

PAPER DETAILS

TITLE: Ratlarda Nikel Sülfatin Genotoksisitesine Karsi Likopenin Koruyucu Etkisi

AUTHORS: Zozan GARIP,Füsun TEMAMOGULLARI,Pinar AKSU KILIÇLE

PAGES: 1-6

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2541883>



ORİJİNAL MAKALE / ORIGINAL ARTICLE

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi / BAUN Sağ Bil Derg
Balıkesir Health Sciences Journal / BAUN Health Sci J
ISSN: 2146-9601- e ISSN: 2147-2238
Doi: <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1144724>



Ratlarda Nikel Sülfatın Genotoksitesine Karşı Likopenin Koruyucu Etkisi

Zozan GARİP ¹, Füsun TEMAMOĞULLARI ¹, Pınar AKSU KILIÇLE ²

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

²Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Geliş Tarihi / Received: 17.07.2022, Kabul Tarihi / Accepted: 16.09.2022

ÖZ

Amaç: Endüstrilerde geniş kullanım yeri olan nikelin teratojenik, kanserojenik, immünotoksik ve genotoksik etkileri vardır. Bu çalışmada, nikel sülfatın sebep olduğu genotoksitesiteye karşı antioksidan özelliğe sahip likopenin koruyucu etkileri araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmada toplam 24 adet rat (Wistar albino) dört gruba ayrılmıştır. Grup I (kontrol) günlük olarak serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) ve mısır yağı oral gavajla (0.5 ml); Grup II nikel sülfat (20 mg/kg, i.p.) serum fizyolojik içerisinde çözündürülerek; Grup III likopen mısır yağı (0.5 ml) süspansiyon haline getirilerek 20 mg/kg dozlarında oral gavajla; Grup IV likopen mısır yağı (0.5 ml) içerisinde süspansiyon haline getirilerek 20 mg/kg dozlarında oral gavajla verildikten 2 saat sonra nikel sülfat (20 mg/kg, i.p.) 21 gün boyunca uygulanmıştır. Genotoksitesite testlerinden biri olan kemik iliğinden mikronükleus testiyle mikronükleuslu polikromatik eritrositler (MNPCE) ve polikromatik eritrositler (PCE) incelenmiştir. **Bulgular:** Koruyucu amaçlı olarak likopen uygulamasının MNPCE düzeylerini nikel sülfat grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.001$) düşürdüğü belirlenmiştir. **Sonuç:** Likopenin 20 mg/kg dozunda uygulanmasının nikel sülfatın meydana getirdiği genotoksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Genotoksitesite, Likopen, Nikel, Rat.

Protective Effect of Lycopene Against Genotoxicity of Nickel Sulphate in Rats

ABSTRACT

Aim: Nickel, which has a wide usage area in industries, has teratogenic, carcinogenic, immunotoxic, and genotoxic effects. In this study, the protective effects of lycopene, which has antioxidant properties, were investigated against genotoxicity caused by nickel sulphate. **Materials and Methods:** In the study, a total of 24 rats (Wistar albino) were divided into four groups: Group I (control) was given daily saline intraperitoneally (i.p.) and corn oil orally by gavage (0.5 ml); Group II was given nickel sulphate (20 mg/kg, i.p.) dissolved in physiological saline; Group III was given lycopene suspended in corn oil (0.5 ml) by oral gavage at 20 mg/kg doses; Group IV was given both lycopene suspended in corn oil (0.5 ml) by oral gavage at 20 mg/kg doses, and 2 hours later, nickel sulphate (20 mg/kg, i.p.) for 21 days. Micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) and polychromatic erythrocytes (PCE) were examined by bone marrow micronucleus test, which is one of the genotoxicity tests. **Results:** It was determined that the administration of lycopene for preventive purposes decreased the MNPCE levels significantly ($p<0.001$) compared to the nickel sulphate group. **Conclusion:** Administration of lycopene at a dose of 20 mg/kg is protective against the genotoxic effects of nickel sulphate.

