitesi olan AFB1-

8,9-epoksit AF'in biyolojik etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Bu oldukça reaktif olan AFB1-8,9-epoksit substansı DNA bazları ile özellikle guaninin N7 pozisyonuna eklenerek DNA'da değişiklikler yapmaktadır. DNA'ya bağlanan AFB1-N7-guaninin karsinojenik ve mutajenik etkide önemli rolü olduğu düşünölmektedir (11, 31-34).

DNA hasarının diğer sebebi de DNA bazlarının oksidasyonunu sağlayan reaktif oksijen türleri (ROT)' nin şekillenmesidir. Bu serbest radikaller kromozomlarda hasara neden olurlar. Doku veya hücrelerdeki oksidatif zarar ROT'nin süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksi radikalleri ($\cdot OH$) hücrelerin antioksidan kapasitesini genişlettiğinde meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı, AFB1 kaynaklı toksisitenin varlığını işaret eder (12, 13, 32, 35).

AF'ler, insan ve bütün hayvanlarda zehir etkisi yaratırlar. Meydana gelen bu zehirlenme olayına aflatoksikozis denir. Bilinen en güçlü karsinojen olan AF'ler insan ve hayvanlarda karsinojenik (karaciğer, kolon ve böbreklerde kanser oluşumu), mutajenik (genetik yapıda bozulmalar, AFB1 en mutajen mikotoksindir) teratojenik (protein sentezinin inhibisyonu, canlılarda sakat veya ölü doğumlar) hepatotoksik (karaciğerde yağlanma, soluk renk, nekroz, kanamalar, sarılık ve siroz) etkileri yanında böbreklerde fonksiyon bozuklukları (nefrotoksik), immun sistemde zayıflama (immunosupressif etki), genel durum bozukluğu ve verim düşüklüğüne neden olmaktadır (36-40).

AF'ler içinde insan ve hayvanlar için en toksik olanı, en fazla karsinojenik etkiye sahip olanı, gıdalarda ve yemlerde en sık bulunanı AFB1 olmasına karşın, AF M1'de potansiyel karsinojen olup, rat ve alabalıklarda hepatosellöler

karsinojenik etkiye sahip olmaktadır. AF'ler, insan ve hayvanlardaki toksik etkileri dikkate alındığında B1> M1> G1> B2> M2> G2 şeklinde sıralanmaktadır (41, 42).

3.2.5. Aflatoksinlerin Canlılar Üzerine Etkileri

Alınma dozlarına bağlı olarak AF'lerin canlılar üzerinde ortaya çıkan etkileri 5 ana grupta toplanmaktadır.

3.2.5.1. Aflatoksinlerin Akut ve Kronik Toksik Etkileri

Hayvanların AF'lere farklı reaksiyonlar göstermesi farklı metabolizmaları ile ilgilidir. Rumen florasının mikotoksinleri indirgeyici özelliğe sahip olmasından dolayı ruminantlar mikotoksinlerin zararlı etkilerine daha dayanıklıdır (43, 44).

Akut ve subakut aflatoksikozis olaylarında gözlenen klinik belirtiler çok spesifik olmamakla birlikte, genel olarak yem tüketiminin azalması, canlı ağırlık kaybı, halsizlik ve ishal ilk göze çarpan semptomlardır (45). Bununla birlikte, memelilerde kusma ve sarılık, öksürük, burun akıntısı ve burun kanaması, kansızlık gibi belirtiler gözlenebildiği gibi gebe hayvanlarda düşük söz konusudur (44, 46). Akut ve subakut formlarda gözlenen bu belirtilere ek olarak, daha yaygın ve daha önemli sonuçlara yol açan kronik olaylarda yem tüketiminin düşmesi, canlı ağırlık artışında düşüş, kıllarda düzensizlik, anemi, depresyon, hafif derecede sarılık ve sürüde ölüm oranlarının artması gibi belirtiler görülmektedir. AF'ler, subletal dozlarda kronik etki göstermektedir. Subletal dozlarda AF uygulanan hayvanlarda, karaciğerde siroz görülmüştür. Düşük düzeyde ama uzun

sürelî AF alımı birçok deney hayvanında karaciğer kanseri ile sonuçlanmaktadır (47-49).

Dolaşıma katılan AFler karaciğer ve kaslarda dağılım göstermektedirler. Marvan ve ark. (50) AFB1'in gonadlarda, karaciğerde, böbrekte, dalakta, bursa fabriciusta, timusta, endokrin bezlerde, akciğer ve beyinde farklı dağılımlar gösterdiğini bildirmişlerdir. Petr ve ark. (51) Hamsterlere 0,1 mg/kg AFB1 i.p. enjeksiyondan 8 dakika-10 saat sonrasında kanda, karaciğerde, böbrekte ve testislerde serbest AFB1 gözlemlemişlerdir. İnsanların serumlarında bulunan AF yoğunluğu vücudun fiziksel durumuna, AF'in ağızdan alınma süresine ve miktarına göre farklılık göstermektedir. Dolaşımda AF plazma proteinlerine özellikle albümine bağlanmaktadır (52). Schwartz ve Perantoni (53) AFB1'in kültür hücrelerinde değişikliklere ve sitotoksositeye yol açtığını rapor etmişlerdir. Kaden ve ark. (54) AFB1'in kültür hücrelerinde toksisiteye ek olarak mutasyonlara da neden olduğunu bildirmişlerdir. Karemlampi (55) fare karaciğer hücrelerinde AF'in sitotoksitesini rapor etmiştir. Glahn ve ark. (56)'nın yaptıkları çalışmada toksin uygulamasının bırakılmasından 10 gün sonra dahi glomerular filtrasyon hızında azalma ve plazma ozmolalitesinde artış görülmesi, AF'lerin böbrek fonksiyonları üzerinde uzun süreli değişikliğe neden olabileceğini göstermiştir. Alyuvarlar in vitro ortamda AF'e maruz bırakıldığında yıkımla sonuçlanan konsantrasyona bağlı şişme gözlenmekte, bunun da permeabilededeki değişiklikler ile membran stabilitesinin bozulmasından ileri geldiği belirtilmektedir .

3.2.5.2. Aflatoksinlerin Teratojenik ve Embriyotoksik Etkileri

Gerek memeli hayvanlar ve gerekse de kanatlılarda yapılan deneysel çalışmaların sonuçları, AF'in özellikle de AFB1'in oldukça güçlü embriyotoksik etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır (57-59). Ellis ve Dipaolo (59), Hamsterlere gebeliğin 8. gününde 4 mg/kg dozunda AFB1 i.p. yolla vererek 17. günde fetüsler üzerinde yaptıkları incelemede; fetüslerin % 52,9'unun normal, % 29,4'ünün yapısal kusurlu, % 17,6'sının ölü veya rezorbe durumda olduğunu analiz etmişler. En fazla rastlanan anomalilerin; anensefali, ektopiya kordis, genel gelişme geriliği, mikrosefali ve umbilikal herni gibi malformasyonlar olduğu bildirilmiştir. Rat embriyo kültür ortamına ilave edilen AFB1 ise, embriyonik hücrelerin protein ve DNA sentezlemelerini önemli oranda inhibe etmektedir ve özellikle tubulus nöraliste önemli malformasyonlara neden olmaktadır (60).

3.2.5.3. Aflatoksinlerin Mutajenik Etkileri

AFB1'in mutajenik etkilerinin, AFB1'in epoksit türevlerinin hücrede DNA zincirlerine bağlanmak suretiyle, DNA polimeraz enziminin aktivitesini inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. DNA'nın taşıdığı şifre bozulduğundan, hem DNA ve hem de RNA'da mutasyonların şekillenebileceği ileri sürülmektedir (59, 61, 62).

3.2.5.4. Aflatoksinlerin Karsinojenik Etkileri

AF'ler özellikle karaciğer ve böbrek kanserlerine neden oldukları bilinen en güçlü doğal karsinojenlerdir. Epidemiyolojik çalışma sonuçları, AF'le

kontamine besinlerin fazla miktarda tüketildiği Afrika, Güneydoğu Asya Ülkeleri ve Hindistan'da yaşayanlarda hepatokarsinoma insidansının çok yüksek olduğunu göstermektedir (62, 63).

3.2.5.5. Aflatoksinlerin İmmünoşüpressif Etkileri

AF'lerin direkt immünoşüpressif etkilerinin, hücreşel bağışıklık sistemi üzerinde daha etkin olduğu kabul edilmektedir. Özellikle de düşük dozlarda toksine uzun sürelerle maruz kalınması sonucu ortaya çıkan bu durumdan makrofajların fagositik ve mikrobisidal kapasitelerinde meydana gelen önemli azalmalar sorumlu tutulmaktadır (64-66).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda AFB1'in, sitotoksik etkilerinin yanı sıra hücre diferansiyasyonu üzerinde de zararlı etkilerinin olabileceği ileri sürülmüştür. AFB1'in, hücre diferansiyasyonu üzerindeki zararlı etkisinin, embriyonik dönemde gelişmekte olan kas dokusu üzerindeki olumsuz etkileri hakkında yeterince bilgi bulunmamaktadır (66, 67).

3.2.6. Aflatoksinlerin Hayvanlar Üzerindeki Etkileri

AF'lerin toksik ve karsinojenik etkileri hayvanlarda tür, cinsiyet, yaş, beslenme ve diğer faktörlere göre değişiklikler göstermektedir. AF'lere karşı en fazla duyarlılık gösteren hayvan türleri; ördek, alabalık, hindi, kedi ve köpek, orta derecede duyarlılık gösteren hayvan türleri; at, domuz, fare, rat, kobay, tavuk, bıldırcın, sığır, koyun ve keçi en çok dayanıklı olan hayvan türleri ise; maymunlardır (68).

Tüm hayvan türlerinin genç olanları yetişkin olanlara göre aflatoksinden daha fazla etkilenirler. Gebe ve büyüyen hayvanlar, yetişkinlere göre daha hassastır. Sütle beslenen yavrular da süte geçen AF metabolitlerinden etkilenebilir. Düşük proteinli gıdalarla beslenenlerde, yüksek proteinli gıdalarla beslenenlere oranla daha fazla karaciğer hasarı görüldüğü, ayrıca diyetteki vitamin A eksikliğinde de ratlarda AF'in karaciğer kanseri oluşturma riskini arttığı bildirilmiştir. AF hayvanlarda süt veriminin azalmasına, üreme problemlerine, bağışıklık sisteminin baskılanmasına, yem tüketiminin azalmasına ve karaciğer hasarına sebep olur (69-71).

3.2.7. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerindeki Etkileri

Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu tarafından 1993 yılında AFB1 1. sınıf insan karsinojenler grubuna alınmıştır (70). Mikotoksinlerin insanlar üzerinde oluşturdukları toksik etkilerin, hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışma sonuçlarıyla paralellik gösterdiği bildirilmiştir. Dünyanın birçok bölgesinde AF'li kontamine gıdalarla beslenen insanlarda karaciğer kanseri, siroz ile karşılaşılmaktadır. Hepatit B virüsü taşıyan insanlarda AF'in olumsuz etkilerinin çok daha fazla arttığı bildirilmiştir (72, 73).

İnsan kromozomları üzerine AFB1'in AFG1'e göre daha toksik olduğu görülmüştür. Ayrıca insanlarda bazı kromozomların AFB1'e daha dirençli, bazılarının daha dirençsiz olduğu tespit edilmiştir. AFB1'in özellikle 2, 11, 19 ve 20. kromozomları daha çok, AFG1'in de 1, 2, 3, 4 ve 5. kromozomları daha çok etkilediği ortaya konulmuştur (44, 74, 75).

3.2.8. Aflatoksinlerin Karaciğer Üzerine Etkileri

AF hepatosit çekirdeklerinde bulunan RNA polimeraz aktivitesinde hızlı bir inhibisyona yol açan güçlü bir hepatotoksindir. AFB1 toksikasyonlarının hayati organlarda meydana getirdiği pato-anatomik değişikliklere paralel olarak enzim seviyelerinde değişimlerde söz konusu olabilir (76-78). AFB1 ile beslenen tavşanların özellikle karaciğer ve böbreklerde fokal hemorajiler ve çeşitli derecelerde konjesyonlar tespit ettiklerini bildirmiştir (28).

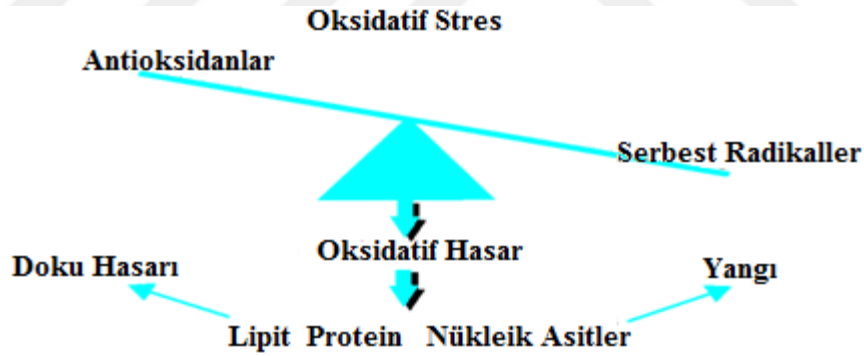
Hayvanların AF'lerle kontamine olmuş yemler tüketmeleri, karaciğerlerinde birçok histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklere yol açmaktadır. Hastalıklarla AF ilişkisinin en önemli ispatı serumda spesifik karaciğer enzimlerinin artışıyla birlikte akut ve kronik karaciğer hastalıklarının olmasıdır. Ana hedef noktası periportal hepatik parenşimal hücrelerdir. Karaciğer hasarı akut aflatoksikozda değişmez bir bulgudur. Lezyonları; yağ dejenerasyonu, megalositoz, fibrozların artmasıyla tek hücre nekrozları ve safranın artmasıdır (79-82).

Çelik (9) AF'lerin yüksek dozlarının şiddetli hepatoselüler nekroza, uzun süreli düşük dozlarının ise hayvanlarda büyümenin yavaşlamasına ve karaciğer büyümesine sebep olduğunu bildirmektedir. AF'ler tarafından karaciğerde oluşturulan histopatolojik etkiler safra kanalı hiperplazisi, çekirdek büyümesi, nükleus inklüzyonları ve hepatositlerde büyüme şeklinde olmaktadır. Ayrıca hemorajik nekrozlar ve yağ asidi birikimi gibi primer lezyonlar da görülmektedir.

3.3. Serbest Radikaller

3.3.1. Oksidatif Stres

Hücreler, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan üretirler. Serbest radikallerin oluşumları ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilmeleri arasında bir denge vardır. Bu denge sayesinde hücreler serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Bu dengenin serbest radikaller lehinde bozulması halinde hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücredeki bu artışına ve hücre fonksiyonları üzerinde yapmış olduğu olumsuz etkiye oksidatif stres denir (83-89).



Şekil 3 Oksidatif Stres (85)

Biyolojik sistemlerdeki O_2^- , hidroksil radikali ($\cdot OH$), peroksil radikali ($LOO\cdot$) ve radikal olmayan H_2O_2 gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerini oluştururlar (90-96).

3.3.2. Serbest Radikallerin Özellikleri

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron taşıyan yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır (93-95).

Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir. Etkileşime girdikleri molekülden bir elektron alarak yada ona bir elektron vererek molekülün yapısını bozarlar. Böylece radikal olmayan bir yapı, radikale dönüşmüş olur (97-100).

Başta kanser olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, romatoid artrit, katarakt, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi pek çok hastalıkta ve yaşlanma olayında etkileri açığa çıkarılmıştır (96, 99, 101).

Aerobik metabolizması olan memelilerde başlıca serbest radikal kaynağının O_2 'den türeyen serbest radikaller olduğu kabul edilmektedir (102, 103).

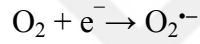
Biyolojik sistemlerde serbest radikaller ROT, reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır (104).

3.3.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

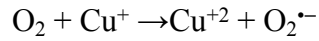
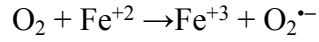
Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller O_2 'den meydana gelenlerdir. Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği biyokimyasal olayda en önemli anahtar rolü gösteren maddeler O_2 'in kendisinin yanı sıra $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , geçiş metallerinin iyonları ve $\cdot OH$ radikallerinden oluşmaktadır (104).

3.3.2.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Tüm aerobik hücrelerde $O_2^{\cdot-}$ radikali hücrelerde molekül haldeki O_2 'in bir adet elektron alarak indirgenmesi neticesinde oluşmaktadır (104).



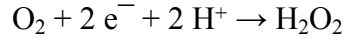
İndirgen geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucu da $O_2^{\cdot-}$ radikali oluşur:



Bu radikal direkt olarak zarar vermemektedir. Bu radikale önem kazandıran H_2O_2 'in önemli bir kaynağı ve bunun yanında geçiş metalleri iyonlarının en önemli bir indirgeyicisi olmasıdır. $O_2^{\cdot-}$ radikalının en önemli kaynağını; mitokondri, kloroplast, endoplazmik retikulum ve elektron transport zincirinden sızan küçük elektron sızıntıları oluşturmaktadır (103, 105).

3.3.2.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Su (H₂O) ile kolayca karışan ve antibakteriyel özelliği bulunan H₂O₂, aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. O₂'in, çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ile H₂O₂ meydana gelmektedir.



H₂O₂'in asıl üretimi biyolojik olan sistemlerde O₂⁻ 'in dismutasyonu ile meydana gelmektedir. İki O₂⁻ molekülü iki proton almak sureti ile H₂O₂'i ve O₂ meydana getirmektedir.

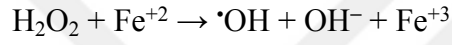
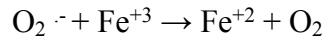


Reaksiyon sonucu olarak radikal olmayan yeni ürünler meydana gelmesinden dolayı bu reaksiyon bir dismutasyon reaksiyonu olarak da değerlendirilmektedir. Bu dismutasyon ya spontan olarak ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalize edilir. SOD aktivitesi sonucu ortaya çıkan H₂O₂ katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleriyle reaksiyona girerek H₂O ve O₂'e dönüştürülür. H₂O₂ membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. O₂⁻ ile reaksiyona girmek sureti ile daha az zarar verici ·OH oluşturur. Bunun sonucu olarak da canlı organizmada birikmesi kontrol edilir (105).

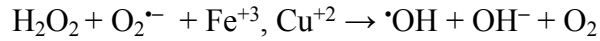
3.3.2.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$)

$\cdot\text{OH}$ son derece güçlü bir oksidandır. Bundan dolayı proteinler ve nükleik asitler dâhil hemen hemen bütün biyolojik molekülleri okside edebilme özelliğine sahiptir (103).

Önemli iki kaynağı Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonudur. $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 'in geçiş metallerinin bulunduğu ortamda indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu);



ya da $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'nin ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^{+3} veya Cu^{+2} katalizörlüğünde birbirleri ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelmektedir (Haber Weiss reaksiyonu);



$\cdot\text{OH}$ radikali tioller ve yağ asitleri gibi değişik moleküllerden bir adet proton koparmak sureti ile yeni radikalleri oluşturmaktadır (103, 106).

