

GİRİŞ VE AMAÇ

Likopen insan vücudunda sentezlenmeyen, tüketilen besinlerden elde edilen en önemli non enzimatik antioksidan ajanlardan biridir (Agarwal ve ark. 2001). Likopen insan plazmasındaki en baskın karotenoiddir. Karotenoidler gibi antioksidan maddeler dokudaki oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkilere sahiptirler (Antunes ve ark. 2000, Reifen ve ark. 2004).

Günümüzde böbrek tümörlerinin erken tanısı ile tedavide nefron koruyucu cerrahiler en çok uygulanan yöntemler olmuştur ve teknolojiye ilerlemeler ile bu tümörlere laparoskopik yaklaşım sıklığı da artmıştır (Bilen 2007). Bu cerrahiler sırasında renal artere geçici süre oklüzyon uygulanıyor, ve sıcak iskemiyeye bağlı iskemi-reperfüzyon hasarı oluşabiliyor.

İskemi sonrası reperfüzyon ile meydana gelen serbest oksijen radikalleri (SOR) iskemik akut renal yetmezlik patogenezinde önemli rol oynar. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyinin en fazla iskemiye takiben reperfüzyon sırasında arttığı tespit edilmiş ve antioksidan ajanlarla bu hasarları azaltılabileceği gösterilmiş (Selçuk ve ark. 1996).

Bu çalışmada, antioksidan non enzimatik bir karotenoid olan likopen'in, açık parsiyel nefrektomi ya da laparoskopik parsiyel nefrektomi sırasında oluşturulan geçici renal arter oklüzyonuna bağlı gelişen iskemi-reperfüzyon hasarının üzerine olası koruyucu etkisini göstermek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. İskemi

Dolaşımın bozulmasına bağlı olarak doku kanlanması geçici ya da olayın devam etmesi durumunda kalıcı olarak bozulmasıdır.

1.2. İskemi-reperfüzyon hasarı

Revaskülarizasyonun başlamasından sonra dokuda kalıcı hasar (iskemiye bağlı hücre ölümü) gelişmediği sürece revaskülarizasyon başlar. İskeminin uzun sürmesi halinde geri dönüşümsüz doku hasarları meydana gelebilir. Hipoksiye neden olan sebep ortadan kaldırıldıktan sonra dokuda reperfüzyon başlar. Dokuya gelip yerleşen PMNL (polimorf nüveli lökosit) ler tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir.

Cerrahi sonrası, en önemli komplikasyonlardan biride böbrek yetmezliğidir. Özellikle tek böbreği olup da parsiyel nefrektomi (PN) yapılan olgularda hemodiyaliz yapılmasını gerektirebilir. Bu yetmezlik uygunsuz cerrahi tekniğe bağlı olabileceği gibi, ameliyat sırasında oluşan renal iskemiye bağlı olarak gelişebilir (Kırkcalı ve ark. 2007). Laparoskopik parsiyel nefrektomi (LPN) uygulanan 118 hastanın 6 ay sonunda böbrek fonksiyonlarını değerlendiren bir çalışmada 55 dakikaya kadar olan sıcak iskeminin uzun dönem böbrek fonksiyonlarını etkilemediğini iddia etmişlerdir (Bhayani ve ark. 2004).

Geçici renal iskemi sonrası oluşan böbrek yetmezliğine neden olan iskemi sonrası reperfüzyona bağlı doku hasarını göstermeye çalışan bir çalışmada, ortalama 45 dakikalık bilateral renal iskemi sonrası renal hasarlanmaya bağlı olarak kan üre ve cr seviyeleri 1. saatten itibaren yükselmeye başlıyor ve 24. saatte en yüksek seviyeye ulaşıyor daha sonra gerileyerek 1. hafta sonunda tekrar normal kan değerlerine geriliyor.

Hipoksi sonrası;

- 0. saatte, kortikomeduller konjesyon, proksimal tübülde subkapsüler, sitoplazmik dejenerasyon
- 1. saatte, subkortikal granüler dejenerasyon
- 2. saatte, kortikomeduller bileşkede tubuler dilatasyon ve dejenerasyon
- 4. saatte, tubuler dilatasyon, kortikomeduller bileşkede sınırlı nekroz alanları
- 24. saatte, tubuler nekroz ve kalsifikasyon alanları

- 1. haftada, tubuler dilatasyon ve atrofi, fokal fibrozis gözlenmiş (Williams ve ark. 1997)

İskemi sonrası reperfüzyon ile meydana gelen serbest oksijen radikalleri iskemik akut renal yetmezlik patogenezinde önemli rol oynar. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada sıcak renal iskemi ve reperfüzyon sırasında oluşan SOR ile meydana gelen lipid peroksidasyonu ve renal histolojik değişiklikler üzerinde E vitamini tedavisinin etkileri incelenmiş. Renal histolojik incelemede 30 dakikalık sıcak renal iskemiye takiben proximal ve distal tubuluslarda nekroz görülmüş. 1 saatlik reperfüzyon sonrası renal histolojik inceleme yeniden yapılmış ve nekroz sahasında genişlemenin yanı sıra glomeruler hasar saptanmış. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan plazma MDA düzeyi ise en fazla iskemiye takiben reperfüzyondan sonra arttığı görülmüş. E vitamini tedavisinin yapıldığı grupta ise iskemiye bağlı renal hasarda bir değişiklik gözlenmemiş iken reperfüzyona bağlı doku hasarını ve lipid peroksidasyonunu E vitamininin azalttığı saptanmış (Selçuk ve ark. 1996).

1.3. Oksidatif renal hasarlanma

Nefronlar aerobik metabolizmanın belirgin bir şekilde gerçekleştiği, oksijenizasyonun fazla olduğu dokulardır, vücut oksijen tüketiminin % 10'undan sorumludurlar. Kardiyak outputun % 20'sine de maruz kalan böbrekler, bu özelliklerinden dolayı dolaşımdaki PMNL ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu sonucunda ek bir oksidatif strese maruz kalırlar (Waz ve Feld 1994, Bard ve Ardaillou 1986, Strata ve ark 1991, Bard ve Ardaillou 1993). Böbrekler, yüksek O₂ tüketimi ve metabolik aktiviteye ek olarak, infiltratif hücreler ve kendi tübül hücrelerinden de reaktif O₂ türleri oluşması nedeniyle zaman zaman, kendi antioksidan korunma mekanizmasını aşan oksidatif stresle karşılaşmakta ve böbreklerde reaktif O₂ türlerine bağlı doku hasarları oluşmaktadır (Waz ve Feld 1994, Bard ve Ardaillou 1993, Andreoli 1991, Rovin ve ark. 1990). Reaktif oksijen türlerinin iskemik, toksik, immünolojik kaynaklı böbrek harabiyetinde rol oynadığı bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Waz ve Feld 1994, Rovin ve ark 1990). Deneysel böbrek iskemisinde, elektron transport zinciri, ksantin oksidaz gibi oksidan enzimler, fagositler, epinefrinin otooksidasyonu ve araşidonik asit metabolitleri, reaktif oksijen türlerinin kaynaklarını oluşturmaktadır (Bard ve Ardaillou 1986, Andreoli 1991, Greene ve Paller 1991).

SOR, hücre ve organel membranlarında lipit peroksidasyonuna neden olur ve özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısını, hücre transport kapasitesini ve enerji üretimini bozarak etkilerini gösterirler (Andreoli ve McAteer 1990, Paller ve Neumann 1991). Deneysel immün glomerülonefritte SOR, PMNL ve monositler gibi kan kaynaklı infiltratif hücrelerden oluşurlar ve glomerül hücrelerine özellikle mezengial hücrelere yerleşirler. Bunların oluşması, morfolojik lezyonların meydana gelmesine, proteazların aktive olmasına, proteoglikan sentezinin düşmesine ve bunlara bağlı olarak proteinlere karşı glomerüler permeabilite artışının görülmesine neden olur (Baud ve Ardaillou 1986, Boyce ve ark. 1989).

SOR; prostoglandin, tromboksan, trombosit aktivite edici faktör gibi vazokonstriktör biyoaktif lipitleri serbestleştirerek ve vazodilatör olan nitrik oksiti inaktive ederek glomerül kan akımının ve glomerül filtrasyon hızının düşmesini indüklerler (Baud ve Ardaillou 1993, Rable ve ark. 1993). Proksimal, distal ve toplayıcı tübül hücrelerinin serbest oksijen türevlerini üretebildikleri gösterilmiştir (Andreoli 1991, Andreoli ve McAteer 1990, Paller ve Neumann 1991). SOR' un böbrek hasarındaki rolü glomerülonefrit, nefrotik sendrom, akut böbrek yetmezliği, transplantasyon, toksik hasar, enfeksiyon, obstrüktif nefropati ve kronik böbrek yetmezliği gibi patolojiler deneysel modellerle in vivo hayvan deneyleriyle gösterilmiştir (Waz ve Feld 1994, Andreoli 1991).

1.3.1. Glomerüler Hasar

Glomerülonefritin in vivo hayvan modellerinde, glomerüler kapillerinde immün kompleks formasyonun ve kompliman aktivasyonunun PMNL, monosit ve makrofajları içine alan kemikiliği kaynaklı inflamatuvar hücrelerinin infiltrasyonunu takiben olduğu bildirilmiştir. Bu hücreler, glomerüler hemodinamik yapıyı değiştirerek ve proteinüri gelişmesini sağlayarak glomerüler hasarı indüklerler. Bu patolojik gelişmeler serbest oksijen radikallerinin hücre üzerindeki etkileri ile açıklanmaktadır. Bunlardan radikallerin sorumlu tutulmasının en önemli nedenlerinden biri, doku hasarının olduğu bölgede O_2^- (süperoksit), H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve HO^- (hidroksil) gibi serbest oksijen radikallerinin gösterilmesidir (Boyce ve ark 1989, Shah 1989, Johns ve ark 1987).