Keywords: Genotoxicity, Lycopene, Nickel, Rat.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Zozan GARİP, Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

E-mail: garipzozan@gmail.com

Bu makaleye atıf yapmak için / Cite this article: Garip, Z., Temamoğulları, F., Kılıçle, P. A. (2022). Ratlarda nikel sülfatın genotoksitesitesine karşı likopenin koruyucu etkisi. *BAUN Health Sci J*, 11(Supplement 1): 1-6.

<https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1144724>



BAUN Health Sci J 2022 OPEN ACCESS <https://dergipark.org.tr/tr/pub/balikesirsbd>
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Endüstriyel gelişmelerle birlikte artan çevre kirliliği küresel bir sorundur (Timothy ve Tagui Williams, 2019). Modern endüstrilerde geniş kullanım alanına (elektrik-elektronik, otomotiv, kimya, enerji, ulaşım ve tıbbi gereçler vb.) sahip olan nikel çevre kirliliğinde etkili ağır metallerden biridir (Das ve ark., 2018; Genchi ve ark., 2020). Çevre kirliliğine ve beslenmeye bağlı olarak insan ve hayvanlar nikel farklı yollarla maruz kalmaktadır. Çeşitli çalışmalarda nikelin immünotoksik, teratojenik, kanserojenik ve genotoksik etkileri vurgulanmıştır (Ijomone ve ark., 2018; Kim ve ark., 2018; Usman ve ark., 2022). İnsan ve hayvan sağlığında alerjik dermatit, böbrek ve kardiyovasküler hastalıklara, akciğer fibrozu, akciğer ve burun kanseri ile üreme sistemi üzerinde nikel olumsuz etkiye yol açmaktadır (Genchi ve ark., 2020). Çevre kirlleticilerinin sağlık üzerinde meydana getirdiği olumsuzluklara karşı yüksek antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip besin takviyelerinin kullanılabileceği ifade edilmiştir (Hennig ve ark., 2018). Likopen antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antidiyabetik ve hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif özelliklere sahip bir karotenoiddir (Imran ve ark., 2020; Khan ve ark., 2021). Bu çalışmada, nikelin oluşturduğu genotoksitesiteye karşı likopenin koruyucu etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanları

Çalışmada 24 adet sağlıklı erkek rat (Wistar albino, 6 haftalık, 200±20 g ağırlığında) Harran Üniversitesi Hayvan Deneyi Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvar Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Laboratuvar koşullarına 7 gün adaptasyonları sağlanarak standart laboratuvar şartlarında 12 saat karanlık/aydınlık döngü olacak şekilde, 23±2°C, %60–65 nemde, pelet yem (protein (%22.21), yağ (%3.32), fiber (%3.12), karbonhidrat (%68), vitamin ve mineral) ve su *ad libitum* beslenme yapıldı.

Deney grupları ve deneysel işlemler

Ratlar rastgele dört gruba ayrıldı. Grup I kontrol günlük olarak serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) ve mısır yağı (0.5 ml) oral gavajla (Ateşşahin ve ark., 2006); Grup II nikel sülfat (Acros organik nikel sülfate heptahydrate, Lot: A0371683, kod:270552500) (20 mg/kg, canlı ağırlık (c.a), günlük, i.p.) serum fizyolojik içerisinde çözülürölerek (Temamoğulları ve ark., 2022) Grup III Likopen (Redivivo TM, kod 7803, DSM Nutritional Products, İstanbul, Turkey) mısır yağı (0.5 ml) süspansiyon haline getirilerek 20 mg/kg dozlarında oral gavajla (Jiang ve ark., 2016; Sharma ve Vijaya, 2015) Grup IV likopen mısır yağı (0.5 ml) içerisinde süspansiyon haline getirilerek 20 mg/kg dozlarında oral gavajla verildikten 2 saat sonra nikel sülfat (20 mg/kg, c.a, günlük, i.p.) 21 gün boyunca uygulandı (Adeyemi ve ark., 2017; Deng ve

ark., 2012). Hayvanlar deneme sonunda (22. gün) dekapitasyon yöntemiyle ötenazi edildi.