3.3.2.1.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$) ortaklaşmamış elektrona sahip olmadığından dolayı radikal olmayan bir ROT'dür. O_2 'in yüksek enerjili ve mutajenik formudur. O_2 'in

eşleşmemiş elektronlarından birisinin verilmiş olan enerji ile bulunduğu orbitalden başka orbitale veya kendi spin yönünün tersine yer değiştirmesi sonucunda meydana gelmektedir. 1O_2 in vivo ortamda sitokrom P450, endoperoksit sentetaz ve myeloperoksidaz reaksiyonlarıyla oluştuğu gibi iyonize radyasyonla da oluşabilmektedir (106-108).

3.3.2.2. Diğer Reaktif Oksijen Türleri

ROT'nin diğer bir grubu, lipid hidroperoksit (LOOH) ve bunların hemolitik yıkım ürünleri olan alkoksi (LO \cdot) ve LOO \cdot veya indirekt olarak hidro ve semikinonlar veya nitroaromatlardır. Ayrıca karbon merkezli organik radikaller (R \cdot), tiyil radikalleri (RS \cdot) gibi önemli radikaller vardır (109).

3.3.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

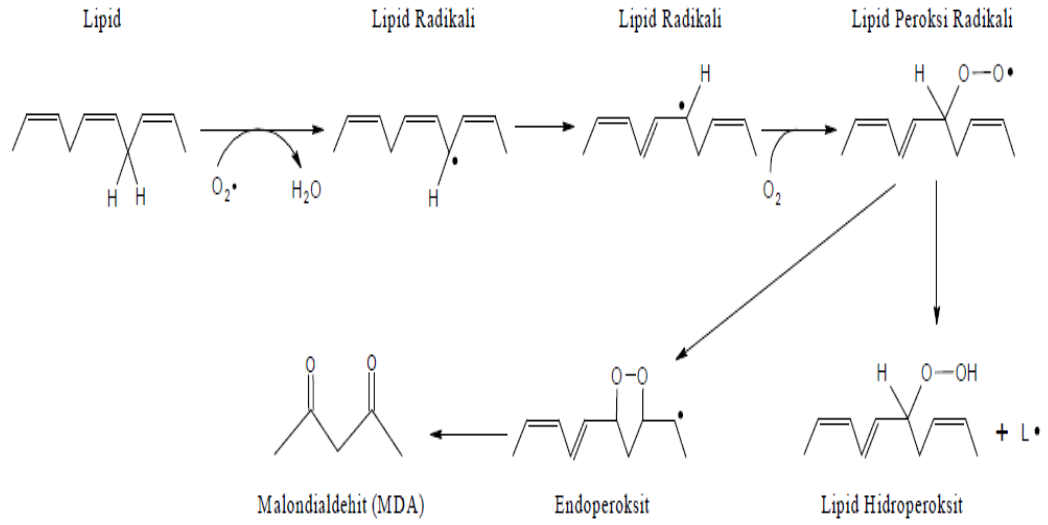
Alkol, uyuşturucu gibi bağıışıklık yapan maddeler, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara ve antineoplastikler ekzojen radikal kaynakları olarak sayılabilir. Mitokondrial elektron transport sistemi, iskemi, travma, intoksikasyona bağı oksidatif stres durumları, peroksizom enzimleri, tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, endoplazmik retikulum ve nukleus membranındaki elektron transport sistemleri, nikotinamidadenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz gibi hücre içi enzimler de endojen radikal kaynaklarıdır (110-112).

3.3.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar

Genelde serbest radikaller iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimindeki artış ve antioksidan sistemin yetersizliğine bağlı olarak başta membran lipidleri olmak üzere proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya önemli zararlar verebilmektedirler. Bu zararlar hücrenin cinsine, maruz kalınan strese ve şiddetine bağlı olarak, toksik, mutajenik veya karsinojenik olabilir (113).

3.3.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri

Lipidler, biyolojik yapılar içinde reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkilerine en duyarlı yapılardır. Özellikle hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri serbest oksijen ürünleri ile yüksek oranda tepkimeye girer ve peroksidasyon meydana gelir. Lipid peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asidi ile O_2^- radikali, LOOH'lerini oluşturmak için reaksiyona girer. Peroksidasyon şiddeti, lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak artar. Doymamış yağ asidlerinin oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna O_2 'in eklenmesi ile LOO· radikali oluşur. LOO· zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Eğer bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu doymamış yağ asit moleküllerini okside eder. Bu durumda yeni radikallerin ve toksik aldehytlerin oluşmasına neden olan LOOH'leri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu membran yapısına ve diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Membran akışkanlığını sağlayan bu doymamış yağ asitlerinin hasarı sonucu akışkanlıkta azalma olur (114-116).



Şekil 4 MDA Oluşumu (103)

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

- Membran transport sistemleri bozular.
- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozular.
- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur.
- Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir (115, 116).

3.3.4.1.1. Malondialdehid (MDA)

Lipid peroksidasyonu sırasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan malondialdehit (MDA) oluşur.

MDA, genellikle oksidatif stres belirteci olarak kullanılmaktadır. Bu, protein ve fosfolipidlerle çapraz bağ ve polimerizasyon yaparak özelliklerinin kaybolmasını sağlar. MDA deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril içeren enzimleri inaktive eder. Nükleik asitlerle etkileşmeye girerek genetik şifrede mutasyona yol açar. Sonuç olarak iyon transport bozuklukları, enzim aktivite değişiklikleri, hücre bileşenlerinin agregasyonu gibi değişiklikler ortaya çıkabilir (115, 116).

MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksidasyonunun indikatörü olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu, LOOH'lerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden sonuncusu olan MDA, tiyobarbiturikasit (TBA) testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksidasyonunun saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (115, 116).

3.3.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden ne derecede etkileneceği amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi amino asitler kolaylıkla etkilenirler. Protein oksidasyonu; ROT ve oksidatif stresin ikincil ara ürünlerinin proteinlerin kovalent modifikasyonuna neden olması ile oluşur. Proteinlerdeki bu değişiklikler sonrasında çeşitli hücre fonksiyonları

(sinyal iletimi mekanizmaları, transport ve enzim sistemleri) etkilenir (112, 114, 116).

3.3.4.3. Karbonhidratlara Etkisi

Geçiş metalleri tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile serbest glukoz oksidasyona maruz kalır. Bunun sonucunda reaktif oksidanlar ve protein reaktif dikarbonil bileşikleri üretilir. Sinoviyal sıvının viskozitesinde önemli role sahip aminoglikan yapıdaki hyalüronik asit, serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olur (113, 116).

3.3.4.4. DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikallerin mutajenik etkilerinden dolayı DNA üzerinde önemli hasarlara neden olduğu bilinmektedir (117). DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, purinlerin otooksidasyonu gibi bazı durumlar ROT'nin özellikle de $\cdot\text{OH}$ 'nin neden olduğu hasarlardır. DNA tamir enzimleri ve DNA polimerazlar da SOR'nden etkilenirler. DNA molekülünün hasarı kronik inflamasyon, enfeksiyon, yaşlanma, karsinogenez, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklara yol açar (118).

3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

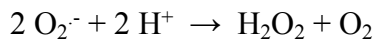
Serbest radikalleri ortadan kaldıran, oksidasyonunu engelleyen ya da oksidasyon reaksiyonunun gecikmesine neden olan maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Yani antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirip, reaksiyonları yavaşlatıp, sonlandırıp ya da serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini azaltmaya çalışırlar (111, 115, 119-122).

Bazı araştırmacılar antioksidan savunmayı enzimatik savunma ve nonenzimatik savunma olarak gruplandırmışlardır. SOD, CAT, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GR) ve GST'nin rol aldığı antioksidan aktivitelerini “enzimatik antioksidan savunma”, vitamin A, vitamin E, askorbat, GSH gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini ise “nonenzimatik antioksidan savunma” şeklinde adlandırmışlardır. Yapılan çalışmalar, antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrelerin zarar görmesini engellediğini ortaya koymuştur (112, 116).

3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

H₂O₂'e dismutasyonunu gerçekleştiren metalloprotein yapısında enzim olup direkt oksidatif hasara karşı hücreleri korumada anahtar role sahiptir (111, 115).

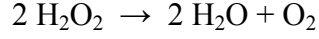


SOD enziminin hepsi metalloprotein yapısında olan 4 izoenzimi bulunmaktadır. İntraselüler izomerlerinden sitozolik SOD bakır (Cu) ve çinko (Zn)'ya bağlı iken (CuZn-SOD) mitokondriyal SOD mangan (Mn)'e bağlıdır (Mn-SOD). Genel olarak hücrede sitozolik SOD daha çoktur ve özellikle hemoglobin (Hb)'in otooksidasyonundan oluşan O_2^- 'i temizlediği için eritrositlerin en önemli antioksidanıdır.

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. SOD radikal tepkimeleri başlatarak $\cdot OH$, O_2^- ve organik radikallerin oluşumuna neden olurlar. Radikal zincir tepkimelerinin başlaması ile birlikte reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Organizmada oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma gösterilmiştir. SOD aktivitesiyle açığa çıkan H_2O_2 'i H_2O 'ya indirgeyen GSH-Px ve CAT ikinci savunmayı kurarlar. Bu nedenle SOD aktivitesindeki herhangi bir artış, ikinci kademe enzimlerinin aktivitesinde artış gerektirir. Yüksek O_2^- üretimine adaptasyonu gösteren SOD artışı ile GSH-Px arasındaki dengesizlik, hücrelerdeki oksidatif strese işaret eder. Bir başka ifadeyle SOD/GSH-Px oranındaki yükselme oksidatif hasarı ve patolojik olayları başlatabilir. SOD enziminin fizyolojik önemi; O_2^- 'i metabolize eden hücreleri O_2^- 'nin zararlı etkilerine karşı korumak ve böylece lipid peroksidasyonunun başlamasını engellemektir (111, 115).

3.4.1.2. Katalaz (CAT)

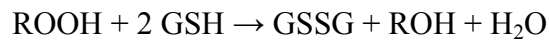
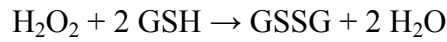
Yapısında 4 adet hem grubu bulunan CAT enzimi H_2O_2 'i O_2 ve H_2O 'ya parçalar.



Peroksidaz aktivitesi gösteren CAT enzimi peroksizomlarda lokalize olmuş olup büyük moleküllü lipid peroksitlerine etki etmez. İnsan karaciğer ve böbreklerinde yüksek konsantrasyonda CAT mevcuttur. CAT enziminin yaşla birlikte aktivitesi azalmaktadır (118, 119, 121).

3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px; H_2O_2 ve organik hidroperoksitlerin detoksifikasyonunu sağlayarak hücre membran lipidlerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Hücrelerdeki GSH redoks döngüsünün, H_2O_2 ve LOOH'lerin indirgenmesinde hayati önemi vardır. Bu döngünün anahtar enzimi GSH-Px, substratı ise GSH'dır. Bu sitozolik enzim tetramerik dört selenyum atomu ihtiva etmektedir.



Özellikle eritrositlerin membran bütünlüğünün sağlanmasında görev yapmaktadır. GSH-Px enzimi iki farklı kategoride ele alınmaktadır;

Selenyuma bağımlı GSH-Px: Bu sitozolik enzim, monomerik yapıda selenyum ihtiva etmektedir. Özellikle eritrositlerde bulunan GSH-Px selenyuma bağımlı olarak görev yapmaktadır.

Selenyumdan bağımsız GSH-Px: Diğer dokularda olmakla birlikte özellikle karaciğer mitokondrilerinde aktivitede bulunmaktadır.

Antioksidan etkinliği kanıtlanmış olan vitamin E'nin özellikle membranlarda sınırlı olduğu durumlarda GSH-Px, membranları peroksidasyona karşı korumaktadır (115, 117).

3.4.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

GST'ler üç sitozolik, bir de mikrozomal gruba ayrılırlar. Yabancı maddeleri GSH'daki -SH grubu ile bağlayarak nötralize ederler. Bu şekilde ürünün daha fazla H₂O'da çözünür hale gelmesini sağlayarak, organizmadan atılımını kolaylaştırırlar. GSH-Px enziminden sonra ROOH'lerinin detoksifikasyonunda önemli enzimdir (30, 38, 111).

3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.4.2.1. Glutasyon (GSH)

Tripeptit yapıdaki bu antioksidan glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşmaktadır. Hemen hemen tüm hücrelerde bulunmakta ve

antioksidan olarak metabolik faaliyetler sırasında çok önemli rol oynamaktadır. GSH, GSH-Px ve GR gibi ksenobiyotiklerin, karsinojenlerin, serbest radikallerin ve lipopolisakkaridler gibi endojen ve eksojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan çok önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. İndirgenmiş glutatyonun peroksitlerle ve disülfidlerle GSH-Px enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG oluşmaktadır. GSSG konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. GSSG, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir (37, 123).

Hücredeki önemli fonksiyonlarının (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) yanı sıra antioksidan olarak da görev yapar GSH-Px, GR ve GST enzimlerinin substratı ve kosubstratıdır. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girip oksidatif hasara karşı koruma yapar. Karaciğer vücuttaki GSH'un en önemli kaynağıdır. Hb'in oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini engeller. Eritrosit ve lökositleri oksidatif strese karşı korur. SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak, birçok protein ve enzimin inaktivasyonunu engeller (123, 124).

3.4.3. Doğal Antioksidanlar

Son derece zengin bitki örtüsüne sahip olduğumuz ve günümüzde değerini arttıran fotokimyasalların bol bulunduğu sebze, meyve, kabuklu yiyecekler ve tahılların insanlardaki çeşitli hastalıklara karşı içerdikleri antioksidanlardan dolayı koruyucu olduğu, ayrıca gıda teknolojisinde kullanılan sentetik antioksidanların kanserojen etkiler yaratabildiğini düşündüğümüzde, bitkisel doğal ürünlerin

kullanımının ve biyokimyasal yaklaşımın nedenli önemli olduğu anlaşılmaktadır (125, 126)

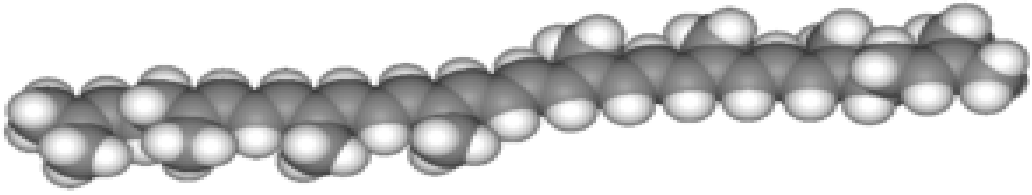
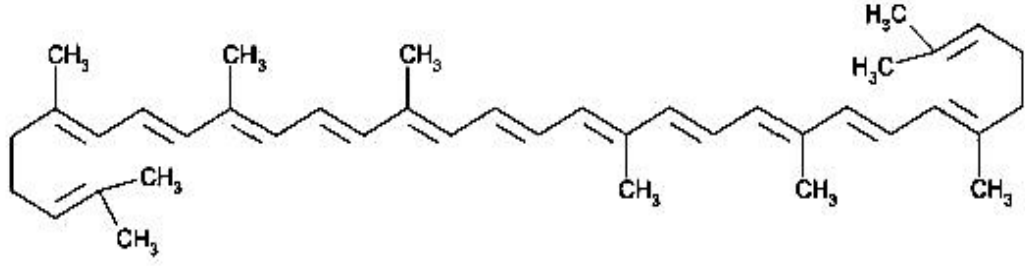
Bazı sebze ve meyveler yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içerirler. Vitamin C, vitamin E ve karotenoidlerden başka antioksidanların çoğu gıda bileşiği olarak bulunur. Önemli aktiviteye sahip antioksidanlar çilek, kiraz, turunçgiller ve kivi meyvelerinde, kuru erik ve zeytinde, aynı zamanda zeytinyağı ve meyve sularında da yüksek antioksidan aktivite belirlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada kakao taneleri, patates, domates ve ıspanak gibi çeşitli sebzelerin antioksidan potansiyeli analiz edilmiştir (126).

3.4.3.1. Likopen ve Özellikleri

Likopen birçok meyve ve sebzenin yapısında bulunan ve onlara kırmızı rengini veren önemli bir karotenoiddir. Likopen, en çok domates ile sos, ketçap, salça ve domates suyu gibi domates ürünlerinde bulunur. Karpuz, kavun, greyfurt ve kayısı likopen içeren diğer besin gruplarıdır (127, 128). İşlenmiş veya pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha yüksektir (129, 130).

3.4.3.1.1. Likopenin Kimyasal Yapısı

Moleküler formülü $C_{40}H_{56}$ olan likopen, düz zincirli, 8 tane izoprenin (C_5H_8) birleşmesinden meydana gelmiş bir hidrokarbondur. Likopen yapısında β -iyonon halkası ve 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ içermektedir (130) (Şekil 5).

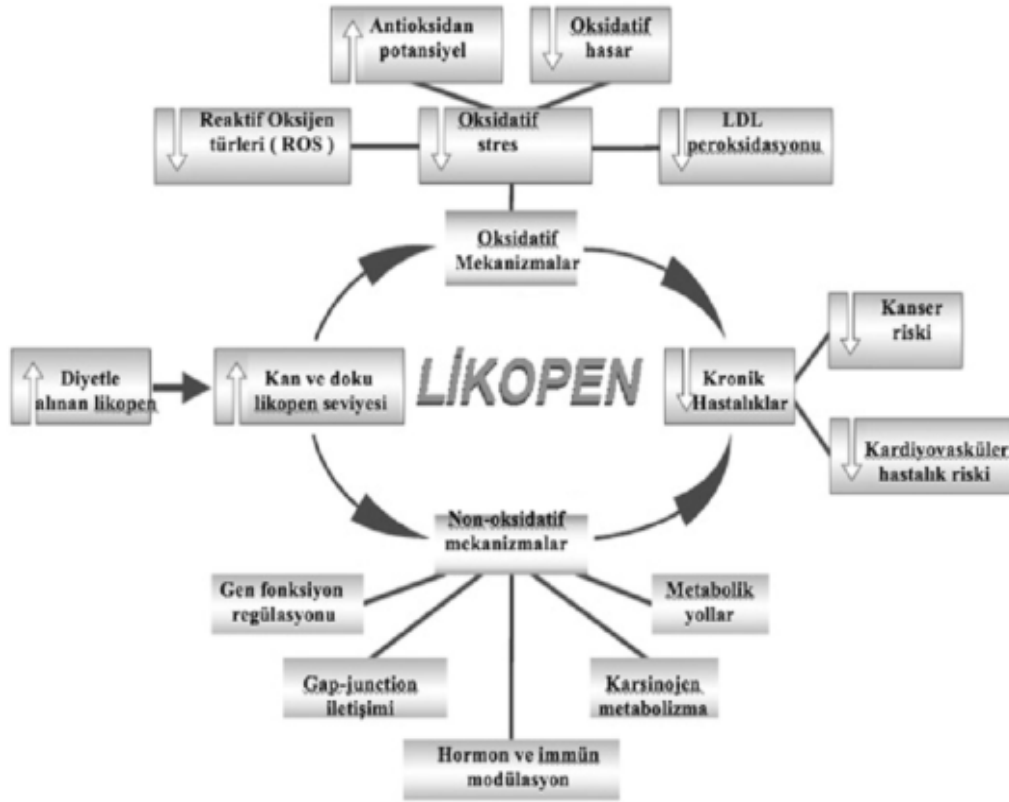


Şekil 5 Likopenin Kimyasal Yapısı (130)

3.4.3.1.2. Likopenin Etkileri

Likopenin etkileri genel olarak 3 başlık altında incelenebilir (130, 131):

1. Antioksidan etki
2. Antikanserojenik etki
3. Antienflamatuvar etki (Şekil 6).



Şekil 6 Likopenin İnsan Sağlığındaki Rolü (131).

