

**T.C  
HARRAN ÜNİVERSİTES  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**LPS İLE İNDÜKLENEN SEPSİS MODELİNDE  
LİKOPENİN BÖBREK HASARI ÜZERİNDEKİ  
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Seyithan GÜNEŞ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Elif OĞUZ**

**ŞANLIURFA  
2016**

**T.C  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**LPS İLE İNDÜKLENEN SEPSİS MODELİNDE  
LİKOPENİN BÖBREK HASARI ÜZERİNDEKİ  
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Seyithan GÜNEŞ**

**DANIŞMAN**


**Doç. Dr. Elif OĞUZ**

**Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymalığı tarafından 15086 proje numarası ile desteklenmiştir.**

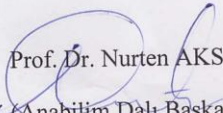
**ŞANLIURFA  
2016**

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Seyithan GÜNEŞ'in hazırladığı "LPS ile İndüklenen Sepsis Modelinde Likopenin Böbrek Hasarı Üzerindeki Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması" konulu çalışması 06.06.2016 tarihinde jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

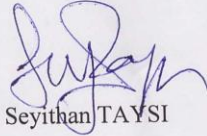
  
Doç. Dr. Elif OĞUZ (Danışman)

Harran Üniversitesi

  
Prof. Dr. Nurten AKSOY  
(Anabilim Dalı Başkanı)


Harran Üniversitesi

ÜYE

  
Prof. Dr. Seyithan TAYSI

Gaziantep Üniversitesi

ÜYE

25/08/2016  
  
Prof. Dr. Mustafa DENİZ  
SAĞLIK BİL. ENST. MÜDÜRÜ

## ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli ortamı hazırlayan ve araştırmanın planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda benden yardımlarını esirgemeyen ve umutsuzluğa kapıldığım her anda bana çok büyük destek sağlayan sevgili hocam Doç. Dr. Elif OĞUZ'a teşekkürü borç bilirim. Tezimin deneysel aşamasında laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarım ve teknisyenlerine, arkadaşım Şükrü AKMEŞE'ye, Veteriner Fakültesi Patoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Rahşan YILMAZ hocama şükranlarımı sunarım.

Seyithan GÜNEŞ

<b>ÖNSÖZ</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	iv
<b>TABLO DİZİNİ</b> .....	v
<b>KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>ÖZET</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1-2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Sepsis.....	3
2.1.1. Tanım .....	3
2.1.2.Epidemoloj .....	3-4
2.1.3. Etyoloji .....	4
2.1.4. Patogenez .....	4-7
2.2. Likopen.....	7
2.2.1. Likopenin Yapısı ve Özellikleri .....	8-9
2.2.2. Likopenin Etki Mekanizmaları.....	9-10
2.2.2.1 Likopenin Antioksidan Etkileri. ....	11
2.2.2.2 Likopenin Antiinflamatuvar Etkisi .....	12
2.2.3. Likopenin Emilimi ve Doku Dağılımı .....	12
2.2.4. Likopen İle İlgili Deneysel Çalışmalar .....	13-14
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	15
3.1. Serum ve Dokuda TNF- $\alpha$ Düzeyinin Belirlenmesi .....	15-16
3.2. Serum ve Dokuda IL-1 Düzeyinin Belirlenmesi .....	16-17
3.3. Serum ve Dokuda IL-6 Düzeyinin Belirlenmesi .....	17-18
3.4. SOD Ölçümü .....	18
3.5. NO Ölçümü .....	19

3.6. Histopatolojik Değerlendirme .....	19-20
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>21-24</b>
<b>5. TATRIŐMA .....</b>	<b>25-28</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİ .....</b>	<b>29</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>30-41</b>
<b>8. EKLER .....</b>	<b>42</b>
<b>ETİK KURUL KARARI .....</b>	<b>42</b>



<b>Şekil 1:</b> Sepsis Sürecinde Patogenez Basamakları .....	5
<b>Şekil 2:</b> Sepsis ve Septik İlişkili-AKI Patofizyolosinde Anahtar Patojenik Yolaklar .....	7
<b>Şekil 3:</b> Likopenin Kimyasal Yapısı .....	8
<b>Şekil 4:</b> Likopenin Etki Mekanizmaları .....	10
<b>Şekil 5:</b> TNF- $\alpha$ Standart Eğrisi .....	16
<b>Şekil 6:</b> IL-1 Standart Eğrisi .....	17
<b>Şekil 7:</b> IL-6 Standart Eğrisi .....	18
<b>Şekil 8:</b> SOD Standart Eğrisi .....	18
<b>Şekil 9:</b> NO Standart Eğrisi .....	19
<b>Şekil 10:</b> Böbrek Dokusu .....	21

<b>Tablo 1:</b> Gruplara Göre Histopatolojik Değişiklikler.....	22
<b>Tablo 2:</b> Böbrek Dokularında Ölçülen Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	22
<b>Tablo 3:</b> Böbrek Dokularında Ölçülen Nitrik Oksit (NO) ve Süperoksid Dismutaz (SOD) Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	23
<b>Tablo 4:</b> Serumda Ölçülen Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	23
<b>Tablo 5:</b> Serumda Ölçülen Nitrik Oksit (NO) ve Süperoksid Dismutaz(SOD) Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	24





## KISALTMALAR

LPS	:Lipopolisakkarit
CAT	:Katalaz
GR	:Glutasyon reduktaz
GSH	:Glutasyon
GST	:Glutasyon S-transferazlar
SOD	:Süperoksit dismutaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	:Hidrojen peroksit
L·	:Lipid radikali
LOO·	:Lipit peroksil
LOOH	:Lipit hidroperoksit
MDA	:Malondialdehit
NO	:Nitrik Oksit
O <sub>2</sub> ·	:Süperoksit radikalleri
OH·	:Hidroksil radikalleri
ROO·	:Peroksi
ROOH	:Hidroperoksit
ROS	:Reaktif oksijen seviye
IL-1	:İnterlökin-1
IL-6	:İnterlökin-6
TNF- $\alpha$	:Tümör nekroz faktör- $\alpha$
NF- $\kappa$ B	:Nükleer Faktör- $\kappa$ Beta

## ÖZET

### LPS İLE İNDÜKLENEN SEPSİS MODELİNDE LİKOPENİN BÖBREK HASARI ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Seyithan GÜNEŞ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Adını domatesten (*Solanum lycopersicum*) alan likopen, başta domates olmak üzere çeşitli bitkilerde bulunan kırmızı renkli karotenoid bir pigmenttir. Yapılan bilimsel çalışmalar likopenin intraperitoneal olarak aktif ve nontoksik olduğunu ve likopen düzeyi ile böbrek hasarı üzerinde negatif korelasyon olduğunu göstermektedir. Likopenin böbrek hasarında lipid peroksidasyonu (LPO) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) aktiviteleri düzeylerini düşürerek koruma sağladığı kaydedilmiştir. Likopenin etkin oksijen radikalleriyle ilişkili olarak yüksek düzeydeki oksidatif strese karşı etkisi gösterilmiştir. Çalışmamızda LPS ile böbrek hasarı oluşturulan ratlarda likopenin etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışma ile sepsise bağlı gelişen böbrek hasarının tedavisi için yeni yaklaşımların ortaya çıkarılması hedeflenmektedir. Deneyde 28 adet Wistar Albino ırkı sıçan kullanıldı. Sıçanlar DOLLVET-HADYEK Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve burada uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu. Sıçanlar dört gruba ayrıldı: Grup I: Kontrol, 5 gün süre ile 0.5 ml intraperitoneal (i.p) yolla izotonik %0.09 NaCl, Grup II: LPS (s.c.10 mg/kg) , Grup III: 5 gün süre ile Likopen (i.p.10 mg/kg) sonrasında LPS (s.c.10 mg/kg), Grup IV: 5 gün süre ile Likopen (i.p.50 mg/kg) sonrasında LPS (s.c.10 mg/kg). Serum sitokin düzeyleri üzerinde düşük doz likopen kullanımının LPS grubuna göre anlamlı bir fark göstermediği, ancak yüksek dozun TNF- $\alpha$  ve IL-1 sitokin seviyelerinde anlamlı düşüş sağladığı saptandı. Çalışmamızda böbrek dokusunda SOD, NO düzeyleri değerlendirildiğine, likopen uygulamasından sonra LPS verilen grubun NO düzeylerinin düştüğü, SOD enzim aktivitesinin yükseldiği ve LPS grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu tespit edildi. Böbrek dokusunda IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin düzeyleri likopen sonrası LPS uygulaması yapılan gruplarda LPS grubuna göre düşüktü ancak yüksek likopen dozunun sitokinler üzerinde düşük doz likopenine göre daha etkili olduğu görüldü.

Bu çalışmanın sonuçları likopenin sepsisle ilişkili böbrek hasarında koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Likopen, böbrek, lipopolisakkarit, sepsis, antioksidan, sıçan

## ABSTRACT

### THE INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECT OF LYCOPENE ON KIDNEY DAMAGE IN LPS-INDUCED SEPSIS MODEL

Seyithan GÜNEŞ

Department of Medical Biochemistry, Master Thesis

Lycopene named from tomato (*Solanum lycopersicum*) is a red carotenoid pigment found in various plants, mainly in tomato. Scientific studies showed that lycopene is active and non toxic intraperitoneally and lycopene level and kidney damage have a negative correlation. In order to prevent kidney damage, lycopene is seen to provide a significant decrease in the levels of lipid peroxidation (LPO) and reduced glutathione (GSH) activities. It was showed that lycopene was effective in oxidative stres related oxygen radicals. In our study, it was aimed to investigate the effect of lycopene on rats that were composed kidney damage with LPS. It was aimed to find out new approaches in the tretament of sepsis-induced renal damage by this study. Twenty eight Wistar Albino rats were used in experiments. The rats were provided from DOLLVED HADYEK Experimental and Clinical Research Center and were kept in DOLLVET HADYEK Experimental Animals Laboratory in special cages and fed under proper nutriton conditions. The rats were divided into four groups; Group I: Control, for 5 days with 0.5 ml intraperitoneal (ip) route isotonic 0.09% NaCl. Group II: LPS (SC10 mg / kg), Group III: Lycopene 5 days (IP10 mg / kg) followed by LPS (SC10 mg / kg). Group IV: Lycopene 5 days (IP10 mg / kg) followed by LPS (SC10 mg / kg). It is determined that there was not a significant difference in serum cytokine levels in low dosage of lycopene compared to LPS group but that high dosage supplied a significant decrease in TNF- $\alpha$  and IL-1 levels. When levels of SOD and NO evaluated in kidney tissue, a significant decrease in levels of NO and a significant increase in SOD enzyme activities in lycopene administrated group compared to LPS group in our study. The renal tissue IL-1, IL-6 and TNF-  $\alpha$  levels were lower in the group applied lycopene before LPS compared to LPS group, but it was seen that high dose lycopene was more effective than low dose on cytokine levels.

The results of this study indicate that lycopene has protective effect in sepsis- related kidney damage.

**Keywords:** Lycopene, kidney, lipopolysaccharide, sepsis, antioxidant, rats

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde dahi anlaşılması zor sendromlardan biri olan sepsis infeksiyöz bir olayda gelişebilen sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromu (SIRS) olarak tanımlanmaktadır. Sepsis ve septik şok, ileri yoğun bakım desteği ve uygulanan modern tedavilere rağmen mortalitesinin yüksek olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Hastada oluşan inflamatuvar yanıtın derecesine göre klinik tabloda kalp, akciğer, karaciğer ve akut böbrek yetmezliği (ABY) gibi çoklu organ yetmezliği, koagülopati ve ölüm gelişebilmektedir (1,2). Sepsiste sık görülen bir komplikasyon olup prognozu kötüleştirmekte olan ABY sepsiste %19, ağır sepsiste %27 ve septik şokta %51 oranında görülebilmektedir. Sepsis ve septik şokta böbreklerde fonksiyon bozukluğu, kreatinin yükselmesi, oligüri ve kreatinin kirlensinin azalması glomerüler filtrasyon oranının azalmasına neden olmaktadır. Sepsis hasta grubunda mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli faktörlerden biri olan ABY'nin geliştiği septik hastalarda mortalite %74.5 iken böbrek yetmezliği olmayan septik hastalarda ise bu oran %45.2 olarak bildirilmiştir (3,4).

Sepsisteki ABY'nin patogenezinde birçok faktör sorumlu tutulmaktadır. Patogenezinde sistemik ve lokal birçok mediyatörlerin rol aldığı belirtilmektedir. Sistemik mediyatörler arasında norepinefrin, anjiyotensin II, vazopressin lokal mediyatörlerden de başta tümör nekrozis faktör (TNF) olmak üzere interlökin (IL)1, adezyon molekülleri, serbest oksijen radikalleri, tromboksan A<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>, lökotrienler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, endotelin, nitrik oksit (NO) ve adenozinin etkili olduğu üzerinde durulmaktadır (5). Sepsiste serbest oksijen radikalleri (SOR) aktive olan immün sistem hücreleri tarafından üretilip oksidatif hasara neden olmakta ve bu da sepsisin patogenezinde önemli bir etken olmaktadır (6). ROS'lar endojen olarak meydana gelen reaktif okside edici moleküllerdir. Bu moleküllerin hücrelerin yapı elemanları ile reaksiyona girmesiyle proteinler, lipidler ve DNA oksidatif hasara uğramaktadır.

Antioksidanların ROS'ları bloke eden koruyucu ajanlar olup oksidatif hasarı önemli ölçülerde azalttığı bildirilmektedir. Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutatayon peroksidaz (GPx) gibi antioksidanlar insan metabolizmasında doğal olarak bulunan enzimlerdir. Bunlara ek olarak vitamin C, vitamin E ve karotenoidler gibi birçok antioksidanlar ise ekzojen kaynaklı olarak gıdalardan elde edilmektedir. Yapılan birçok çalışmada bu ekzojen antioksidanların hastalıkları önemli ölçüde önlediği belirtilmektedir. Oksidasyona karşı diğer bir önemli antioksidan ise likopendir (7, 8).

Likopen 11 konjuge ve 2 non-konjuge çift bağlı asidik, lineer yapıda ve doymamış bir karotenoidtir (9). Yapısındaki çift bağ sistemi aracılığıyla serbest oksijen radikallerini yakalayabilmektedir. Hidroksil (HO·), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hipoklorik asit (HOCl), NO·, ve peroksinitrit (ONOO·) gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ederek onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önlemektedir (10). Ayrıca SOD aktivitesini arttırarak; süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonun katalizler. Glutasyon (GSH) üzerinden de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur (7, 8).

Gram (-) bakterilerin hücre çeperlerindeki lipopolisakkarit (LPS; endotoksin olarak da bilinmektedir) septik sürecin başlaması ve ilerlemesinde etkin rol oynamaktadır Lipopolisakkarid (LPS) gram-negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilen, deneysel hayvan septik şok modellerinde kullanılan, glikolipid yapıdaki maddeler grubudur. Toz halindeki LPS planlanan deneysel çalışma prokollerine göre suda çözünerek deney hayvanlarına periton veya damar içine tek doz veya infüzyon şeklinde verilir (11-14).