Mikronükleus testi

Çalışmada Schmid (1975) tarafından geliştirilen yöntemle göre iki ucundan kesilen femur kemiğinden kemik iliği içerisinde 3 ml fetal dana serumu bulunan santrifüj tüpe aktarıldı. Tüpler 2000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatantlar atılarak tüpte kalan kısmın üzerine bir damla dana serumu konuldu. Süspansiyon edilen kısımdan alınan bir damla örnek temiz lamlar üzerine yayıldı (Şekil 1). Lamalar havada kurutuldu. Fiksasyon işlemi 10 dakika metil alkolde gerçekleştirildi (Schmid, 1975).



Şekil 1. Rat femurunda kemik iliği örneğinin alınması, süspansiyon edilen kısımdan alınan bir damla örneğin temiz lam üzerine yayılması

Boyama işlemi

Fikse edilmiş preparatlar 5'er dakika sırasıyla %0.25'lik May Grunwald ve %0.125'lik May Grunwald boyası ile boyandıktan sonra saf suyla yıkandı. Boyama işlemi preparatların 30 dakika %20'lik Giemsa boyası ile boyanıp, yıkanması ve kurumaya bırakılmasıyla tamamlandı. Preparatlar 1000 büyütmede ışık mikroskopunda, her preparattan rastgele 2000 adet polikromatik eritrositler (PCE) sayılarak gerçekleştirilmiştir. Bunların içerisinde mikronükleuslu polikromatik eritrositlerin (MNPCE) sayıları belirlenerek, yüzdeleri çıkartılmıştır (Aksu ve ark., 2013).

İstatistiksel analiz

Çalışma sonuçlarının normal dağılıma uygun olup olmadığını belirlemek amacı ile Kolmogorow-Smirnov normallik testi yapıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS 22 programı kullanılarak yapıldı. Deney grubu ortalamaları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve eğer deney grupları ortalamaları arasında farklılık varsa gözlenen bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığının saptanılması

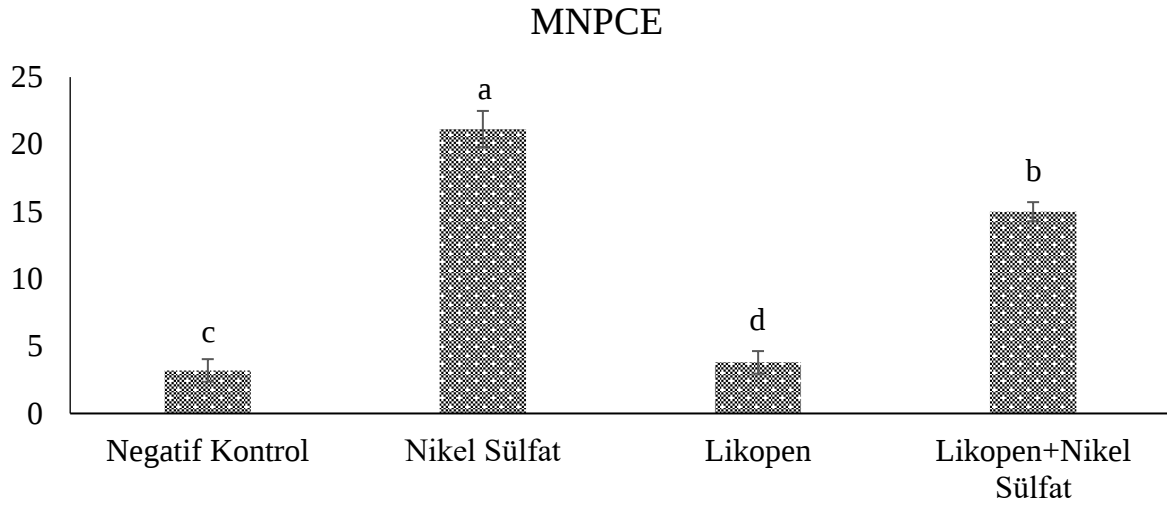
için grup ortalamaları üzerinde 'ANOVA-Tukey' testi uygulandı ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Araştırmanın etik yönü