3.4.3.1.3. Likopenin Antioksidan Etkisi

Likopen insan vücudunda sentezlenmeyen, tüketilen besinlerden elde edilen en önemli non enzimatik antioksidan ajanlardan biridir. Araştırmalara göre, tüketilen gıdalara bağlı likopenin plazma konsantrasyonu arttıkça koruyucu etkisinin arttığı gösterilmiştir (131-133).

Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan O_2^- ortadan kaldırmada etkilidir. O_2^- 'in giderildiği süreçte enerji likopen molekülüne aktarılır. Değişim sırasında enerji bakımından zengin bir bileşik oluşur. Bileşikteki likopen fiziksel dönme veya ısınma şeklinde enerji dağılması ile eski haline döner ve

başka serbest radikalleri ortadan kaldırmak için hazır şekilde bileşikten ayrılır. Likopen, uzun zincir yapıya sahip olduğu ve konjuge çift bağ içerdiği için antioksidan aktivite gösterir. Likopen de retinol, α -tokoferol ve karotenoidler gibi oksijen radikallerini yok ederek antioksidan özellik gösterir. Fakat lipid peroksidasyonuna karşı likopen, α -karoten ve β -karotenin antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında likopenin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Biyolojik membranlarda likopen bir O_2^- temizleyicisidir. Likopen in vitro ortamda güçlü antioksidan özelliğe sahip iken, in vivo ortamda DNA, protein ve lipidlerin oksidasyonuna karşı koruyucudur. Ayrıca yapılan klinik çalışmalar domates tüketiminin, insan lökositlerinde oksidatif DNA hasarını önlediğini göstermiştir (126, 127, 129, 131, 132).

Yapılan bir araştırmada, iki hafta süreyle bir gruba likopen miktarı yüksek domates ürünü verilerek, diğer gruba ise domates ürünleri verilmeden her iki grup da ikişer saat süreyle düşük oranda ozon bulunan bir odada bırakılmıştır. Domates ürünü verilen grubun akciğerlerindeki likopenin % 12 daha fazla, akciğer hücrelerindeki DNA hasarının ise % 20 daha düşük olduğu gözlenmiştir (133). Mohanty ve ark. (134) kısır erkeklere 8 mg/gün dozunda 12 ay süreyle likopen kapsülü verilerek yaptıkları çalışmada serum likopen düzeylerinde, sperm motilitesi, morfolojisi, yoğunluğu, motilite indeksi ve fonksiyonlarında bir artış kaydetmişlerdir.

Likopenin antioksidan özelliklerinin yanı sıra antikanserojen, büyüme faktörleri, bazı hormonlar ve sitokinlerin sinyal iletimi, hücreler arasındaki bağları güçlendirme ve hücre metabolizmasını geliştirme gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynadığı belirlenmiştir (127, 129, 131, 132).

3.4.3.1.4. Likopenin Antikanserojen Etkisi

Likopenin antikanserojenik etkilerini; hücrel döngüyü durdurucu etki, hücreler arası birleşme yerlerinde (gap-junction) haberleşmeyi artırıcı etkisi ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) sinyal iletimini inhibe edici etkisi olmak üzere 3 ana başlık altında toplamak mümkündür (128, 129, 131, 132, 133).

a) Hücrel Döngüyü Durdurucu Etkisi: Yapılan araştırmalarda likopenin prostat ve uterus kanser hücrelerinin gelişimlerini baskıladığı ileri sürülmüştür. Likopen, hücre gelişimindeki D1 döngüsünü düzenleyerek hücrel döngüdeki G0/G1 fazı arasında tutukluğa öncülük ettiği saptanmıştır.

b) Hücreler Arası Birleşme Yerlerinde Haberleşmeyi Artırıcı Etkisi: Likopenin hücreler arası birleşme yerlerindeki haberleşmede etkisinin olduğu ve doku homeostazında anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur.

c) IGF-1 Sinyal İletimini Baskılayıcı Etkisi: Serum insülin benzeri IGF-1 konsantrasyonundaki artış prostat kanseri gibi kanser tiplerinde önemli rol oynar. IGF-1 kan seviyesini yüksek oluşu akciğer, kolon, rektum ve prostat kanseri risklerinin artışını önceden haber veren belirteçlerdendir. Likopen, MCF-7 göğüs kanser hücrelerinde uyarılmış IGF-1 artışını önemli derecede düşürmüştür. İnhibisyon gelişimi G1/S hücre döngüsünün ilerlemesinin gecikmesiyle ilişkilidir. Bu etki IGF-1 bağlayan proteinlerin likopenle düzenlenebileceğini ileri sürmüşlerdir.

3.4.3.1.5. Likopenin Antiinflamatuvar Etkisi

Likopen enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antiinflamatuvar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek proinflamatuvar moleküllerden prostoglandin, prostosiklin, tromboksan ve lökotrien sentezini baskılayarak yangıya yol açan reaksiyonlarda önlediği ileri sürülmüştür (127, 129, 131, 132).



4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmada 3 aylık toplam 34 adet Wistar-Albino ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Araştırmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan araştırma için etik kurul izni alınmıştır (Protokol No: 2013/06). Bütün deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deney Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24±3 °C) uygun olarak yürütülmüştür. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu ad libitum sağlanmıştır.

Tablo 2 Rat Yeminin Bileşimi ve Kalori Değeri

Maddenin Adı	Birim	Değer
Kuru madde	%	93.63
Ham protein	%	34.15
Ham yağ	%	3.00
Metabolik enerji	kcal/kg	2095
Kalsiyum		
Sodyum	%	3.36
Magnezyum	%	1.09
Çinko	%	0.50
Demir		
Bakır	mg/kg	286.80
	mg/kg	920.00
	mg/kg	29.33
Ham maddeler	Balık unu, mısır, buğday, ayçiçeği kütüsesi, çavdar ve mineral maddeler	

4.2. Kullanılan Gereçler

Cihazlar:

- Homojenizatör
- Soğutmalı santrifüj
- Derin dondurucu
- Spektrofotometre
- PH metre
- Su banyosu
- Distile su cihazı
- Hassas terazi
- Vorteks

4.3. Kimyasal Maddeler

Araştırmamızda kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck, Sigma, Cayman, DMS firmalarından satın alınmıştır.

4.4. Yöntemlerin Uygulanması

4.4.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Hayvanlar 4 gruba ayrılmıştır:

1. Grup: Kontrol grubu (ratlara tedavi verilmemiştir) (n: 7)

- 2. Grup:** Likopen uygulanan grup (5 mg/kg/gün, gavaj, 15 gün) (n: 7)
- 3. Grup:** AFB1 uygulanan grup (0,5 mg/kg/gün, gavaj, 7 gün) (n: 10)
- 4. Grup:** AFB1 (0,5 mg/kg/gün, gavaj, 7 gün)+Likopen (5 mg/kg/gün, gavaj, 15 gün) uygulanan grup (n: 10)

4.4.2. Aflatoksin ve Likopen Uygulaması

AFB1 1:1 oranında dimetilsülfat (DMSO) / fosfat tamponunda (KH_2PO_4 / Na_2HPO_4 , pH: 7.2) çözülmüştür. AFB1 0,5 mg/kg/gün dozunda gavaj yoluyla 7 gün uygulanmıştır. % 10'luk likopen mısır yağında çözülmüştür. Likopen 5 mg/kg/gün dozunda gavaj yoluyla 15 gün uygulanmıştır. Likopen uygulamasına AFB1 uygulaması ile beraber başlanmış ve toplam 15 gün devam etmiştir.

4.5. Örneklerin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler

Uygulamaların sonunda ratlar sakrifiye edilerek kan ve karaciğer doku örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri antikoagülan (EDTA) içeren tüplerde toplanmış ve plazmalarını ayırmak için +4 °C'de 3.000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Eritrositler serum fizyolojik (% 0,9'luk NaCl) ile 3 kez yıkanarak hemolizat hazırlanmıştır. Hemolizat ile karaciğer doku örnekleri biyokimyasal analizler yapılınca kadar -80 °C'de saklanmıştır.

4.6. Kan Örneklerinin Hazırlanması

4.6.1. MDA Tayini için Hazırlanması

MDA tayini için alınan EDTA'lı kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları alınmış ve plazma MDA düzeylerine bakılmıştır.

4.6.2. GSH Tayini için Hazırlanması

Tam kanın distile su ile 1:10 oranında ile sulandırılması ile elde edilen hemolizatlarda GSH tayini yapılmıştır.

4.6.3. CAT Tayini için Hazırlanması

Plazması ayrılan EDTA'lı kan örnekleri, serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırılarak Hb tayini yapılmıştır. Daha sonra dilüe edilmiş bu kan örnekleri 1:100 oranında 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.0) ile tekrar sulandırılmış ve hazırlanmış bu hemolizatlarda CAT aktivite tayini yapılmıştır.

4.6.4. GSH-Px Tayini için Hazırlanması

Alınan tam kanın 1:20 oranında distile su ile sulandırılması ile elde edilen hemolizatlarda GSH-Px aktivite tayini yapılmıştır. Hemolizatlarda ayrıca Hb düzeyleri ölçülmüştür.

4.7. Doku Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Homojenizasyonu

4.7.1. MDA, GSH, CAT ve GST Tayini için Doku Örneklerinin Hazırlanması

Doku örnekleri iki süzgeç kâğıdı arasında suyu alındıktan sonra tartılarak distile su ile 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp, kırılmış buz içerisinde teflon-cam homojenizatörle homojenize edilmiştir. Homojenatlar 3.500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlarda MDA, GSH, CAT, GST ve protein tayinleri yapılmıştır.

4.7.2. GSH-Px Tayini için Doku Örneklerinin Hazırlanması

Doku örnekleri distile su içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp, kırılmış buz içerisinde homojenize edilmiş ve oluşan homojenatlar 1.5 ml'lik ependorflara konularak soğutmalı santrifüjde 14.000 rpm'de 55 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifügasyon işlemi sonucunda süpernatantlar alınmış ve alınan bu süpernatantlarda GSH-Px ve protein tayini yapılmıştır.

4.8. Kullanılan Yöntemler

4.8.1. Plazmada ve Dokuda MDA Düzeyinin Tayini

Prensip: MDA tayini Placer ve ark. (135) tarafından modifiye edilen yöntemle yapılmıştır. Bu yöntem lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile TBA'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır.

Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansı 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmıştır.

Metodun Ayıraçları

1- TBA: 0,67 g TBA 80 ml % 10’luk perklorik asitte çözülür ve 100 ml’ye distile su ile dilüe edilir.

2- % 10 Triklorasetik Asit (TCA): 10 g TCA distile suda çözülerek 100 ml’ye tamamlanır. Ayıraç koyu renkli şişede oda sıcaklığında saklanır.

3- Standart: Tetraetoxipropan

4- Renk Ayıracı: 3 kısım TCA solüsyonu ve 1 kısım TBA solüsyonu reaktif şişeye konularak 1 dakika magnetik karıştırıcıda karıştırılır. Ayıraç günlük hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

Tablo 3 Plazma ve Doku MDA Düzey Ölçümü

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Örnek	-	-	0,25
Standart	-	0,25	-
Serum Fizyolojik	0,25	-	-
Renk Ayıracı	2,25	2,25	2,25

Tüpler karıştırıldıktan sonra 100 °C 20 dakika bekletilmiştir. Musluk suyu altında soğutma işleminden sonra tüpler 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üst faz absorbanı 532 nm'de okunmuştur.

MDA Düzeyinin Hesaplanması:

MDA (nmol/ml) = Örneğin OD / Standartın OD × Standartın Konsantrasyonu

MDA düzeyi; plazmada nmol/ml, dokuda nmol/g doku olarak hesaplanmıştır.

4.8.2. Kanda ve Dokuda GSH Düzeyinin Tayini

Prensip: GSH düzeyi Ellman (136) yöntemine göre tayin edilmiştir. Bu metod 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoik asit eklendiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir.

Metodun Ayıraçları

1- Çöktürücü Solüsyon: 1,67 g glasiyel metafosforik asit, 0,2 g disodyum EDTA ve 30 g NaCl saf suda çözünür, 100 ml'ye tamamlanır.

2- Fosfat Ayıracı: 0,3 M Na₂HPO₄ 1 L distile suda hazırlanır. +4 °C'de saklanır.

3- Elman Ayracı: 20 mg 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) % 1'lik Na-sitrat çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanır.

4- GSH Standartı: 2 mg/dl GSH solüsyonu hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

1 ml distile su (kör) ve 1 ml örnekler üzerine 1,5 ml çöktürücü solüsyondan konulup, vortekslenmiş ve 3.000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant deney ortamında kullanılmıştır.

Tablo 4 Kan ve Doku GSH Düzey Ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)	Standart (ml)
Süzüntü	0,25	0,25	0,25
Na₂HPO₄	1	1	1
Elman Ayracı	0,125	0,125	0,125

Tüpler karıştırıldıktan sonra 412 nm'de köre karşı absorbanslar okunmuştur.

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/ml}) = \frac{\text{Örneğin OD}}{\text{Standartın OD}} \times \text{Standartın Konsantrasyonu} \times \text{Dilüsyon}$$

GSH düzeyleri; kanda ve dokuda $\mu\text{mol/ml}$ olarak verilmiştir.

4.8.3. Kanda ve Dokuda CAT Aktivitesinin Tayini

Prensip: Eritrosit ve doku CAT aktivitesini ölçmek için Aebi (137) metodu kullanılmıştır. CAT H_2O_2 'in yıkımını katalize eder. H_2O_2 'in CAT tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür.

Metodun Ayıraçları

1- 50 mM Fosfat Tamponu (pH: 7.0): 6,81 g KH_2PO_4 1 L hazırlanır. 8,9 g $Na_2HPO_4 (2 H_2O)$ 1 L hazırlanır. pH 7.0'ayarlanır.

2- 30 mM H_2O_2 Çözeltisi: 0,34 ml % 30'luk H_2O_2 fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Tablo 5 Kan ve Doku CAT Aktivite Ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Fosfat Tamponu	1	-
H_2O_2	-	1
Örnek	2	2

240 nm'de kör ile sıfır ayarı yapıldıktan sonra örneğin 0. (A_1) ve 30. (A_2) saniye içindeki absorbans farkı ölçülmek suretiyle CAT aktivitesi hesaplanmıştır.

CAT Aktivitesinin Hesaplanması:

$$k = (2.3 / 30) \times (\log OD1 / OD2) \times \text{Dilüsyon}$$

CAT'm spesifik aktivitesi; kanda k/g Hb, dokuda k/g protein olarak verilmiştir.

4.8.4. Dokuda GST Aktivitesinin Tayini

Prensip: Doku GST aktivite ölçümünde Habig ve ark. (138)'nin metodu kullanılmıştır. Enzim aktivitesi 340 nm'de 37 °C'de GSH ve 1-klor-2,4-dinitrobenzen (CDNB) kullanılarak dakikada oluşan S-2,4 dinitrofenil glutasyonun 1 µmol'unu katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir. GSH ile CDNB bileşiğinin konjugasyonu sonucu oluşan ürün 1-(S-glutatyonyl)-2,4 dinitrobenzen spektrofotometrik olarak 340 nm'de ölçülür (139). Bir ünite enzim, 25°C'de bir dakikada 1µmol substratı (CDNB), 1-(S-glutatyonyl)- 2,4 dinitrobenzene çeviren enzim aktivitesidir.

Metodun Ayıraçları

- 1- **0,1 M Tris Tamponu (pH 7.4):** 6,05 g Tris tartılır ve distile suda çözülür. pH 7.4'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 500 ml'ye tamamlanır.
- 2- **1 mM CDNB:** 2 mg CDNB tartılır ve 10 ml etanolde çözülür.
- 3- **5 mM GSH:** 15 mg GSH tartılır ve 10 ml distile suda çözülür.

Deneyin Yapılışı:

Tablo 6 Doku GST Aktivite Ölçümü

	Kör (µl)	Örnek (µl)
CDNB	100	100
GSH	100	100
Tris Tampon (pH: 7.4)	2,2	2,2
Distile Su	100	-
Örnek	-	100

Karıştırılarak 25 °C'de 340 nm dalga boyunda 0. ve 2. dakikadaki OD okunmuştur.

GST Aktivitesinin Hesabı:

$$\text{GST Aktivitesi (U/ml)} = \Delta\text{OD} / t \times V \text{ toplam} / 0.0096 \times V \text{ örnek}$$

ΔOD = Optik Dansite Değişimi

9,6 = 1 µmol CDNB'nin 1 cm'lik ışık yolunda verdiği OD değeri

V toplam = Toplam hacim

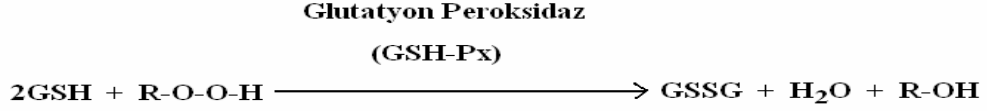
V örnek = Örnek hacmi

GST'in spesifik aktivitesi; dokuda U/g protein olarak hesaplanmıştır.

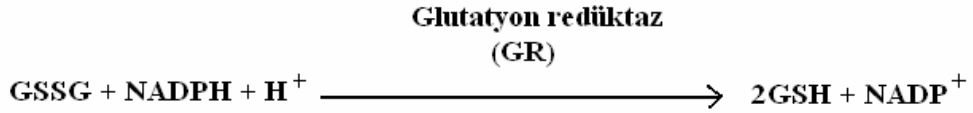
4.8.5. Kanda ve Dokuda GSH-Px Aktivitesinin Tayini

Prensip: GSH-Px aktivite ölçümünde Beutler (139) metodu kullanılmıştır.

GSH-Px, GSH'un GSSG oksidasyonunu H₂O₂ kullanarak katalizler.



GSSG'nin oluşum hızı GR reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür.



Reaksiyon ortamındaki t-butilhidroperoksidin (bu enzim ölçümlerinde en uygun peroksid substratıdır) her bir molekülünün redüksiyonu için 1 mol GSSG oluşur. GSSG'ın GSH'a redüksiyonu ise GR enziminin katalizlediği reaksiyonla oluşur. Bu reaksiyonda GSSG'nin her bir molünün redüksiyonu için 1 mol NADPH okside olur. GSH-Px aktivitesi spektrofotometrik olarak 340 nm'deki sistemin OD'sindeki düşüşten hesaplanır (Tablo 7).

Metodun Ayraçları

1- 1 M Tris-HCl Tamponu (pH: 8): 121,14 gr Tris 1 L distile suda çözülür. 1,68 gr EDTA ilave edilerek pH: 8'e ayarlanır.

2- 0,1 M GSH: 0,3 g GSH 10 ml distile suda çözülür. GSH solüsyonları taze hazırlanmış olmalıdır.

3- 10 U/ml GR: ml'de 10 U olacak şekilde distile suyla hazırlanır.

4- 2 mM NADPH: 0,05 g NADPH 30 ml distile suda çözülür.