Bu çalışmada LPS ile böbrek hasarı oluşturulan ratlarda likopenin etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmamızdan elde edilecek verilerle sepsiste böbrek hasarını önleyici yeni yaklaşımların ortaya çıkarılması hedeflenmektedir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Sepsis**

#### **2.1.1. Tanım**

Sepsis, infeksiyon ile birlikte görülen Sistemik İnflamatuvar Reaksiyon Sendromu (SIRS) varlığıdır. Ağır sepsis ise organ disfonksiyonları, hipoperfüzyon ve hipotansiyon ile birlikte görülen sepsis olarak tanımlanmaktadır. Septik şok yeterli sıvı tedavisine rağmen hipotansiyon ve perfüzyon bozukluklarıyla seyreden sepsistir. Nedene bakılmaksızın vücutta oluşan bağışıklık tetiklenmesi olarak bilinen SIRS bir dizi infeksiyon veya infeksiyon dışı etkenden kaynaklanabilir. Sepsis hayatı tehdit eden bir infeksiyondur ve Yoğun Bakım Ünitelerinde (YBÜ) yatan hastaların %37'sinin nedeni sepsis ve septik şoktur. Mortalitenin azaltılması için hızlı, uygun ve yoğun bir tedavi gerekmektedir (16-18).

Sepsisin bulguları ve belirtileri spesifik değildir. Klinik bulguların çeşitliliği ve farklı klinik seyir tanıda gecikmelere neden olmaktadır. Klinik tanıyı destekleyen unsurlar vücut sıcaklığı, lökosit sayısı ve bakteri sayısı olarak sıralanmaktadır (18). Hücre biyolojisindeki ilerlemeler sepsisin fizyolojisini anlaşılır kılmakta, sitokinleri ve mediatörleri tanımlayarak etki mekanizmalarını açıklamaktadır (19).

#### **2.1.2. Epidemiyoloji**

Sepsis ABD'de insidansı her yıl artış gösteren klinik bir vaka olarak görülmektedir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi 1970'li yılların başında 71.000-140.000 vaka kaydını bildirmektedir. Zamanla bu oran artış göstermiş ve yıllık vaka 1978'de 425.000 olarak bildirilmiştir. Yıllık artış oranı %8-13 olarak bildirilmektedir. Amerika Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi 1996 yılında ölüm nedenleri arasında sepsisi ilk on arasında göstermektedir (20, 21). Yoğun bakım hastalarının ölüm sebepleri arasında birinci sırada gelmektedir (22). Ülkemizde 1983-1989 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi hastanesinde yatan hastaların gram (-) sepsis indisansının 42/1000, mortalitesinin ise %45 olduğu bildirilmiştir (15).

Hastanelerdeki mortalitelerinin yaklaşık olarak %30'u gram (-) bakteriyemli hastalardır. Hastalığın şiddeti mortaliteyi belirleyen en önemli faktör olarak bildirilmektedir.

Balk ve ark. septik şok gelişen hastanelerde mortaliteyi yaklaşık %43 olarak kabul edilmektedir. Mortaliteyi arttıran nedenler; yaygın damar içi pıhtılaşma, yaygın organ yetmezliği, şok, laktik asidoz, erişkin solunum yetmezliği sendromu gibi komplikasyonların gelişimidir. Ayrıca birden fazla mikroorganizmanın eşlik ettiği enfeksiyon, antibiyotik tedavisindeki yetersizlik mortaliteyi arttıran nedenler arasındadır. Septik ve septik sendromlu hastalarda mortaliteyi genel olarak %20-30 olarak kabul edilmektedir (23-26).

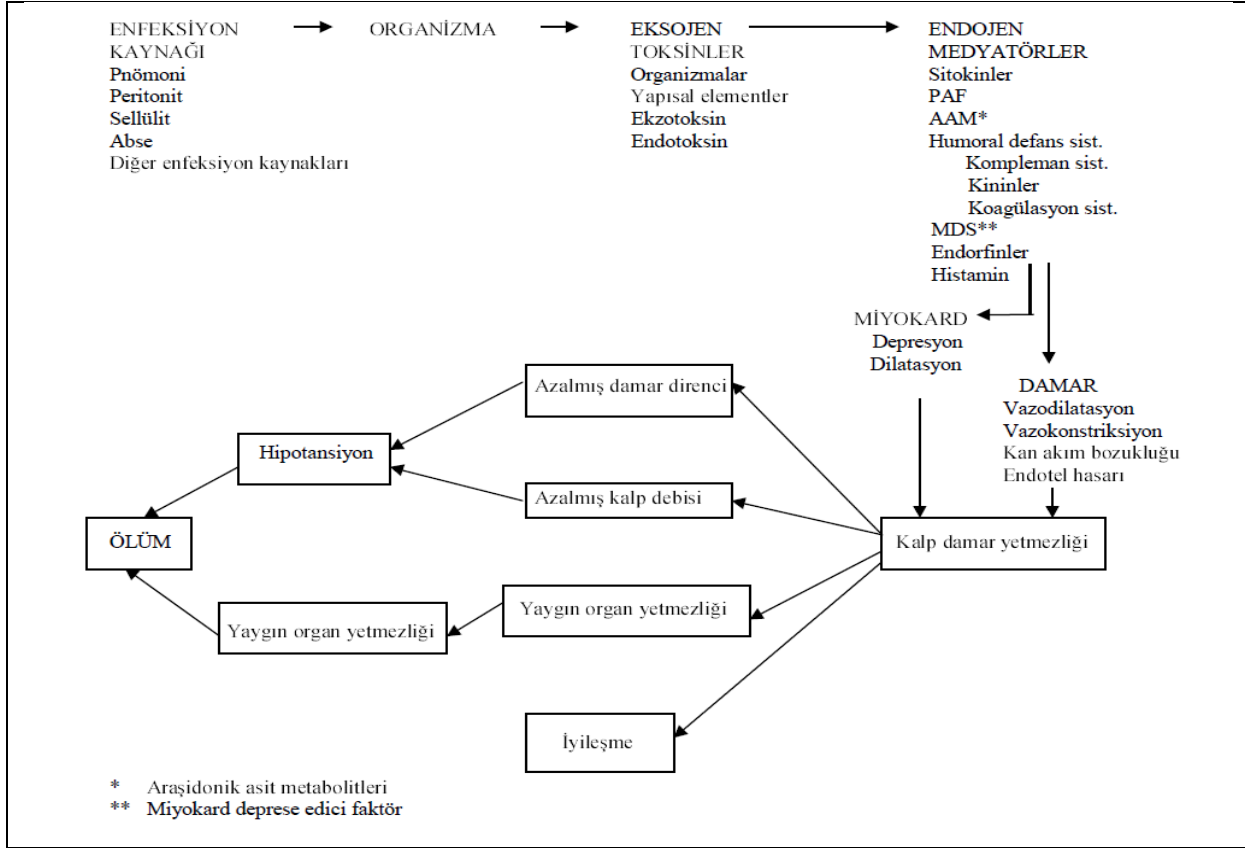
### **2.1.3. Etiyoloji**

Sepsis funguslar, virüsler, bakteriler ve parazitler gibi çeşitli mikroorganizmalardan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca ağır travma, pankreatit gibi non infeksiyöz olaylara bağlı olarak gelişebilmektedir. Klinik tabloda gram (+), gram (-) veya funguslarla meydana gelen infeksiyonlar aynıdır. Fakörler arasında kişinin hastanede yatıyor olması veya olmaması, yaşı, hastalık nedeni gibi pek çok etkene bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Toplum kökenli sepsislerde genelde en sık rastlanan etkenler; *Escherichia coli* (%22), *Streptococcus pneumoniae* (%16), *Staphylococcus aureus* (%12)'dur. Ancak antibiyotiklerin kullanılmaya başlaması ile birlikte gram (+) bakterilere bağlı hastalıklar tedavi edilebilir hale getirilmiş ve 1960-1980 yılları arasında gram (-) bakterilere bağlı hastalıkların yaklaşık %50'den fazlasında etken rol oynadığı bildirilmiştir (27-29). Vücuda giren çeşitli yabancı materyaller ve bu yabancı materyallere yapışabilen koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu sepsis insidansında da önemli artışlar gerçekleşmiştir. Enterekok kaynaklı sepsis olgularında giderek daha sık rastlanıldığı da bildirilmektedir. Bu durumu hazırlayan risk faktörleri arasında uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, parantral hiperlimentasyon, intravasküler kateter uygulaması ve kortikosteroid tedavisi sayılabilir (29, 30).

### **2.1.4. Patogenez**

Sepsis fizyopatolojisinde, mikrobiyal patojenler ve inflamatuvar yanıt rol almaktadır. Dokularda oluşan infeksiyon ve travmatik hasara bağlı olarak vücutta hümmoral sistemin aktive olduğu ve çeşitli sitokinlerin salındığı gösterilmiştir. Sepsiste hedef organ damar endotelidir ve hemen hemen bütün mediyatörler damarlar üzerine etkilidir. Endotel, inflamasyon mediyatörlerinden etkilenerek belirgin değişikliklere uğrayarak damar tonusunun düzenlenmesi bozulmakta, lökositler aktive olarak endotele yapışıp koagülasyonun aktivasyonu sonucu mikrotrombüsler oluşmakta ve eritrositler sertleşerek ince kapillerlerin

tıkanmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak mikrodolaşım önemli ölçüde bozulmaktadır (31-35). Endojen mediatörlerin sistemlerin hemodinamisini bozması ve vasküler permeabilityyi artırması sonucu yaygın organ yetmezliği ve ölüm ile sonuçlanır (Şekil 1). Sepsiste en sık karşılaşılan organ yetmezliği; karaciğer, akciğer, kalp ve akut böbrek yetmezliğidir (12).



Şekil 1. Sepsis Sürecinde Patogenez Basamakları (36).

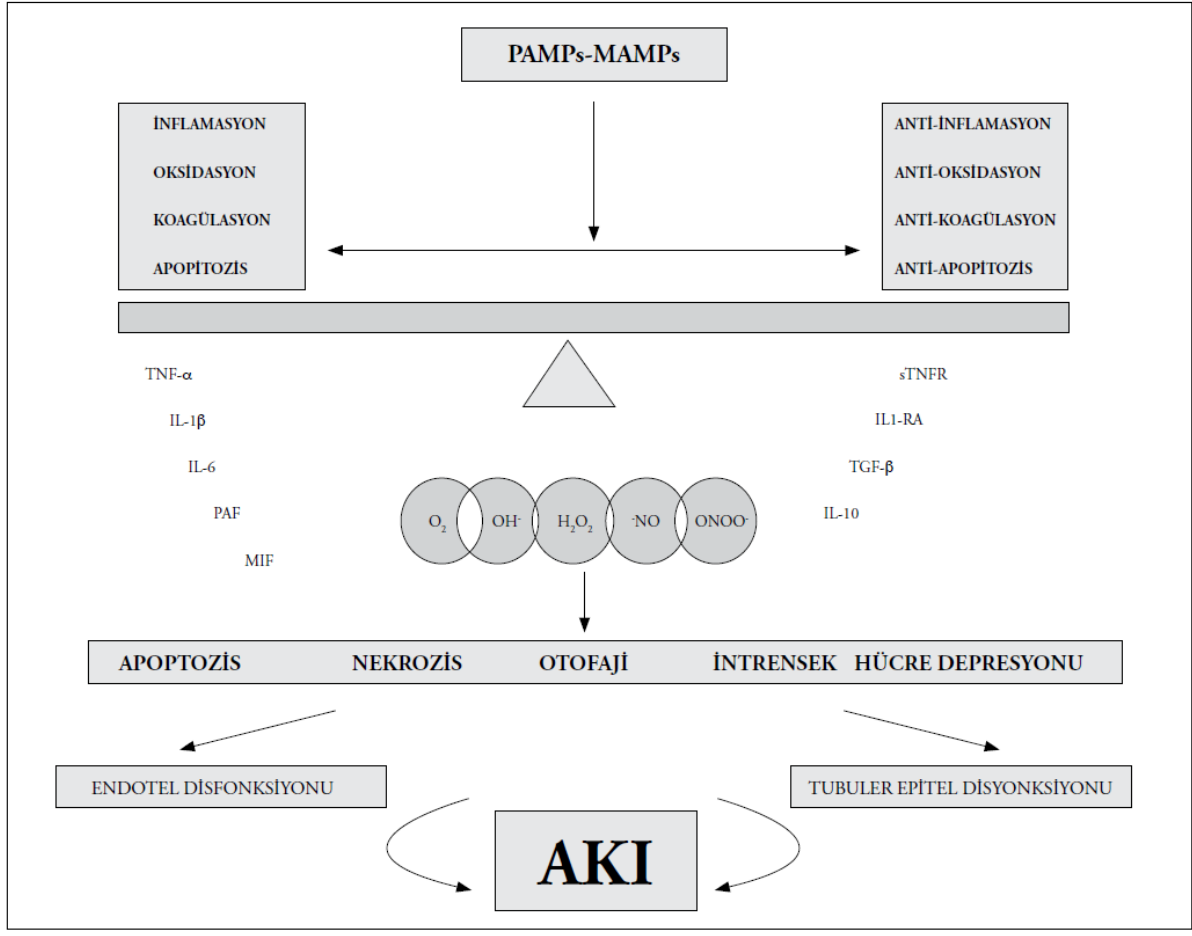
Akut böbrek yetmezliği yoğun bakım ünitelerindeki hastaların yaklaşık %15'inde görülmektedir (37). Septik akut böbrek yetmezliğinde toksik ve immünolojik faktörler tartışmalı bir konudur (38).

Sepsiste çeşitli inflamatuvar sitokinler, vazoaktif maddeler ve trombojenik ajanların rol oynadığı belirtilmektedir (39, 40). Sitokinler proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özelliği olan peptitlerdir (41). Bu sitokinlerden en önemlileri; TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6 ve trombosit aktive eden faktör (PAF)'dır (12). Sitokinler glomerül, endotel ve mezansiyal hücrelerde plazminojen aktive eden faktör, endotelin 1, adenozin gibi vazokonstriktör, nitrik oksit (NO) ve PGE<sub>2</sub> gibi vazodilatatör maddelerin sentezlerini arttırdığı bilinmektedir. TNF- $\alpha$ , NO üretiminin, proinflamatuvar sitokinlerin artışını sağlayarak makrofajların önemli bir aktivatörü konumundadır. Gram (-) bakteriyel enfeksiyonlarda, bakteri hücre duvarının polisakkarit



komponentleri iNOS'u uyararak aşırı NO yapımına bağlı şiddetli hipotansiyon, şok ve ölüme neden olabilmektedir. Öte yandan aşırı NO, iNOS'un sekresyonunu arttırarak organ rejeksiyonuna neden olabilmektedir (42).

Aynı zamanda mikroorganizmalar ve onların ürünleri nötrofilleri uyararak proteaz ve serbest radikallerin salınmasına neden olmaktadır. Organizmanın hücreleri ile mikroorganizma ve mikroorganizmanın ürünleri etkileşime girdiği zaman lipoprotein bağlayıcı proteinlere bağlanan LPS yapısındaki komponentler için birçok reseptör rol oynamaktadır. LPS'ye bağlı bölgelerin ve sitokinlerin bulunduğu genetik polimorfizmler sepsiste immünolojik cevabın oluşmasında etkilidir. İlk uyarının gelmesiyle kompleman sistem ve koagülasyon kaskadı aktive olmaktadır. IL-1 ve TNF- $\alpha$  endotel hücrelerini aktive ederek damar içi pıhtılaşmayı gerçekleştirmektedir. IL-1 ve TNF- $\alpha$  sitokinlerin protitipini oluşturur ve LPS'ye bağlı septik şok tablosunun oluşmasında son derece etkilidir. Organizmada dengeyi kurabilmek için anti-inflamatuar yanıt oluşturmaktadır. Sonuç olarak inflamasyon antiinflamatuvar cevap, koagülasyon fibrinolizisi sonucunda yaygın damar içi pıhtılaşmaya neden olmaktadır. Bunların sonucunda hipoperfüzyon, mikrovasküler tromboz, iskemi ve doku hasarı oluşur. Klinik tablo ise; sepsis, septik şok, çoklu organ yetmezliği ve ölüm ile karakterizedir (2, 28, 43, 44). Bu durum şekil 2'de özetlenmiştir.