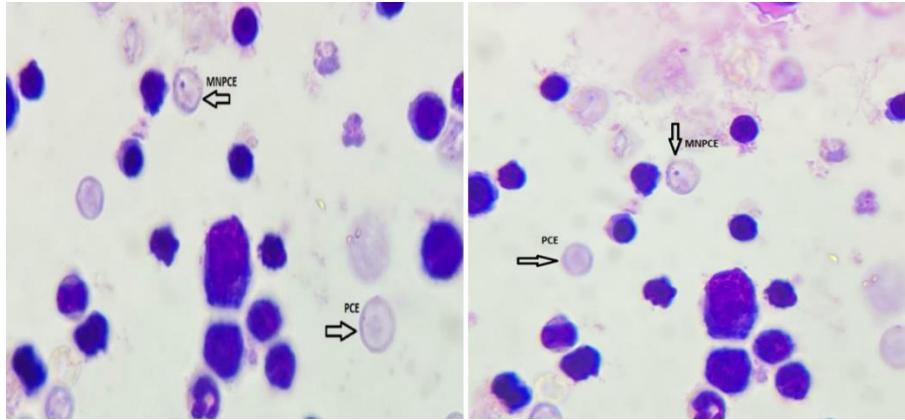
Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (Toplantı tarihi:23.06.2022; Oturum no: 2022/05; Karar: 01-06) etik izin alınmıştır.

BULGULAR

Ratlarda nikel sülfat ve likopen uygulamaları neticesinde elde edilen MNPCE sayılarının istatistiksel analizlerinden elde edilen veriler incelendiğinde, nikel sülfat uygulanan gruptaki hayvanların MNPCE sayılarının diğer gruplara oranla daha yüksek olduğu ($p < 0.001$) (Şekil 2), koruyucu amaçlı olarak likopen uygulamasının ise MNPCE sayılarını nikel sülfat grubuna göre düşürdüğü ($p < 0.001$) (Şekil 2) belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 2. Negatif kontrol ve uygulama gruplarındaki hayvanlara ait 2000 adet Polikromatik Eritrosit (PCE) sayılarak gerçekleştirilen çalışmada MNPCE sayıları (Ortalama±standart sapma, farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir)



Şekil 3. Oklar ratların kemik iliğinde 1000 büyütmede ışık mikroskopunda Polikromatik Eritrosit (PCE), Mikronükleer Polikromatik Eritrosit (MNPCE) görüntüleri

TARTIŞMA

Bilindiği gibi çeşitli karsinojen ajanlara maruziyet genotoksitete ve mutajeniteye sebep olmaktadır. Oluşan genotoksik veya mutajenik etkilerin belirlenmesi amacıyla Ames testi, Comet testi, kromozom aberasyon testi, kardeş kromatid değişimi

testi ve mikronükleus (MN) gibi çeşitli testler kullanılmaktadır. MN testi, kimyasal karsinojenlerin kemik iliği kullanılarak hücrelerde meydana getirdiği yapısal ve sayısal kromozom anormallikleri ve genomik kararsızlığın gösterilmesinde kullanılan bir biyozlem testidir. Genotoksitenin