5- 7 mM t-bütilhidroperoksit (t-BOOH): (% 70'lik t-BOOH'in yaklaşık 1:1000 sulandırılmasından elde edilmistir). Günlük olarak hazırlanır.

Deneyin Yapılısı:

Tablo 7 Kan ve Doku GSH-Px Aktivite Ölçümü

	Kör (µl)	Örnek (µl)
Tris Tampon (pH:8.0)	100	100
GSH	20	20
GR	100	100
NADPH	100	100
Örnek	10	10
Distile Su	670	660
	37 °C'de 10 dakika preinkübe edilir.	
t-BOOH	-	10

Karışımın 0. ve 2.5. dakikalardaki OD'deki azalma 340 nm'de kaydedilmiştir.

GSH-Px Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\text{GSH-Px (U/ml)} = (\text{OD}_2 - \text{OD}_1) / t \times 1 / 6,22 \times 0,01$$

OD₂: 2,5 dakika sonundaki absorbans

OD₁: 0. dakikadaki absorbans

t: 2,5 dakika

1: Küvetin toplam hacmi (ml)

0,01: Örnek hacmi (ml)

6,22: 1µmol NADPH'in verdiği absorbans

GSH-Px'in spesifik aktivitesi; kanda U/mg Hb, dokuda U/g protein olarak hesaplanır.

4.8.6. Hemoglobın Tayini

Prensip: Siyanomethemoglobin yöntemi (140) ile yapılmıştır. Ferrisiyanür Hb'deki Fe⁺²'yi oksitleyerek +2 değerden +3 değerli Fe'e çevirir, methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile stabil bir pigment olan siyanomethemoglobin meydana gelir. Siyanomethemoglobinin absorbansı 546 nm'de okunmuştur (Tablo 8).

Metodun Ayıraçları

1- Drabkin Çözeltisi: 50 mg KCN, 200 mg $K_3Fe(CN)_6$ ve 1g $NaHCO_3$ tartılarak bir miktar distile suda çözülür ve L'ye tamamlanır. Koyu renkli şişede 1 yıl dayanır.

2- Hb Standartı: 18 g liyofilize Hb standartı 100 ml distile suda çözülür. Bu standart 18 g/dl Hb içerir.

Deneyin Yapılışı:

Tablo 8 Hb Düzey Ölçümü

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Drabkin Çözeltisi	5	5	5
Hb Standardı	-	0,02	-
Hemolizat	-	-	0,02

Tüpler iyice karıştırılır. Oda ısısında 20 dakika bekletilir. 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbanları okunur.

Hb Düzeyinin Hesaplanması:

Hb (g/dl): (Örneğin OD / Standartın OD) x 18

4.8.7. Dokuda Protein Tayini

Prensip: Homojenatlardaki protein miktarı modifiye Lowry (141) yöntemine göre ölçülmüştür. Alkali bakır tartarat ayıracı peptid bağları ile kompleks yapar. Her 7 veya 8 amino asit artığı 1 atom Cu bağlar. Fenol ayıracı, Cu ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor mavi renk şekillenir. Bu renk şiddeti 650 nm dalga boyunda okunur. Protein konsantrasyonu ile oluşan renk arasında yüksek konsantrasyonlar için lineer bir ilişki olmadığından örnekler sulandırılarak ölçümler yapılmıştır (Tablo 9).

Metodun Ayraçları

1- Alkali Bakır Ayıracı: 10 g Na_2CO_3 , 0,1 g potasyum tartarat ve 0,05 g bakır sülfat, 0,5 N NaOH içinde çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti oda ısısında 30 gün dayanıklıdır.

2- Fenol Ayıracı: 2 N Folin-Ciocaltue-Fenol ayıracından 3,75 ml alınır, distile su ile 67,5 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti örnek sayısına göre çalışma anında günlük olarak hazırlanır.

3- Protein Standartı: 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Sığır Serum Albumin (BSA)

Deneyin Yapılışı :

Tablo 9 Protein Düzey Ölçümü

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Alkali Bakır Ayırıcı	1	1	1
Örnek	-	-	1
Distile Su	1	-	-
Standart	-	1	-
Fenol Ayırıcı	4	4	4

Tüpler hemen vortekste iyice karıştırılmış ve 5 dakika 55 °C’de bekletilmiştir. İnkubasyon sonrası musluk suyu altında hemen soğutulmuştur. Daha sonra 650 nm’de standart ve örnek tüplerinin absorbansı kör tüpüne karşı okunmuştur.

Protein Düzeyinin Hesaplanması:

Protein (µg/ml) = (Örneğin OD / Standartın OD) x Standartın Konsantrasyonu x Dilüsyon

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 21 paket programı kullanılmıştır. Grup ortalamaları arasındaki farklar tek yönlü varyans analizi

(One-Way ANOVA) kullanılarak hesaplanmıştır. Post-hoc olarak Duncan testinden faydalanılarak, tüm değerler ortalama±ortalamanın standart hatası (ortalama±SEM) şeklinde hesaplanmıştır.



5. BULGULAR

5.1. Kan Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri

0,5 mg/kg AFB1 ve 5 mg/kg likopen uygulanan deney gruplarının kan MDA ve GSH düzeyleri ile CAT ve GSH-Px aktivitelerinin ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 10'da gösterilmiştir.

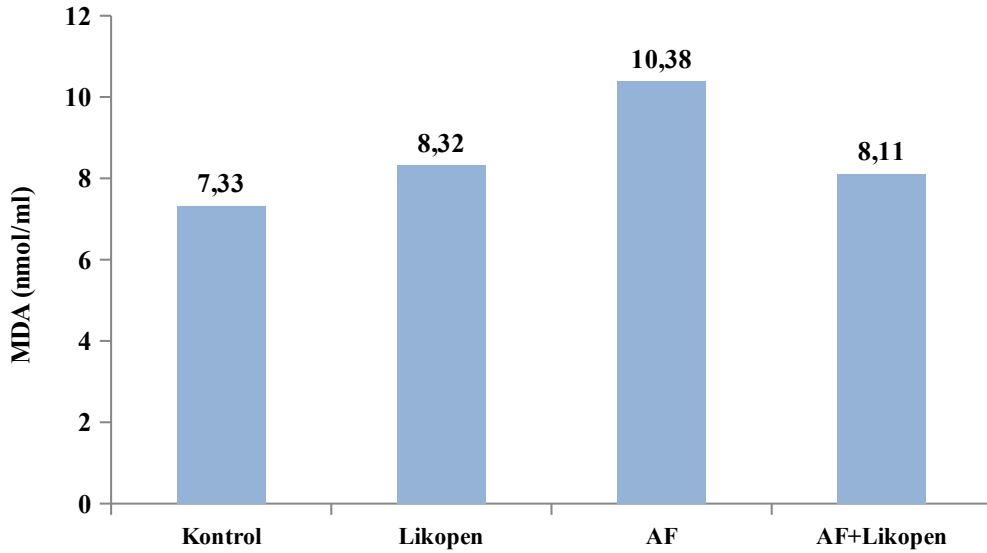
Tablo 10 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Kan Oksidan ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi

Kan	MDA (nmol/ml)	GSH (µmol/ml)	CAT (k/g Hb)	GSH-Px (U/mg Hb)
Kontrol	7,33±0,32 ^a	30,71±1,99 ^a	60,46±1,83 ^a	0,31±0,01 ^a
Likopen (5 mg/kg)	8,32±0,48 ^a	28,66±0,93 ^a	54,77±1,82 ^a	0,31±0,01 ^a
AFB1 (0,5 mg/kg)	10,38±0,52 ^b	21,80±1,44 ^b	47,45±2,43 ^b	0,25±0,01 ^b
AFB1+Likope n	8,11±0,05 ^a	28,78±3,05 ^a	55,44±2,76 ^a	0,28±0,02 ^{ab}

a, b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

5.1.1. Kan MDA Düzeyi

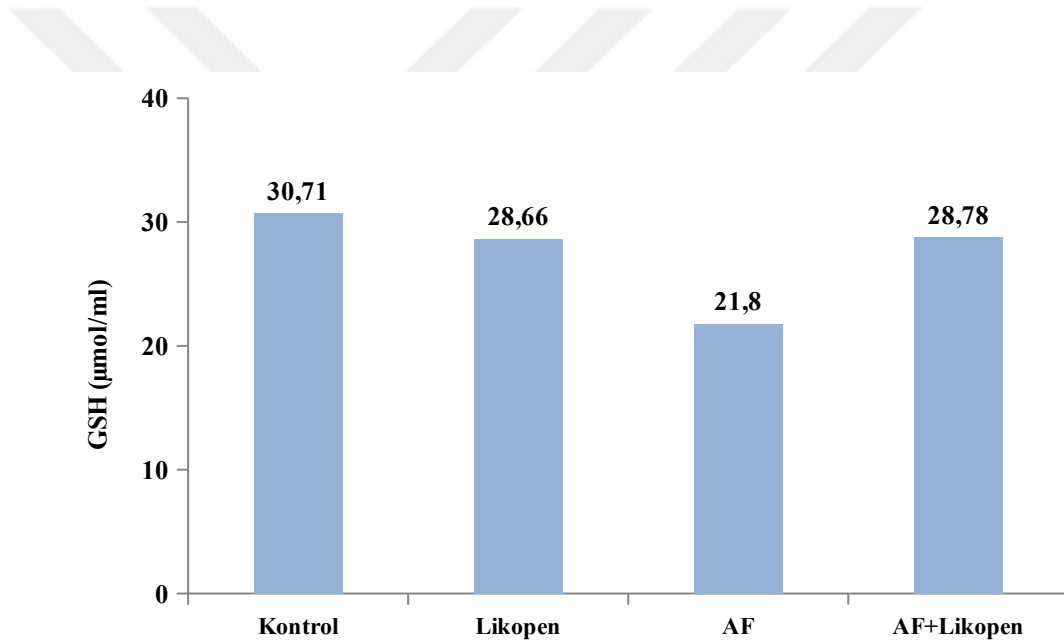
Kan örneklerinde yapılan ölçümler sonucunda MDA düzeyinde kontrol grubuna göre AFB1 uygulanan grupta önemli bir artış gözlenmiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde önemli azalma saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 7).



Şekil 7 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma MDA Düzeyleri

5.1.2. Kan GSH Düzeyi

Kan GSH düzeyinde kontrol grubuna göre AFB1 uygulanan grupta önemli derecede azalma gözlenmiş ve istatistiksel olarak bu azalma anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinde önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AFB1+Likopen uygulanan grupta GSH düzeyi AFB1 uygulanan gruba göre önemli bir artış göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 8).

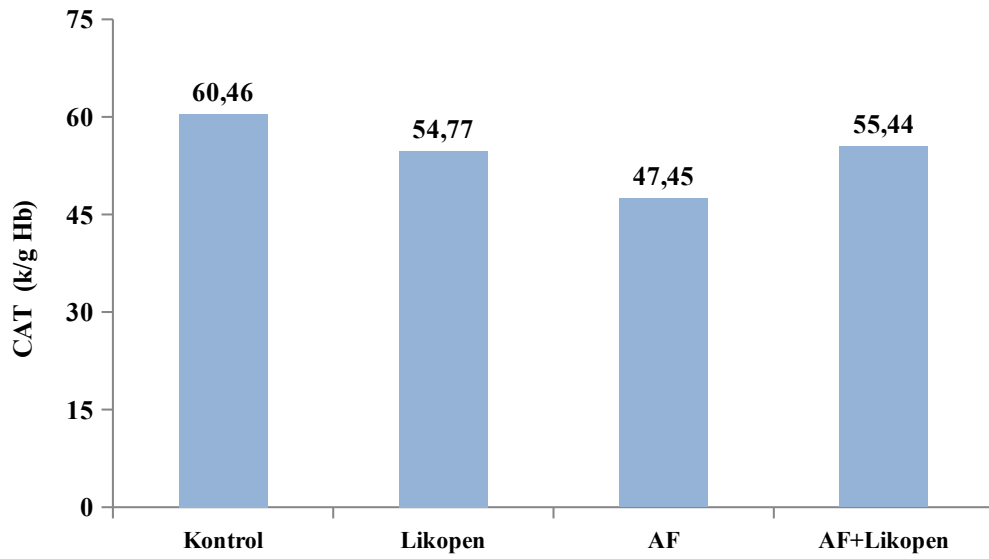


Şekil 8 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan GSH Düzeyleri

5.1.3. Kan CAT Aktivitesi

Kan CAT aktivitesinde AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel olarak bu azalma anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan

gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde önemli bir fark saptanmamıştır. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grupla karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin istatistiksel olarak önemli artış gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 9).



Şekil 9 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan CAT Aktiviteleri

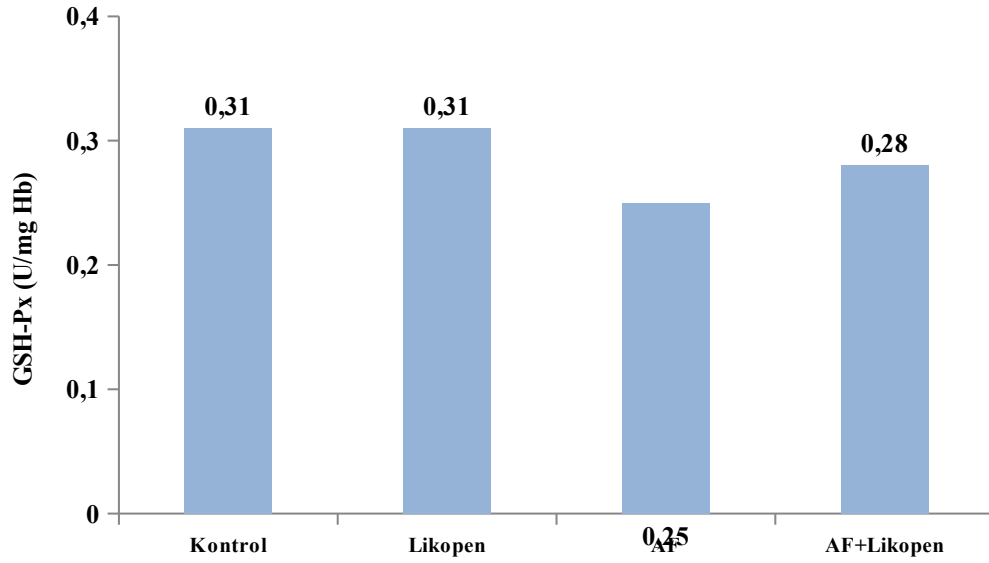
5.1.4. Kan GST Aktivitesi

Rat kanında GST aktivitesi ölçülemeyecek düzeyde olup, tespit edilememiştir.

5.1.5. Kan GSH-Px Aktivitesi

AFB1 uygulanan grupta kan GSH-Px aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli bir düşüş gözlenmiş ve istatistiksel olarak bu azalma anlamlı bulunmuştur

($p < 0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 10).



Şekil 10 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Kan GSH-Px Aktiviteleri

5.2. Karaciğer Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri

0,5 mg/kg AFB1 ve 5 mg/kg likopen uygulanan deney gruplarının karaciğer MDA, GSH düzeyleri, CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerinin ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Karaciğer Oksidan ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi

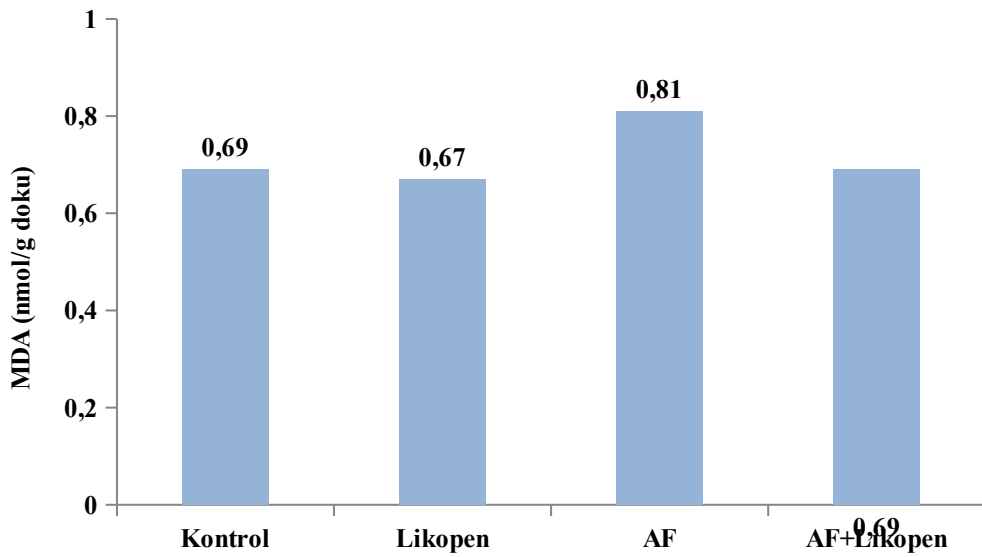
Karaciğer	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/ml)	CAT (k/mg protein)	GST (\ddot{U} /mg protein)	GSH-Px (\ddot{U} /g protein)
Kontrol	0,69 \pm 0,0 2 ^a	12,83 \pm 1, 60 ^a	0,43 \pm 0,0 1 ^a	11,92 \pm 0,3 6 ^a	7,32 \pm 0,3 6 ^a
Likopen (5 mg/kg)	0,67 \pm 0,0 2 ^a	10,19 \pm 0, 58 ^a	0,39 \pm 0,0 1 ^a	10,29 \pm 0,7 3 ^{ab}	6,84 \pm 0,7 9 ^a
AFB1 (0,5 mg/kg)	0,81 \pm 0,0 2 ^b	6,27 \pm 0,1 2 ^b	0,33 \pm 0,0 1 ^b	6,49 \pm 0,86 ^c	3,60 \pm 0,3 1 ^b
AFB1+Liko pen	0,69 \pm 0,0 2 ^a	12,45 \pm 0, 41 ^a	0,38 \pm 0,0 1 ^a	9,76 \pm 0,42 ^b	5,90 \pm 0,7 5 ^a

a, b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

5.2.1. Karaciğer MDA Düzeyi

Karaciğer dokusunda MDA düzeyi, kontrol grubuna göre AFB1 uygulanan grupta daha yüksek olarak ölçülmüş ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 11).