**Şekil 2.** Sepsis ve Septik İlişkili-ABY Patofizyolosinde Anahtar Patojenik Yolaklar (45).

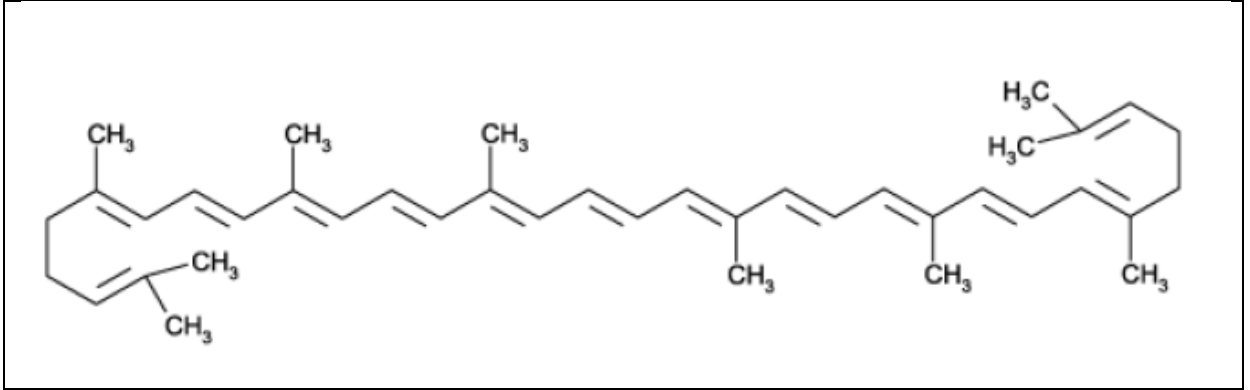
## 2.2. Likopen

Likopen  $C_{40}$  yapısında bir karotenoid polien olup domates ve domates ürünlerine kırmızı rengini veren doğal bir pigmenttir. Büyük çoğunluğu domateste olmak üzere pembe greyfurt, karpuz, kayısı gibi sebze ve meyvelerde bulunmaktadır (46, 47).

Likopenin sentezi yalnızca bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından yapılabilmektedir. İnsanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenemeyip ancak gıdalarla alınabilen önemli bir non enzimatik antioksidan ajandır (8, 48). Likopen insan plazmasındaki en baskın özelliğe sahip olan karotenoiddir. Karotenoidler oksidatif hasarlara karşı dokuları koruyarak etki gösterirler (49, 50).

### 2.2.1. Likopenin Yapısı ve Özellikleri

Likopen, domatesin Latince ismi olan *Solanum lycopersicum*'dan türetilmiştir (51). Likopen, bir alifatik hidrokarbondur ve doğal olarak bulunan yaklaşık 600 karotenoitten bir tanesidir (52). Likopen ilk 1910'da izole edilmiş ve 1931'de molekül yapısı belirlenmiştir. Moleküler ağırlığı 536 olan 40 karbon ve 56 hidrojen atomundan ( $C_{40}H_{56}$ ) ve izopren ünitesinden oluşan simetrik bir tetraterpendir (Şekil3). Likopen 11 konjuge ve 2 non-konjuge çift bağ içerir. Uçlarda yer alan metil grupları 1,6 pozisyonunda, diğerleri ise birbirinden bağımsız olarak 1,5 konumda yer almaktadır. Bu özellik onların singlet oksijen ( $O_2^{\cdot}$ ) toplamalarına izni vermektedir (9, 53). İndirgenmeden önce bir molekül likopen binlerce tekli oksijen molekülü bağlayabilir (52).



Şekil 3. Likopenin Kimyasal Yapısı (7).

Likopen asidik özelliği olan hidrokarbon sınıfına ait bir karotendir. Asidik olması ve  $\beta$ -iyonin halkası içermesinden dolayı provitamin A aktivitesine sahip değildir. Bu biyokimyasal özelliği sayesinde  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten gibi karotenlerden ayrılmaktadır. Biyolojik organizmalar tarafından all-trans izomerlerden sentezlenmekte ancak ağırlıklı olarak trans formda bulunmaktadır (54, 55). Ayrıca ısı, ışık veya yapısındaki çift bağların kimyasal reaksiyonlara maruz kalması, likopenin mono ya da poli cis izomerlerinin üretilmesini sağlamaktadır (56).

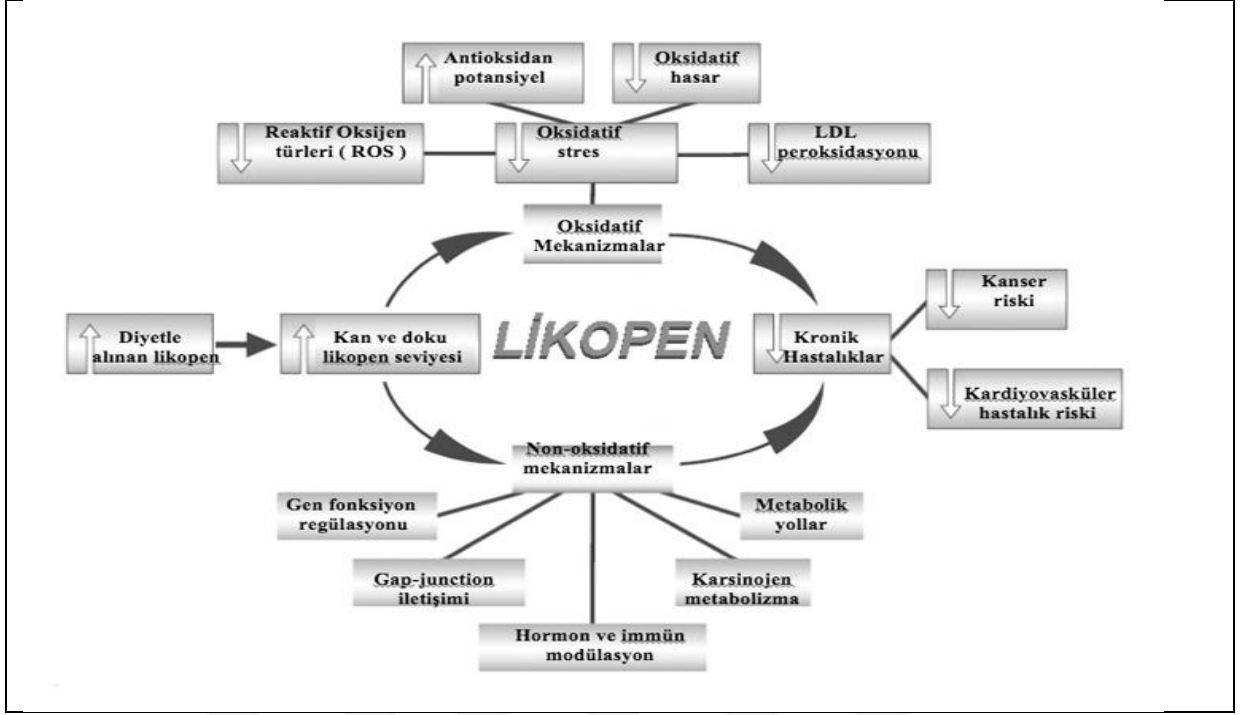
Diyetle alınan likopen predominant olarak all-trans formda olmasına rağmen, insan doku ve serumunda %50'den fazlası cis formlarda izomerik karışım halinde bulunmaktadır (57, 58). Cis izomerlerin safra asidi misellerinde daha iyi çözünmesi ve daha az çökmesi nedeniyle absorpsiyonlarının daha iyi olmasına bağlanmaktadır. Likopenin konjuge polien zinciri elektronlarca zengin bir sisteme sahiptir ve reaktifler tarafında saldırılara karşı açık bir hedefdir. Oksidasyon ile  $OH^{\cdot}$  ve çeşitli peroksil radikaller gibi serbest radikaller ile hızlı bir

şekilde yıkılmaktadır. Karotenoidlerin lipoksijenaz gibi enzimatik aktivitelerinin oksidatif bozunmayı hızlandırdığı bildirilmektedir. Lipoksijenaz doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerini okside ederek peroksit oluşumunu gerçekleştirmekte ve dönüşümlü olarak karotenoidlerle reaksiyona girmesini sağlamaktadır (59, 60). Bu aktivitesi biyolojik sistemlerde bir antioksidan aktivitesi kaynağı olmasını sağlamaktadır (54, 61).

Likopen karotenoidler arasında en etkili singlet oksijen tutucusudur. Yapısındaki  $\beta$ -iyonin halkalarının açılması bu etkisini önemli derecede arttırmaktadır (62, 63). İnsan plazmasında predominant durumdadır; yaşam biçimi ve bazı biyolojik faktörlerden etkilenmektedir. Lipofilik doğasından dolayı düşük dansiteli ve çok düşük dansiteli lipoprotein fonksiyonlarında yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca insan vücudunda testisler, adrenal bezler, prostat bezi ve karaciğer dokusunda yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Likopenin bu şekilde dokularda spesifik olarak dağılımı antioksidan rolüne dayandırılmaktadır (54, 56, 64, 65, 66) Çoğu epidemolojik olan çalışmalarda da göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserleri, kalp damar rahatsızlıkları, Alzheimer hastalığı, osteoporoz, tip 2 diyabet, dejeneratif göz hastalıkları ve renal iskemi gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu belirtilmektedir (9, 52, 53, 67).

### **2.2.2. Likopenin Etki Mekanizmaları**

Likopen yapısındaki çift bağların fazla olması nedeniyle, diğer karotenoidlere oranla daha çok singlet oksijen yakalar. Ayrıca hidrojen peroksit ve nitrojen dioksiti de inaktive etme yeteneği vardır. Diğer karotenoidler gibi tiyol ve sülfonil radikallerini de tutar. Nitrojen dioksitin neden olduğu membran hasarı ve hücre ölümüne karşı lenfositleri korumaktadır. Likopenin antioksidan özellikleri yanında hücreler arası iletişimdeki rolüyle de hücreleri kansere karşı koruduğu bildirilmektedir (4, 64). Likopen aynı zamanda gen fonksiyonu düzenleme, boşluklar arası bağlantı sağlama, hormon ve bağışıklık modülasyonu, karsinogen metabolizması ve faz II ilaç metabolize edici enzimleri içeren metabolik yollar dahil birçok olayda, çeşitli mekanizmalarla etki göstermektedir (Tablo 1)( 64).



Şekil 4. Likopenin Etki Mekanizmaları (69).

ROS'lar endojen olarak meydana gelen reaktif okside edici moleküllerdir. Bu moleküller hücrelerin yapı elemanları ile reaksiyona girerek proteinler, lipidler ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidatif hasara uğramasına neden olmaktadır. Bu hasarların bazı kronik hastalıklara sebep olduğu yönünde görüşler mevcuttur (70-72). Antioksidanların ise ROS'ları bloke eden koruyucu ajanlar olup oksidatif hasarı önemli ölçülerde azalttığı bildirilmektedir. CAT, SOD ve GPx gibi antioksidanlar insan metabolizmasında doğal olarak bulunan enzimlerdir. Bunlara ek olarak vitamin C, vitamin E ve karotenoidler gibi birçok antioksidan ise ekzojen kaynaklı olarak gıdalardan elde edilmektedir. Yapılan birçok çalışmada bu ekzojen antioksidanların hastalıkları önemli ölçüde önlediği belirtilmektedir. Oksidasyona karşı diğer bir önemli antioksidan ise likopendir (7, 8). Likopen SOD aktivitesini arttırarak; süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonun katalizler. GSH üzerinden de  $H_2O_2$ 'yi suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur. Yapılan çalışmalarda likopenin glutatyon redüktaz aktivitesini arttırarak oksido-redüktaz dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden koruduğu belirtilmiştir (7, 8, 73).

### 2.2.2.1. Likopenin Antioksidan Etkileri

Hücreler oksidatif stres ile baş edebilmek için faz 1 ve faz 2 enzimlerini indükler. Faz 2 enzimlerinin ekspresyonu transkripsiyon faktörü nükleer faktör E2 p45 ilgili faktör (Nrf2) ve antioksidan yanıt elementi tarafından regüle edilir. Faz 2 enzimlerinin indüksiyona uğraması sonucu promoter bölgedeki sis-regülerlatör DNA dizilimini aracı olmakta ve bu dizilim antioksidan yanıt olarak tanımlanmaktadır (74, 75). Likopenin faydalı etkilerinin bir kısmını metabolitlerinin faz 2 detoksifikasyon enzimlerinin ekspresyonlarını indüklemesine bağlı olduğu bildirilmektedir (76).

Birçok faktörün etkisi ile ortaya çıkan ROS'lar lipid, protein ve DNA gibi biyomolekülleri etkileyerek osteoproz, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıkların ortaya çıkma olasılığını arttırmaktadır (72, 77, 78). Likopen yapısındaki konjuge çift bağlar sayesinde ROS'ları etkisiz hale getirmektedir (54, 79). Pek çok araştırmada, karotenoidlerin antioksidan etkilerinin konjuge çift bağ sayısına polien zincirinin yapısına ve fonksiyonel gruplarına bağlı olduğu bildirilmiştir (80, 81). Likopenin diğer bir antioksidan aktivitesi ise serbest radikaller ile reaksiyona girmesidir. Reaksiyonda meydana gelen karotenoid radikaller uzun polien zinciri tarafından stabilize edilmektedir. Elektronların yoğunluğu zincir boyunda değişkenlik göstermemektedir. Bu özelliği sayesinde likopen molekülü birden fazla serbest radikalın etkinliğini ortadan kaldırmaktadır (61, 79).

Hücre kültürlerinde peroksinitrite bağlı protein nitrasyonu ve DNA zincir kırılmalarının likopen ile tedavi sonucu inhibe edildiği bildirilmiştir. (82). Diğer bir çalışmada da hidrojen peroksit ile muamele edilen insan hepatoma hücrelerinde likopenin doza bağlı olarak DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir (83).

Likopenin antikarsinojenik etkisi birkaç mekanizma ile belirtilmektedir (84). Birinci görüş likopenin, hücre döngüsünün G<sub>0</sub> ve G<sub>1</sub> evrelerinde kanserli hücrelerin poliferasyonunu inhibe ettiği yönündedir (85). İkinci görüşe göre ise DNA ve lipoproteinleri koruyarak karsinogenezi önlediği şeklindedir (86). Liu ve ark. likopenin prostat kanserinde hücrel lokalizasyonu incelemişler ve %55 nükleer membranda, %26 ise nükleer matrikste lokalize olduğu tespit etmişlerdir (87).

Serbest oksijen radikalleri iskemi sonrasında reperfüzyon ile oluşmakta ve iskemik akut renal yetmezliği patogenezinde önemli roller oynamaktadır. İskemi-reperfüzyonu takiben MAD düzeylerinde önemli ölçüde artışlar göstermektedir. Likopen uygulaması ile iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkileri olduğu belirtilmiştir (88).