belirlenmesinde mikronükleus testi *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda kullanılan güvenli, hızlı ve geniş kullanım alanı olan bir testtir (Şekeroğlu ve Atli-Şekeroğlu, 2011; Zhivagui ve ark., 2016). Endüstrilerde yaygın kullanım alanına sahip ağır metallerden biri olan nikel, özellikle meydana getirdiği oksidatif hasar ile DNA zincirini, çapraz bağlarını ve onarım mekanizmasını bozarak kanserojeniteye sebep olmaktadır. Nikel bileşiklerinin *in vitro* ve *in vivo* birçok çalışmada genotoksik etkisi ortaya konulmuştur (Guo ve ark., 2019; Zhu ve Costa, 2020). Mevcut çalışmada nikel uygulanan grupta MNCE sayısındaki artış nikel sülfatın genotoksisite meydana getirdiği ve diğer çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Beslenmenin, çevresel kirleticilerin aracılık ettiği doku hasarı, reaktif oksijen türleri ve serbest radikalleri temizlemesiyle sitotoksisite mekanizmalarını iyileştirdiği, hücrelerdeki lipit seviyesini, antioksidan durumu ve oksidatif stresi önleyebileceği ifade edilmiştir (Lourenço ve ark., 2019). Antioksidan potansiyele sahip likopenin kanser, nörodejenerasyon ve osteoporoz gibi kronik hastalık durumlarında oksidatif hasarı iyileştirmek amacıyla nutrasötik olarak kullanımına olan ilgi her geçen gün artmaktadır (Imran ve ark., 2020). Özellikle düşük oksijenli peroksil radikallerini temizleyerek lipit peroksidasyonunu engelleyici etkisi bulunmaktadır (Tchonkouang ve ark., 2022). Likopenin kanser önleyici etkisi, serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girmesiyle açıklanmıştır (Yasmeen ve ark., 2022; Tchonkouang ve ark., 2022). Temamoğulları ve ark., (2022) ratlarda MN testi ile yaptığı çalışmada, 20 mg/kg nikel sülfat uygulanan grupta MNPCE sayısını 20.33 ± 1.03 olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca 20 mg/kg bromelainin genotoksisiteye karşı etkili olmadığı belirtilmiştir. Mevcut çalışmada benzer şekilde nikel uygulanan grupta MNPCE sayısı 21.14 olarak belirlenmiş ve likopenin koruyucu etkisinin anlamlı olduğu belirlenmiştir. Bu farklılık koruyucu amaçla kullanılan maddelerin antioksidan potansiyelleri ile uygulama sürelerinin farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Temamoğulları ve ark., 2022). Genotoksik etkiye sahip kapsaisinın meydana getirdiği mutajeniteye karşı 2 mg/kg likopenin lipid peroksidasyonu ve kemik iliğinde MN sayısını düşürdüğü belirtilmiştir (Banji ve ark., 2013). Comet testiyle yapılan çalışmada, 15 mg/kg likopenin lenfositlerdeki DNA hasarını iyileştirdiği tespit edilmiştir (Torbergsen ve Collins, 2000). Likopenin (1µM, 3µM, 5µM, 10 µM konsantrasyon) mutajen bir madde olan etil metan sulfonat karşı soğan kök hücrelerinde doza bağlı olarak kromozom hasarını azalttığı ve koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir (Aslantürk, 2003). Farelerde, yapısında likopen bulunan karpuzun siklofosamid kaynaklı genotoksik etkiye karşı MNPCE sıklığını azaltarak doğal antigenotoksik olduğu ifade edilmiştir (Asita ve Molise, 2011). Ratlarda ferrik

nitrilotriasetatın meydana getirdiği DNA hasarının 10 mg/kg likopen ön tedavi uygulanan grupta daha az olduğu ifade edilmiştir (Matos ve ark., 2001). Yine yapılan başka bir çalışmada nikel maruz kalan ratlarda MNPCE sayısının arttığı ve Omega-3 yağ asitleri uygulamasının MNPCE sayısını düşürdüğü, genotoksik etkiyi azalttığı belirtilmiştir (Owumi ve ark., 2019).

SONUÇ

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda, birçok kimyasal maddenin en düşük miktarlarının bile genotoksik ve mutajenik olabileceği rapor edilmiştir. Bundan dolayı, belirtilen etkilere sahip olma potansiyeli taşıyan kimyasal ajanların insan ve hayvanlarda mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere neden olup olmadıklarının ortaya çıkarılması ve bu etkilere karşı antimutajenik, antikarsinojenik ve antiteratojenik olarak alınması gereken maddeler, önlemler son derece önemlidir. Yapılan bu çalışma sonucunda; nikel sülfatın genotoksik etkisine karşı likopenin (20 mg/kg) MNPCE sayılarını, nikel sülfat grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü, nikel sülfatın uygulanan dozuna (20 mg/kg) karşı potansiyel olarak koruyucu olduğu söylenebilir. Likopen ve nikel sülfat kimyasalları üzerinde yapılan mikronükleus testi dışında, diğer *in vivo* ve *in vitro* kısa zamanlı genotoksisite testlerinde gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve/veya yayınlanması ile ilgili olarak herhangi bir potansiyel çıkar çatışması beyan etmemiştir.