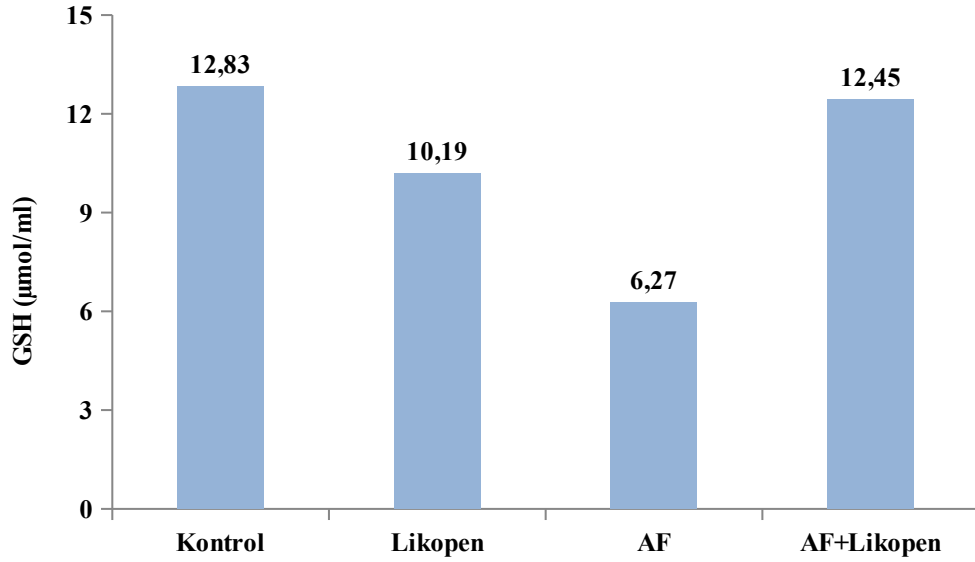


Şekil 11 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer MDA Düzeyleri

5.2.2. Karaciğer GSH Düzeyi

AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer dokusunda GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptanmıştır ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulamasının yapıldığı gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. AFB1+Likopen uygulamasının yapıldığı grup AFB1

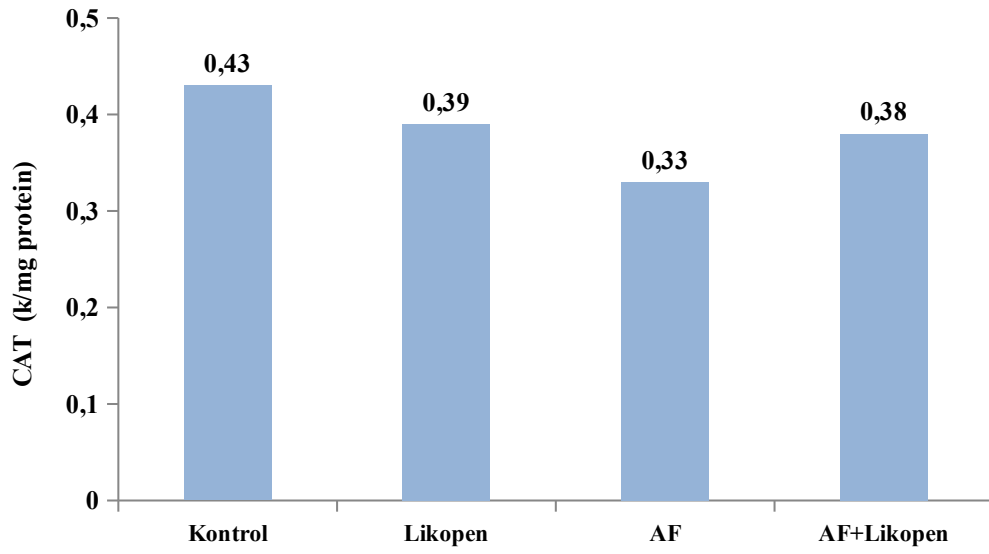
uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 12).



Şekil 12 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GSH Düzeyi

5.2.3. Karaciğer CAT Aktivitesi

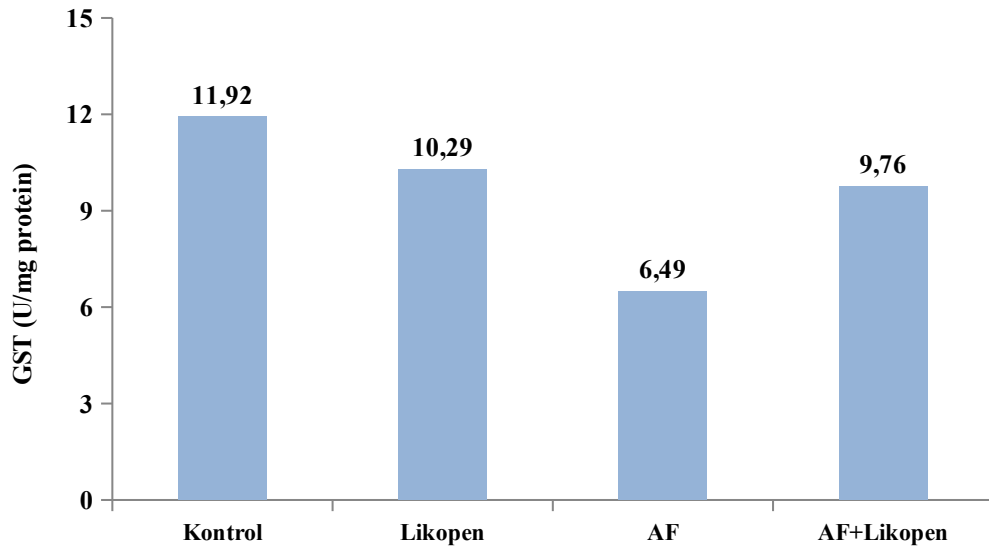
Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre AFB1 uygulanan grupta CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düşüş bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulamasının yapıldığı gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. AFB1+Likopen uygulamasının yapıldığı grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 13).



Şekil 13 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer CAT Aktiviteleri

5.2.4. Karaciğer GST Aktivitesi

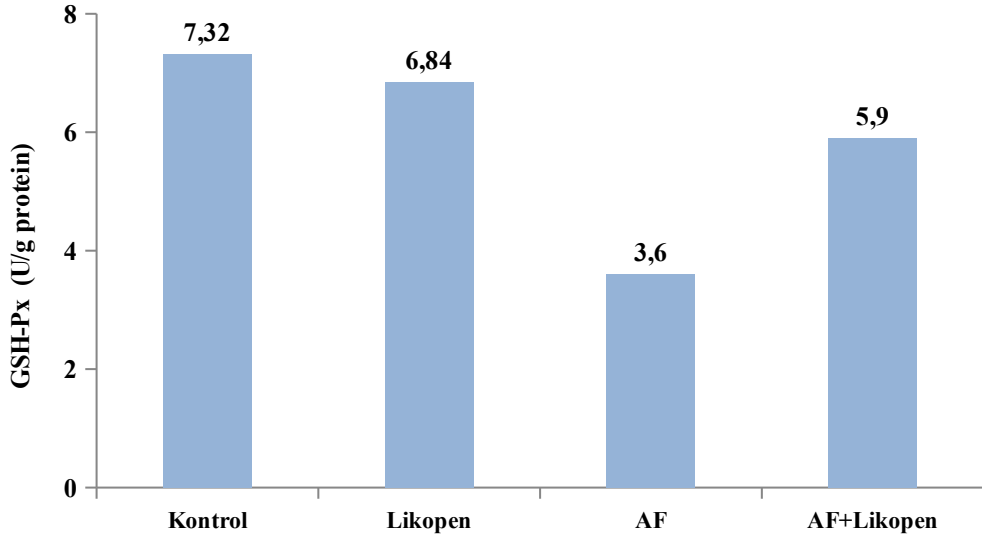
Karaciğer dokusundaki GST aktivitesi AFB1 uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha düşük ölçülmüş, aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen grupları ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlenmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GST aktivitesi AFB1 grubuna göre daha yüksek gözlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 14).



Şekil 14 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GST Aktiviteleri

5.2.5. Karaciğer GSH-Px Aktivitesi

AFB1 uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında karaciğer GSH-Px aktivitesinde AFB1 uygulanan grupta önemli bir düşüş gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH-Px aktivitesinde bir değişiklik gözlenmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grup AFB1 uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GSH-Px aktivitesi AFB1 grubuna göre daha yüksek gözlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 15).



Şekil 15 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Karaciğer GSH-Px Aktiviteleri

5.3. Plazmada AST, ALT, LDH, Glukoz, Total Protein Düzeyleri

0,5 mg/kg AFB1 ve 5 mg/kg likopen uygulanan deney gruplarının plazma aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), glukoz, total protein düzeylerinin ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12 AFB1 Uygulanan Ratlarda Likopenin Biyokimyasal Parametreler
Üzerine Etkisi

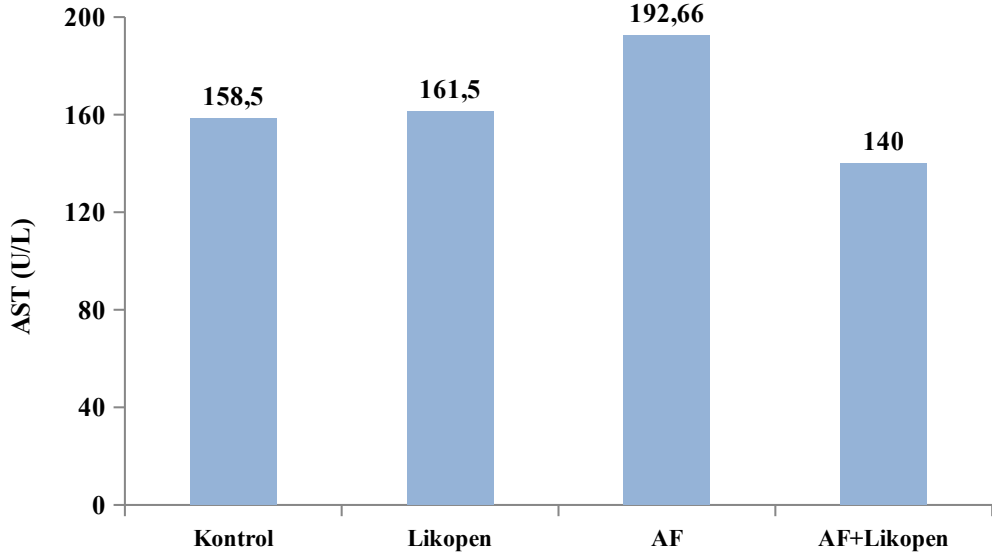
Kan	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	Glukoz (mg/dl)	Total Protein (g/dl)
Kontrol	158,5±6,82 ^a	63,66±1,0 0 ^a	1036,25±19,2 0 ^a	74,25±4,03 ab	6,30±0,1 1 ^a
Likopen (5 mg/kg)	161,50±7,2 1 ^a	59,50±4,9 0 ^a	1069,50±2,02 a	79,50±2,59 a	6,35±0,0 8 ^a
AFB1 (0,5 mg/kg)	192,66±5,6 1 ^b	87,50±3,1 7 ^b	1397,25±25,3 1 ^c	62,00±3,71 b	6,50±0,1 3 ^a
AF+Likope n	140,00±5,7 7 ^a	68,50±2,0 2 ^a	1214,50±8,37 b	69,00±3,46 ab	6,20±0,2 3 ^a

a, b, c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir

5.3.1. Plazma AST Düzeyi

Plazmada AST düzeyinde AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede artış gösterdiği saptanmış ve istatistiksel olarak bu artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AST düzeyinde önemli fark gözlenmemiştir. AFB1+Likopen grubunda AFB1 uygulanan gruba göre

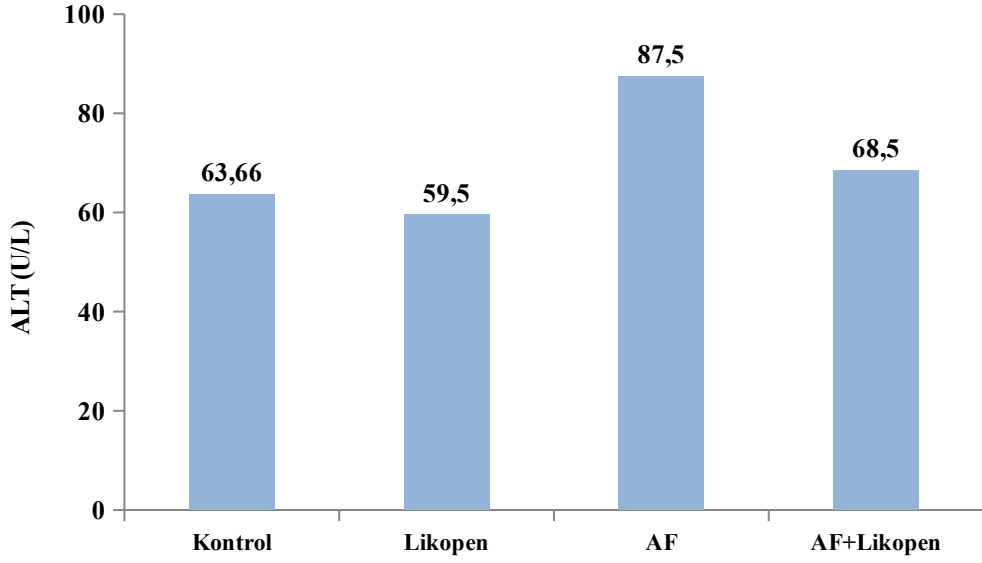
önemli bir düşüş gözlenmiş ve istatistiksel olarak bu azalma anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 16).



Şekil 16 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma AST Düzeyleri

5.3.2. Plazma ALT Düzeyi

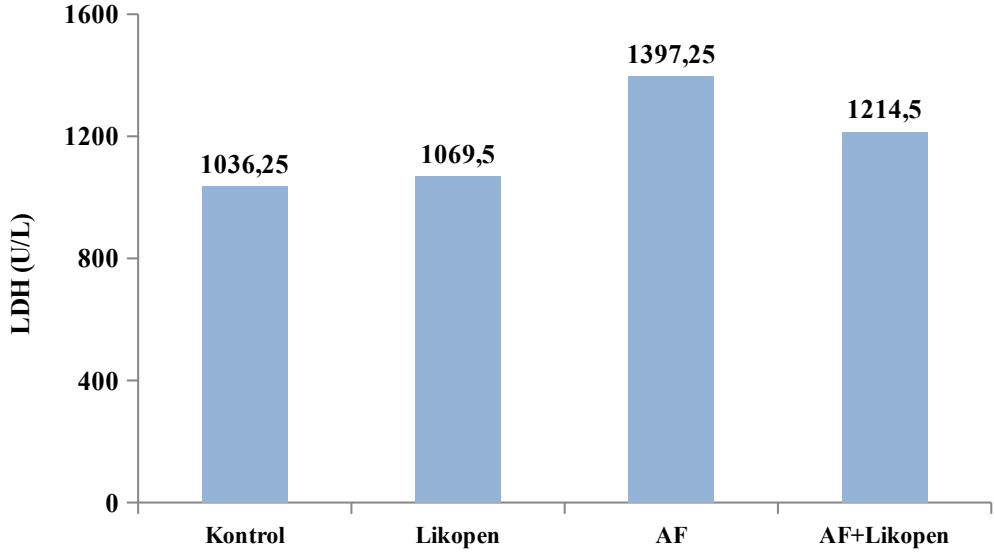
AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma ALT düzeyinde önemli derecede artış gözlenmiş ve istatistiksel olarak bu artma anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ALT düzeylerinde önemli bir fark görülmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grupta AFB1 uygulanan gruba göre plazma ALT düzeyinde önemli derecede azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 17).



Şekil 17 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma ALT Düzeyleri

5.3.3. Plazma LDH Düzeyi

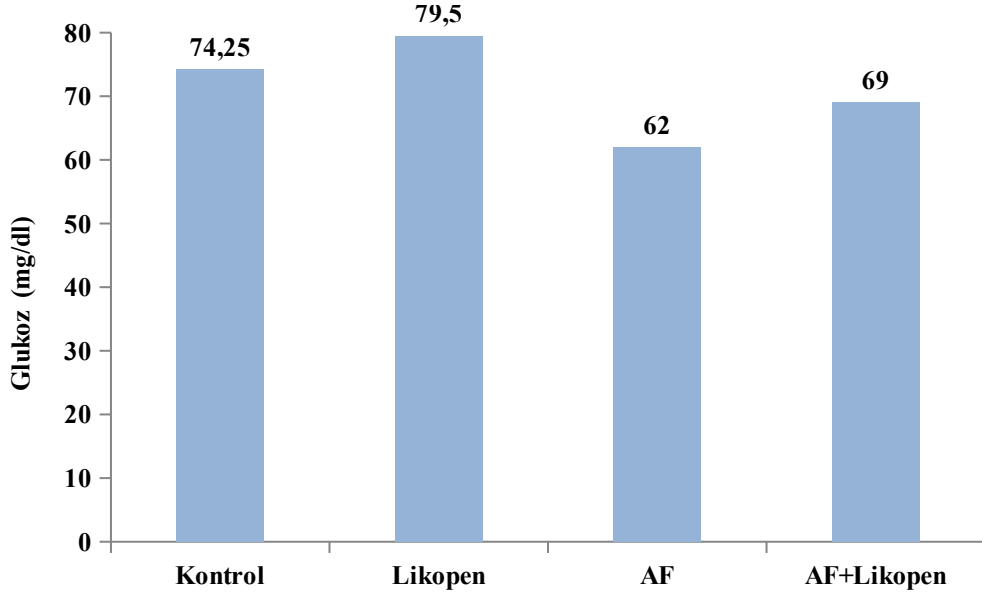
AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma LDH düzeyinde önemli derecede artış gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Likopen uygulanan grupta plazma LDH düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grupta plazma LDH düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artış, AFB1 uygulanan gruba göre ise düşüş göstermiştir ($p<0.05$) (Şekil 18).



Şekil 18 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma LDH Düzeyleri

5.3.4. Plazma Glukoz Düzeyi

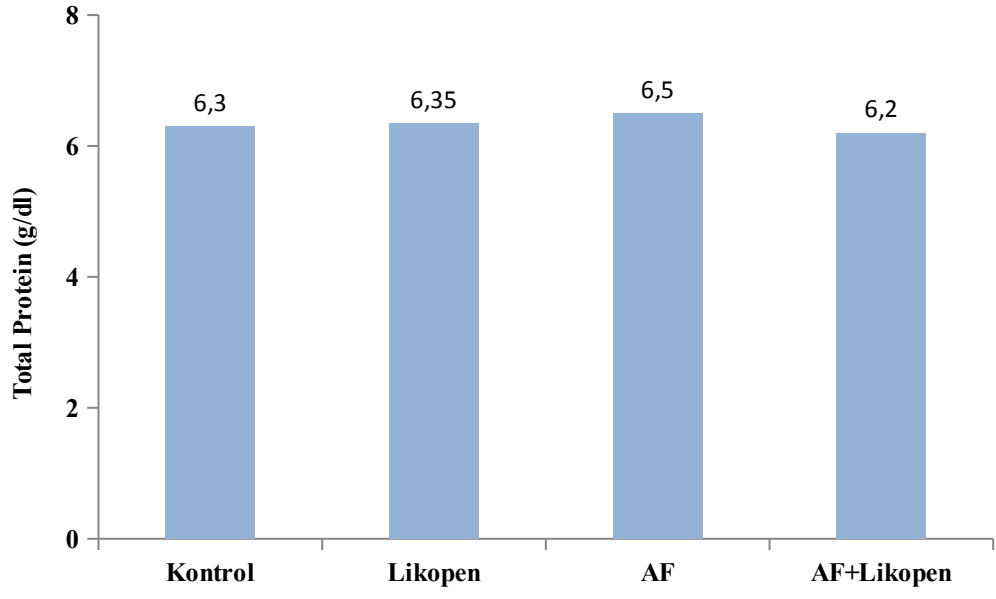
AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma glukoz düzeyinde azalma saptanmış olup, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre plazma glukoz düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. AFB1+Likopen uygulanan grupta AFB1 uygulanan gruba göre glukoz düzeyinde artış gözlenmiş fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 19).



Şekil 19 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma Glukoz Düzeyleri

5.3.5. Plazma Total Protein Düzeyi

AFB1 uygulanan grupta kontrol grubuna göre plazma total protein düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. Likopen ve AFB1+Likopen uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre plazma total protein düzeyinde farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 20).