### **2.2.2.2. Likopenin Antiinflamatuvar Etkisi**

Likopenin oksidan radikallerini yok etme aktivitesi önemli antioksidan özelliklerinden biridir. Likopenin enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ettiği ve böylelikle antiinflamatuvar etki gösterdiği şeklindedir. Yapılan çalışmalar; likopenin lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerini düzenleyip prostosiklin, tromboksan, prostoglandin ve lökotrin gibi proinflamatuvar moleküllerin sentezini baskılayarak yangı oluşum mekanizmalarını önlediği yönündedir (9, 89 ). Likopenim inflamatuvar cevabın yaygın bulguları olan ROS ve serbest radikalleri direkt olarak etkisiz hale getirebildiği bilinmektedir (73) .

### **2.2.3. Likopenin Emilimi ve Doku Dağılımı**

İnsan serum ve dokularında çeşitli sis izomerler total likopenin %50'sini oluşturmaktadır. Besin kaynaklarında ise tüm trans likopen, total likopenin %79-91'ini oluşturmaktadır. Sis izomerlerinin safra asidi misellerinde daha iyi çözünmesi ve daha az çökmesi sayesinde absorpsiyonlarının daha iyi olduğu düşünülmektedir (9, 90). Likopenin bağırsak hücreleri tarafından emilmesi safra asidi misellerinin varlığına bağlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada in vitro ortamda likopenin cis izomerinin trans izomerine göre absorpsiyonunun tercih edilmesini cis izomerinin safra asidi misellerinde daha fazla çözünebilmesinden ve şilomikronların içine daha hızlı bir şekilde girmesinden kaynaklandığı ve likopenin yağ içeren gıdalarla birlikte alınmasının tavsiye edilmesinin buna dayandığı belirtilmektedir (91).

Karotenoidlerin kimyasal yapısında biyotik ve abiyotik faktörlerin etkisi ile meydana gelen değişiklikler biyoyararlılığı etkileyebilmektedir. Karotenoidin biyoyararlılığı fitokimyasal özellikler, gıda matriksi, intraselüler yerleşim,  $\beta$ -karoten gibi diğer karotenoidlerin varlığı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (91, 92). Likopenin biyoyararlılığı ve emilimini etkileyebilen diğer bir faktör de pişirme gibi işlemlerden geçirilmesidir. Böylece besin matriksindeki makromoleküllere sıkıca bağlı olan likopen protein komplekslerinden serbest hale geçer ve insan vücudu için yararlılığı artar (9, 65, 90, 93). Sos, salça ve ketçap gibi ısı işleminden sonra elde edilen domates ürünlerinin vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesi buna dayandırılmaktadır (67, 90, 91, 94).

#### 2.2.4. Likopen İle İlgili Deneysel Çalışmalar

Likopenin koruyucu ajan olarak kullanılması ile ilgili yapılmış olan birçok deneysel çalışma mevcuttur. Yaptığımız literatür çalışmaları sonucu likopenin antioksidan ve proinflamatuvar etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalara rastladık. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir:

Diyabet, insülinin yetersiz salgılanması veya etki mekanizması ya da her iki duruma bağlı olarak meydana gelen kronik bir hastalıktır. Diyabet birçok dokuda hasara neden olmaktadır. Böbrekler bu hedef organlar arasında önemli bir yer tutmaktadır (95-97). Diyabete bağlı olarak serbest radikallerin oluşumu gözlenmekte ve bunu doğal sonucu olarak oksidatif stres meydana gelmektedir. Serbest radikallerin artması, diyabet tedavisinde antioksidan maddelerinin kullanılabilmesi düşüncesini oluşturmuştur (98, 99). Li ve ark. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda likopenin (20mg/kg) total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein miktarın önemli ölçüde azalttığını, yüksek dansiteli lipoprotein düzeyini ise arttırdığını bildirmiştir. Domates ve likopen içeren diğer ürünlerin tüketiminin sağlıklı bireylerde oksidatif stres seviyesini ve Tip II diyabeti azalttığı belirtilmiştir. Likopenin diyabette güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu, diyabetik hastalarda hiperlipidemi ve metabolik sendromların önlenmesinde kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (100).

Scolastici ve ark. Çin hamsterlerinin over hücrelerinde kimyasal kaynaklı DNA hasarına karşı likopenin aktivitesini araştırdıkları çalışmada yumurtalıklara hidrojen peoksit, metil metansülfonat (MMS) veya 4-nitroquinoli-1oksit (4-NQO) kimyasallarının verilmesinden sonra uygulanana likopenin her üç mutajen tarafından indüklenmiş mikronükleer hücrelerin frekansını düşürdüğünü ve sonuç olarak likopenin antimutajenik aktiviteye sahip olduğunu bildirilmişlerdir (101).

Ateşşahin ve ark. (102) ratlarda cisplatin (CP) ve gentamisin'in oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkilerini araştırmışlardır. Cisplatin ve gentamisin uygulanması ile oksijen radikalleri kaynaklı hasarın arttığı ve malondialdehit (MDA) düzeylerinin arttığı belirtilmiştir. CP böbrek dokusunda SOD, CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği bildirilmiştir. Likopen uygulamasının ise GSH gibi antioksidanların etkinliklerini artırarak oksidatif stresi önemli derece düşürdüğü belirtilmiştir. Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerindeki de azalmanın olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak cisplatinin kan ile karaciğerde oksidatif stresi arttırdığı ve likopen uygulanmasının ise oluşan bu oksidatif strese karşı koruyucu etki sağladığı belirtilmiştir.



Böbrekler yüksek oksijen tüketimi olan organlardır. Yüksek metabolik aktivitesi ve tubulin hücrelerin reaktif oksijen türleri böbreğin antioksidan mekanizmasını bozmaktadır. Sonuç olarak doku hasarı meydana gelmektedir. Mohammed ve ark. sıçanların böbrek dokularında deltametrin kaynaklı dejeneratif etkilere karşı likopenin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında likopen (1mg/kg BW) tedavisinin deltamethrin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı önemli bir koruma sağladığını, bazal membran ile glomerüler bazal membranlardaki kalınlaşmanın azaldığını ve podosit hücre sayısında iyileşmenin görüldüğünü tespit etmişlerdir (103).

Koul ve ark. (104) likopenin doxorubisine (DOX) bağlı nefrotoksisiteye karşı etkisini araştırdıkları çalışmada likopen (5 mg/kg) ile muamele edilen ratların dokularındaki hasarın düşük olduğunu ve likopenin DOX-kaynaklı nefrotoksisiteyi hafifletebileceğini kaydetmişlerdir.

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülen bir durumdur (105). Pektaş ve ark. ratlarda renal iske mi/reperfüzyon hasarına karşı likopenin kısa dönemde koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmalarında likopen (4 mg/kg) uygulanan grupta antioksidan olan GSH-Px'in arttığı, hücre üzerinde genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkisi olan MDA'nın azaldığı ve yine patolojik skorun likopen alan grupta daha düşük olduğu saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar likopenin iske mi/reperfüzyon vakalarında kullanılabileceği şeklinde yorumlanmıştır (106). İske mi-reperfüzyon modelinde böbreklerde meydana gelen hasara karşı likopenin koruyucu etkilerinin araştırdığı diğ er bir çalışmada likopenin iske mi-reperfüzyon modelinde antioksidan, antiapoptik ve antiinflamatuvar etki göstererek böbrek epitelinde vakuolizasyon, tübül epitelinde nekroz ve vakuolizasyon düzeylerinde azalma sağladığı belirtilmiştir (107).

Agusti ve ark. (108) cıva klorür (HgCl<sub>2</sub>) enjekte edilmiş sıçanlarda, likopenin (10, 20 ya da 50 mg/kg) antioksidan özelliklerini ve HgCl<sub>2</sub> kaynaklı nefrotoksisiteye karşı etkilerini inceledikleri çalışmada likopenin HgCl<sub>2</sub>'yi engelleyerek δ-aminolevulinate dehidrogenaz enziminin inhibe ettiğini kaydetmişlerdir.

Diğ er bir çalışmada da sevofluran verilen ratların böbreklerinde kortizol nekroz ve şiddetli dejenerasyonların görüldüğü ve likopen (40 mg/kg) sonrasında sevofluran uygulanan ratlarda ise dejeneratif de ğişimlerin daha az oldu ğu ve tubuler lümen içersinde hiyalin silindir formasyonlarına rastlanmadığı belirtilmiştir. Sonuç olarak ratlara likopen uygulanmasının sevofluranın zararlı etkilerinin önemli derecede önleyebileceği bildirilmiştir (109).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deney için kullanılacak sıçanlar DOLLVET-HADYEK Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve DOLLVET-HADYEK Deney Hayvanları Laboratuvarında uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu. Deneyde Wistar Albino ırkı sıçanlar (10-12 haftalık, 200-250g ağırlığında olan) kullanıldı. Deneysel çalışma DOLLVET-HADYEK Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Biyokimyasal parametrelerin ölçülmesi Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında, patolojik incelemelerde Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji bölümünde yapıldı.

Çalışmada denekler her biri yedi sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı: Grup I; Kontrol, 5 gün süre ile 0.5 ml intraperitoneal (i.p) yolla izotonik %0.09 NaCl, Grup II; LPS (s.c.10 mg/kg), Grup III; 5 gün süre ile likopen (i.p.10 mg/kg) sonrasında LPS(s.c.10 mg/kg), Grup IV; 5 gün süre ile Likopen (i.p.50 mg/kg) sonrasında LPS(s.c.10 mg/kg).

Deney sonunda sıçanlar ketamin hidroklorid ( $75 \text{ mg/kg}^{-1}$  i.p.) ve ksilazin ( $8 \text{ mg/kg}^{-1}$  i.p.) ile anestezi edildi. Bütün ratlara anestezi altında ve dorsal pozisyonda insizyon saha temizliği uygulandı. 2 cm'lik orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Vena kavadan kan örnekleme yapıldıktan sonra böbrek çıkarıldı. Batın ve cilt 5.0 ipek sütür ile kapatıldı. Sonrasında tüm sıçanlara anestezi altında dekapitasyon ile ötenazi uygulandı.

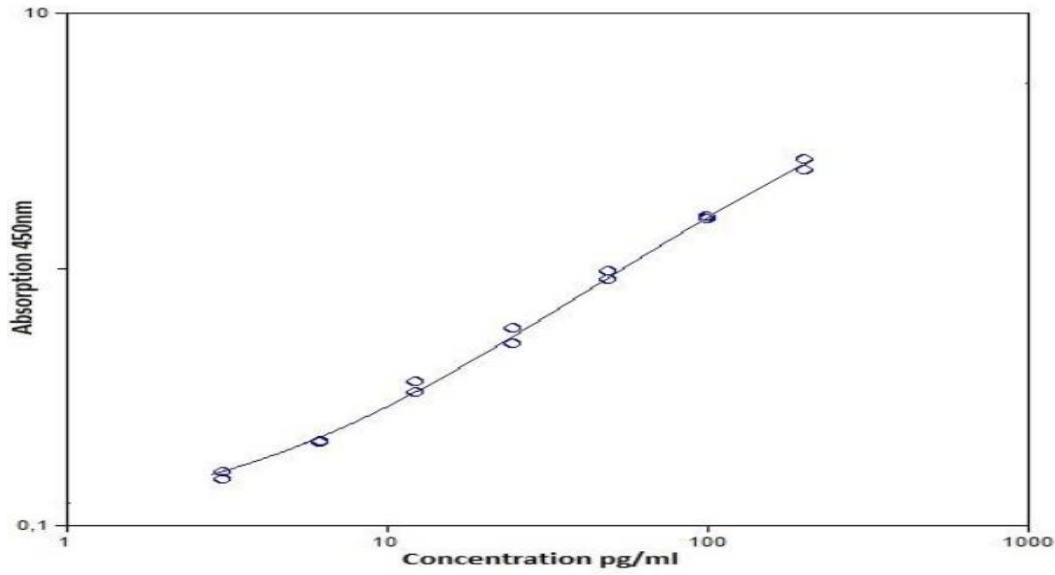
Kan örnekleri santrifüj edildikten sonra serum ayrıldı. Serum ve biyokimyasal analiz için ayrılan böbrek dokuları  $-80\text{C}^{\circ}$ 'de saklandı. Serum ve dokuda IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, nitrik oksit ve SOD değerleri ölçüldü.

#### 3.1. Serum ve Dokuda TNF- $\alpha$ Düzeyinin Belirlenmesi

Doku ve serum TNF- $\alpha$  düzeyleri sandwich enzyme-linked immunosorbent ölçüm metodu ile ticari rat kitleri (affymetrix, ABD ) kullanılarak prospektüse uygun olarak ELİSA cihazında belirlendi.

Çalışılacak mikrokuyucuk strip sayısı tespit edildi. 400  $\mu\text{l}$  Wash Buffer ile mikrokuyucuk stripleri aspirasyonla yıkandı. Mikrokuyucuklar 50  $\mu\text{l}$  ile dilüsyon yapıldı. Blank kuyucuğuna 50  $\mu\text{l}$  örnek ve 50  $\mu\text{l}$  diluent eklendi. Tüm kuyucuklara 50  $\mu\text{l}$  biotin konjugatları eklendi. Mikroplate, yapıştırıcı film ile kapatıldı 200 rpm'de oda sıcaklığında 2

saat boyunca inkübe edildi. Mikrokuşucuklar boşaltıldı ve yıkama solusyonu ile yıkandı. Tüm kuşucuklara hazırlanan Streptavidin-HRP'den 100 µl eklendi. TMB solusyonundan 100 µl tüm kuşucuklara konuldu. Mikroplate, yapıştırıcı film ile kapatıldı 20 dakika boyunca inkübe edildi. Tüm kuşucuklara 100 µl stop solusyon eklendi. Mikroplate 620 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda okutuldu. Standart ve örneklerin her bir dizisinin ortalama absorbanşı kullanılarak standart eğrisi çizildi. Her örnek için ortalama absorbanş değeri kullanılarak standart eğride absorbanşa karşılık gelen konsantrasyon hesaplandı.



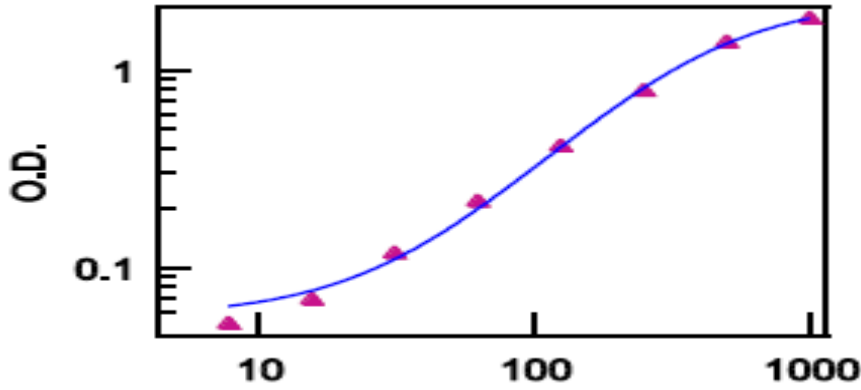
Şekil 5. TNF-α Standart Eğrisi

### 3.2. Serum ve Dokuda IL-1 Düzeyinin Belirlenmesi

Doku ve serum IL-1 düzeyleri ticari rat kitleri (affymetrix, ABD) kullanılarak prospektüse uygun olarak ELİSA cihazında belirlendi.