Yazar Katkıları

Plan, tasarım: ZG, FT; **Gereç, yöntem ve veri toplama:** ZG, FT; **Veri analizi ve yorum:** PAK; **Yazım ve eleştirel değerlendirme:** ZG, FT, PAK.

Finansal Destek

Bu araştırma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adeyemi, O. S., Aroge, C. S., & Akanji, M. A. (2017). Moringa oleifera-based diet protects against nickel-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Biomedical Research*, 31(4), 350–357. <https://doi.org/10.7555/JBR.31.20160051>.
- Aksu, P., Doğan, A., Gül, S., & Kanıcı, A. (2013). Farelerde 3-Metilkolantren ile indüklenen fibrosarkoma üzerine sisteminin etkileri: Genotoksisitenin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(6), 955–961. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2013.9172>.
- Asita, A. O., & Molise, T. (2011). Antimutagenic effects of red apple and watermelon juices on cyclophosphamide-induced genotoxicity in mice. *African Journal of Biotechnology*, 10(77), 17763–17768. <https://doi.org/10.5897/AJB11.756>.

- Aslantürk, Ö. S. (2003). Likopenin kromozom hasarını değiştirici etkilerinin araştırılması. (Yüksek Lisans tezi). <http://hdl.handle.net/11607/98>.
- Ateşşahin, A., Karahan, İ., Türk, G., Gür, S., Yılmaz, S., & Çeribaşı, A. O. (2006). Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reproductive Toxicology*, 21(1), 42-47. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.05.003>.
- Banji, D., Banji, O. J., Reddy, M., & Annamalai, A. R. (2013). Impact of zinc, selenium and lycopene on capsacin induced mutagenicity and oxidative damage in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27(3), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2013.01.001>.
- Das, K. K., Reddy, R. C., Bagoji, I. B., Das, S., Bagali, S., Mullur, L., Khodnapur, J. P., & Biradar, M. S. (2018). Primary concept of nickel toxicity - An overview. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(2), 141-152. <https://doi.org/10.1515/jbcp-2017-0171>.
- Deng, Y., Xu, Z., Liu, W., Yang, H., Xu, B., & Wei, Y. (2012). Effects of lycopene and proanthocyanidins on hepatotoxicity induced by mercuric chloride in rats. *Biological Trace Element Research*, 146(2), 213-223. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9242-3>.
- Genchi, G., Carocci, A., Lauria, G., Sinicropi, M. S., & Catalano, A. (2020). Nickel: Human health and environmental toxicology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 679. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030679>.
- Guo, H., Liu, H., Wu, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2019). Nickel carcinogenesis mechanism: DNA damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4690. <https://doi.org/10.3390/ijms20194690>.
- Hennig, B., Petriello, M. C., Gamble, M. V., Surh, Y. J., Kresty, L. A., Frank, N., Rangkadilok, N., Ruchirawat, M., & Suk, W. A. (2018). The role of nutrition in influencing mechanisms involved in environmentally mediated diseases. *Reviews on Environmental Health*, 33(1), 87-97. <https://doi.org/10.1515/reveh-2017-0038>.
- Ijomone, O. M., Olatunji, S. Y., Owolabi, J. O., Naicker, T., & Aschner, M. (2018). Nickel-induced neurodegeneration in the hippocampus, striatum and cortex; an ultrastructural insight, and the role of caspase-3 and α -synuclein. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.05.017>.
- Imran, M., Ghorat, F., Ul-haq, I., Ur-rehman, H., Aslam, F., Heydari, M., Shariati, M. A., Okuskhanova, E., Yessimbekov, Z., Thiruvengadam, M., Hashempur, M. H., & Rebezov, M. (2020). Lycopene as a natural antioxidant used to prevent human health disorders. *Antioxidants*, 9(8), 1-27. <https://doi.org/10.3390/antiox9080706>.
- Jiang, W., Guo, M. H., & Hai, X. (2016). Hepatoprotective and antioxidant effects of lycopene on non-alcoholic fatty liver disease in rat. *World Journal of Gastroenterology*, 22(46), 10180-10188. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i46.10180>.