Şekil 20 AFB1 ve Likopen Uygulanan Deney Gruplarında Plazma Total Protein Düzeyleri

6. TARTIŞMA

Çalışmada; rat karaciğer dokusunda AF kaynaklı oluşabilecek oksidatif hasar ve bu hasara karşı likopenin önleyici etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla kan ve karaciğer dokusunda MDA, GSH düzeyleri, CAT, GST ve GSH-Px enzim aktivitelerinin tayini yapılmıştır.

AF'ler, *Aspergillus* cinsinin toksijenik türleri tarafından, özellikle de tarımsal ürünlerde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un gelişmesi sırasında oluşan besin kaynaklı sekonder toksik küf metabolitleridir (14, 12, 13).

Doğada en bol bulunan ve en fazla kontaminasyona yol açan AF olduğundan, toksikokinetiği ve metabolizması üzerinde en yoğun biçimde çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar ile AF'in yem ve gıdalarla alındıklarında sindirim kanalından hızla emildiği ve kanda genellikle de serum albüminlerine bağlanmak suretiyle portal dolaşıma geçtiği ve bu yolla hepatositlere taşındığı ortaya konmuştur (1, 9, 142, 143).

AF'ler doğrudan etkili değildirler; sitozolik ve sitokrom P-450 sistemiyle birçok metabolite çevrilirler. Karaciğerde sitokrom P-450 vasıtasıyla uğradıkları metabolik değişiklikler sonucu oluşan epoksit türevleri (AFB1-2,3-epoksit gibi) etkili olmaktadır. Klinik olarak zehirli ve karsinojenik etkileri hemen tümüyle bu etkin metaboliti ile ilgilidir (16, 21). Gıdalardaki en tehlikeli kanserojenlerden olan AF'ler, hücre içerisine, oradan da çekirdeğe geçerek DNA'ya bağlanmaktadır. Toksik etkilerini DNA çift sarmalını şablon olarak kullanıp,

mRNA sentezini gerçekleştiren RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasını engelleyerek göstermektedirler (144).

AF insanlar ve hayvanlar tarafından kontamine gıda olarak tüketildiğinde hem önemli sağlık sorunlarına hem de ekonomik kayıplara neden olmaktadır. AF'lerin toksik etkileri; hepatotoksisite, hepatokarsinojenite, nefrotoksisite, teratojenite, immun sistemin bozulması ile hastalıklara karşı yatkınlık, büyümenin yavaşlaması besin maddelerinden yararlanmanın azalması olarak sayılabilir. AF'ler, hayvanlarda bir çeşit immun sistem baskılayıcısıdır ve canlıyı çeşitli mikroorganizmaların enfeksiyonuna duyarlı hale getirmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar ile deney hayvanlarındaki araştırmalar AF'ler ve karaciğer kanseri arasında istatistiksel olarak belirgin bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (145).

AF'ler içerisinde bilinen ve en yüksek toksositeyi gösteren AFB1'dir. Sınırlı sayıda Aspergillus cinsi funguslar tarafından üretilmesine karşın, yaygın olarak görülmektedir. Lipofilik bir metabolit olan ve oldukça kararlı bir yapıdaki bu toksinin alımı, oksidatif aktivasyon, DNA'ların birbirine bağlanması ve kovalent reaksiyonlar yoluyla karaciğer ve böbreklerde kansere sebep olmaktadır. TP53 isimli, tümör baskılayıcı gen de bulunan mutasyona açık olan bir bölgede, AFB1 ile DNA'da hasara sebep olması arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir. Mutasyona açık bölgedeki bu hasarın yanlış bir şekilde tamiri sonucunda, G249T ya da G249C arasında bir baz değişimi yaşanmakta ve oluşturulan proteindeki amino asitlerden arjininin serine dönüşmesine neden olmaktadır. Bu değişim ise, sentezlenen proteinin düzenleyici rolünü bozmaktadır. TP53 genindeki bu mutasyon, yine bu gen dolayısıyla oluşan kanserin yaklaşık olarak % 50'sini oluşturmaktadır (146).

AF'ler, yüksek derecede O₂ ile bağlanmış moleküllerdir ve azalan O₂ konsantrasyonu AF üretimini azaltmaktadır. Artan lipid oksidasyonunun AF biyosentezini artırdığı, toksijenik *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un bulunduğu besi yerine dışardan hidroperoksit ve epoksi yağ asitlerinin eklenmesi ile belirlenmiştir (147).

Hayvan türleri, AF'lerin akut ve kronik toksisitesine ve duyarlılıklarına göre farklı cevap vermektedir. AFB1 uygulanarak karaciğerde DNA hasar düzeyi incelenmiş ve bazı spesifik türlerin duyarlılıkları kalitatif olarak değerlendirilmiştir: Buna göre karaciğerde AFB1–DNA bağlanma düzeyi azalan sıralaması sıçan > domuz > kobay > fare şeklinde tespit edilmiştir (148).

Aflatoksikozis olaylarında en çok etkilenen organların başında karaciğer ve böbrekler gelmektedir (49). Lakkawar ve ark. (28) tavşanların yemlerine 50 gün süreyle 0,5 ppm AFB1 ilave ederek oluşturdukları aflatoksikoz sonucunda en çok etkilenen organların karaciğer ve böbrek olduğunu açıklamışlardır. AFB1 öncelikle hepatosellüler karsinom oluşturur, ancak mide karsinomu ile kolon adenokarsinomuna da yol açabilmektedir. AFB1 en kuvvetli karaciğer karsinojenidir, diğer AF'ler daha zayıf etkilidir. AFG1 böbrek tümörleri, AFB2 karaciğer tümörü oluşturmaktadır (4). Besinlerle alınan AFB1 duodenumdan etkili bir şekilde emildikten sonra karaciğerde hücresel sitokrom P-450 enzim sistemi yoluyla lipid peroksidasyonuna ve hücresel hasarlara yol açan AFB1-8,9-epoksite dönüştürülerek metabolize olmaktadır (148). Shen ve ark (149) AFB1 kaynaklı hücre hasarlarında O₂⁻, ·OH ve H₂O₂ gibi ROT'nin rolü olduğunu rapor etmişlerdir.

Giambrone ve ark. (65) 400 ppb ve üzerindeki miktarlarda AF içeren yemle beslenen hindilerde yüksek oranda ölümlerin görüldüğünü; Witlock ve Wyatt (150) ve Quist ve ark. (151)'nin yaptığı çalışmalarda ise 100 ppb ve daha yüksek miktarda AF içeren yemlerle kısa süreli (14 gün), Rauber ve ark. (152) ise daha uzun süreli (21-42 gün) beslenen hindilerde kan parametrelerinde değişme, karaciğer hasarı ve canlı ağırlık artışında azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Aflatoksikozis AF konsantrasyonu ve maruz kalma süresi ile ilişkilidir. Edrington ve ark. (153) 2,5 ppb AF içeren diyetin büyüme dönemindeki kuzularda karaciğer hasarı oluşturmak için yeterli olduğunu görmüşlerdir. Hinton ve ark. (154) 40 hafta boyunca 4 hafta aralıklarla 0; 0,01; 0,04; 0,4 ppm verilen hayvanlarda oluşan hepatoselüler vakuoler değişikliğin; 40 hafta boyunca sürekli 1,6 ppm AF verilen hayvanlardakinden daha az olduğunu açıklamışlardır.

Organizmada metabolik ve fizyolojik olaylar sonucu ROT üretilmekte ve zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilmektedir. Günümüzde çok sayıda araştırmacı serbest radikallerin DNA, proteinler, lipitler ve hücrenin diğer bileşenleri üzerinde sebep olduğu oksidatif hasarı araştırmaktadır (86, 92, 122, 155). Serbest radikallerin nukleusta ve DNA'daki etkileri genotoksik ve mutajeniktir. Serbest radikaller pürin ve pirimidin modifikasyonuna veya DNA iplikleri ve kromozom kırılmalarına, onkojen aktivasyonuna neden oldukları için karsinogeneziste önemlidirler (12, 29, 32).

AF'in ROT'lerinin seviyesinde artmaya neden oldukları bildirilmiştir. AFB1 özellikle serbest radikallerden DNA, protein ve lipidlerle kolayca reaksiyona girerek DNA'nın yapısında mutasyonlara, proteinlerin yapısına

bağlanarak proteinlerde yapı değişikliklerine ve dolayısıyla da proteinlerin oksidasyonuna ve lipid peroksidasyonuna neden olan ·OH radikalının salınımına neden olurlar (57, 149, 156, 157).

Oksidatif streste hücrede bir takım değişiklikler olmaktadır. Bunlardan 8-hidroksi-2-deoksiguanozin DNA yıkımlanmasında önemli bir markır olarak bildirilmiştir. Lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan en önemli ürünlerden biri olan MDA lipid peroksidasyonunu gösteren parametrelerden birisidir (35, 147, 157). Farelerde ve diğer hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda, AF'nin biyolojik materyalde oksidatif stres belirteçlerinde değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (12, 13, 57, 149, 158). Ratların karaciğeri üzerine yapılan benzer bir çalışmada, 1 mg/kg AFB1 verilen grupta lipid peroksidasyonunun arttığı buna bağlı olarak MDA düzeyi kontrol grubunda düşük iken, AFB1 grubunda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (57). Yaptığımız çalışmada 7 gün süre ile uygulanan AFB1'in kan ve karaciğer dokularında MDA düzeylerinde önemli derecede artışa neden olduğu gözlenmiş, MDA düzeylerindeki artıştan lipid peroksidasyonun önlenemediği tespit edilmiştir. AF uygulanan ratlarda artmış MDA seviyeleri daha önce bildirilen bulgular (13, 57, 151, 149) ile uyum içindedir.

AFB1 lipid peroksidasyonunun dolayısı ile de onun bir ürünü olan MDA miktarının artmasına neden olmaktadır. Çalışmada, AFB1 uygulanmış ratların kan ve karaciğerinde MDA düzeylerindeki artış AFB1'in toksik özelliği nedeniyle olabilir ve AF'nin hücrel antioksidan savunma sistemi tarafından tolere edilemeyen yüksek düzeyde serbest radikallerin oluşumuna neden olduğunu göstermektedir. Bu değişiklikleri AF'nin doğrudan etkileri ya da AF tarafından

oluşan metabolitler ve bu metabolitlerin oluşumu sırasında üretilen serbest radikaller tetiklenmiş olabilir.

AF'lerin MDA seviyesini artırmalarının nedeni çeşitli araştırmacılar tarafından ROT'lerinin artışına ve bunun da lipid peroksidasyonunu artırmasına bağlanmıştır (156, 158-160). PCB (Aroclor 1254) ile yapılan çalışmada ise PCB'nin H₂O₂, OH miktarı ile lipid peroksidasyonunu ve buna bağlı olarak MDA düzeyini artırdığı bildirilmiştir (122).

AF kullanımı ile DNA, RNA, protein miktarında ve antioksidan enzim aktivitesinde önemli derecede azalma meydana geldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (13, 38, 57, 159).

Madhusudhanan ve ark. (161) yaptığı çalışmada, AF uygulamanın 42. gününde GSH düzeyi, GSH-Px ve SOD aktivitelerinde düşüş, MDA konsantrasyonunda ise artış gözlenmiştir. AF grubunda MDA düzeyindeki artış AF uygulamasına bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin yetersizliği ya da serbest radikal (\cdot OH, H₂O₂ gibi) artışından kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir kanıtı sayılmakta olup birçok araştırmacı (13, 57) tarafından bildirildiği gibi beklenen bir sonuçtur.

Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan GSH, hücrenin oksidoreduksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. GSH akciğer, bağırsak, böbrek ve kısmen karaciğer gibi eksojen toksinlere direkt olarak maruz kalabilen organlar için çok önemlidir. Karaciğer, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile devreye giren ve aynı zamanda GSH için ana depo olan bir organdır. GSH en yüksek hücre içi

derişimine (~10 mM) hepatositlerde ulaşır (162). GSH'un en önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da O₂'in direk etkisi ile hızla aktivitesini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle H₂O₂'nin elemine edilmesinde GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (37).

GSH ve GST dokuların AFB1'in zararlı etkilerinden korunmasında önemli rol oynarlar. GSH ROT ile -SH grubunun doğrudan etkileşimi ile enzimatik olmayan bir antioksidan olarak hareket edebilir veya bir kofaktör veya bir koenzim olarak, ROT'u enzimatik detoksifiye edebilir (30, 38, 163).

Çalışmada AFB1 uygulanan ratlarda GSH düzeyinin azaldığı saptanmıştır. GSH düzeyindeki azalma karaciğerde AFB1'in epoksit türevlerinin (AFB1-8,9-epoksit gibi) GSH ile konjugat oluşturup vücuttan atılımını kolaylaştırması esnasındaki kullanımına bağlanmakta olup, bu çalışmada AFB1 uygulamasıyla GSH düzeyinde meydana gelen azalma Farombi ve ark. (37) ile El-Gibaly ve ark. (10)'nın ratlardaki bulgularıyla benzerlik göstermektedir. AFB1 uygulanan grupta GST aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük tespit edilmiş, aradaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. GST, GSH ile AFB1-8,9-epoksidlerden AFB1-epoksit-GSH konjugatlar oluşturmak üzere konjugasyonu katalize eder, böylece hücre içi GSH içeriği azalır.

CAT primer enzimatik savunma sistemlerinden birisidir ve kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, norodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik

şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir enzimidir (91, 111). Mayıs papatyası adı verilen *Marticaria chamomilla* L. ekstresinin oksidatif hasar üzerine etkinin araştırıldığı bir çalışmada, Mayıs papatyasının karbon tetraklorür ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine oksidatif stresi baskılayıp antioksidan sistemi güçlendirdiği, CAT aktivitesini arttırdığı özellikle artan dozlarda oksidatif stresi daha iyi baskıladığı gözlenmiştir (164).

Çimen ve ark. (165) tarafından rat eritrositlerinde CAT enziminin karakterizasyonu ve kinetiğini incelenmiş ve farelerde CAT enziminin birçok şekli saptanmıştır. İlaç ve kimyasal maddelerin büyük kısmının vücudun belli organlarında serbest radikal oluşum hızını artırabildiği, bu nedenle, antioksidan enzimlerin hem hücrenin kararlılığını korumada hem de serbest radikalleri yok etmede çok önemli olduğu söylenmiştir.

Yaptığımız çalışmalarda AFB1'in CAT aktivitesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Sadece AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli azalma bulunmuştur. Bulgularımız literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir (91, 93, 111).

GSH-Px detoksifikasyon sırasında yükseltgenmiş endojen antioksidanları indirgeyerek rejenerasyonlarını sağlar. Bu esnada kendisi de yükseltgenmiş olur. GSH-Px'in katalizlediği bu reaksiyonda, GSH'ın enzim aktivitesi için esas olduğu açıktır. GSH sürekli olarak hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir (93, 95, 111). Çalışmada kontrol grubu ile kıyaslandığında AFB1 grubunda antioksidan olmayan (GSH) ve antioksidan enzimlerin (CAT, GST ve GSH-Px) aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır.

GSH-Px düzeyindeki azalma, GSH ile birlikte H₂O₂'in detoksifikasyonu için etkin kullanımına bağlanabilir. Nitekim çeşitli araştırmacılar (13, 37, 57) bu çalışmadaki bulgulara benzer şekilde aflatoksikoziste GSH'ye paralel olarak GSH-Px aktivitesinde azalma olduğunu ifade etmektedirler.

Hücresin enzimatik antioksidan savunma sistemini oluşturan SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri belirli dokulara bağlı olarak artar veya azalabilir. AFB1'in neden olduğu oksidatif stresin CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerini düşürmesinin sebeplerinden birincisi AFB1'in neden olduğu ROT'lerinin enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi yapmaları olabilir. İkinci bir sebep ise, ROT'lerinin proteinlere bağlanarak proteinlerde yapısal değişikliklere ve buna bağlı olarak proteinlerin oksidasyonuna neden olmaları olabilir.

CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler ROT'lerine karşı ilk savunma hattını oluşturmuş ve AFB1 uygulaması ile enzim aktivitelerinde azalma gözlenmiştir. AFB1 verildikten sonra bu enzimlerin aktivitelerinde düşüş ROT tarafından bu enzimlerin inaktivasyonuna bağlı olabilir. GSH-Px GSH varlığında lipid peroksidin hidroksi asitlere dönüşümünü katalize ederek, H₂O₂ ve lipid peroksitleri uzaklaştırır. AFB'e bağlı olarak GSH-Px aktivitesinin azalması ROS tarafından protein yapısında değişiklikler ve aynı zamanda substrat (GSH) kullanılabilirliğinin azalması nedeniyle olabilir.

Karabacak ve ark. (166) ratlara 400 mg/kg/gün dozunda AF uygulayarak kan, karaciğer, böbrek, beyin, dalak dokularında MDA, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde değişiklikler saptamışlardır. Bu değişiklikler, doğrudan AF'in serbest radikallerin üretilmesine neden olması ile ilişkili olabileceğini ve serbest

radikallerin daha az zararlı veya zararsız metabolitlere dönüşümü sırasında antioksidanların tüketimlerine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Enzimatik antioksidan savunma sistemleri lipit peroksidasyonuna karşı doğal koruyuculardır. SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri O_2^- ve H_2O_2 'in önemli süpürücüleridirler. Bu enzimler $\cdot OH$ oluşumunu önler ve oksidatif hasardan hücrel bileşikleri korurlar. AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antioksidan enzim (CAT, GSH-Px, GST) ve non-enzimatik antioksidan (GSH) daki azalma AFB1 kaynaklı hepatik hasar esnasında gözlenen artmış MDA seviyelerinden sorumlu olabilir. Bizim sonuçlarımız fare karaciğeri için daha önceden raporlanan bulgularları desteklenmektedir (13, 57, 90).

Eraslan ve ark. (159) yaptıkları çalışmada, erkek Ross PM3 ırkı etçi civciv kullanmışlardır. Civcivler biri kontrol diğer dördü deneme olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna AF içermeyen ticari broiler yemi verilirken, deneme gruplarından grup 2, 3, 4 ve 5'e sırasıyla 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm ve 1,0 ppm AF (ortalama olarak, % 81,30 AFB1, % 10,40 AFB2, % 5,75 AFG1 ve % 2,55 AFG2) içeren yem verilmiştir. Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde kan örnekleri alınmış ve eritrositlerde SOD, CAT, GSH-Px, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktiviteleri ile MDA düzeyleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, kontrol grubuna göre SOD aktivitesinde, 30. ve 45. günde grup 4 ve 5'de; GSH-Px aktivitesinde 30. günde grup 5'de, 45. günde grup 4 ve 5'de; CAT aktivitesinde 45. günde grup 5'de; G6PD aktivitesinde 45. günde grup 5'de önemli bir azalma ile MDA düzeyinde grup 5'de önemli bir artış tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yüksek dozda (0,5-1,0 ppm) ve uzun süreli (30 ve 45 gün) verilen AF lipid peroksidasyona sebep olmuştur. Zira, bu dönemlerden 30. günde

özellikle SOD ve GSH-Px aktiviteleri ile 45. günde birincil olarak SOD ve GSH-Px (grup 4 ve 5 için), ikincil olarak (grup 5 için) CAT ve G6PD enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerindeki istatistiksel bazı önemli değişimler bu hipotezi destekler niteliktedir. Ayrıca, lipid peroksidasyonun ortaya konulmasında en duyarlı parametrelerin MDA, SOD ve GSH-Px olabileceği; böylece de bu parametrelerin, doğal olarak AF zehirlenmesi oluşmuş kanatlılarda zehirlenmelerin şiddetinin ortaya konulması, AF'le mücadele ile ilgili birtakım önlemlerin alınması ve yapılan uygulamaların başarılı olup olmadığının belirlenmesi yönünden önem taşıyabileceği anlaşılmıştır.