Wash Buffer ile mikrokuşucuk stripleri aspirasyonla yıkandı. 1 part 5X ELISA/ELISPOT 4 part ise ID ile diluent edildi. Mikrokuşucuk stripleri aspirasyonla yıkandı. ID solusyonu ile kullanılarak standartlar liyofilize edildi ve 15 dakika hafifçe çalkalanarak bekletildi. Daha sonra standartlar hazırlandı. Kuşucuklara 100 µl standart eklendi. 2 defa seri dilüsyon yapıldı. Kuşucuklara 100 µl örnek eklendi. Mikrokuşucuk stripleri aspirasyonla 3 defa yıkandı. 100 µl 1X ELISA/ELISPOT ile diluent yapıldı ve oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Aspirasyonla 3 defa yıkama yapıldı. 100 µl 1X ELISA/ELISPOT içerisinde Avidin-HRP dilue edildi kuşucuklara eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Kuşucuklar aspirasyonla

yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µl TMB solusyonu koyuldu ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Kuyucuklara 50 µl stop solusyonu eklendi. Mikrokuyucuklar 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda okutuldu.

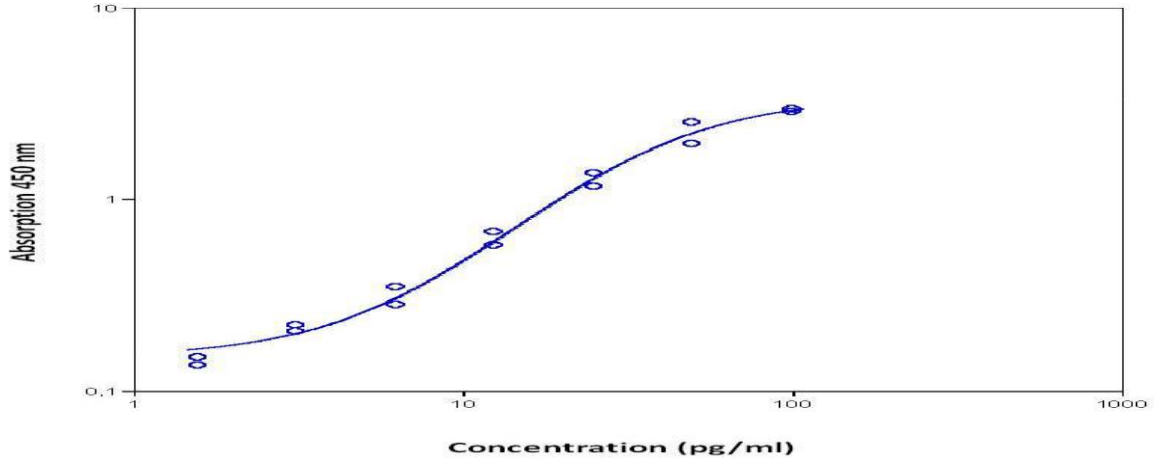


Şekil 6. IL-1 Standart Eğrisi (pg/mL)

### 3.3. Serum ve Dokuda IL-6 Düzeyinin Belirlenmesi

Doku ve serum IL-6 düzeyleri ticari rat kitleri (affymetrix, ABD) kullanılarak prospektüse uygun olarak ELISA cihazında belirlendi.

Kuyucuk stripleri iki defa 400 µl Wash Buffer ile yıkandı. Kuyucuklar Wash Buffer ile yıkandıktan sonra 15 dakika beklenildi. Kuyucuklara 100 µl standart solusyon eklendi. Boş kuyucuklara 100 µl örnek diluent eklendi. Örnek kuyucuklara 50 µl örnek diluent eklendi. Her örnek kuyucuk içi 50 µl iki örnek eklendi. Kuyucuklara 50 µl biotin konjugat koyuldu. Kuyucuklar film yapıştırıcı ile kapatılıp 4°C 'de bekletildi. Streptavidin-HRP hazırlandı. Yapıştırıcı filmler kaldırıldı ve aspirasyonla yıkandı. Bütün kuyucuklara 100 µl Streptavidin-HRP eklendi. Mikroplate, yapıştırıcı film ile kapatıldı 400 rpm'de oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edildi. Mikrokuyucuk stripleri aspirasyonla 6 defa yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl Amplifikasyon solusyonu I eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Amplifikasyon solusyonu II deney tamponu içerisinde seyreltildi. Mikrokuyucuk stripleri aspirasyonla 6 defa yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl Amplifikasyon solusyonu I eklendi. Mikroplate, yapıştırıcı film ile kapatıldı 400 rpm'de oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edildi. Mikrokuyucuk stripleri aspirasyonla 6 defa yıkandı. Kuyucuklara 100 µl TMB Substrat solusyonu eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Kuyucuklara 100 µl stop solusyonu koyuldu. Mikroplate 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu ile okundu.

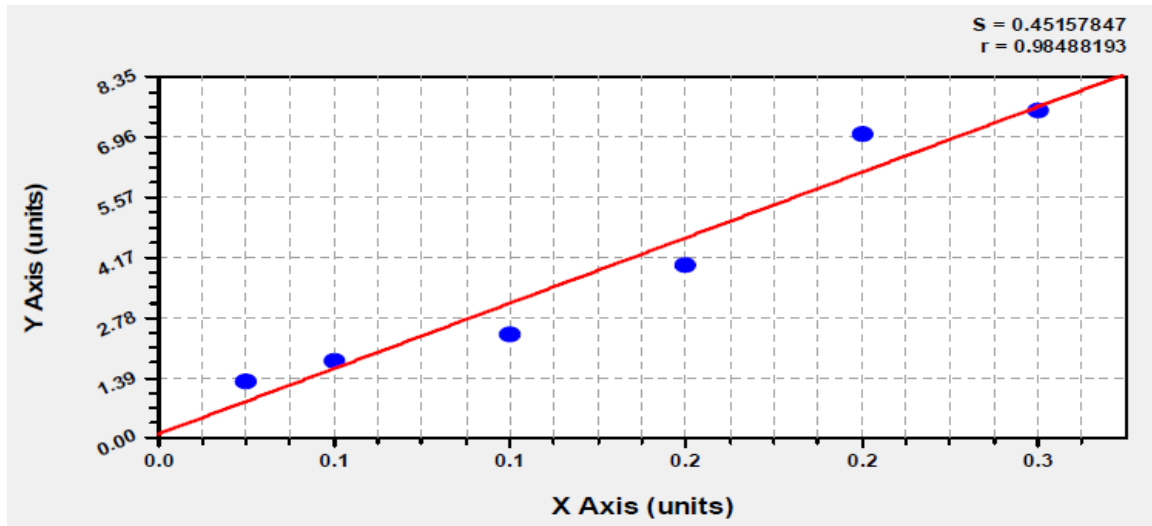


Şekil 7. IL-6 Standart Eğrisi

### 3.4. SOD Ölçümü

Doku SOD düzeyleri ticari rat kitleri (Cayman, ABD) kullanılarak prospektüse uygun olarak yapıldı.

7.2 pH'da; 20 mM HEPES buffer, 1mM EGTA, 210 Mm mannitol 70 nM sükröz kullanılarak doku homojenat tamponu hazırlandı. 1 gram dokuya 10 ml tampon kullanılarak dokular tartılıp tüplere tamponlar ile birlikte konuldu. Dokular tüplerde homojenize edildikten sonra 10,000 g'de 15 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatant alındı.

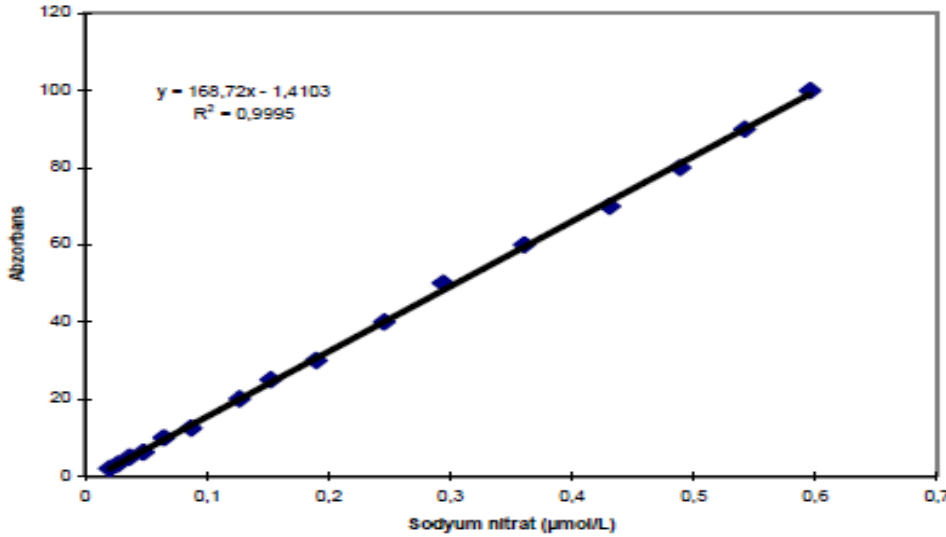


Şekil 8. SOD Standart Eğrisi

### 3.5. NO Ölçümü

Doku ve serum Nitrik Oksit düzeyleri ticari rat kitleri (Cayman, ABD) kullanılarak prospektüse uygun olarak ELİSA cihazında belirlendi.

Wash Buffer ile mikrokuyucuk stripleri aspirasyonla yıkandı. Kuyucuklara 200 µl tampon eklendi. Kuyucuklara 60 örnek ve 60 µl diluent eklendi. 10 µl NADPH solüsyonu konuldu. Daha sonra 10 µl nitrat redüktaz karışımı eklendi. Oda sıcaklığında 40 dakika bekletildi. Kuyucuklara 10 µl kofaktör solüsyonu ve 10 µl LDL solüsyonu konuldu. Tekrar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Bekleme süresinin hemen akabinde kuyucuklara 50 µl Griess Reagent R1 eklendi. Hemen sonrasında kuyucuklara Griess Reagent R2 konuldu. Renk gelişimi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Mikrokuyucuklar 620 nm dalga boyunda elisa okuyucuda okutuldu.



Şekil 9. NO Standart Eğrisi

### 3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Böbreklerden alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibi sonrası parafine gömülen bloklardan 4 µ kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyandı. Boyama sonrası kesitler ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

Mikroskopik incelemede Olympus DP71 araştırma mikroskopunda x 400 büyütmede rastgele seçilen 10 sahaya bakıldı. Bu sahalar her inceleme grubunda meydana gelen

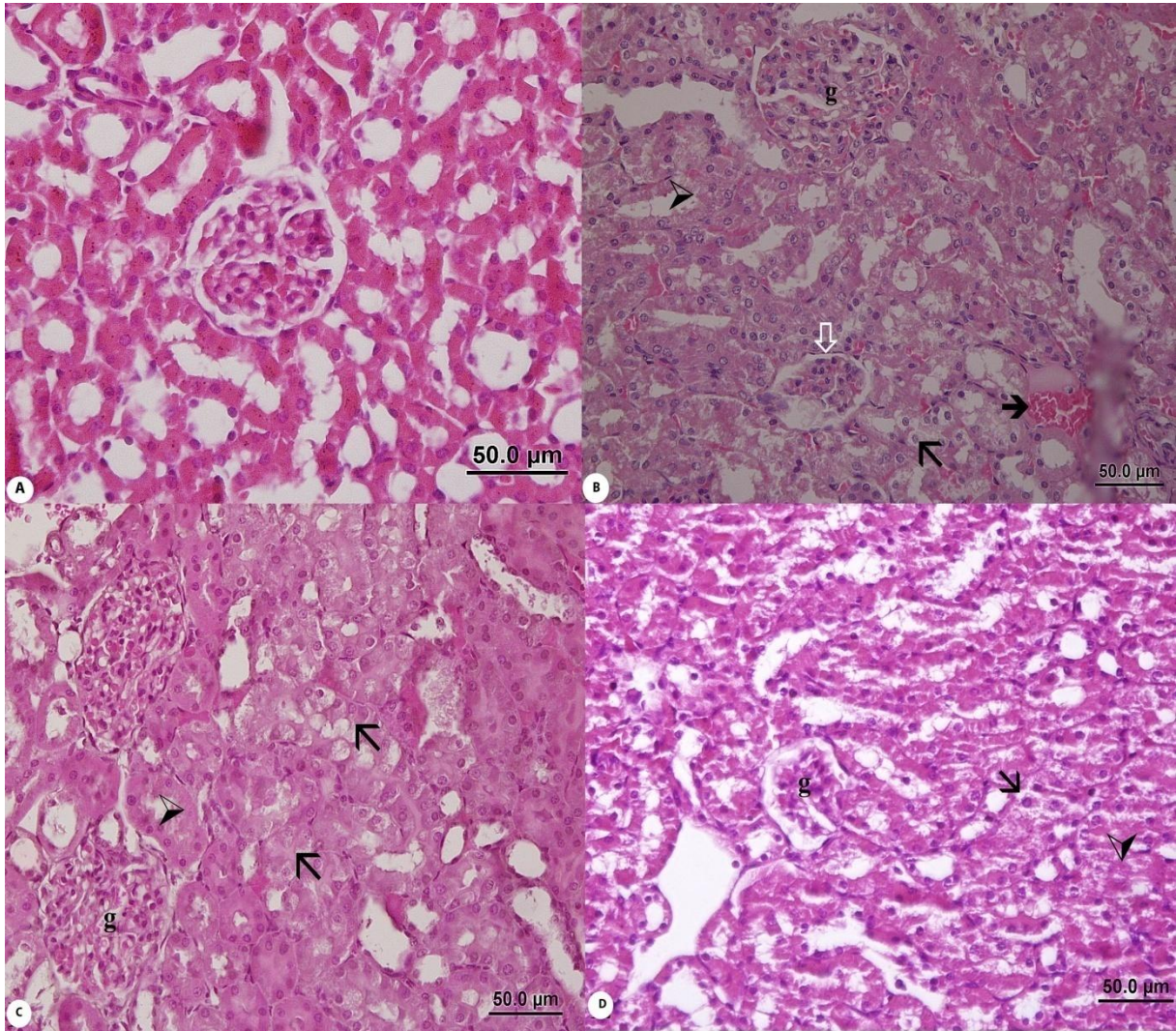
hiperemi, glomeruler atrofi, tubul epitellerinde nekroz, tubuler dejenerasyon ve tubul lümeninde kistik genişlemeler yönünde incelendi. Değişiklerin skorlanması; herhangi bir histopatolojik değişiklik yoksa (0), toplam alanın % 25'ininden azının etkilendiği hafif (+), %25-50 arası orta (++) ve %50-75 arası şiddetli (+++) şeklinde düzenlendi (110, 111).





#### 4. BULGULAR

Histopatolojik incelemede kontrol grubuna ait örneklerde böbrek dokusunun normal histolojik yapıya sahip olduğu görüldü. Buna karşın LPS ve LPS+likopen gruplarına ait örneklerde değişen derecelerde hiperemi, glomeruler atrofi, tubul epitellerinde nekroz, tubuler dejenerasyon ve tubul lümeninde kistik genişlemeler gibi histopatolojik değişikliklere rastlandı (Şekil 9 ve Tablo 2).



**Şekil 10.** A: Kontrol grubu, glomerulus (g), tubul (t). B: LPS (10 mg/kg) grubu, glomerulus (g), tubul epitelinde vakuolizasyon ve dejenerasyon (ok), tubul epitelinde nekroz (ok başı), hiperemi (kalın ok), atrofik glomerulus (beyaz ok). C: LPS (10mg/kg)+ likopen (10mg/kg) grubu, glomerulus (g), tubul epitelinde vakuolizasyon ve dejenerasyon (ok), tubul epitelinde nekroz (ok başı). D: LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg) grubu, glomerulus (g), tubul epitelinde vakuolizasyon ve dejenerasyon (oklar), tubul epitelinde nekroz (ok başı).