Yine son yıllardaki bir çok çalışma PMNL, monosit ve makrofajların glomerüllerde meydana gelen SOR' un kaynağı olduğunu ortaya koymuştur. Ancak membranöz nefritteki proteinürinin patogenezinin, kan kaynaklı hücrelerin sorumlu olmaması, glomerüllerde glomerül hücrelerinin kendilerinin SOR üretiminde potansiyel kaynak olabileceklerini

düşündürmektedir. Bu hipotez glomerül hücrelerinde insan kaynaklı mezengial hücrelerin SOR üretmeleriyle kanıtlanmıştır (Strata ve ark. 1991, Boyce ve ark. 1989, Shah 1989).

1.3.2. Nefrotoksik Hasar

Gentamisin, adriamisin, civa, radyokontrast madde, sefalosporin, gliserol gibi nefrotoksik ajanlar, serbest radikalleri veya reaktif O₂ moleküllerini uyararak veya kendi antioksidan savunma mekanizmasını baskılayarak böbrek hasarı oluştururlar (Greene ve Paller 1991, Parvez ve ark. 1989). Gentamisin, böbreklerde özellikle mitokondrilerde MDA miktarını arttırdığı ve bu etkisinin OH⁻ tutucular ile geri döndürülebildiği gösterilmiştir. Civanın, radyokontrast maddelerin ve sefalosporinin de lipit peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Waz ve Feld 1994, Greene ve Paller 1999, Parvez ve ark. 1989).

İskemi-reperfüzyon hasarı böbrek dokusuna spesifik olmasa da akut böbrek yetmezliğinin patogenezinde yer alır. İskemik akut böbrek yetmezliği böbreklerde vazokonstriksiyon, glomerüler filtrasyon hızında ani düşme, tübül tıkanıklığı ve glomerüler filtratın tübüllere geri sızmasıyla karakterize kompleks bir sendrom olarak tanımlanır (Kumar ve Robbins 1987). Deneysel in vivo hayvan modellerinde, böbrek arterlerinin bağlanmasıyla veya intrarenal norepinefrinin infüzyonuyla, ayrıca izole proksimal tübül segmentlerinde ve epitelyal hücrelerin kültürlerinin de hipoksi ve reoksijenasyona maruz bırakılmasıyla yapılan in vitro çalışmalarda, serbest O₂ radikallerinin bu tür lezyonların patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (Baud ve Ardaillou 1993).

Akut böbrek yetmezliğinin en sık nedeni akut tübüler nekrozdur (ATN). ATN morfolojik olarak tübül epitelyal hücrelerinin yıkımı ve klinik olarak böbrek işlevlerinin akut olarak baskılanmasıyla karakterizedir. ATN çeşitli klinik durumlarda ortaya çıkan, geriye dönebilen bir böbrek lezyonudur. Şiddetli travmadan, akut pankreatit ve septisemiye kadar değişebilen bu klinik durumlara genellikle belirgin hipotansiyon ve şokun eşlik ettiği periferik organlara yetersiz kan akımı vardır. Olayı ortaya çıkaran faktörlerin çokluğu nedeniyle ATN sık olarak gelişmektedir. Bundan başka geriye dönebilir olması ayrı bir önem taşımaktadır, çünkü uygun tedavi tam iyileşme mümkündür (Kumar ve Robbin 1987).

Post iskemik, böbrek hasarı iki aşamada gerçekleşir. Birincisi; akımının bozulması ve yetersiz kan akımı sonucunda adenosin trifosfat (ATP) azalması yani iskemik dönem, ikincisi ise; iskemiye takiben reoksijenasyon safhası olarak bilinen reperfüzyon dönemidir. Bu bifazik hasarın en önemli göstergeleri, reperfüzyon döneminden önce yapılan histolojik doku

çalışmalarında minimal hasar tespit edilmesi ve reperfüzyonun erken döneminde uygulanan tedavilerden ve girişimlerden sonuç alınıp, korunma sağlanmasıdır (Bulkley 1994, Thornton ve Zager 1990). Her ne kadar oluşan bu doku hasarına bakış genelde iskemi üzerinde yoğunlaşsa da, çalışmalar değişken oranlarda olmakla birlikte, bu hasarın önemli bir kısmının O₂ metabolitlerince reperfüzyon safhasında oluşturulduğunu ortaya koymuştur (Bulkley 1987). O₂ radikallerinin kısa ömürlü ve böbrek dokusunun kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı O₂ radikallerini direkt tespit etmek zor olmaktadır (Baud ve Ardaillou 1993). Ancak bir çok çalışmada varlıkları, serbest O₂ kaynaklı lipit peroksidasyonun ölçülmesiyle indirekt olarak gösterilmiştir (Konya ve ark. 1990, Nath ve Paller 1990).

Paller ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar bu konuda yapılan çalışmalara temel oluşturması bakımından büyük önem taşımaktadır. Proksimal tübül epitelyal hücrelerinin O₂⁻ radikalini, H₂O₂'yi ve OH⁻ radikalini normoksemik durumlarda üretebileceği, in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Hipoksi ve reoksijenizasyon boyunca bu ürünlerin üretimini daha da arttığı ve lipit peroksidasyona neden oldukları kanıtlanmıştır (Paller ve Neumann 1991). Reoksijenasyon olmadığı takdirde letal iskemik hücre zedelenmesi gerçekleşecek fakat toksik oksijen türevleri burada rol almayacaktır. Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuçta bol miktarda kalsiyum hücre içine girecektir. Tübül epitelyal hücreleri arasında proksimal tübül hücreleri, oksidan hasara karşı distal tübül hücrelerinden daha fazla hassastırlar ve daha fazla etkilenirler (Greene ve Paller 1991).

1.3.3. Hücre hasarı

Oksijen basıncının azalması sonucu hücre içi ATP üretimi belirgin olarak azalır. ATP seviyelerinin düşmesi, plazma membranının ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesinin azalması, suyun izoosmotik artışı ile birlikte akut hücrel şişmeye neden olur. Hücrel ATP'da azalma ile birlikte adenosin monofosfatta (AMP) artma da fosfofrüktokinaz enzimini uyararak, glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır. Glikojenin hızla tükenmesi, laktik asit ve inorganik fosfatların birikimi ile hücre içi asidoz gelişir, protein sentezi azalır hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinde artış olur, buda morfolojik bozulmaya neden olur. Eğer oksijen eski haline dönerse tüm bu bozukluklar reversibldir, eğer iskemi devam eder ise son olarak irreversibl doku harabiyeti hücre lizisi gerçekleşir (Andreoli ve McAteer 1990, Kumar ve Robbins 2000).

Post iskemik böbrek hasarının, O₂ radikallerinden kaynaklandığını destekleyen görüşler, deneysel çalışmalarda antioksidanların kullanılması ve olumlu sonuçlarının alınmasıyla daha da artmıştır. İskemiden önce ve reperfüzyon safhasında SOD infüzyonunun glomerül filtrasyon hızındaki düşmeyi önleyerek fonksiyonel, hücrel nekrozu ve tübül obstrüksiyonunu azaltarak histolojik koruma sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar iskemi-reperfüzyon modelinde O₂⁻ radikalinin önemini göstermesi açısından önemlidir (Greene ve Paller 1991, Kaur ve ark 1989).

İskemi ve reperfüzyon hasarında ayrıca platelet aktive edici faktör (PAF) ve komplemanlar da rol oynamaktadır. SOR'un endotel hücrelerini PAF üretimi yapma üzere stimüle ettiği de gösterilmiştir. PAF potent bir nötrofil agonistidir. PAF, nötrofil adezyonunu artırır ve lökositlerin ekstrasvazyonuna katkıda bulunur. Poliansatüre yağ asitleri serbest radikal etkilerine duyarlı olmalarına karşın protein ve nükleik asitler bu zararlı etkilere karşı daha dirençlidirler. Bunun başlıca sebebi, şiddetli hasar oluşturan zincirleme reaksiyonların protein ve nükleik asit moleküllerinde gerçekleşme ihtimalinin çok zayıf olmasıdır. Serbest radikaller ancak DNA molekülüne çok yakın bir bölgede meydana geliyorsa, okside edici radikaller tarafından DNA molekülünü hasara uğratılabilmektedir (Kayalı ve Çakatay 2004).

2. Sıcak iskemi ile seyreden nefron koruyucu cerrahiler

Günümüzde ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) gibi radyolojik görüntüleme yöntemlerinin yaygın olarak kullanılması ile böbrek tümörleri daha küçük boyutlu olarak, erken evrede, rastlantısal olarak saptanmaktadır (Canda ve ark. 2001). Bundan dolayı günümüzde bu tümörlerin cerrahi tedavisinde nefron koruyucu cerrahi (NKC) en çok uygulanan cerrahi yöntem olmuştur. PN'de amaç, renal tümörün tamamen rezeksiyonu ve kalan sağlam dokuda mümkün olduğunca çok fonksiyonel parankimin bırakılmasıdır. Birçok araştırmacı radikal nefrektomi (RN) yapılamayacak olgularda zorunlu nefron koruyucu cerrahi sonrası sonuçları yayınlamış ve bu yaklaşımın geçerliliğini göstermişlerdir. Tümör boyutu 4 cm'den küçük olup nefron koruyucu cerrahi (NKC) yapılan olgulardaki kansere özgü sağ kalım oranları ile aynı boyutlu tümörlere RN yapılması arasında benzer sonuçlar bulunmuştur (Lee ve ark. 2000, Belldegrun ve ark. 1999). Artan tümör boyutuna göre PN yapılan olgularda 5 yıllık hastaliksız sağ kalım 4 cm'den küçük tümörlerde % 100, 4-7 cm arasındaki tümörlerde % 90 ve 7 cm'den büyük tümörlerde % 66 olarak bildirilmiştir (Belldegrun ve ark. 1999).