Yapılan araştırmalar göstermiştir ki, AF üreten funguslar ve AF biyosentezi, birçok antioksidan tarafından, kullanılan konsantrasyonlara bağlı olarak engellenmiştir (147, 161).

AF'in zararlı etkisini önlemede pek çok kimyasal madde kullanılmış ve bazı uygulamalardan başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Fakat bunlardan ticari olarak kullanılanların sayısı son derece sınırlıdır. Alüminosilikatlar, bentonitler ve clinoptilolit içeren zeolitler AF'leri bağlayıp gastrointestinal kanaldan bunların emilimini azaltan inert bileşiklerdir (98, 125).

Günümüzde yapılan birçok çalışma karotenoidlerin, özellikle likopenin, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu engellediğini kanıtlanmıştır. Ayrıca karotenoid bakımından eksik diyetlerin tüketiminin MDA düzeylerinde belirgin bir yüksekliğe neden olduğu bildirilmiştir (131, 132). Likopen hücre membranlarında bölgesel olarak, membran lipidlerinde meydana gelen oksidatif stresi engellemede önemli bir yere sahiptir. Bu etkisini

kalınlığa dayanıklılık ve akışkanlığına etki ederek sağladığı bildirilmektedir (130, 132).

Likopenin güvenlik aralığı geniş olup ratlara günlük vücut ağırlığının % 0,25, % 0,5 ve % 1 i kadar diyetlerine eklenmiş likopen 90 gün boyunca verilmiş ve gruplar arasında hematolojik, kilo kaybı, su tüketimi, organ ağırlığı (karaciğer, akciğer, beyin, dalak, böbrek), klinik, idrar analizi, idrar volümü açısından saptanmamış ve herhangi bir toksisite belirtisi görülmemiştir (126, 130-132).

Likopen içeren gıdaların tüketimi sonucunda kan likopen seviyesi artar ve bu durumda yağların, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasardan daha az etkilenmesine neden olur (128, 134). Likopen, ROT'lerine bağlı serbest radikal hasarına karşı hücreleri korur, hem in vitro hem de insan çalışmalarında lenfosit DNA'sının oksidatif hasara karşı duyarlılığını azaltarak, H₂O₂ ve nitrojen dioksiti inaktive ederek ve lenfositleri nitrojene bağlı membran hasarı ve hücre ölümüne karşı beta karotenden daha etkili bir şekilde koruyarak güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (119, 121).

Briviba ve ark. (167)'nin yaptıkları çalışmada sağlıklı insanlarda likopenin ve diğer karotenoidlerin oksidatif strese ve LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olmadığını ve antioksidan enzimlerde değişiklik gözlenmediğini bildirmişlerdir.

Likopenin antioksidan enzim aktivitelerini anlamlı ölçüde arttırdığını bildiren araştırmalar bulunmaktadır (129-132). Çalışmada AFB1 uygulanan ratlarda kan ve karaciğer dokularında GSH, CAT, GST ve GSH-Px aktivitelerinde anlamlı düşüş gözlenmiş olup literatür bulgularını desteklemektedir. Ratlara

antioksidan etkisi olan likopen AFB1 ile birlikte verildiğinde genel olarak MDA, GSH düzeyleri ve CAT, GST, GSH-Px gibi antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubuna yaklaştığı saptanmıştır. Bu durum likopenin serbest radikal üretilmesini sınırlayarak oksidatif stres ve serbest radikalleri önleme yeteneğine sahip olması ile açıklanabilir. Likopen tarafından GSH konsantrasyonu ve GST aktivitesinin düzelmesi AFB1 kaynaklı oksidatif stresi ve karaciğer hasarını azaltıcı bir rol oynadığını göstermektedir.

Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) vücutta birçok organ ve dokuda yaygın olarak bulunan hücre içi enzimlerdir. ALT öncelikle karaciğer ve böbreklerde bulunup, kalp ve iskelet kasında daha az miktarda mevcut iken, AST daha çok kalp kası, karaciğer ve iskelet kaslarında bulunur. Karaciğerdeki ALT seviyesi serumdan 3000 kat, AST aktivitesi ise yaklaşık 7000 kat daha fazladır. ALT hücre stoplazmasında bulunurken AST hem stoplazmada hem de mitokondirada bulunur. ALT nin yarı ömrü 47 ± 10 saat, AST nin yarı ömrü ise 17 ± 5 (mitokondrial AST nin yarı ömrü daha uzundur) saattir (168, 169, 170).

Masoero ve ark. (171), 10 gün boyunca günlük $98 \mu\text{g}$ AFB1 verilerek 34 sığırdaki yaptıkları çalışmalarında, kan parametrelerinden albümin, globülin, bilirubin, AST ve gama glutamat transferaz (GGT) parametrelerini incelemişler ve albümin (0 $\mu\text{g/gün}$ doz: 33,75g/L, 98 $\mu\text{g/gün}$ doz: 37,5 g/L), globülin (0 $\mu\text{g/gün}$ doz: 33,83 g/L, 98 $\mu\text{g/gün}$ doz: 38,5 g/L) ve GGT aktivitesinin (0 $\mu\text{g/gün}$ doz: 26,58 U/L, 98 $\mu\text{g/gün}$ doz: 29,58 U/L) AFB1 uygulamasından sonra önemli derecede arttığını, AST ve bilirubin değerlerinin ise önemli bir değişime uğramadığını bildirmişlerdir.

Battacone ve ark. (172) 24 koyun kullanarak yaptıkları 14 günlük bir çalışmada denemeye diyetle AFB1'in olmadığı kontrol grubu ile 1,13, 2,30 ve 5,03 µg/kg konsantrasyonlarda AFB1'in bulunduğu diğer üç grup ile karşılaştırmışlardır. Denemenin 8. gününden 14. gününe kadar da diyetle günlük 12 g ticari maya ilave edilmiştir. Kan parametrelerinden kreatinin, AST, GGT, alkalin fosfataz (ALP), LDH, kolesterol, toplam protein ve kalsiyum AFB1 tüketiminden hem birinci haftada hem de ikinci haftada etkilenmemiştir. İkinci hafta sonunda sadece serumdaki üre (0 µg/kg doz: 53,9 mg/d, 5,03 µg/kg doz: 44,8 mg/dl) ve fosfor (0 µg/kg doz: 4,88 mg/dl, 5,03 µg/kg doz: 3,95 mg/dl) konsantrasyonu diyetteki AFB1 tarafından önemli derecede etkilenmiştir.

AF1'lerle zehirlenmelerde klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce, yemdeki toksin düzeyine ve maruz kalma süresine göre hücre ve dokularda görülen hasara bağlı olarak biyokimyasal değişiklikler şekillenir. Serum ALP, aldolaz, gammaglutamil transferaz, asit fosfataz, LDH, ornitin karbamoil transferaz, AST, ALT, lipit peroksidaz ve izositrik dehidrojenaz ve bilirubin düzeyi artarken; serum protein, protein kaynaklı olmayan azot, üre, Hb ve pıhtılaşma faktörlerinin miktarı önemli ölçüde azalır (168). Çalışmada AFB1 uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma AST, ALT ve LDH düzeylerinde önemli derecede artış bulunmuştur. Plazma AST, ALT, LDH ve ALP aktivitelerindeki artışlar karaciğer hasarının diagnostik göstergeleri olarak bilinir. Hepatoselluler lezyonların ve parenşimal hücre nekrozlarının bulunduğu karaciğer hasarlarında olduğu gibi, bu enzimler kan dolaşımına salınırlar (169-170). Likopen ile tedavi bu enzim düzeylerini düşürmüştür ve değerler kontrol hayvanlarının ile

karşılaştırılabilir olmuştur. Bu likopenin hepatoprotektif rolünü düşündürmektedir.

Mosaad ve ark. (96) AF uygulamasının serum AST, ALP, kolesterol, total bilirubin, LDH, kreatin kinaz (CK), üre ve kreatinin seviyelerini artırdığını; trigliserid, protein ve albümin seviyelerini ise azalttığını bildirmişlerdir. Genellikle bu sonuçlar karaciğerin hipofonksiyonunu ve dejeneratif değişikliklerini gösterebilir. Kan protein düzeylerinde azalma ile birlikte kan üre ve kreatinin düzeylerinde artış protein katabolizması ve/veya böbrek disfonksiyonu gösterebilir. Bu sonuçlar açık bir şekilde, AF'in literatürde bildirilen ile tutarlı karaciğer dokusunda zararlı etkiye ve oksidatif strese sahip olduğunu göstermiştir.

AF ile beslenen ratlarda kapsamlı hepatosellüler nekroz, yağlı infiltrasyonu ve safra yolları çoğalması gözlenmiş olup, AF uygulanan tavşan ve broilerde de serum protein konsantrasyonunun düşük olduğu bildirilmiştir. Azalmış protein biyosentezi ve salgılanması DNA, RNA ve protein ile bağlı AF oluşumuna bağlı olabilir (171).

Likopen ile yapılan bir başka çalışmada, bir grup sıçanda kronik alkolizm oluşturulmuş. AST ve ALT serum değerleri ve AST/ALT oranının alkolik karaciğer hasarının bir göstergesi olduğu saptanmış. Karaciğer doku örneklerinin patolojik incelenmesi sonucu alkolün karaciğer hasarı yaptığı tespit edildikten sonra, sıçanlarda alkol+likopen grubunda serum AST, ALT değerleri alkol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş ve sonuçlar kontrol grubuyla yakınlık göstermiş. Karaciğer doku kesitlerinin patolojik incelenmesi sonucu bu gruptaki karaciğer hasarının alkol grubuna göre daha az olduğu saptanmıştır.

Alınan karaciğer doku örneklerinin patolojik incelenmesi sonucu etanol alan grubun, % 10'unda makroveziküler yağlanma, % 30'unda mikroveziküler yağlanma, % 60'ında sinozoidal hücrelerde artış ve parankim hücrelerinde şişme saptanmış. Alkol+likopen grubunun % 40'ı normal parankim yapısına sahip iken, % 20'sinde mikroveziküler yağlanma, % 40'ında hepatositlerde şişme tespit edilmiş. Kontrol grubundaki karaciğer örneklerinde ise normal parankim yapısı gözlenmiş. Tüm bu sonuçlarla beraber oksidatif stres ile açıklanan alkolik karaciğer hastalıklarının gelişim sürecinde deneysel olarak antioksidan özellikleri bilinen likopenin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş (172).

Sonuç olarak; çalışmada elde edilen bulgular; 0,5 mg/kg düzeyinde AFB1 uygulamasına karşı 5 mg/kg likopen uygulamasının oksidatif stres, antioksidanlar ve biyokimyasal parametreler üzerine olumlu etki gösterdiği ve likopenin AF kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Agag BI. Mycotoxins in food and feeds 1-aflatoxins. Ass Univ Bull Environ Res 2004; 7 (1): 173-205.
2. Tayfur M. ‘‘Mikotoksinler ve Karsinojenik Etkileri’’ <http://www.un.org.tr/who/nutrition/mikotoksinler.htm>. 05.01.2006.
3. Bata A, Lasztity R. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Trend in Food Science & Technology 1999; 10: 223-22.
4. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü. 1999.
5. Adams SR, Kephart BK, Ishler AV, Hutchinson JL, Roth WG. Society for Risk Analysis Annual Meeting. Mold and Mycotoxin Problems in Livestock Feeding. Penn State University: College of Agricultural Sciences, 2003.
6. Bhat RV and Vasanthi S. Food Safety in Food Security and Food Trade: Mycotoxin Food Safety Risk in Developing Countries. Washington: International Food Policy Research Institute, 2003.
7. Adler CM.. Mycotoxins: characteristics, sampling methods, and limitations. ENVIRO-CHECK, Inc. Winter 2002–2003. <http://www.envirocheckonline.com/docs/mycotoxins.pdf>. accessed June 16, 2002.

8. Smith JE, Solomons G, Lewis C, Anderson JG. Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. *Nat Toxins* 1995; 3 (4): 187-92.
9. Çelik S. Karaciğer Karsinojeni olan aflatoksinlerin biyokimyasal, histolojik etkileri ve sağaltım seçenekleri. *J Fac Vet Med* 2001; 20: 131-6.
10. El-Gibaly I, Meki AMA, Abdel-Ghaffar SK. Novel B melatonin-loaded chitosan microcapsules: in vitro characterization and antiapoptosis efficacy for aflatoxin b1-induced apoptosis in rat liver. *International Journal of Pharmaceutics* 2003; 260 (1): 5-22.
11. Do JH, Choi DK. Aflatoxins: detection, toxicity and biosynthesis. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 2007; 12: 585-593.
12. Verma RJ. Aflatoxin cause DNA damage. *Int J Hum Genet* 2004; 4 (4): 231-236.
13. Mathuria N, Verma RJ. Curcumin ameliorates aflatoxin-induced lipid peroxidation in liver, kidney and testis of mice-an in vitro study. *Acta Poloniae Pharm Drug Res* 2007; 63 (5): 413-6
14. Lancaster MC, Jenkins FP, Philp JM. Toxicity Associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 1961; 192: 1095-1096.
15. Tuzcu M, Sur E, Çelik İ, Öznurlu Y, Çiftçi MK. Effects of aflatoxin on the proportions of peripheral blood leukocytes and alpha-naphtyl acetate esterase (ANAE) positive lymphocytes in the mouse. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2010; 16 (2): 337-41.
16. Coulombe RA JR. Biological action of mycotoxins. *Journal of Dairy Sci* 1993; 76 (3): 880-91.

17. Kuiper- Goodman T. Risk assessment to humans of mycotoxins in animal derived food products. *Vet Hum Toxicol* 1991; 33 (4): 325-32.
18. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A ve ark. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2nd Baskı. Medisan Yayın Serisi. 2002
19. Betina V. Mycotoxins, chemical, biological and environmental aspects. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York, Tokyo 1989.
20. Özkaya S. ve Temiz A. Aflatoksinler: kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Mikrobiyoloji Dergisi* 2003; 1: 1-21.
21. Kim KN, Kim S, Kim H, et. al. Simultaneous detection of aflatoxin B1, deoxynivalenol, and fumonisin B1 in blood with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of the Preventive Veterinary Medicine*, 2015; 39(3): 108-113.
22. Ruiqian L, Qian Y, Thanaboripat D, Thansukon P. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Kmitl Science Journal* 2004; 4-1.
23. Groopman JD and Kensler TW. Aflatoxin exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. *CRC Critical Review in Toxicology* 1988; 19 (2): 113-145.
24. Herrman T. Mycotoxins in Feed Grains and Ingredients. Kansas State University, Department of Grain Science, 2002.
25. Cassel EK, Campbell B, Draper M, Epperson B. Aflatoxins, Hazards in Grain. Aflatoxicosis and Livestock. South Dakota State University, 2001.

26. Stresser DM, Bailey GS, Williams DE. Indole-3-carbinol and beta-naphthoflavone induction of aflatoxin B1 metabolism and cytochromes P-450 associated with bioactivation and detoxication of aflatoxin B1 in the rat. *Drug Metab Dispos* 1994; 22 (3): 383-91.
27. Kumagai S. Intestinal absorption and excretion of aflatoxins in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 97 (1): 88-97.
28. Lakkawar AW, Chattopadhyay SK, Johri TS. Experimental aflatoxin B1 toxicosis in young rabbits a clinical and patho-anatomical study. *Slov Vet Res* 2004; 41 (2): 73-81.
29. Parhizkar A, Mirhadi SA, Allameh A. Effects of aflatoxin B1 on liver nuclear DNA biosynthesis in growing and day-old chickens. *Arch Razi Ins* 2002; 53: 57-65.
30. Guengerich FP, Johnson WW, Ueng YF, Yamazaki H, Shimada T. Involvement of cytochrome p450, glutathione-S-transferase and epoxide hydrosale in the metabolism of aflatoxin B1 and relevance to risk of human liver cancer. *Environmental Health Perspectives* 1996; 104 (3): 557-562.
31. Guengerich FP, Johnson WW, Shimada T, et al. Activation and detoxication of aflatoxin B1. *Mutant Res* 1998; 402: 121-128.
32. Croy RG, Essigmann JM, Reinhold VN, Wogan GN. Identification of the prencipal aflatoxin B1-DNA adduct formed in vivo in rat liver. *Proceeding of National Academy of Sci* 1978; 756: 1745-9.
33. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 497-516.

34. Guengerich FP. Cytochrome p450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J* 2006; 10 (8): 101-11.
35. Guindon KA, Bedard LL, Massey TE. Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA from isolated Mouse lung cells following in vivo treatment with aflatoxin B1. *Toxicol Sci* 2007; 98: 57-62.
36. Castegnaro M, Gregor MC. Carcinogenic risk assessment of mycotoxins. *Rev Med Vet* 1998; 671-678.
37. Farombi EO, Nwankwo JO, Emerole GO. The effect of modulation of glutathione levels on markers for aflatoxin B1-induced cell damage. *Afr J Med Sci* 2005b; 34: 37-43.
38. Lotlikar PD, Jhee EC, Insetta SM, Clearfield MS. Modulation of microsome-mediated aflatoxin B1 binding to exogenous and endogenous DNA by cytosolic glutathione-S-transferases in rat and hamster livers. *Carcinogenesis* 1984; 5: 269-76.
39. Patel JW. Stimulation of cyclophosphamide induced pulmonary microsomal lipid peroxidation by oxygen. *Toxicology* 1987; 45: 71.
40. Groopman JD, Wang JS, Scholl P. Molecular biomarkers for aflatoxins: From adducts to gene mutations to human liver cancer. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74, 203-9.
41. Jay JM. Other proved and suspected foodborne agents: Mycotoxins, *Modern Food Microbiology*, 4th Edition, Van Nostrand Reinhold, New York 1992.

42. Saitanu K. Incidence of aflatoxin M1 in thai milk products, J Food Protect 1997; 1010-1012.
43. Tulpule PG. Aflatoxins-experimental studies. J Cancer Res Clin Oncol 1981; 99 (1 2): 137-42.
44. Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology 2001; 167 (2): 101-34.
45. Oğuz H, Kurtoğlu V. Effect of clinoptilolite on performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. Br Poult Sci 2000; 41(4): 512-517.
46. Hatch RC. Poisons causing abdominal distress or liver or kidney damage. *In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, ed. Booth NH, McDonald LE, 5th ed., pp. 1023–1027. Iowa State University Press, Ames, IA, 1988.
47. Özkaya Ş, Temiz A. aflatoksinler: kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi 2003; 1: 1-21.
48. Sahoo PK, Chattopadhyay SK, Johrp TS, Charan K, Sikdar A . Pathology of experimental aflatoxicosis in rabbits, Indian J Anim Sci 1993; 63 (3): 268-273.
49. Swick RA. Hepatic metabolism and bioactivation of mycotoxins and plant toxins. J Anim Sci 1984; 58 (4): 1017-28.
50. Marvan F, Vernerova E, Samek M, et al. Aflatoxin B1 residues in the organs of young poultry. Biol Chem Vet 1983; 24: 85-92.