**Tablo 1.** Gruplara Göre Histopatolojik Değişiklikler

Histopatolojik değişiklikler	Kontrol grubu	Likopen (50mg/kg)	LPS (10 mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(10mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg)
Hiperemi	0	0	++	++	+
Glomeruler atrofi	0	0	++	++	+
Tubul epitellerinde nekroz	0	0	+++	++	+
Tubuler dejenerasyon	0	0	+++	++	+
Tubuler kistik dilatasyon	0	0	++	++	+

LPS grubu sitokin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (10mg/kg) grubu IL-1 ve IL-6 kontrol grubuna göre yüksek, TNF düzeyleri ise LPS grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (50mg/kg) IL-1, IL-6 ve TNF düzeyleri LPS grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 3).

**Tablo 2.** Böbrek Dokularında Ölçülen Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Kontrol grubu	LPS (10 mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(10mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg)
IL-1 (pg/mg-protein)	284.98±17.65	470,27±27.28 <sup>a</sup>	336,43±21.67 <sup>a</sup>	296.53±19.98 <sup>b</sup>
IL-6 (pg/mg-protein)	1186,57±138.23	1634.41±71.11 <sup>a</sup>	1519,78±75.70 <sup>a</sup>	1296.67±57.62 <sup>b</sup>
TNF- $\alpha$ (pg/mg-protein)	712.33±16.58	880,42±47.92 <sup>a</sup>	824,55±10.01 <sup>b</sup>	796,29±20.98 <sup>b</sup>

IL-1: İnterlökin-1, IL-6: İnterlökin-6, TNF-  $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör alfa

\*Tüm değerler ortalama±SE olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Kontrol grubundan farklılık ( $p<0.05$ )

<sup>b</sup>LPS grubundan farklılık ( $p<0.05$ )

LPS grubu NO düzeyleri yüksek, SOD seviyeleri ise düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (10mg/kg) NO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek, LPS grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). SOD düzeyi ise kontrol grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (50mg/kg) NO düzeyi LPS grubuna göre düşük, SOD miktarı ise yüksek ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). SOD miktarı kontrol grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 4).

**Tablo 3.** Böbrek Dokularında Ölçülen Nitrik Oksit (NO) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeylerinin Karşılaştırılması.

	Kontrol grubu	LPS (10 mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(10mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg)
NO ( $\mu$ M)	1.61 $\pm$ 0.08	2.51 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	2.09 $\pm$ 0.59 <sup>a,b</sup>	1.63 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
SOD (U/mg)	34.97 $\pm$ 1.83	20.52 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>	23.12 $\pm$ 1.95 <sup>a</sup>	27.75 $\pm$ 1.40 <sup>a,b</sup>

NO: Nitrik oksit, SOD: Süperoksit dismutaz

\*Tüm değerler ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Kontrol grubundan farklılık ( $p<0.05$ )

<sup>b</sup>LPS grubundan farklılık ( $p<0.05$ )

LPS grubu sitokin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (10mg/kg) sitokin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (50mg/kg) grubu kontrol grubuna göre IL-6 düzeyi yüksek, TNF düzeyleri ise düşük ve anlamlı, LPS grubuna göre de IL-1 ve TNF düzeyleri düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 5).

**Tablo 4.** Serumda Ölçülen Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	Kontrol grubu	LPS (10 mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(10mg/kg)	LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg)
IL-1 (pg/mg-protein)	884.05 $\pm$ 108.04	1692.84 $\pm$ 196.46 <sup>a</sup>	1637.16 $\pm$ 190.01 <sup>a</sup>	886.79 $\pm$ 70.72 <sup>b</sup>
IL-6 (pg/mg-protein)	5307.14 $\pm$ 224.37	6409.35 $\pm$ 278.37 <sup>a</sup>	6009.62 $\pm$ 290.68 <sup>a</sup>	5704.3 $\pm$ 342.43 <sup>a</sup>
TNF-(pg/mg-protein)	2756.24 $\pm$ 191.60	3790.56 $\pm$ 114.43 <sup>a</sup>	3445.51 $\pm$ 141.41 <sup>a</sup>	2430.17 $\pm$ 269.89 <sup>a,b</sup>

IL-1: İnterlökin-1, IL-6: İnterlökin-6, TNF-  $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör alfa

\*Tüm değerler ortalama $\pm$ SD olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Kontrol grubundan farklılık ( $p<0.05$ ).

<sup>b</sup>LPS grubundan farklılık ( $p<0.05$ ).

LPS grubu NO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek, SOD düzeyleri ise düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (10mg/kg) NO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek, SOD düzeyleri ise düşük ve anlamlı bulundu. NO düzeyleri LPS grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LPS+Likopen (50mg/kg) NO düzeyleri LPS grubuna göre düşük ve anlamlı, SOD düzeyleri ise Kontrol grubuna göre düşük ve anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 5.** Serumda Ölçülen Nitrik Oksit (NO) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	Kontrol grubu (Ort±SD)	LPS (10 mg/kg) (Ort±SD)	LPS(10mg/kg)+ likopen(10mg/kg) (Ort±SD)	LPS(10mg/kg)+ likopen(50mg/kg) (Ort±SD)
NO ( $\mu$ M)	6.17±0.82	9.37±1.08 <sup>a</sup>	7.02 ±0.56 <sup>a,b</sup>	6.78±0.75 <sup>b</sup>
SOD(U/mg)	0.13.±0.1	0.092±0.0 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>

NO: Nitrik oksit, SOD: Süperoksit dismutaz

\*Tüm değerler ortalama±SD olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Kontrol grubundan farklılık ( $p<0.05$ ).

<sup>b</sup>LPS grubundan farklılık ( $p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada LPS ile indüklenen sepsis modelinde likopenin böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Sepsis oluşturmak için sıçanlara intraperitoneal yolla LPS (10mg/kg) uygulandı. Bu çalışmada likopen 10 ve 50 mg/kg olmak üzere iki farklı dozda kullanıldı (112-116). Bu grubun serum ve doku örneklerinde kontrol grubuna göre IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, nitrik oksit değerlerinin anlamlı derecede arttığı ve SOD değerlerinin ise anlamlı derecede azaldığı görüldü ( $p<0.05$ ).

LPS uygulamasından önce likopen (10 mg/kg) verilen grupta IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin düzeyleri LPS grubuna göre azaldı fakat bu azalma anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). LPS öncesi likopen (50mg/kg) verilen grupta ise IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin düzeylerinin LPS grubuna göre anlamlı olarak düşüş gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 3).

LPS uygulaması yapılan ratların böbrek dokusunda NO düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği ve SOD aktivitesinin ise düştüğü görüldü ( $p<0.05$ ). LPS+likopen (10 mg/kg) grubunda NO seviyesinin düştüğü gözlemlendi ve LPS grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p<0.05$ ). Likopenin 50 mg dozunun uygulandığı grupta ise NO düzeyinin kontrolden farklı olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ). Likopenin 10 mg uygulandığı grupta SOD aktivitesinde LPS uygulanan gruba göre anlamlı bir yükselme göstermediği fakat 50 mg likopen uygulanan grupta anlamlı bir yükselme olduğu görüldü ( $p<0.05$ ) (Tablo 4).

Serum sitokin seviyelerine bakıldığında 10 mg likopen uygulanan grupta LPS grubuna göre anlamlı bir düşüş kaydedilmezken, 50 mg likopen uygulanan grupta sadece IL-1 ve TNF-  $\alpha$  düzeyinde anlamlı bir düşüş tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 5).

Likopenin hem 10 mg hem de 50 mg uygulanması LPS grubuna göre serum SOD seviyelerinde anlamlı bir değişiklik yapmadı. Serum NO seviyeleri ise hem 10 mg hem de 50 mg likopen uygulanan gruplarda anlamlı olarak düşerken, 50 mg likopen uygulanan grupta ise kontrol grubuna yaklaştırdığı görüldü ( $p<0.05$ ) (Tablo 6).

Sepsis; kanıtlanmış bir enfeksiyöz olayda gelişen SIRS olarak kabul edilmektedir. SIRS'ın ana nedeni olarak enfeksiyonlar gösterilmekte ve sitokinlerin organların reseptörlerini uyardığı düşünülmektedir (12, 13). Sepsisin enfeksiyon odağının uzağındaki organlarda ilerleyici hasar gelişimine yol açtığı bilinmektedir. Sepsis; karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve böbrek gibi birçok organda hasara neden olmaktadır. Hipotansiyon, taşikardi, laktik asidoz,

bilinç kaybı, karaciğerde sarılık, albümin seviyesinde azalma, enzimlerde artma ve böbrekte anüri gibi çeşitli hasarlar ile karakterizedir (117, 118). Sepsis ile indüklenen bu çoklu organ hasarının gelişiminde oksidatif stresin önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Böbrekler endotel harabiyet ve intravasküler volüm değişikliklerinde diğer organlara göre daha hassas olmalarından dolayı sepsis sırasında olumsuz etkilenen organların başında yer almaktadır (119). Böbreklerin yüksek oksijen tüketimi, metabolik aktivitesi ve tüm bunlara ek olarak infiltratif hücreler ile tübülün hücrelerinde reaktif oksijen türleri böbreğin kendi antioksidan koruma mekanizmasını aşmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak doku hasarı meydana gelmektedir. Yapılan birçok çalışmada da ROS'ların iskemik, toksisite ve immünolojik kaynaklı böbrek hasarına yol açtığı belirtilmiştir (120-125). Bizim çalışmamızın verileri de bunu doğrulamaktadır. Bakterilerden endotoksin serbestlenmesi sepsis gelişimindeki ilk basamaktır. Endotoksin inflamatuvar hücreleri aktive ederek inflamatuvar yanıtın daha da şiddetlenmesine yol açan pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi) serbestlenmesine neden olmaktadır. Lee ve ark. lökositlerin ve endotelyal hücrelerin inflamasyonun aktivitelerine bağlı olarak inflamatuvar ya da antiinflamatuvar sitokinler ürettiklerini bildirmişlerdir. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler akut ve kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli roller oynadıklarını belirtmişlerdir. Bu inflamatuvar kaskad lökositlerin çeşitli organların infiltrasyonuna ve buna bağlı olarak vasküler ve parenkimal hücre disfonksiyonuna yol açtığı belirtilmektedir (126). Çalışmamızda, sepsis grubundan alınan böbrek örneklerinde mikroskobik düzeydeki hasarın lipid peroksidasyonunda ve NO düzeyinde artış ile birlikte olduğu görüldü. NO endotel gevşetici faktör olarak bilinen ve sepsiste rol alan potent bir vazodilatatördür (127). NO'nun sürekli olarak salınmasının sepsiste sistemik ve pulmoner vasküller tonusun düzenlenmesinde rol oynadığı ve aşırı üretilmesinin sepsisteki sistemik vazodilatasyondan sorumlu olduğu bildirilmiştir (128, 129). Bizim çalışmamızda da LPS uygulanan sıçanlarda NO düzeyleri yüksek bulundu (Tablo 4).

İnfeksiyonun ilk saatinden sonra aktive makrofajlar ile CD4 T-hücreleri ile TNF ve IL-1 sitokinleri açığa çıkar. Hücrel sitokinlerden; TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretilir bu primer mediatörler inflamasyonu daha da şiddetlendiren değişik sekonder mediatörlerin açığa çıkmasında rol oynar (126). Buradaki inflamasyon göstergesi olarak en önemli adım kompleman sisteminin aktivasyonudur. Antijen-antikor kompleks aktivasyonunun dışında, kompleman sistemi bakteri yüzeyindeki şekerler ve endotoksinlerle stimüle olabilir. C5a kompleman fragmanı, kompleman kaskadının önemli ürünü çok güçlü

bir kemoatraktandır. C5a sepsisin başlangıcında iki saat sonra ortaya çıkar ve proinflamatuvar mediatörleri üreten makrofajları stimüle eder. İmmün yanıtı arttıran diğer mediatör infeksiyon stimulusuna yanıt olarak T hücreleri, makrofajları, monositleri ve pituiter hücreleri üreten makrofaj migrasyon inhibitör faktörüdür. Migrasyon inhibitör faktörü sepsisin başlangıcından 8 saat sonra ortaya çıkar ve proinflamatuvar mediatörleri oluşturacak T- hücreleri ile makrofajları aktive eder. Sepsisin başlangıcından 24 saat sonra yüksek-mobiliteli B<sub>1</sub> protein grubu düzeyi artar ve endotoksine bağlı sepsiste oluşmasında ön plana çıkar. Yüksek-mobiliteli B<sub>1</sub> protein grubu nükleer bağlı protein olup, diğer özellikleri yanında NF-κB'yi edecek yetenektir. Sepsisteki bu geç mediatör makrofaj ve nötrofiller tarafından üretilir ve diğer fagositik hücreleri stimüle ederler. TNF-α ve IL-1, sepsiste ortaya çıkan ateş, hipotansiyon ve şok patogenezinde rol oynayan en önemli sitokinlerdir. LPS etkisi ile NF-κB transkripsiyon faktörü üzerinden TNF-α, IL-1 ve birçok sinyal yollarını aktive eder (130-133). NF-κB yüksek ölçüde sentezlenerek, sık sık hücrel streslere yanıt olarak TNF-α a, IL-1, IL-6 ve IL-8 salınımını arttırmaktadır (132). Proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF-α ve IL-6 sepsis kaynaklı inflamatuvar hasarlarda önemli bir rol oynamaktadır (110, 134, 135). Gao ve ark. LPS kaynaklı sepsiste inflamatuvar yanıt olarak IL-6 ve TNF-α üretiminin artış gösterdiği belirtilmişlerdir. Bu sitokinler bakteriyel antijenlere cevap olarak makrofajlar tarafından salgılanarak septik şok tablosunun ilk adımını oluştururlar (136). Bizim çalışmamızda da TNF-α ve IL-1 düzeyleri LPS uygulanan sıçanlarda yüksek bulunmuş ve likopen tedavisi bu sitokinlerin seviyesinde düşüşe neden olmuştur. Kırkıl ve ark. da likopenin proinflamatuvar sitokinler üzerinde etkili olduğunu ve kronik obstrüktif akciğer hastalarında TNF-α seviyesini anlamlı olarak düşürdüğünü göstermişlerdir (113).

Metabolik olaylar en önemli ROS kaynağı olup hücre lipit bileşenlerine zarar vermektedir. Yağ asitlerinin metilen gruplarındaki H<sup>+</sup> atomunun radikaller tarafından kapılması sonucu yağ asidi oksidasyonu meydana gelir. Karbon merkezli radikallere oksijenin bağlanması lipit peroksidlerinin yıkılması ile MDA oluşur. MDA lipit peroksidasyonun son ürünüdür. Vasküler endotelde yer alan SOD enzimi antioksidan enzimlerdendir. SOD'un en önemli fonksiyonlarından biri ise lipit peroksidasyonun gelişimini engellemesidir (138-140). Tüm karotenoidler gibi likopenin de oksidatif strese karşı etkisi olduğu bildirilmektedir. Oksijen radikallerindeki etkin enerji likopen moleküllerine aktarılmakta ve böylece likopen moleküllerinin bu radikallerin yıkılmasına neden olduğu belirtilmektedir. Böylece likopen oksijen radikallerinin oluşturduğu hasara ve oksitlenme ürünlerinin oluşumu sonucu hücrel yapılarda görülen protein, DNA ve lipitlerin in vivo

olarak oksidasyonuna karşı önleyici etki gösterdiği belirtilmektedir (49, 66, 141). Yapılan çalışmalarda da likopenin oksidatif stres ile ilişkili olan yangı, çeşitli kanser olayları ve kardiyovasküler hastalıklarda diğer antioksidanlar gibi MDA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (49, 66, 142). Çalışmamızda likopenin farklı dozlarda verildiği her iki septik sıçan grubunda da böbrek fonksiyonlarının daha iyi, SOD düzeylerinin daha yüksek ve MDA düzeylerinin daha düşük olduğu saptandı.