Bu nedenle günümüzde NKC özellikle periferik yerleşimli ve 4 cm'den küçük tümörlerde önerilmektedir. Her ne kadar, elektif NKC yapılması için tümör boyutu üst sınırı 4 cm olarak önerilse de dikkatli seçilmiş olgularda 7 cm'ye kadar olan tümörlerde de NKC yapılabileceği gösterilmiştir (Nieder ve ark. 2003).

NKC sonrası lokal nüks % 0-12 olarak bildirilmiştir (Van Poppel ve Baert, 1994). Tümör boyutu 4 cm'den küçük olan tümörler ile 4 cm'den büyük tümörlere PN yapılması sonrası 5 ve 10 yıllık kansere özgül sağ kalım ve nüks olmadan sağ kalım oranları karşılaştırılmış ve tümör boyutu küçük olan grupta anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (Hafez ve ark. 1999).

2.1. Parsiyel nefrektomi endikasyonları

▪ Kesin endikasyonlar

- I. Soliter böbrekteki tümörler
- II. Bilateral renal tümörler
- III. Şiddetli böbrek yetmezliği

▪ Rölatif endikasyonlar

- I. Karşı böbrekte hastalık olması
 - Nefrolitiazis
 - Geçirilmiş rekürren pyelonefrit
 - Hafif-orta derecede böbrek yetmezliği
 - Üreteropelvik bileşke darlığı
 - Vezikoüreteral reflü
- II. Böbrek yetmezliğine yol açabilen hastalık olması
 - Diyabetes Mellitus
 - Hipertansiyon
- III. Multifokal hastalık yada altta yatan genetik sendrom olması
 - Papiller renal hücreli karsinom
 - Von Hippel-Lindau hastalığı

▪ Elektif endikasyonlar

- I. 4 cm'den küçük boyutlu renal tümörler
- II. Genç, sağlıklı kişiler
- III. Böbrekte periferik yerleşimli tümörler (Kırkcalı ve ark. 2004, Nieder ve ark. 2003)

Küçük çaplı, düşük evreli tümörlerde yapılmış olan bir çalışmada 5 yıllık sağ kalım oranları NKC yapılanlarda % 96, RN yapılanlarda ise % 100 olarak bildirilmiştir (Butler ve ark. 1995).

2.2. Açık nefron koruyucu cerrahi

Renal arterin geçici olarak oklüzyonu sonrası PN çok daha etkin şekilde yapılabilir. Sıcak iskemi oluşumu, metabolizmanın artması ile birlikte olduğu için soğuk iskemiye göre daha fazla zarar vericidir. Ancak PN sırasında kanama olur ise renal arterin oklüzyonu gerekebilir. Açık nefron koruyucu cerrahide renal arter ve venin geçici süre ile oklüzyonu sonrası mobilize edilen ve izole edilen tümör böbrek parankimine olan bağlantılarının insizyonu ve 3-4 milimetrelik sağlam parankim ile birlikte rezeke edilir. Çoğu olguda renal damarlar ve toplayıcı sistem onarıldıktan sonra böbrek kesilen kortikal sınırlardan kendi üzerine tek tek atılan sütürler ile kapatılır ve renal arterdeki klemp açılarak böbrek dolaşımı başlatılır (Kırkcalı ve Canda 2007).

2.3. Laparoskopik nefron koruyucu cerrahi

Günümüzde dünyada birçok merkezde böbrek tümörünün standart cerrahi tedavisi, açık cerrahi ile hemen hemen aynı onkolojik sonuçlara sahip olan laparoskopik cerrahi kullanımı yaygınlaşmıştır. Laparoskopik cerrahi hastaların hem iyileşme sürelerini kısaltmış, hem kanama miktarını azaltmış, hem de daha iyi kozmetik sonuçlar sağlamıştır. Ayrıca daha düşük morbiditeye sahip olduğu gösterilmiştir (Ono ve ark. 2001). Böbreğe lokalize 4 cm'den küçük tümörlerin tedavisinde ise parsiyel nefrektomi standart tedavi haline gelmiştir. Günümüzde 7 cm' ye kadar tümörlerde nefron koruyucu cerrahi uygulayan merkezler vardır. Birçok tecrübeli laparoskopist, nefron koruyucu cerrahinin endike olduğu olgularda laparoskopik tekniği başarı ile uygulamaktadır. Teknolojik gelişmeler günümüzde, çoğu kanser hastasının tedavisinde minimal invazif tekniklerin başarıyla kullanılmasına olanak sağlamıştır (Bilen 2007).

Açık işlem de olduğu gibi LPN'de de kan kaybının azaltılması ve tümörün çıkarılması esnasında kansız bir alan sağlamak bu sayede tümörün rahat görülebilir ve kolay çıkarılabilir olmasını sağlamak için renal arterin klempenmesi gerekir.

LPN'de, renal arter ve ven açık cerrahide olduğu gibi birlikte veya arter tek başına klemlenebilir. Renal vasküler klemp yerleştirildikten sonra sıcak iskemi süresi takip edilmelidir. Sıcak iskemi süresi laparoskopik grupta, açık cerrahiye kıyasla daha uzun olmasına rağmen, 30 dakikanın altında kalan süreler güvenli olarak kabul edilmektedir (Desai ve ark. 2005). LPN sırasında, soğuk fizyolojik solüsyon ile renal arter perfüzyonu dahil, birçok bölgesel hipotermi tekniği bir çalışmada kullanıldı, fakat bu teknik ameliyat öncesinde anjiokater yerleştirilmesini ve üreterik katetere yerleşik bir retrograd kullanım ile yıkama yapılmasını gerektirmekte idi. Renal sıcaklık 20-25 °C'ye düşürüldü ki bu yeterince düşük bir sıcaklık olarak kabul edildi. Son zamanlarda yarı erimiş buz ile doldurulmuş "endobag" in kullanımını tanımlandı. Bu teknik parankimal renal sıcaklığının 5-19 °C olmasını başardı ancak ameliyatı uzattı ve tümörün çıkarılmasına zarar verdiği saptandı (Gill ve ark. 2003).

3. Serbest radikaller

Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikal üretimi birçok fizyolojik ve patolojik olayın bir parçasıdır (Abdollahi ve ark. 2004). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların reaksiyonlar ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden korunmaktadır. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma, bu dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliği gösterir (Serafini ve Del Rio 2004).

Oksidatif stres doğal bir süreçtir, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde, çeşitli basamaklarda oluşmaktadır. Biyolojik sistemler, bu stresi kontrol altında tutan, spesifik mekanizmalar içermektedir. Kontrol mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda oksidatif hasar meydana gelmektedir (Floyd 1992). Serbest oksijen radikalleri reaktif oksidan moleküller olup vücutta endojen olarak normal metabolik aktiviteler sonucunda meydana gelirler. SOR'lar hücrede bazı önemli biyomoleküllerle (lipit, protein, DNA) tepkimeye girerek oksidatif hasar meydana getirirler (Rao ve Agarwal 1999).

Reaktif oksijen radikallerinin fazla oluşması ve/veya hücrede tahrip edilememesi kanserde gözlemlendiği gibi hücre moleküllerinde ve yapısında ciddi bir tahribata yol açar. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar

(Huxtable 1992). Serbest radikaller; hidroksil, süperoksit, nitrik oksit (NO) ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Cochran 1991).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, SOD enzimi aracılığı ile hidrojen peroksit ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H₂O₂, dokularda bulunan katalaz (CAT), peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz hale getirilir. SOD'un etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonunu hızlandırırlar. Aynı durum katalaz enzimi içinde geçerlidir (Kaya ve ark. 1998, Mates 2000).

Serbest oksijen radikallerinin; ağır metal nefrotoksisitesi, CCl₄'e (karbon tetraklorür) bağlı karaciğer hasarı, ilaç ve toksinlerle oluşan hasarlar, kurşun zehirlenmesi, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, ateroskleroz, romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogeneğinde etkili olduğu düşünülmektedir (Özdem ve Şadan 1994). Reaktif oksijen ve nitrojen türevleri insanlarda ve hayvanlarda fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşur. SOR üretimi eksojen ve/veya endojen kaynaklı olabilir (Bahçeci 1999). Eksojen reaktif oksijen türevlerinin kaynakları: Hava kirleticiler, doğal zararlı gazlar (ozon), iyonize ve non iyonize radyasyon, ilaçlar, alkol, sigara, virüsler ve bakteriler. Endojen reaktif oksijen türevlerinin kaynakları: Mitokondrial, endoplazmik ve nükleer elektron transport sistemlerinde (S-P450), peroksizomlarda, nötrofil ve monositlerin fagositozu gibi normal metabolik olaylar sırasında bol miktarda serbest radikal üretilir (Akkuş 1995).

Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyona bağımlı bir enzim olan GSH-Px tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilir. Ortamdaki glutatyonun tükenmesi serbest lipid gruplarının oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarına diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların ve direkt doku hasarının göstergesi olabilirler.