51. Petr T, Barta I, Turek B. In vitro effect of mutagenic activity of aflatoxin B1. *Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1995; 34: 123-8.
52. Autrup JL, Schmidt J, Seremet T, Autrup H. Determination of exposure to aflatoxins among Danish workers in animal feed production through the analysis of aflatoxin B1 adducts to serum albumin. *Scand J Work Environ Health* 1991; 17: 436-40.
53. Schwartz AG, Perantoni A. Protective effect of dehydroepiandrosterone against aflatoxin B1 and 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced cytotoxicity and transformation in cultured cell. *Cancer Res* 1975; 35: 2482.
54. Kaden DA, Call KM, Leong PM, Konives EA, Thilly WG. Killing and mutation of human lymphoblast cells by aflatoxin B1: Evidence for an inducible repair response. *Cancer Res* 1987; 47: 1993-2001.
55. Karemlampi SO. Mechanism of cytotoxicity of aflatoxin B1. *Biochem Biophys Res Comm* 1987; 145: 854-60.
56. Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, et al. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium and vitamin D metabolism. *J Toxicol Environ Health* 1991; 34 (3): 309- 321.
57. Verma RJ, Mathuria N. Curcumin ameliorates aflatoxin-induced lipid-peroxidation in liver and kidney of mice. *Acta Pol Pharm* 2010; 65 (2): 195-202.

58. Çelik I, Oguz, H, Demet O, ve ark. Embryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 Brit Poult Sci 2000a; 41: 401-409.
59. Ellis J, Dipaolo JA. Aflatoxin B1: induction of malformations. Arch. Pathol 1967; 83: 53-57.
60. Geissler F, Faustman EM. Developmental toxicity of aflatoxin B1 in the rodent embryo in vitro: Contribution of exogenous biotransformation systems to toxicity. Teratology 1988; 101-111.
61. Dietert RR, Qureshi MA, Nanna UC, and Bloom SE. Embryonic exposure to aflatoxin B1: Mutagenicity and influence on development and immunity. Environ. Mutagen 1985; 715-725.
62. Gradelet S, Le Bon AM, Berges R, Suschetet M and Astorg P. Dietary carotenoids inhibit aflatoxin B1- induced liver preneoplastic foci and DNA damage in the rat: role of the modulation of aflatoxin B1 metabolism. Carcinogenesis 1998; 19 (3): 403-411.
63. Aksoy M, Erdem S, Dinçol G, Bakioğlu I, Kutlar A. Aplastic anemia due to chemicals and drugs:a study of 108 patients. Sex Transm Dis 1984; 11 (4): 347-350.
64. Corrier DE. Mycotoxicosis: Mechanismus of immunosuppression. Veterinary Immunology and Immunopathology 1991; 30: 73-87.
65. Giambrone JJ, Diener UL, Davis ND, Panangala YS, and Noerr FJ. Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. Poultry Science 1985b; 64: 1678-1684.

66. Çelik İ, Demet Ö, Dönmez HH, Boydak M. Determination of phagocytic and candidacidal activities of peritoneal macrophages isolated from chickens fed with aflatoxin and an aflatoxin adsorbing agent, polyvinyl polypyrrolidone (PVPP) containing feed. *Vet Bil Derg* 1996; 12: 145-151.
67. Sur E ve Çelik İ. Effects of aflatoxin B1 on the development of bursa of Fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. *Br Poult Sci* 2003; 44 (4): 558-566.
68. Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 144-72.
69. Smith JE. Aflatoxins in Handbook of Plant and Fungal Toxicants. Felix, J.P., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 1997.
70. Bullerman LB. Significance of mycotoxins to food safety and human health. *Journal of Food Protection* 1979; 42 (1): 65-86.
71. Ueno Y. The toxicology of mycotoxins. *Critical Review in Toxicology* 1985; 14 (2): 99-132.
72. Castegnaro M, Gregor MC. Carcinogenic risk assessment of mycotoxins. *Rev Med Vet* 1998; 671-678.
73. El-Zawahri MM, Morad MM, Khishin AF. Mutagenic effect of aflatoxin G1 in comparison with B1. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 1990; 10(1-2): 45-51.
74. Wagstaff DJ. The use of epidemiology, scientific data and regulatory authority to determine risk factor in cancers of some organs of the

digestive tract, Liver Cancer Regulation Toxicology Pharmacology 1985; 385-404.

75. Butler WL, Neal GE. The effect of aflatoxin B1 on the hepatic structure and RNA synthesis in rats fed a diet marginally deficient in choline. Cancer Research 1973; 33: 2878-85.

76. Ataman MB, Dönmez HH, Dönmez N, Sur E, Çoyan K. Koçlarda aflatoksinin semen kalitesi, testis histolojisi ile semen hyaluronidaz enzim aktivitesi üzerine etkileri ve glukomannan (EG)'ın koruyucu etkinliği. Tübitak projesi. 2009; proje no: 107 O 866.

77. Abdelhamid AM, El-Shawaf I, El-Ayoty SA, Ali MM, Gamil T. Effect of level of dietary aflatoxins on Baladi rabbits. Arch Tierenahr 1990; 45 (5-6): 517-37.

78. Cullen JM, Newberne PM. Experimental Toxicology of aflatoxins. 1. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In: Eaton DL, Groopman JD. (Editors). The Toxicology Of Aflatoxins, Human Health, Veterinary And Agricultural Significance. London: Academic Pres Inc 1993: 3-21.

79. Robens JF, Richard JL. Aflatoxins in animal and human health. Rev Environ Contam Toxicol 1992; 127: 69-94.

80. Raval PJ, Verma RJ. Aflatoxin induced cytotoxicities in rabbits hepatocytes. J Anim Morphol Physiol 1997; 44: 1-4.

81. Hastings CE JR, Llewellyn GC. Reduced aflatoxicosis in livers of hamsters fed a manganese sulfate supplement. Nutrition and Cancer 1987; 10 (1-2): 67-77.

82. Basmacıoğlu H, Oğuz H, Ergöl M, öl R, Birdane YO. Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. *Czech J Anim Sci* 2005; 50 (1): 31-9.
83. Reznick AZ, Packer L, Sen CK et al. Oxidative Stres in Skeletal Muscle. *Free Radical and Oxidative Damage in Biology and Medicine: (Barry Halliwell). I. Edition. Birkhauser Publisher. London 1998.*
84. Babior BM. Phagocytes and oxidative stres. *Am J med* 2000; 109 (1): 33-44.
85. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Temel Klinik Tıp Bilimleri* 2002; 22: 442-448.
86. İzzet K, Seval Y. ratlarda bazı nitrosoaminlerin düşük miktarda-uzun süreli verilmesinin kan, karaciğer ve böbreklerde oksidatif stres üzerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2006; 20 (1): 073-078
87. Serafini M1, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease is the Total Antioxidant Capacity the right tool *Redox Rep* 2004; 9 (3): 145-52.
88. Hermes-Lima M1, Zenteno-Savín T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002; 133(4): 537-556.

89. Parlat SS, Yıldız AÖ, Cufadar Y, Olgun O. japon bildircinlarında deneysel aflatoksin zehirlenmesine karşı kekik uçucu yağı kullanımı. S. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 2005; 19 (36): 1-6.
90. Choudhary A, Verma RJ. Ameliorative effect of black tea extract on aflatoxin induced lipid peroxidation in the liver of mice. Food and Chemical Toxicology 2005; 43: 99-104.
91. Scott MD, Lubin BH, Zuo L, Kuypers FA. Erythrocyte defense against hydrogen peroxide: preeminent importance of catalase. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1991; 118: 7-16.
92. Yılmaz S, Ozan S. meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. Türk Biyokimya Dergisi 2003; 28 (4): 252– 256.
93. Halliwell B. Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence, The Lancet 1994; 344: 721-724.
94. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. Methods Enzymol 1990; 186: 1-85.
95. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biol. Med 2001; 31: 1287-1312.
96. Mosaad A. Abdel-Wahhab, Soher E. ALY. antioxidants and radical scavenging properties of vegetable extracts in rats fed aflatoxin-contaminated Diet J Agric Food Chem 2003; 51: 2409-2414.
97. Nawar WW. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Editor), pp: Marcel Dekker, New York 1996: 225-319.

98. Diplock A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series. Belgium 1998; 59.
99. Onat T, Emerk K. Temel Biyokimya I, 1st Baskı. Saray Medikal Yayıncılık. İzmir. 1997.
100. Scandalios JG. The rise of ROS, Trends in Biochemical Sciences 2002; 27 (9): 483-486 s.
101. Aslan R, Şekeroğlu R, Bayıroğlu F. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 1995; 2: 137-142.
102. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oksidative stres and free radical damage. Alcohol Res Health 2003; 27 (4): 277-284.
103. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
104. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev 1994; 74 (1): 139-62.
105. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. Mutat Res 2003; 531 (1-2): 81-92.
106. Belfield KD, Corredor CC, Morales AR, Dessources MA, Hernandez FE. Synthesis and characterization of new fluorene-based singlet oxygen sensitizers. J Fluoresc 2006; 16 (1): 105-10.
107. Southorn PA, Powis O. Free radical in medicine I. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc 1988; 63 (4): 381-9.

108. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants, *Ecotoxicol Environ Saf* 2006; 64: 178-179.
109. Wickens AP. Ageing and free radical theory. *Respiration Physiology* 2001; 128: 379-391.
110. Oruc Ozcan E, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-d and azinphosmethyl. *Comp Biochem Physiol*. 2004; 137: 43-51.
111. Ozkan A, Fiskin K. Free radicals, carcinogenesis and antioxidant enzymes. *Tr J Hem Oncol* 2004; 14: 52-60.
112. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000; 9: 31-9.
113. Kavas GÖ. serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 9: 1-8.
114. Moslen MT. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis. In: Donald Armstrong (Editor) *Free Radicals in Diagnostic Medicine. A systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy*, Plenum Pres, New York 1994: 17-27.
115. Erenel G, Erbaş D. ve Arıcıoğlu A. serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992; 3: 243-250.
116. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361- 370.

117. Ames BN, Shigenaga MK. and Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci 1993; 90 (17): 7915-7922.
118. Yilmaz S, Yilmaz E. Effects of melatonin and vitamin E on oxidative-antioxidative status in rats exposed to irradiation. Toxicology 2006; 222 (1-2): 1-7.
119. Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. Toxicology 2006; 218 (2-3): 164-71.
120. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Radwell VW. Harper'in Biyokimyası. Prof. Dr. Gülriz Mentec, Prof.Dr. Biltan Ersöz (Çevirenler). 1. Baskı, İstanbul: Barıs Kitabevi, 1993.
121. Ateşşahin A, Ceribaşı AO, Yilmaz S. Lycopene, a carotenoid, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007; 100(6): 372-6.
122. Ateşşahin A, Türk G, Yilmaz S, Sönmez M, Sakin F, Ceribasi AO. Modulatory effects of lycopene and ellagic acid on reproductive dysfunction induced by polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) in male rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2010; 106 (6): 479-89.
123. Arteel GE, and Sies H. The Biochemistry of Selenium and the Glutathione System. Environ Toxicol Pharmacol 2001; 10: 153-158.

124. Yılmaz S, İssi M, Kandemir FM, Gül Y. malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014; 25 (2): 41-45.
125. Packer L, Weber SU. and Rimbach G. molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *J Nutr* 2001; 31: 369- 373.
126. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl_3O_2 . *Food Chemistry* 2002; 77: 209-212.
127. Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, et al. Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* 2002; 227(10): 845-51.
128. Rao AV, Fleshner N, Agarwal S.: Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer* 1999; 33 (2): 159-64.
129. Sevindik H. Pembe Greyfurt Suyu ve Domates Pulpunda Likopen ve B-Karotenin Isıl Stababiliteleri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
130. Roa AV, Ray MR, Roa LG. Lycopene. *Adv Food Nutr Res* 2006; 51: 99-164.
131. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch Biochem Biophys* 1996; 336: 1-9.
132. Gerster H. The potential role of lycopene for human health. *J Amer Coll Nutr* 1997; 16: 109-126.

133. Norrish AE, Jackson RT, Sharpe SJ, Skeaff CM. Prostate cancer and dietary carotenoids. *American Journal of Epidemiology* 2000; 151: 23-119.
134. Mohanty NK, Kumar S, Arora RP. Management of idiopathic oligospermia with lycopene. *Indian J Urol* 2001; 18: 57-61.
135. Placer ZA, Cushman L, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biological fluids. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
136. Ellman G. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
137. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU. Editor. *Methods in Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press 1983; 276-286.
138. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974; 249(22): 7130-7139.
139. Beutler E. Red Cell Metabolism. *A Manual of Biochemical Methods*. Grune and Stratton, New York: 1975.
140. Frankel SS, Reitma S, Sonnenwirth AC. Grandwoh's clinical laboratory methods and diagnosis. C. A. Reading and L. E. Glynn (Editors). 7th edition. St Louis, USA 1970: 403-404.
141. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.

142. Suliman HB, Mohammed AF, Awadelsied NA, Shommein AM. Acute mycotoxicosis in sheep: Field cases, *Vet. Hum. Toxicol* 1987; 29 (3): 241-243.
143. Yu J, Bhatnagar D, Ehrlich KC. Aflatoxin biosynthesis. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19: 191-200.
144. Lawson B, MacDonald S, Howard T, Macgregor SK, Cunningham AA. Exposure of garden birds to aflatoxins in Britian. *Sci Total Environ* 2006; 361 (1-3): 124-31.
145. Busbee DL, Norman JO, Ziprin RL. Comparative uptake, vascular transport and cellular internalization of aflatoxin B1 and benzo(a)pyrene. *Arch Toxicol* 1990; 64: 285-290.
146. Seyrek K. Türk silahlı kuvvetleri'ne bağlı birliklerde tüketilen beyaz peynirlerdeki aflatoksin M1 seviyesinin eliza (enzyme-linked immunosorbent assay) metodu ile saptanması. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi* 2001; 55-57.
147. Abdel-Wahhab MA, Ahmed HH, Hagazi MM. Prevention of Aflatoxin B1-Initiated Hepatotoxicity In Rat by Marine Algae Extracts. *J Appl Toxicol* 2006; 26 (3): 229.
148. Georg Hengstler J, Van Der Burg B, Steinberg P, Oesch F. interspecies differences in cancer susceptibility and toxicity. *Drug Metabol Reviews* 1999; 31 (4): 917-970.
149. Shen HM, Ong CN, Shi CY. Involvement of reactive oxygen species in aflatoxin B1 induced cell injury in cultured rat hepatocytes. *Toxicol* 1995; 99 (1-2): 115-23.

150. Witlock DR, Wyatt RD. Effect of dietary aflatoxin on hemostasis of young turkey poults. *Poult Science* 1981; 60: 528-531.
151. Quist CF, Bounous DI, Kilburn JV, Nettles VF, Wyatt RD. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *Journal of Wildlife Disease* 2000; 36 (3): 436-444.
152. Rauber RH, Dilkın P, Giacomini LZ, et al. Performance of turkey poults fed defferent doses of aflatoxins in diet. *Poult Sci* 2007; 86: 1620-1624.
153. Edrington TS, Harvey RB, Kubena LF. Effect of aflatoxin in growing lambs fed ruminally degradable or escape protein sources. *J Anim Sci* 1994; 72: 1274-81.
154. Hinton DM, Myers MJ, et al. Immunotoxicity of aflatoxin B1 in rats: Effects on lymphocytes and the inflammatory response in a chronic intermittent dosing study. *Toxicological Sciences* 2003; 73: 362-77.
155. Çakatay U, Kayalı R. The clinical importance of protein oxidation. *Cerrahpasa Journal of Medicine* 2004; 35: 140-149.
156. Lee JK, Choi EH, Lee KG, Chun HS. Alleviation of aflatoxin B1 induced oxidative stress in HepG2 cells by volatile extract from *Allii Fistulosi* Bulbus. *Life Sciences* 2005; 77: 2896–2910.
157. Fabbri AA, Fanelli C, Panfili G. Lipoperoxidation and aflatoxin biosynthesis by *Aspergillus paraciticus* and *A. flavus*. *J. Gen. Microbiol* 1983; 129: 3447-3452.

158. Preetha SP, Kanniappan M, Selvakumar E, Nagaraj M, Varalakshmi P. Lupeol ameliorates aflatoxin B1-induced peroxidative hepatic damage in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2006; 143: 333-339.
159. Eraslan G, Akdoğan M, Yarsan E ve ark. The effects of aflatoxins on oxidative stress in broiler chickens. *Türk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 701-7.
160. Çelik S. Karaciğer karsinojeni olan aflatoksinlerin biyokimyasal, histolojik etkileri ve sağaltım seçenekleri *Fac Vet Med* 2001; 20: 131-136.
161. Madhusudhanan N, KavithaLakshmi SN, Radha Shanmugasundaram K, Shanmugasundaram E.R.B. Oxidative damage to lipids and proteins induced bu aflatoxin B1 in fish (*Labeo rohita*)- protective role of Amrita Bindu. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2004; 17: 73-77.
162. Reznick AZ, Packer L, Sen CK, et al. Oxidative Stres in Skeletal Muscle. *Free Radical and Oxidative Damage in Biology and Medicine*. In: Halliwell B (Editor). I. Edition. Birkhauser Publisher. London, 1998.
163. Ekinci M. Bronsiyal Astımlı Çocuklarda Glutasyon-S-Transferaz Gen Polimorfizminin Bir Risk Faktörü Olarak Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Arastırma Hastanesi, 2006.
164. Tur L. Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria Chamomilla L.* nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyonkocatepe: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
165. Çimen C, Oter C, Demir H, Savran A. Rat eritrositlerinden elde edilen katalaz enziminin karekterizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005; 16 (1): 15–20.

166. Kanbur M, Karabacak M, Eraslan G, Sarica ZS. effects of tarantula cubensis D6 on aflatoxininduced injury in biochemical parameters in rats 2015; 104 (3): 205-210.
167. Briviba K, Schna K, Rechkemmer G, Bub A. Supplementation of a die low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men. *J. Nutr* 2004; 134: 1081-1083.
168. Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). In: Lott JA, Wolf PL, (Editors). *Clinical Enzymology: A Case-Oriented Approach*. New York: Field, Rich, and Associates 1986: 111–38.
169. Yousef MI, Salem MH, Kamel KI, Hassan GA, EL-Nouty FD. Influence of ascorbic acid supplementation on the haematological and clinical biochemistry parameters of male rabbits exposed to aflatoxin B1. *J Environ Sci Health B* 2003; 38: 193.
170. Raju MV, Devegowda G. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *Br Poult Sci* 2000; 41: 640.
171. Masoero F, Gallo A, Moschini M, Piva G, Diaz D. Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. *Animal* 2007; 9: 1344-1350.
172. Battacone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P, Pulina G. Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *J Dairy Sci* 2005. 86: 3063-3069.

173. Aşıcıoğlu YT. Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Bölümü, 2005.



8. ÖZGEÇMİŞ

10.08.1989 yılında Malatya’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi aynı şehirde tamamladım. 2008 yılında başladığım Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2012 yılında mezun oldum. Aynı yıl Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimime başladım. Bekarım.