Bu çalışmada LPS uygulanan sıçanların böbreklerine ait örneklerde yoğun olarak hiperemi, glomeruler atrofi, tübül epitellerinde nekroz, tübüler dejenerasyon ve tubul lümeninde kistik genişlemeler gibi histopatolojik değişikliklere rastlandı. LPS öncesi likopen uygulanan gruplara ait doku örneklerinde doza bağımlı olarak hiperemi, glomeruler atrofi, tubul epitellerinde nekroz, tübüler dejenerasyon ve tübül lümeninde kistik genişlemelerin değişen derecelerde azaldığı gözlemlendi. Bizim çalışmamızdaki bulgulara paralel olarak Karahan ve ark. gentamisin kaynaklı böbrek hasarı üzerinde likopenin koruyucu etkilerini incelemiş, gentamisin öncesi likopen verilen deneklerdeki dejeneratif değişikliklerin hücresel düzeyde, nekroz alanlarının gözlemlendiği ve gentamisin sonrası likopen uygulaması yapılmayan deneklerde ise belirgin bir şekilde tübüler nekroz alanlarının gözlemlendiği belirtilmiştir (145). Yapılan diğer çalışmalarda da iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde likopenin etkisi incelenmiş ve iskemi-reperfüzyon sonrası likopen uygulaması yapılan grupta histopatolojik skor anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (107, 146, 147).

Likopen rutin bir şekilde ilaç olarak kullanılmayacağı ancak domates, domates sosu, ketçap, greyfur, kavun ve karpuz gibi ürünlerinin tüketilmesi ile tedavi amaçlı olarak kullanılabilmesi çünkü deneysel çalışmalarda bulguların bu yönde olduğu belirtilmiştir (107). Çalışmamızın verileri de likopenin LPS kaynaklı böbrek hasarının minimize edilmesi ve sitokin düzeylerinin iyileştirilmesine dönük olarak kullanılabilmesi yönündedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİ

Likopen çok çeşitli mekanizmalar ile biyolojik sistemler üzerinde etki göstermektedir. B u çalışmada LPS kaynaklı böbrek hasarı üzerinde likopenin olası etkilerini incelemek için histopatolojik skorlamanın yanında doku ve serumda proinflamatuvar sitokinlerden IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ile SOD ve NO düzeyleri ölçülmüştür.

Histopatolojik incelemede LPS uygulamasından önce likopen verilen grupların böbrek dokularında LPS grubuna göre doza bağımlı olarak hiperemi, glomeruler atrofi, tübül epitellerinde nekroz, tübüler dejenerasyon ve tübül lümeninde kistik genişlemelerde azalma olduğu görüldü.

Böbrek dokusunda IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin düzeyleri likopen sonrası LPS uygulaması yapılan gruplarda düşüş sağladı ancak yüksek likopen dozunun (50 mg/kg) sitokinler üzerinde düşük doz likopene (10 mg/kg) göre daha etkili olduğu görüldü. Serum sitokin düzeyleri üzerinde düşük doz likopen kullanımının LPS grubuna göre anlamlı bir fark göstermediği, ancak yüksek dozun TNF- $\alpha$  ve IL-1 sitokin seviyelerinde anlamlı düşüş sağladığı saptandı.

Böbrek dokusunda SOD ve NO düzeyleri değerlendirildiğine, likopen uygulamasından sonra LPS verilen grubun NO düzeylerinin LPS uygulanan gruba göre düşük olduğu ve SOD enzim aktivitesinin yükseldiği tespit edildi.

Serum NO düzeyleri üzerinde yüksek doz likopenin düşük doza göre daha etkili olduğu ancak SOD enzim aktivitelerinde her iki dozun da anlamlı bir değişiklik yapmadığı saptandı.

Çalışmamızın sonuçları likopenin sepsiste böbrek hasarını önleyici bir ajan olarak ümit vaat edebilecek bir ajan olabileceği fikrini vermektedir.



## 7.KAYNAKLAR

- 1.Zarychanski R, Doucette S, Fergusson D, Robert D, Houstsin D, Shorma S, Gulati H, Kumar A. Early intravenous unfractionated heparin and mortality in septic shock. *Crit Care Med*;2008;36(11):2973-79.
- 2.Doğanay M. Sepsis. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon hastalıkları. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 1996; 473-86.
- 3.Ukai N, Lu Y, Etoh H. Photosensitized oxygenation of lycopene. *Biosci Biotechnol Biochem*; 1994; 58: 1718–19.
- 4.Cadenas E, Packer L. Handbook of antioxidants. Marcel dekker New York, Handbook of antioxidants; 1996; 602.
- 5.Cankurtaran M, Kıyıkım A. Sepsiste renal hemodinami ve mediyatörler. *Erciyes Tıp Dergisi*; 2002; 24 (4): 202-8.
- 6.Goode HF, Webster NR. Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit Care Med*, 1993; 21(11): 1770.
- 7.Bramley PM, Review. Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry*; 2000; 54(3): 233-6.
- 8.Handelman, GJ. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*; 2001; 17(10):818–22.
- 9.Hekimođlu A. Likopenin Antikarsinojenik Etki Mekanizmları, *F.Ü.Sađ.Tıp Derg.*; 2010 25(1): 57-62.
- 10.Büyükokurođlu ME, Cemek M, Yurumez Y, Yavuz Y, Aslan A. Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats. *Cell Biol Toxicol*; 2008; 24(2): 151-8.
- 11.Schrier RW, Zolty E, Wang W. Sepsis and acute renal failure. In: Vincent JL, ed. *Yearbook of intensive care and emergency medicine*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2006; 673-9.
- 12.Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Delinger RP, Fein AM, Knaus WA, Roland MH, Schein MD, William JS. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*; 1992; 101(6): 1644-55.
- 13.Exley AR, Cohen J, Buurman W, Owen R, Hanson G, Lumley J, Aulakh JM, Bodmer M, Riddell A, Stephens S. Monoclonal antibody to TNF in severe septic shock. *Lancet*; 1990; 335: 1275-7.
- 14.Villa P, Sartor G, Angelini M, Sironi M, Conni M, Gnocchi P, Isetta AM, Grau G, Buurman W, Van Tits LJ. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in

- sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol*; 1995; 2: 549-53.
- 15.Öresin A. Sepsis oluşturulmuş ratlarda kefirin etkinliği, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi Anabilim Dalı; 2008; 1-50.
  - 16.Lowe C, Luheshi N, Williams S. Maternal infection and fever during late gestation are associated with altered synaptic transmission in the hippocampus of juvenile offspring rats, *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* Published 1; 2008; 295(5): 1563-71.
  - 17.Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri M, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Gall RL, Payen D. Sepsis Occurrence in Acutely III. Patients Investigators: Sepsis in European intensive care units: result of the SOAP study. *Crit Care Med*; 2006; 34: 344-53.
  - 18.Palmer A, Langenberg C, Wan L, May CN, Rinaldo B, Bagshaw, SM. Epidemiology of septic acute kidney injury. *Cur drug Targets*; 2009; 10: 1169-78.
  - 19.Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*; 1997; 112: 235-43.
  - 20.Kurt C. Sepsisle ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik. *Güncel bilgiler ışığında sepsis*; 2006; 5: 17-26.
  - 21.Aygen B, Kayabaş Ü, Güven M, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yoğun Bakım Üniteleri nazokomiyal infeksiyonları surveyansı: Epidemiyoloji, risk faktörleri ve prognozu etkileyen faktörler. *Yoğun Bakım Dergisi*; 2001; 1: 122-30.
  - 22.Angus DC, Wax RS. Epidemiology o sepsis: An update. *Crit Care Med*; 2001; 29(7): 109-16.
  - 23.McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia, *Arch Intern Med*; 1962; 110: 83.
  - 24.İtorico-Sanders LJ, Cobbs CG. Gram-negative bacteremia and the sepsis syndrome. In: Stein JH (ed), *Internal Medicine*, 4. Edition. Mosby-Year book İne; 1994; 1941-52.
  - 25.Balk RA, Parrillo JE. Septic shock: Clinical syndrome, management, outcome and sequelae. In: Fishman AP, McGrave-Hill İnc; 1992; 185-97.
  - 26.Jawad I, Lukšić I, Rafnsson SB. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health.*;2012; 2(1): 1-9.
  - 27.Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T, Edwards JR, Tolson J, Henderson T, Martone WJ. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States; *Am J Med*; 1991; 91(3): 86-9.

28. Aygün G. Sepsis ve Septik Şok; Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi; 2000; 3: 131-14.
29. Başak M, Coşansel S, Çankır Z, Keskin O, Yazgan Y, Koçak N. Sepsis, septik şok ve tedavide son yaklaşımlar. Sendrom; 1998; 10: 4-61.
30. Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL, Parsonnet J, Panzer R, Orav EJ, Snyderman DR, Black E, Schwartz SJ, Moore R, Johnson BL, Platt R. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers; 1997; 278(3): 234-40.
31. Salman T. Sepsiste Yeni Kavramlar ve Tanımlamalar; ANKEM Derg; 1998; 12(3): 320-22.
32. Wang H, VanderMeer TJ, Fink MP. Endotoxemia causes ileal mucosal acidosis in the absence of mucosal hypoxia in a normodynamic porcine model of septic shock, Critical Care Medicine; 1995; 23(7): 1217-26.
33. McCormack DG, Mehta S, Tyml K, Scott JA, Potter R, Rohan M. Pulmonary Microvascular Changes during Sepsis: Evaluation Using Intravital Videomicroscopy, Microvascular Research; 2000; 60(2): 131-140.
34. Michael P, Boudjeltia Z, Danny KB, Vincent E, Louis J, Philippe L, Michel V. Alterations of red blood cell shape and sialic acid membrane content in septic patients, Critical Care Medicine; 2003; 31(8): 2156-62.
35. Yorgancı K. Sepsis patofizyolojisi. Yoğun Bakım Dergisi; 2005; 2: 80-1.
36. Özcan C, Hasanoğlu A, Gülcüler M. Sepsis ve İnflamasyon Mediatorları, Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 1996; 3(4): 374-81.
37. Groenevald ABJ. Pathogenesis of acute renal failure during sepsis, Nephrol Dial Transport; 1994; 9(4): 47.
38. Wan L, Banshaw SM, Langerberg C, Saotome T, May C, Bellomo R. Pathophysiology of septic acute kidney injury: what do you really know? Crit Care Med; 2008; 36(4): 198-203.
39. Marshall JC, Vincent JL, Frink MP, Cook DJ, Gordon R, Debra F, Charles JF, Eugen F, Konrad R. Measures, markers and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada. Crit Care Med; 2003; 31: 1560-7.
40. Abraham E, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. Crit Care Med; 2007; 35: 2408-16.
41. Anderson MR, Blumer JL. Advances in the therapy for sepsis in children, Pediatr Clin North Am; 1997; 44: 179.

42. Malaguarnera L, Imbesi R, Di Rosa M, Scuto A, Castrogiovanni P, Messina A, Sanfilippo S. Action of prolactin, IFN-gamma, TNF-alpha and LPS on heme oxygenase-1 expression and VEGF release in human monocytes/macrophages. *Int Immunopharmacol*; 2005; 5(9): 1458- 69.
43. Prins JM, Kuijper EJ, Mevissen ML, Speelman P, Van Deventer SJ. Release of Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin 6 during Antibiotic Killing of *Escherichia coli* in Whole Blood: Influence of Antibiotic Class, Antibiotic Concentration, and Presence of Septic Serum; 1995; 63(6): 2236–42.
44. Sriskandan S, Cohen J. Gram-Positive Sepsis. Mechanisms and Differences from Gram-Negative Sepsis; *Infectious Disease Clinics of North America*; 1999; 13(2): 397–412.
45. Bilgili B, Haliloğlu M, Cinel İ. Sepsis ve Akut Böbrek Hasarı, *Türk J Anaesth Reanim*; 2014; 42: 294-301.
46. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, Hong S, Side Y, Dapu W. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical  $CCl_3O_2$ ; 2002; 77(2): 209–12.
47. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch. Biochem. Biophys*; 1996; 336(1): 1-9.
48. Agarwal A, Shen H, Agarwal S, Rao AV. Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J Med Food*; 2001; 4(9): 15.
49. Reifen R, Nissenkorn A, Matas Z, Bujanover Y. 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J Gastroenterol*; 2004; 39(6): 514-19.
50. Antunes, LM, Darin, JD, Bianchi, MP. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats. *Pharmacol Res*; 2000; 41(4): 405-11.
51. Straub O. Key to carotenoids. Lists of natural carotenoids. In: Birkhauser Verlag: Basel; 1976.
52. Kasnak C, Palamutoğlu R. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*; 2015; 3(5): 226-34.
53. Kurt H, Başaran A, Aral E. Sıçanlarda Karbon Tetraklorit'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Likopen ile Önlenmesi, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*; 2005; 25: 167-73.
54. Breemen RB, Pajkovic N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene, 2008; 269(2): 339–51.

55. Lee MT, Chen BH. Stability of Lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chemistry*; 2002; 78: 425-32.
56. Clinton SK, Emenhiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ, Erdman JW. Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 1996; 5: 823-33.
57. Stahl W, Sies H, Review. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch Biochem Biophys*; 1996; 336(1): 1-9.
58. Clinton SK. Lycopene: chemistry biology and implications for human health disease *Nutr Rev*; 1998; 56: 35-51.
59. Britton G. Structure and properties of caretonoids in relation to function. *Faseb J*; 1995; 9: 1551-58.
60. Parker RS. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB Journal*; 1996; 10: 542-51.
61. Krinsky NI. The antioxidant and biological properties of the carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*; 1998; 854: 443-47.
62. Mortensen A, Skibsted LH. Relative stability of carotenoid radical cations and homologue tocopheroxyl radicals. A real time kinetic study of antioxidant hierarchy. *FEBS Lett*; 1997; 417: 261-66.
63. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys*; 1989; 274: 532-38.
64. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. *Antioxid Redox Signal*; 2008; 10: 475-510.
65. Männistö S, Yaun SS, Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Albanes D, Van den Brandt PA, Buring JE, Cerhan RJ, Colditz GA, Freudenheim LJ, Fuchs CS, Giovannucci E, Goldbohm RA, Harnack L, Leitzmann M, McCullough ML, Miller AB, Rohan TE, Schatzkin A, Virtamo J, Willett WC, Wolk A, Zhang SM, Smith-Warner SA. Dietary Carotenoids and Risk of Colorectal Cancer in a Pooled Analysis of 11 Cohort Studies, *American Journal of Epidemiology, Am J Epidemiol*; 2007; 165:246-55.
66. Rao AV, Agarwal S. Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease. *Journal of the American College of Nutrition*; 2000; 19: 563-69.
67. Sabbağ Ç, Sürücüoğlu M. Likopen: İnsan Sağlığında Vazgeçilmez Bir Bileşen, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*; 2011; 6(3): 27-41.