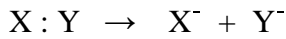
Serbest oksijen radikalleri, toksisite, metabolik disfonksiyon ve kalsiyumun intraselüler hemostazisinde bozulma gibi çoğul mekanizmalarla başta santral sinir sistemi olmak üzere bir çok bölgede doku hasarı meydana getirirler (Facchinetti ve ark. 1998, Kaya ve ark. 1998, Mates 2000).

Lipid peroksidasyonunda en önemli ürün olan MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin, enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu etkilerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir (Kalender ve ark. 2002, Niki 1987, Placer ve ark. 1990, Porter 1984).

Serbest radikaldeki eşlenmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içinde bir başka elektronla spin paylaşmadığından radikaller ekstra elektronları başka atomlara lokalize oluncaya ya da elektron alıncaya kadar oldukça reaktiftir. Aşırı reaktif bu maddeler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız (reaktif) bir atom haline getirme eğilimindedirler. Bu nedenle, radikaller başka moleküllerle birkaç farklı mekanizma ile reaksiyona girerek onları da kararsız formda yapılar haline getirirler (Thomas 1995).

Bir serbest radikal üç yolla ortaya çıkabilir (Halliwell 2001).

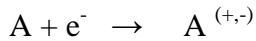
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar. Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Serbest radikaller, hem indirgen, hem yükseltgen olarak ve bazen de her iki etkiyi birlikte göstererek hücre hasarına neden olurlar. Serbest radikaller zararlı etkilerinin yanında vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar. Serbest radikaller yalnızca hücre hasara sebep olmazlar hücre sinyal iletiminde de

önemli role sahiptirler (Sodergen 2000, Gomez ve ark. 2005). Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur. Mitokondride aerobik solunumda kullanılan oksijenin % 2-5'i bu tür tepkimelerde kullanılmak üzere serbest oksijen radikallerine dönüştürülür. Hücrelerin metabolik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için serbest oksijen türevlerinden faydalanılır (Nishiyama ve ark. 1998).

İnfeksiyöz ajanlara karşı savunma için gerekli olan reaktif oksijen türleri kan hücreleri tarafından aşırı salgılanacak olursa bu kez yarar yerine zararlı olmaya başlarlar. Bu radikallerin oluşumunu ve meydana getireceği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Eğer bu radikaller savunma mekanizmalarının kapasitesini aşarlarsa hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi önemli bileşenlerinde hasara neden olurlar. Lipitler serbest radikal hasarına karşı en hassas yapılardır (Akkuş 1995).

3.1. Serbest oksijen radikalleri

3.1.1 Süperoksit radikali (O_2^-)

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikalini meydana getirebilir. Çok reaktif bir serbest radikal değildir (Halliwell ve Gutteridge 2001). Süperoksit radikalinin kendisi direkt olarak zarar vermez, bu radikal anyonun asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir. Nötral çözeltilerde negatif yüklüdür (Nordberg ve Arner 2001).

Süperoksit radikali sulu çözeltilerde H_2O_2 oluşturur. Süperoksitlerden biri elektronlarını diğerine verir böylelikle birinci süperoksit O_2^- 'ye okside olurken diğer süperoksit H_2O_2 'ye redükte olur (Halliwell ve Gutteridge 2001).

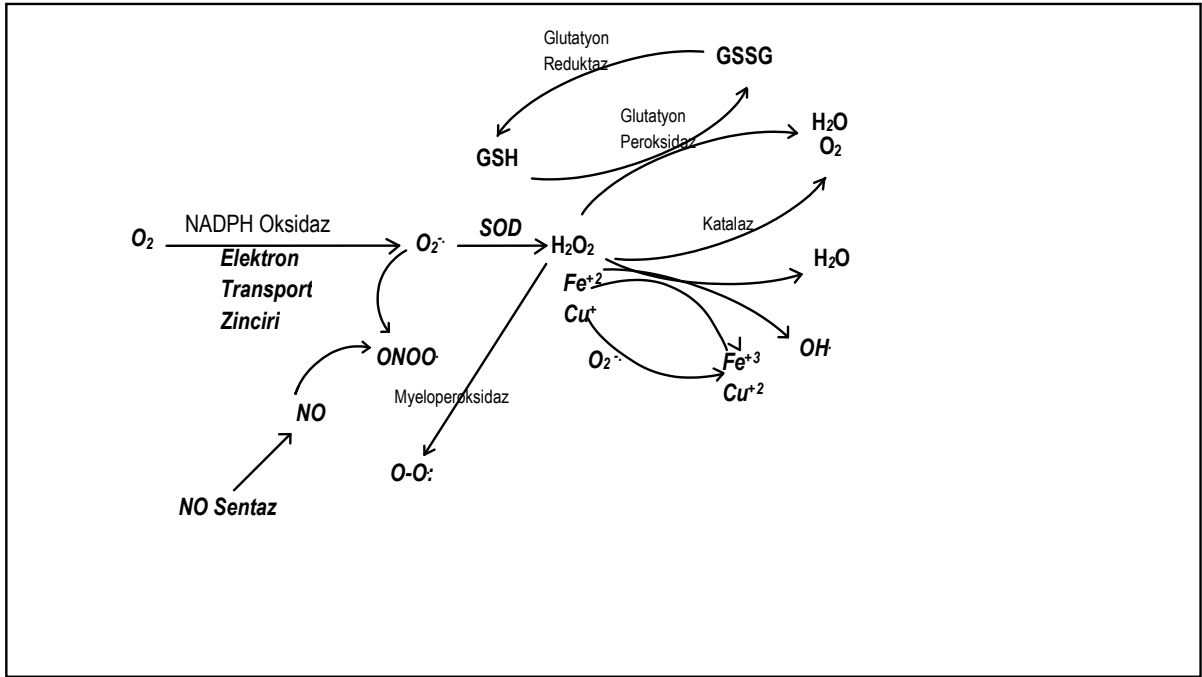


Süperoksit, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların düzenlenmesi gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksit düzeyleri bakteriyel enfeksiyonlara karşı artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla H_2O_2 ve oksijene dönüştürülerek azaltılır.

Böylece hücrel süperoksit düzeyleri sıkı kontrol altındadır. Süperoksit radikalının yarılanma ömrü hücrelerin farklı yerlerinde bulunan süperoksit dismutaz enziminin varlığına bağlıdır. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO^-) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO_2), hidroksi radikali, nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki NO'nun zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur. Süperoksitin fazla üretimi ya da enzimatik korumanın azalması büyümenin yavaşlaması, mutagenez ve hücre ölümüyle sonlanır (Fridovich 1987).

3.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksitin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak da oluşabilmektedir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksitin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksitin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksit başka bir şekilde de serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur (Şekil 1). Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lokosit defansının diğer bir komponentidir (Vincent ve ark. 2004).



Şekil 1 : Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu (Vincent ve ark.2004)

3.1.3. Hidroksil radikali (OH^{\cdot})

Bilinen en reaktif radikaldır. Biyolojik sistemlere diğer serbest oksijen radikallerine göre daha fazla hasar verir. Oluşması için ortamda geçiş moleküllerine ihtiyaç vardır (Şekil 1). Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (Vincent ve ark. 2004, Sözmen 2002).

Hidroksil radikali canlı hücrelerde bulunan (aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddeler) bütün moleküller ile reaksiyona girebilmektedir (McCord 2000).

3.2. Serbest radikallerin biyolojik hedefleri ve dokular üzerindeki etkileri

- DNA' nın tahrip olması
- Nükleotit yapıları koenzimlerin yıkımı

- c) Lipit peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler
- e) Proteinlerle ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- g) Yaşlılık pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein “turnover” nin artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozulması kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı (Uysal 1998).

3.2.1. Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (şekeroğlu ve ark. 2000). Poliansature yağ asitlerinin oksidatif hasarı kendi kendini devam ettiren zincirleme bir reaksiyon olup geri dönüşümsüz membran hasarlarına neden olur. Hücre yüzeyindeki hormon reseptörleri, DNA, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz ve Na-K-ATPaz gibi enzimler lipit peroksidasyonu sırasında inaktive olur. Böylece lipit peroksidasyonu hücrelerde dejeneratif, mutajenik ve karsinojenik bozukluklara neden olabilir. İntraselüler mevcut demirin artması da oksidatif stres ile sonuçlanmakta ve lipit peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Lipid peroksidler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. MDA lipit peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (Young ve Woodside 2001, Masella ve ark 2005).

Malondialdehit kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehyitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla da hem endojen hem de eksojen antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda antioksidan suplementasyonunun plazma antioksidan düzeylerini önemli derecede artırdığı vurgulanmaktadır (Niki ve ark. 2005).

3.2.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Serbest radikaller bazı aminoasitlerle reaksiyona girerek enzimlerin etkilerini ortadan kaldırarak modifiye, fonksiyon görmeyen proteinlerin oluşmasına sebep olurlar. En çok sorumlu tutulan aminoasitler sülfür içerenlerdir. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi halkalı amino asitler oksidasyona en fazla maruz kalmaktadırlar. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler (Nordberg ve Ander 2001). Enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için protein oksidasyonu ile önemli hücresel ve membran fonksiyonları bozulmaktadır. Protein yapısındaki hasarın gösterilmesi için, protein karbonillerinin belirlenmesi yaygın olarak kullanılan bir göstergedir (Akkuş 1995).