- Khan, U. M., Sevindik, M., Zarrabi, A., Nami, M., Ozdemir, B., Kaplan, D. N., Selamoglu, Z., Hasan, M., Kumar, M., Alshehri, M. M., & Sharifi-Rad, J. (2021). Lycopene: Food sources, biological activities, and human health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2713511. <https://doi.org/10.1155/2021/2713511>.
- Kim, H., Loftus, J. P., Gagné, J. W., Rutzke, M. A., Glahn, R. P., & Wakshlag, J. J. (2018). Evaluation of selected ultra-trace minerals in commercially available dry dog foods. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 9, 43. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S165890>.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132. <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>.
- Matos, H. R., Capelozzi, V. L., Gomes, O. F., Di Mascio, P., & Medeiros, M. H. (2001). Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 396(2), 171-177. <https://doi.org/10.1006/abbi.2001.2611>.
- Owumi, S. E., Olayiwola, Y. O., Alao, G. E., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2019). Cadmium and nickel co-exposure exacerbates genotoxicity and not oxidative-inflammatory stress in liver and kidney of rats: Protective role of omega-3 fatty acid. *Environmental toxicology*, 35(2), 231-241. <https://doi.org/10.1002/tox.22860>.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research*, 31(1), 9-15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8).
- Şekeroğlu, V., & Atli-Şekeroğlu, Z. (2011). Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi Micronucleus test for determining genotoxic damage. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4), 241-252. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2011.06977>.
- Sharma, S., & Vijaya, P. (2015). Ameliorating potential of lycopene against cadmium toxicity in kidney of albino mice. *International Journal of Advanced Research*, 3(2), 766-770.
- Tchoukouang, R. D. N., Antunes, M. D. C., & Vieira, M. M. C. (2022). Potential of carotenoids from fresh tomatoes and their availability in processed tomato-based products. In Martínez-Espinosa, R.M (Ed.), *Carotenoids-New Perspectives and Application [Working Title]*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.103933>.
- Temamoğulları, F., Aksu Kılıç, P., Gürler, Ş., & Garip, Z. (2022). Effect of bromelain against nickel genotoxication in rats. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 17(1), 26-30. <https://doi.org/10.54614/VetSciPract.2022.1050128>.
- Timothy, N., & Tagui Williams, E. (2019). Environmental pollution by heavy metal: An overview. *International Journal of Environmental Chemistry*, 3(2), 72-82. <https://doi.org/10.11648/j.ijec.20190302.14>.
- Torbergson, A. C., & Collins, A. R. (2000). Recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage; the apparent enhancement of DNA repair by carotenoids is probably simply an antioxidant effect. *European Journal of Nutrition*, 39(2), 80-85. <https://doi.org/10.1007/s003940050006>.

- Usman, M., Murtaza, B., Natasha, N., Imran, M., Abbas, G., Amjad, M., Shahid, M., Ibrahim, S. M., Owens, G., & Murtaza, G. (2022). Multivariate analysis of accumulation and critical risk analysis of potentially hazardous elements in forage crops. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(2), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-09799-8>.
- Yasmeen, N., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2022). Lycopene. In J. Kour & G. A. Nayik (Eds.), *Nutraceuticals and health care* (pp. 115–134). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-03223-8>.
- Zhivagui, M., Korenjak, M., & Zavadil, J. (2016). Modelling mutation spectra of human carcinogens using experimental systems. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 121, 16–22. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12690>.
- Zhu, Y., & Costa, M. (2020). Metals and molecular carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 41(9), 1161–1172. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgaa076>.