- 68.Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health, *Pharmacological Research*; 2007; 55: 207-16.
- 69.Bıçaklı D, Uslu R. Likopen ve kanser, *Türk Onkoloji Dergisi*; 2012; 27(2): 93-97.
- 70.Agarwal A, Shen H, Agarwal S, Rao AV. Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J Med Food*; 2001; 4: 9-15.
- 71.Ames BN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1995; 92: 5258-65.
- 72.Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*; 1994; 344: 721-24.
- 73.Ben-Dor A, Steiner M, Gheber, Danilenko M, Dubi N, Linnewiel K, Zick A, Sharoni Y, Levy J. Carotenoids activate the antioxidant response element transcription system. *Mol Cancer Ther*; 2005; 4: 177-86.
- 74.Kensler TW. Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxication enzymes. *Environ Health Perspect*; 1997; 105: 965-70.
- 75.Talalay P. Chemoprotection against cancer by induction of phase 2 enzymes. *Biofactors* 2000;12: 5–11. Lindshield BL, Canene-Adams K, Erdman JW, Jr. Lycopeneoids: are lycopene metabolites bioactive? *Arch Biochem Biophys*; 2007; 458: 136-40.
- 76.Dhakshinamoorthy S, Jaiswal AK. Functional characterization and role of INrf2 in antioxidant response element-mediated expression and antioxidant induction of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene. *Oncogene*; 2001; 20: 3906-17.
77. Witztum J L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*; 1994; 344: 793- 795.
- 78.Khachik F, Beecher GR, Goli MB, Lusby WR, Smith JC. Separation and identification of carotenoids and their oxidative products in extracts of human plasma. *Anal. Chem*; 1992; 64: 2111-22.
- 79.Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc. Soc Exp Biol Med*; 1992; 200: 248-54.
- 80.Seppanen CM, Csallany AS. The effect of paprika carotenoids on in vivo lipid peroksidation measured by urinary excretion of secondary oxidation products. *Nutrition Research*; 2002; 22: 1055-65.
- 81.Dembinska-Kiec A. Carotenoids: risk or benefit for health. *Biochimica et Biophysica Acta*; 2005; 1740: 93-94.

82. Muzandu K, Ishizuka M, Sakamoto KQ, Shaban Z, El Bohi K, Kazusaka A, Fujita S. Effect of lycopene and beta-carotene on peroxynitrite-mediated cellular modifications. *Toxicol Appl Pharmacol*; 2006; 215: 330-40.
83. Park YO, Hwang ES, Moon TW. The effect of lycopene on cell growth and oxidative DNA damage of Hep3B human hepatoma cells. *Biofactors*; 2005; 23: 129-39.
84. Hwang ES, Bowen PE. Effects of lycopene and tomato paste extracts on DNA and lipid oxidation in LNCaP human prostate cancer cells. *Biofactors*; 2005; 23: 97-105.
85. Huang HY, Alberg AJ, Norkus EP, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Prospective study of antioxidant micronutrients in the blood and the risk of developing prostate cancer. *Am J Epidemiol*; 2003; 157: 335-44.
86. Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis*; 1997; 18: 1847-50.
87. Liu XH, Yao S, Kirschenbaum A, Levine AC. NS398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis and downregulates bcl-2 expression in LNCaP cells. *Cancer Res*; 1998; 58: 4245-9.
88. Selçuk NY, Yakan B, San A, Başoğlu M, Tonbul Z, Kızıltunç A, Gündoğdu C. The evaluation of lipid peroxidation and alpha-tocopherol treatment in experimental warm renal ischemia and reperfusion. *Official Journal of the Turkish Nephrology Association*; 1996; 1: 5-10.
89. Pruthi RS, Derksen E, Gaston K. Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review. *J Urol*; 2003; 169: 2352-9.
90. Aşıcıoğlu YT. Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Bölümü 2005;47-49.
91. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes, *Am J Clin Nutr*; 1997; 66(1): 116-22.
92. Castenmiller JJM, West CE. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu. Rev. Nutr*; 1998; 18: 19-38.
93. Rao AV, Ray MR, Rao LG. Lycopene. *Advances In Food and Nutrition Research*; 2006; 51: 99-164.
94. Canene A, Campell K, Susan Zaripheh, Elizabeth H, John W. Erdman Jr. The Tomato as a functional food. *J Nutr*; 2005; 135(5): 1226-30.

95. King H, Aubert R, Herman W. Global burden of diabetes 1995-2025. Prevalence numerical estimates and projections. *Diabetes Care*; 1998; 21: 1414-31.
96. Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Pineal Res*; 2000; 32(4): 225-30.
97. Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster M, Anawalt B, Critchfield J, Keen C, Copper, Zinc, Manganese, and Magnesium Status and Complications of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*; 1991; 14(11): 1050-56.
98. Ayan NN. Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulan Rat Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres, Paraoksonaz-1 Aktivitesi ve Stobadin'in Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara; 2007.
99. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med*; 2000; 17: 171-80.
100. Li W, Wang G, Lu X, Jiang Y, Xu L, Zhao X. Lycopene Ameliorates Renal Function in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. *INT J Clin Exp Pathol*; 2014; 7(8): 5008-15.
101. Scolastici C, Alves de Lima RO, Barbisan, LF, Ferreira AL, Ribeiro DA, Salvadori DMF. Lycopene activity against chemically induced DNA damage in Chinese hamster ovary cells, *Toxicology in Vitro*; 2007; 21: 840-45.
102. Ateşşahin A, Yılmaz S, Karahan İ, Ceribaşı O, Karaoğlu A. Effects of Lycopene Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rats. *Elsevier Toxicology*; 2005; 116-23.
103. Mohammed SA. Protective effect of lycopene on deltamethrin-induced histological and ultrastructural changes in kidney tissue of rats. *Toxicology and Industrial Health*; 2014; 30(29): 160-73.
104. Koul A. Phytomodulatory Potential of Lycopene From *Lycopersicon esculentum* Against Doxorubicin Induced Nephrotoxicity, *Indian J Exp Biol*; 2013; 51(8): 653-45.
105. Conesa LE, Valero F, Nadal JC, Francisco J, Bernardo L, Begoña A, Miguel GS. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol*; 2001; 281: 730-37.
106. Pektaş A, Cemalmaz H, Balkaya M, Ünal C, Yenisey Ç, Kılıçarslan N, Çulhacı N. Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Ratlarda Likopenin Kısa Dönemde Etkisi. *Turkish Journal of Urology*; 2014; 40(1): 46-51.



- 107.Kaya C, Karabulut R, Türkyılmaz Z, Sönmez K, Kulduk G, Gülbahar Ö, Köse F, Başaklar AC. Lycopene has reduced renal damage histopathologically and biochemically in experimental renal ischemia-reperfusion injury; 2015; 37(8): 78.
- 108.Agusti P, Greicy MM, Somacal S, Einsfeld L, Ramos AT, Hosomi YM, Graça DL, Emanuelli T. Effect of Lycopene on Nephrotocitiy İnduced by Mercuric Chloride in Rats, *Jornal compilation, Nordic Pharmacological Society. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*; 2007; 100: 398-402.
- 109.Özer AB, Özer S. Ratlarda Sevofluranın Oluşturduğu Histopatolojik Değişimlere Likopenin Etkisi; 2007; 21(83): 103-8.
- 110.Yu C, Qi D, Sun JF, Li P, Fan HY. Rhein prevents endotoxin-induced acute kidney injury by inhibiting NF-κB activities. *Sci Rep*; 2015; 11822(5): 1-16.
- 111.Abdel-Raheem IT, Khedr NF. Renoprotective effects of montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, against methotrexate-induced kidney damage in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*; 2014; 387(4): 341-53.
- 112.Daniel E.E, Mohammed A, Tanko Y, Ahmed A, Adams MD, Atsukwei D. Effects of Lycopene on Thyroid Profile in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats, *European Journal of Biotechnology and Bioscience*; 2015; 2321-22.
- 113.Kırkıl G, Muz MH, Sancaktar E, Kaman D, Ahin K, Küçük Ö. The Effect Of Lycopene Supplementationon Chronic Obstructive Lung Disease. *Nobel Medicus*; 2011; 8(3): 98-104.
- 114.Bala R, Khanna D. Experimental evidence for the potential of Lycopene in the management of Scopolamine induced Amnesia; 2015; **5**: 72881-92.
- 115.Prema A, Janakiraman U, Manivasagam T, Justin A. Neuroprotective effect of lycopene against MPTP induced experimental Parkinson's disease in mice, *Neuroscience Letters Neuroscience Letters*; 2015; 599(10): 12–19.
- 116.Giri AK, Rawat JK, Sing M, Gautam S, Kaithwas G. Effect of lycopene against gastroesophageal reflux disease in experimental animals; *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015; 15: 110.
- 117.Mihmanlı A, Tahaoglu K, Şahin İ, Ağca B, Kalyoncu A. Tuncer F, Sakız D. Deneysel Sepsis Modelinde Akciğer Patolojisi ve Antibiyotiklerin Etkisi, *Ulusal Travma Dergisi*; 2002; 8: 3-5.
- 118.Gupta S, Adhami VM, Subbarayan M. Suppression of prostate carcinogenesis by dietary supplementation of celecoxibin transgenic adenocarcinoma of the Mouse prostate model. *Cancer Res*; 2004; 64: 3334-43.

119. Schnell D, Camous L, Guyomarc'h S, Jacques D, Emmanuel C, Pierre G, Anne-Sylvie D, Fabrice Z, Elie A, Michael D. Renal perfusion assessment by renal Doppler during fluid challenge in sepsis. *Crit Care Med*; 2013; 41: 1214-20.
120. Waz WR, Feld LG. Reactive oxygen molecules in the kidney. *Adv Exp. Med Biol*; 1994; 366: 171-83.
121. Andreoli SP, McAteer JA. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. *Kidney. Int*; 1990; 38: 785-94.
122. Stratta P, Canavessa C, Dogliani M, Mazzucco G, Monga G, Vercellone A. The role of free in the progression of renal disease. *Am J Kidn Dis*; 1991; 17(1): 33-37.
123. Ardaillou R, Baud L. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *British Med Bulletin*; 1993; 49: 621-30.
124. Ardaillou R, Baud L. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol*; 1986; 251: 765-76.
125. Rovin BH, Wurst E, Kohan DE. Production of reactive oxygen species by tubular epithelial cells in culture. *Kidney Int*; 1990; 37: 1509-14.
126. Lee DCW and Lau ASY. Effects of Panax ginseng on Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -Mediated Inflammation: A Mini-Review. *Molecules*; 2011; 16: 2802-16.
127. Pepke-Zaba J, Higgenbottom TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension; 1991; 8776(338): 1173-74.
128. Hack CE, Ogilvie AC, Eisele B. Initial studies on the administration of C1-esterase inhibitor to patients with septic shock or with a vascular leak syndrome induced by interleukin-2 therapy. *Prog Clin Biol Res*; 1994; 38: 335-57.
129. Day NP, Phu NH, Mai N, Delia B, Tran C, Phu PL, Xuan DS, Tom S, Guy H, Tinh HT, Nicholas W. Effects of dopamine and epinephrine infusions on renal hemodynamics in severe sepsis. *Crit Care Med*; 2000; 28: 1353-62.
130. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*; 1998; 282: 2085-88.
131. Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Gusovsky F. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem*; 1999; 274: 10689-92.
132. Senftleben U, Karin M. The IKK/NF-kappa B pathway. *Crit Care Med*; 2002; 30: 18-26.

133. Abdel-Raheem IT, Khedr NF. Renoprotective effects of montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, against methotrexate-induced kidney damage in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*; 2014; 387(4): 341-53.
134. Greenhill CJ, Rose-John S, Lissilaa R, Ferlin W, Ernst M, Paul J, Hertzog PJ, Ashley Mansell A, Jenkins BJ. IL-6 trans-signaling modulates TLR4-dependent inflammatory responses via STAT3. *J Immunol*; 2011; 186: 1199-208.
135. Cunningham PN, Dyanov HM, Park P, Wang J, Newell KA, Quigg RJ. Acute renal failure in endotoxemia is caused by TNF acting directly on, tnfrseptor-1 in kidney. *J Immunol*; 2002; 168: 5817-23.
136. Gao R, Chen J, Hu Y, Li Z, Wang S, Shetty S, Fu J. Sirt1 Deletion Leads to Enhanced Inflammation and Aggravates Endotoxin-Induced Acute Kidney Injury, *PLoS ONE* 2014; 9(6): 1-7.
137. Oğuz E, Kacarlan S, Tabur, Sezen H, Yılmaz Z, Aksoy N. Effects of Lycopene Alone or Combined With Melatonin on Methotrexate-Induced Nephrotoxicity in Rats; *Asian Pac J Cancer Pres*; 2015; 16(14): 6061-66.
138. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*; 1995; 41(2): 1819-29.
139. Köken T, Serteser M, Kahraman A, Çetinkaya G. The effects of smoking on oxidative stress in hemodialysis patients, Official journal of the Turkish Society of Nephrology; 2002; 11(2): 121-24.
140. Yurdakul G, Sarıtaş ZK. Buzağılarda Arthritis Olgularının Klinik, Radyografik, Kanda ve Sinoviyal Sıvıda Bazı Biyokimyasal Parametreler Yönünden Değerlendirilmesi; *Kocatepe Vet J*; 2013; 6(2): 13-22.
141. Heber D, Lu QY. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med*; 2002; 920-3.
142. Chasse GA, Mak ML, Deretey E, Farkas I, Torday LL, Papp JG, Sarma DSR, Agarwal A, Chakravarthi S, Agarwal S, Rao AV. An ab initio computational study on selected lycopene isomers. *Journal of Molecular Structure*; 2001; 571: 27- 37.
143. Thijs A, Thijs LG. Pathogenesis of renal failure in sepsis, *Kidney INT*; 1998; 53(16): 34.
144. Raza A. Anti TNF alpha therapies in rheumatoid arthritis, Chron's disease, sepsis and myelodysplastic syndromes. *Microse Res Teah*; 2000; 50: 229-35.
145. Karahan İ, Ateşşahin A, Yılmaz S. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005; 215: 198-204.

146. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A, Öztürk C, Özturhan H, Çamdeviren H, Aksöyek S. Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pediatric Surgery*; 2006; 41: 1686-93.
147. Pektaş A, Gemalmaz H, Balkaya M, Ünsal C, Yenisey Ç, Kılıçarslan N, Çulhacı N. The short-term protective effects of lycopene on renal ischemiareperfusion injury in rats *Turkish Journal of Urology*; 2014; 40(1): 46-51.





**Dollvet**

Veteriner Aşıları / Veterinary Vaccine

Sayı : 2014/87

Konu : Yerel Etik Kurul Kararı

30/12/2014

**DOLLVET A.Ş.**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**  
**(DOLLVET-HADYEK)**

Sayın: Elif OĞUZ;

Kurulumuza 26.12.2014 tarihinde yapmış olduğunuz "LPS ile indüklenen Sepsis Modelinde Likopenin Böbrek Üzerindeki Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması" isimli HÜBAK projenizde yapacağınız hayvan denemeleri kurulumuzca uygun bulunmuştur.

Dr. Hüseyin ZENGİN  
Sorumlu Yönetici

Ek:

- Karar onayı

Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Sanayi ve Ticaret A.Ş.

Tel: +90 414 3691133 • Fax: +90 414 3691662 • Gsm: +90 533 6900 26 • 1. Organize Sanayi Bölgesi 8. Cad. No: 3 ŞANLIURFA

Ticaret Sicil No: 6776/9048 • Mersis: 0 3100 3407 6700 012

www.dollvet.com.tr • dollvet@dollvet.com.tr