3.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

Serbest radikaller DNA' nın kimyasal modifikasyonu ile mutagenik etkilerini göstermektedir. Özellikle hidroksil radikali, serbest radikallerin sebep olduğu DNA ayrılması, DNA protein çapraz bağlanımı, pürinlerin oksidasyonu gibi değişimlere sebep olmaktadır. DNA onarım sistemi hemen DNA' yı rejenere etmezse replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti

mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu mekanizma oksidatif strese maruz kalmış kişilerdeki artmış kanser prevalansını açıklamaktadır (Nordberg ve Arner 2001).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksidi maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki sistemik hasar açısından bu oldukça önemlidir (Dawn ve ark. 1996, Akkuş 1995).

4. Antioksidanlar

Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacı ile vücutta reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini enzimatik veya non enzimatik antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilir. İyi bir antioksidan serbest radikalleri belirli bir şekilde ortadan kaldırır, redoks metallerini tutar, antioksidan ağı içerisinde diğer antioksidanları tetikler, gen ekspresyonunda pozitif etkiye sahiptir, organizmada kolayca emilir ve membran ve/veya sulu ortamlarda fonksiyoneldir. Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler (Young ve Woodside 2001, Sözmen 2002).

1. Temizleme etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme
2. Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme
3. Onarma etkisi
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme

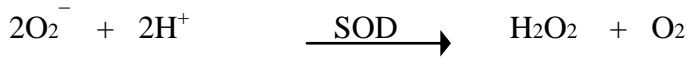
Nötrofillerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, yakın hücrelere ve solubl sistemlere zarar verir. Fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünsüpresif ve mutajenik etkiler gösterirler. Fagositin kendisi de reaktif oksidanların zarar vermelerine karşı hassastır. Bununla birlikte kendilerini oksidanlarına karşı koruyabilirler. Fagositlerin antioksidan sistemleri, süperoksidi hidrojen peroksidi dönüştüren süperoksit dismutaz, hidrojen peroksidi suya indirgeyen katalaz, hidrojen peroksidi detoksifiye edici glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemini içerir. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz önemli enzimatik antioksidanlardandır (Mates 2000). Non-enzimatik antioksidanlar arasında vitaminler (vitamin E, vitamin C, karotenoidler), tiyol antioksidanlar (glutatyon, tiyoredoksin,

lipoik asit), doğal flavonoidler, melatonin ve diğer bazı moleküller bulunur (McCall ve Frei 1999).

4.1. Enzimatik antioksidanlar

4.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

SOD hücre içi kuvvetli bir antioksidan enzimdir. Süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden antioksidan enzimdir (McCord 2000).



4.1.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

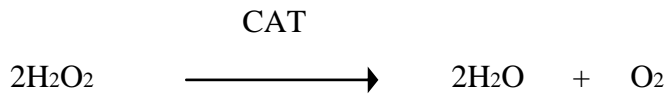
Glutatyon peroksidaz sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutatyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (Cervello ve ark. 1992).

4.1.3. Glutatyon (GSH)

Glutatyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutatyon endojen ve eksojen kaynaklı çok önemli bir antioksidandır. Glutatyon, GSH-Px için substrat olup reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonuna katılır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutatyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutatyon eksikliği hücre ölümüne yol açar (Fang ve Yang 2002, Kim ve ark. 2003).

4.1.4. Katalaz (CAT)

Katalaz oksidoredüktaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar. Granülatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (Mates 2000).



4.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

4.2.1. Vitamin C (Askorbik asit)

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (Dawn ve ark 1996).

4.2.2. Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E (α -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki

gösterirler. Glutasyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortamdan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller (Dawn ve ark 1996).

4.2.3. Karotenoidler

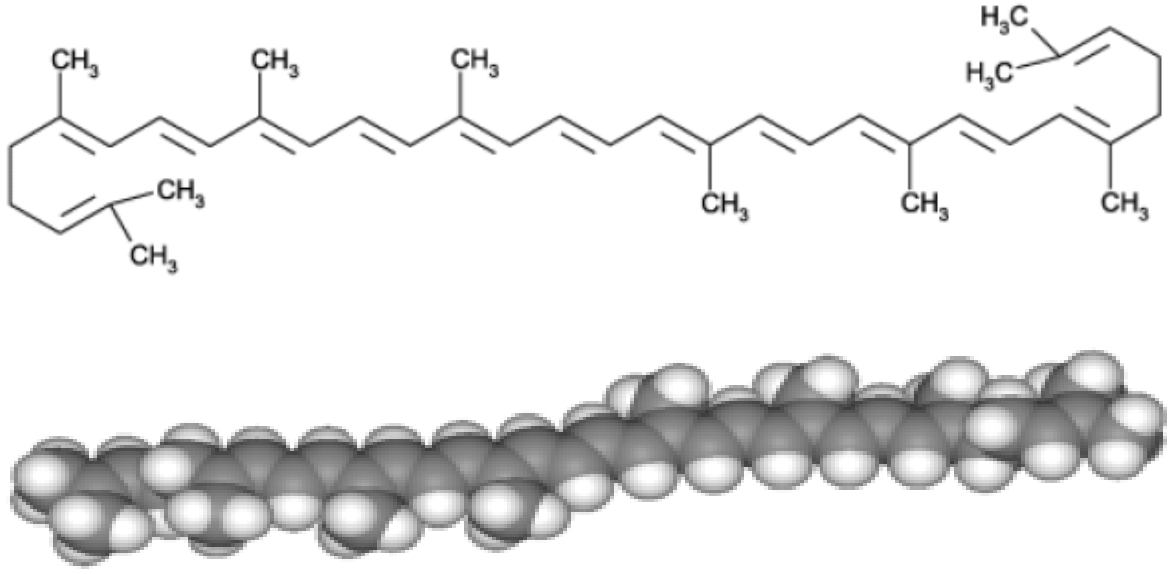
Karotenoid bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda (yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde) bulunan pigmenttir. Altıyüz'ün üzerinde bilinen karotenoid vardır; ksantofiller ve karotenler olarak iki sınıfa ayrılır. Karotenoidler, C₄₀ çoklu doymamış hidrokarbonların (karotenler) ve bunların oksitlenmiş türevlerinin (ksantofiller) bir sınıfını oluşturur. Bu bileşikler, yağa zengin bir portakal rengi, kırmızı renk verir. Analizler, α- ve β-karotenlerin toplam karotenoid muhtevasının yaklaşık % 90'ını oluşturduğunu gösterir. Karotenoidler, tetraterpenoidlerin bir kategorisidir. Yapısal olarak polien zincirlerden oluşurlar bunlar bazen halkalar ile sonlanabilir. Oksijen atomu bulunduranlar ksantofiller olarak adlandırılırlar. Oksijensiz karotenoidler ise, alfa karoten, beta karoten ve likopen'dir. Karotenoidlerin en iyi bilineni kuşkusuz havuçlarda bulunan karotendir. Açık sarıdan parlak turuncu ve kırmızıya kadar değişen renkleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Karotenoidlerin pek çok fizyolojik işlevi vardır. Yapıları gereği serbest radikalleri etkili bir şekilde bertaraf ederler ve bağışıklık sistemini güçlendirir. Hayvanlar karotenoidleri sentezleyemezler ve onları beslenme yoluyla elde etmek zorundadırlar. En yaygın karotenoidler likopen ve A vitamininin öncülü olan β-karotendir (Larson 1997).

5. Likopen

Provitamin A aktivitesi olmayan bir karotenoid. Bazı bitkilerde bulunan kırmızı renkli, yağda çözünür pigment.

5.1. Likopen'in yapısı

Likopen, düz bir sıra halinde düzenlenmiş 40 karbonlu, 11 adet çift bağ ve 2 adet tekli bağ içeren hidrokarbon zincirinden oluşur. Alfa-karoten zincirinin sonunda açık bir β halkası bulunur (Şekil 2). Yapısındaki çift bağların çokluğu yüzünden likopenin 1000'in üzerinde izomeri vardır ancak doğada hepsi bulunmamaktadır (Britton 1995). Kimyasal reaksiyonlarda yüksek veya düşük enerjide bu bağlar trans formundan mono veya poli cis izomerizasyonuna maruz kalabilir. Likopen genellikle all-trans ve 5-cis, 9-cis, 13-cis ve 15-cis izomeri formu ile tanınır. Likopen'in cis izomer formu all-trans izomer formuna göre daha iyi absorbe edilir ve cis likopen izomerinin biyoyararlanımı daha fazladır (Boileau ve ark. 1999).



Şekil 2: Likopen'in yapısı

Likopen doğal lipofilik karakterde olduğundan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) lerin yapılarında bulunurken yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin (HDL) yapısında bulunmaz (Stahl ve Sies 1996).

Tablo I: Likopen'in genel özellikleri

Moleküler formül	C ₄₀ H ₅₆
Molekül ağırlığı	536,873 g/mol
Görünüş	Parlak kırmızı
Ergime noktası	172-173 °C
Suda çözünürlük	Çözünmez
Yarılanma ömrü	2-3 gün

Likopen'in rengi onun eşlenik (konjüge) karbon çift bağlarından kaynaklanır. Her bir çift bağ elektronların bir üst enerji seviyesine çıkmaları için gereken enerjiyi azaltır, böylece molekülün gittikçe daha büyük dalga boylarında görünür ışık soğurabilmesini sağlar. Likopen görünür spektrumun çoğunu soğurduğu için kırmızı görünür. Likopen yükseltgenirse (oksitlenirse) karbon atomları arasındaki çift bağlar parçalanır, molekül daha küçük parçalara bölünür, bunların her biri bir oksijen atomuyla çift bağ kurmuş olur. Bu C=O bağları da ışığı

soğursalar da soğurdukları ışığın dalga boyu bu moleküllerin renkli görünmesi için yeterli değildir. Likopen indirgendiği zaman da benzer bir sonuç olur, indirgenme sonucu çift bağlar tek bağa dönüştüğü için görünür ışığı soğuramaz (Stahl ve Sies 1996). Tüketilen besinler içerisindeki likopen'in ana kaynağı domates ve bu sebzededen elde edilen yan ürünlerdir (ketçap, domates sosu, domates suyu, salça) (Rao ve Agarwal 1999, Hadley ve ark. 2003). Domatesteki ana karotenoid olan likopen'in düzeyleri domatesin olgunluğuna göre 0,85-13,6 mg/100 g arasında değişiklik gösterebilir. Gram başına düşen likopen miktarı domates salçasında çiğ domatese göre 12-14 kat daha fazladır. Ham domateste likopen'in trans izomeri fazla iken, pişirilmiş ve konserve domateslerde cis izomeri daha fazladır (Mangels ve ark. 1993, Tonucci ve ark. 1995). Greyfurt, kavun, karpuz, papaya likopen içeren diğer besin kaynaklarıdır (Edwards ve ark. 2003). Likopen'in barsak mukozasından emilimi pasif difüzyon şeklindedir. Likopen şilomikron ile birlikte karaciğere taşınır ve hepatositler içinde birikir. Yukarıda sözü edilen gıdalarda likopen'in trans formu hakim iken insan plazmasında likopen'in % 50 kadarı cis formundadır (Clinton ve ark. 1996, Ferreira ve ark. 2000). β -karoten ve likopen başlıca LDL ile taşınır, sigara kullananlarda kullanmayanlara göre kan β -karoten ve likopen seviyeleri düşük bulunmuştur (Pamuk ve ark. 1994, Rao ve Agarwal 1998).

5.2. Likopen'in antioksidatif-sistemik etkileri

Likopen insan vücudunda sentezlenmeyen, tüketilen besinlerden elde edilen en önemli non enzimatik antioksidan ajanlardan biridir (Agarwal ve ark. 2001). Vitamin E, vitamin C ve karotenoidler gibi antioksidan maddeler oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkilere sahiptirler (Antunes ve ark. 2000, Reifen ve ark. 2004). Likopen insan plazmasındaki en baskın karotenoidtir, miktar olarak beta-karotenden ve diğer diyetsel karotenoidlerden daha fazla bulunur. Biyolojik açıdan bu durum belki de onun savunma sistemi üzerindeki önemini vurgulamaktadır (Stahl ve ark. 1996). Likopen, bir alifatik hidrokarbondur ve doğal olarak bulunan yaklaşık 600 karotenoidden biridir (Gupta ve ark. 2003, Tapiero ve ark. 2004). Yapılan araştırmalara göre, tüketilen gıdalara bağlı likopenin plazma konsantrasyonu arttıkça koruyucu etkisinin arttığıda gösterilmiştir (Gerster 1997).

Likopen'in güvenlik aralığı geniş olup ratlara günlük vücut ağırlığının % 0,25, % 0,5 ve % 1 i kadar diyetlerine eklenmiş likopen 90 gün boyunca verilmiş ve gruplar arasında fark [hematolojik, kilo kaybı, su tüketimi, organ ağırlığı (kc, ac, beyin, dalak, böbrek), klinik,

idrar analizi, idrar volümü] saptanmamış ve herhangi bir toksisite belirtisi görülmemiş (Jonker ve ark. 2003).

Likopen'in antikanserojen, antienflamatuar ve antioksidan etkisi bulunmaktadır. Serbest radikaller ile likopen arasındaki ilişki; serbest radikale yeni bir radikal ekleme, yapısından bir H atomu kopararak etkisiz hale getirme ve serbest radikalın yapısından bir elektron transfer ederek yüksüzleştirmek şeklindedir (El-Agemey ve ark. 2004). Likopen ayrıca kanser hücrelerinde kontrolsüz bir şekilde sentezlenen büyüme hormonu reseptörlerine bağlanarak, hücrelerin normal durumlarına geri dönmesini uyardığı ve enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antienflamatuar etki oluşturduğu saptanmıştır (Levy ark. 1995, Rao ve Agarwal 1999). Likopen ve bazı antioksidan vitaminler ile C reaktif protein (CRP) düzeyini belirleyen sistemik enflamasyon arasında ters bir ilişki bulunur. Çeşitli kanserlerin temelinde yer alan, enflamasyon ve bunun yol açtığı hücre harabiyeti, kontrolsüz hücre çoğalması kanser etyolojisinde yer almaktadır. Likopen, enfeksiyöz ajanlara karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antienflamatuar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek pro-enflamatuar moleküllerden prostoglandin, prostosiklin, tromboksan ve lökotrien sentezini baskılar. Bu sebeple yangıya yol açan reaksiyonlar önlenmiş olur (Pruthi ve ark. 2003). Oksijen radikallerinin aşırı oluşumu, hücrede hasar, membran lipidlerinin peroksidasyonunu içeren çeşitli mekanizmalarla nekroz, protein denatürasyonu ve DNA hasarı meydana getirebilir (Kehrer 1993, Priuska ve ark.1995).

Likopen içeren gıdaların tüketimi sonucunda kan likopen seviyesi artar ve bu durumda yağların, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasardan daha az etkilenmesine neden olur. Likopen, reaktif oksijen türlerine bağlı serbest radikal hasarına karşı hücreleri korur, hem in vitro hem de insan çalışmalarında lenfosit DNA'sının oksidatif hasara karşı duyarlılığını azaltarak, hidrojen peroksit ve nitrojen dioksiti inaktive ederek ve lenfositleri nitrojene bağlı membran hasarı ve hücre ölümüne karşı beta karotenden daha etkili bir şekilde koruyarak güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (Porrini ve ark. 2000, Fuhrman ve ark. 1997).

Karotenoidlerin, insan lenfositlerini süperoksit zararından koruduğu, kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser çeşitleri ve bazı dejeneratif bozukluklar ile seyreden hastalıkların risklerini düşürdüğü rapor edilmiştir. İnsan vücudunda bulunan karotenoidlerin % 30 kadarını oluşturan likopen, yapısında yer alan β -siklik halkanın açılmış olması nedeniyle diğer karotenoidlere göre daha yüksek kapasitede antioksidan etkiye sahiptir (Mayne 1996, Miller ve ark. 1996). Oksidatif stress artmış kanser riskinin majör tetikleyicilerinden kabul

edilmektedir (Di Mascio ve ark. 1989). Likopen'in çeşitli kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı bulunmuştur. In vivo çalışmalar, likopen'in tümör baskılayıcı aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Karotenoid içeriği yüksek bitkilerin insan DNA'sının oksidatif ve diğer hasarlarını azaltarak kanserden koruyucu etkisini göstermişlerdir (Pool-Zobel ve ark. 1997). Likopen'in, azalmış karaciğer biyotransformasyon enzimlerini ve glutasyonu yükselterek, ekstrahepatik bölgelerde oksidatif hasarı baskılamada önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Bhuvaneswari ve ark. 2002).

Likopen, başka serbest radikallerin (hidroksil, nitrik oksit, lipid peroksit) oluşumuna neden olan süperoksiti temizlemede etkindir (Conn ve ark. 1991). Bu süreçte enerji süperoksitten likopen molekülüne transfer edilir. Değişim sırasında enerjiden zengin bir bileşik oluşur. Likopen enerjiyi ısı halinde dağıtarak bileşikten ayrılır ve başka bir süperoksiti etkisiz hale getirmek için hazır hale gelir (Stahl ve ark. 1998, Cantrell ve ark. 2003).

Prostat kanseri olan erkeklerde, radikal prostatektomi yapılmadan hemen önce likopen takviyesinin etkileri araştırılmış ve cerrahi girişimin hemen öncesinde bir gruba günde iki defa 15mg likopen takviyesi verilirken, diğer gruba likopen verilmemiştir. Likopen alan grubun % 73'ünde cerrahi sınırlar negatif saptanmışken kontrol grubunun % 18'inde sonuç negatif bulunmuştur. Bu sonuç likopenin cerrahi öncesi kullanımında faydalı olabileceğini destekler nitelikte olmuştur (Küçük ve ark. 2001).

Likopen ile yapılan bir çalışmada, likopenin yağ asidi oksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit düzeyini düşürdüğü ve endojen antioksidanların süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir. Likopen ayrıca hücreler arasındaki bağları (gap-junction) güçlendirmektedir. Bu mekanizmanın kanserden korunmada önemli olduğu düşünülmektedir (Bramley 2000). Yağda çözünen, yağ miktarı fazla doku ve organlarda etkinliği artan likopen'in yağ içeriği oldukça fazla olan ciltte antioksidan etkisi gösterilmiştir. Likopen cilt hücrelerinde hücreler arası bağda güçlendirmektedir. Ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlar. Bütün bu özellikleriyle yaşlanma sürecini yavaşlatır (Rousseau ve ark. 1992).

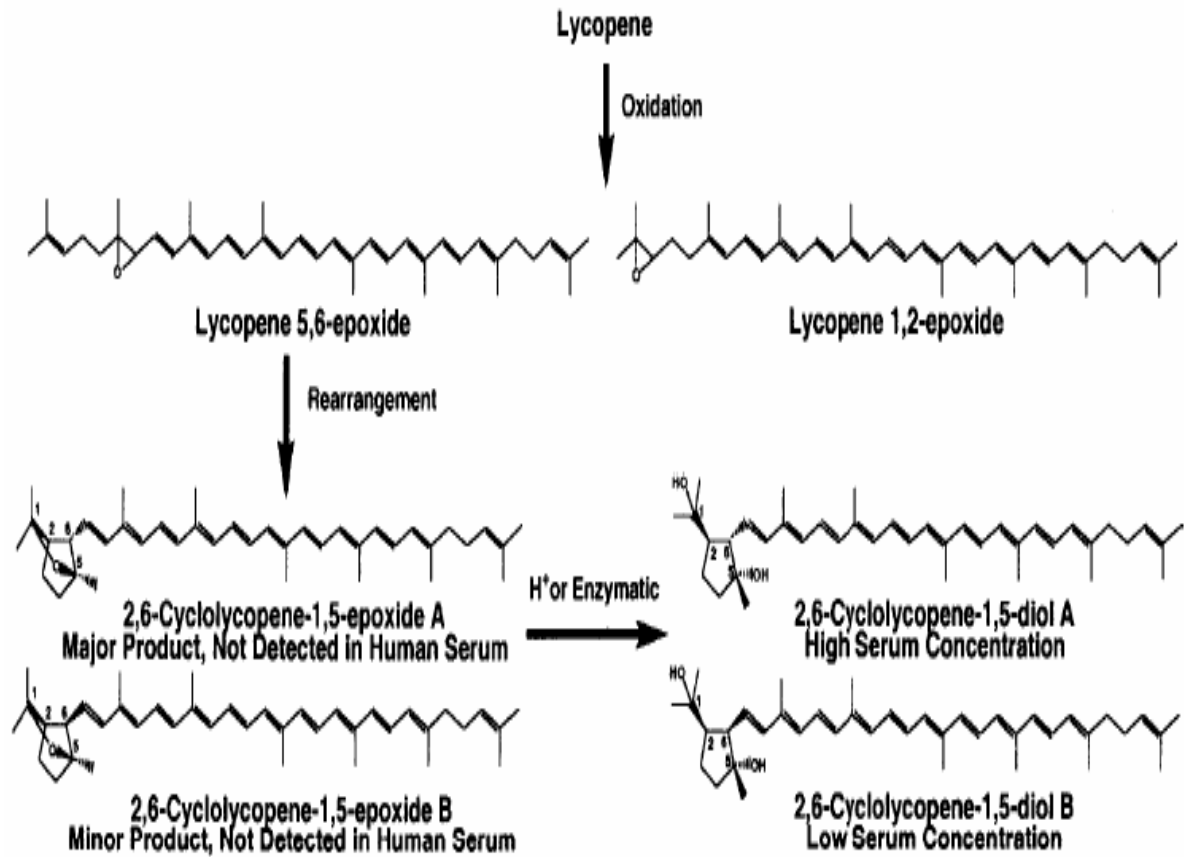
Likopen'in antioksidan etkinliğini göstermek isteyen bir çalışmada, ferriknitriлотriasetat'ın (Fe-NTA) sıçanlarda neden olduğu oksidatif strese karşı, likopen'in koruyucu etkisine bakılmıştır. Sonuçta, kontrol grubuna göre sadece Fe-NTA verilen sıçanlarda MDA düzeyi %75 artarken, Fe-NTA uygulamadan 5 gün önce likopen verilen grupta MDA düzeyinin önemli derecede düştüğü saptanmıştır (Matos ve ark. 2001).

Cisplatine (Cp) bağlı oluşan renal hasar ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada; likopen bir gruba Cp den sonra verilmiş, diğer bir gruba da Cp' den önce verilmiş. Tek doz Cp ncesi profilaktik likopen verilen grupta renal hasarlanma daha az ve serum üre-cr seviyeleri normale daha yakın olarak saptanmış (Ateşşahin ve ark. 2005).

Başka bir çalışmada gentamisin ile nefrotoksisite oluşturuluyor,

- Bir gruba simultane likopen veriliyor
- Bir gruba gentamisin öncesi likopen veriliyor

Gentamisin + Likopen (4mg/kg) simultane tedavisinde renal hasarlanma hücresel düzeyde gözlenmiş iken gentamisinden önce likopen uygulanan grupta tubuler nekroz alanları saptanmış. Her iki grupta kan üre, cr değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük saptanmış (Karahana ve ark. 2005).



şekil 3: İnsanlarda likopen'in olası metabolik yolları

İnsanlarda likopen'in olası metabolik dönüşümü şekil 3'te gösterilmiştir.

Likopen'in oksidatif reaksiyonları ile ilk ürünün 1,2 ve 5,6 pozisyonlarında okside olduğu saptanmıştır. Likopen 1,2-epoksit oldukça stabil özellikte iken 5,6 epoksit türevi anstabil dir ve kolayca siklize olarak 2,6 siklolikopen-1,5-epoksit A ve B karışımları haline gelir. Her ne kadar insan serumunda bu ilk türevler saptanamamışsa da uygun olan siklik dioller 2,6-siklolikopen-1,5-diolleri tesbit edilmiştir. Ancak serumdaki bu metabolitlerin miktarı sadece çiğ domates ve domates kökenli ürünlerdeki düşük miktarlarla açıklanamaz. Bu nedenle şu anda insan serumundaki likopen metabolitlerinin kaynağı çok iyi anlaşıl amamaktadır (Khachik ve ark. 1998, Khachik ve ark. 2002, Tanumihardjo ve ark. 1990).

Likopen ile yapılan bir başka çalışmada, bir grup sıçanda kronik alkolizm oluşturulmuş. AST ve ALT serum değerleri ve AST/ALT oranının alkolik karaciğer hasarının bir göstergesi olduğu saptanmış. Karaciğer doku örneklerinin patolojik incelenmesi sonucu alkolün karaciğer hasarı yaptığı tespit edildikten sonra, sıçanlarda alkol + likopen grubunda serum AST, ALT değerleri alkol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş ve sonuçlar kontrol grubuyla yakınlık göstermiş. Karaciğer doku kesitlerinin patolojik incelenmesi sonucu bu gruptaki karaciğer hasarının alkol grubuna göre daha az olduğu ya da patolojik özellik göstermediği saptanmış. Alınan karaciğer doku örneklerinin patolojik incelenmesi sonucu etanol alan grubun, % 10'unda makroveziküler yağlanma, % 30'unda mikroveziküler yağlanma, % 60'ında sinozoidal hücrelerde artış ve parankim hücrelerinde şişme saptanmış. Alkol + likopen grubunun % 40'ı normal parankim yapısına sahip iken, % 20'sinde mikroveziküler yağlanma, % 40'ında hepatositlerde şişme tespit edilmiş. Kontrol grubundaki karaciğer örneklerinde ise normal parankim yapısı gözlenmiş.

Tüm bu sonuçlarla beraber oksidatif stres ile açıklanan alkolik karaciğer hastalıklarının gelişim sürecinde deneysel olarak antioksidan özellikleri bilinen likopen'in koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş (Aşıcıoğlu 2005).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK) V. Oturumu ve B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2008/009 sayılı izni ile yapıldı.

Bu deneysel çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Laboratuvarında, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütüldü.

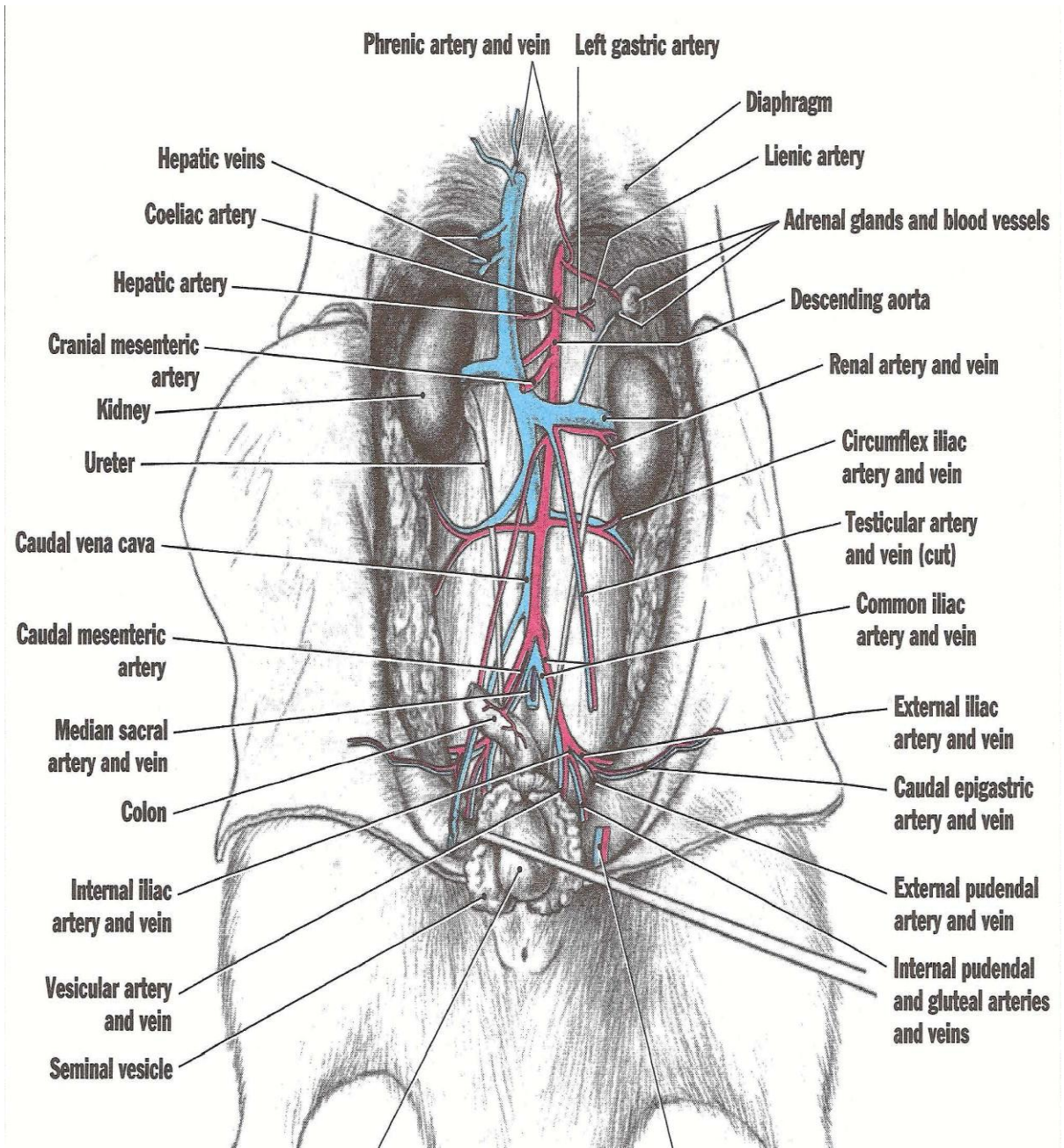
Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi laboratuvarından temim edilen 190-250 gr ağırlığında 12 adet dişi Wistar-Albino cinsi rat kullanılmıştır.

1.1. Deneysel protokolü ve rat cerrahisi

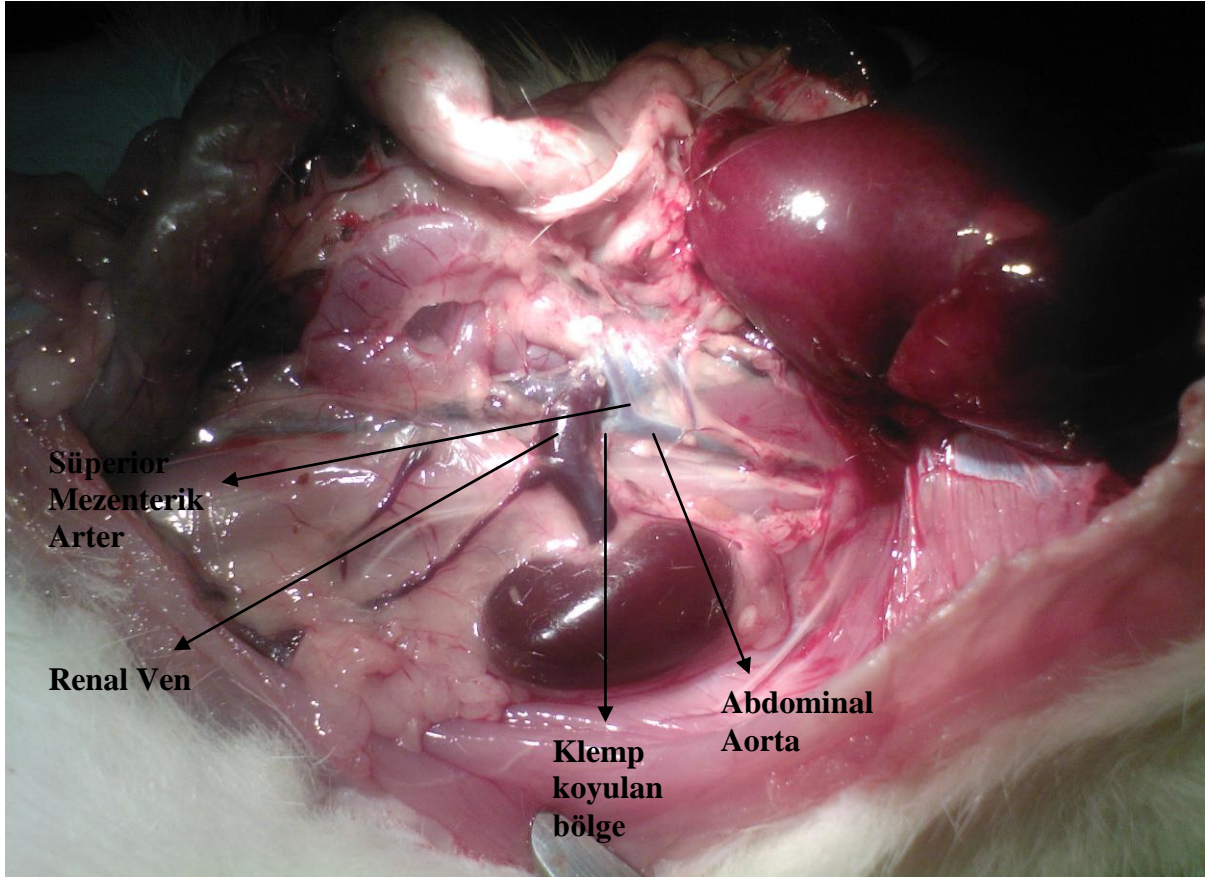
Oda sıcaklığında, ayrı kafeslerde Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında barındırılan ve çalışmaya dahil edilen bütün ratlardan kuyruk kanı örneği alındı, +4 derecede kan örneklerinin transferi gerçekleştirildi ve serum üre, cr, K ve Na değerlerine bakıldı.

Kontrol grubu ratlara (Grup 1) (n=6) 0,5 ml mısır yağı, çalışma grubu ratlara (Grup 2) (n=6) 0,5 ml mısır yağı + 4 mg/kg likopen gavaj yöntemi ile iki gün günde bir kez verildi. Daha sonra ratlara 6 saatlik açlığı ve susuzluğu takiben, xylazine hydrochloride 8 mg/kg ile ketamin hydrochloride 35 mg/kg karışımı intraperitoneal uygulanarak genel anestezi yapıldı.

Orta hat abdominal insizyonu ile periton açıldı ve karın içi organlar sol tarafa devrildi, karın içi organların üzeri % 0,9 NaCl'li tampon ile kapatıldı, 1 cc % 0,9 NaCl insensibl kayıpları karşılamak amacıyla subkutan enjekte edildi ve ratların altına vücut ısısını korumak amacı ile aktif içeriği demir, aktif karbon, demir ve tuz olan ısı pedleri yerleştirildi. Sağ böbrek bulundu çevre yapılardan künt ve keskin diseksiyon ile serbestleştirildi, renal pedikül askıya alındı ve 4/0 ipek ile bağlandı. Daha sonra karın içi organlar sağ tarafa devrildi sol böbrek bulundu üst pol serbestleştirildi abdominal aorta bulundu ve superior mezenterik arterin hemen altından aorta klempe konuldu (Resim 1) ve 45 dakikalık iskemi (iskemi reperfüzyon hasarı için yeterli süre) (Williams ve Lopez 1997) uygulandıktan sonra klempe açıldı reperfüzyon sağlandıktan sonra periton 4/0 vicryl ile continue kapatıldı, cilt 4/0 ipek ile tek tek kapatıldı.



Şekil 4: Ratların kaudal arter ve venlerinin ventral görünümü (Walker ve Homberger 1997).



Resim 1: Renal ven, abdominal aorta, süperior mezenterik arter, klemp koyulan bölge

İskemi reperfüzyon oluşturulduktan 24 saat sonra xylazine hydrochloride 8 mg/kg ile ketamin hydrochloride 35 mg/kg karışımı intraperitoneal tekrar uygulandı ve genel anestezi yapıldı. Eski insizyon hattı açıldı, insizyon toraksa kadar uzatıldı. Daha sonra grup 1 ve grup 2 deki tüm ratlardan 24. saat serum üre, cr, Na ve K değerlerine bakılmak üzere intrakardiak 1,5 cc kan örneği alındı. Sol nefrektomi uygulandı. Böbrek dokusunun yarısı % 10'luk formalin içerisinde patolojik inceleme için ayrıldı diğer yarısı soğuk zincirle taşınarak renal dokuda MDA, CAT, SOD, GSH ve GSH-Px değerlerine bakılmak üzere -85 °C'de saklandı. Nefrektomiyi takiben ratlar sakrifiye edildi. Sakrifikasyon işlemi içinde genel anestezi için uygulanan xylazine hydrochloride ve ketamin hydrochloride karışımı intraperitoneal uygulandı.

1.2. Dokuların patolojik incelenmesi

Patoloji laboratuvarında, % 10'luk formalin içerisinde fikse edilen tüm renal doku örneklerinin her birinin bir kesit yüzü örneklendi. Rutin doku takip işlemleri sonrasında parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler alındı. Kesitler histopatolojik değerlendirme için hemotoksilen-eozin (H&E) yanı sıra PAS ve fibrozisi değerlendirmek için mason-trikrom ile boyandı. Tüm H&E boyalı kesitlerden x20 büyütme alanında rastgele seçilen 20 ayrı alan incelendi.

Glomeruler değişiklikler, tubuler dilatasyon, sellüler vakuolizasyon, proteinöz cast varlığı, nekroz, interstisyel enflamasyon ve konjesyon açısından doku örnekleri incelendi.

0 = Normal histoloji

1 = < % 10

2 = % 10-50

3 = % 50-90

4 = > % 90 doku hasarı olarak değerlendirildi (Williams ve ark. 1997).

Fibrozisin değerlendirilmesi;

0 = < % 5

1 = % 5-25

2 = % 25-50

3 = % 50'nin üstü olarak yapıldı.

Patolojik skorlama; morfolojik olarak tubuler hücrelerde şişme, fırçamsı kenar kaybı, nükleer kondansasyon ve nükleer kayıp değerlendirildi.

0 = Normal morfoloji

1 = < 1/3

2 = 1/3-2/3

3 = > 2/3 dokuda morfolojik kayıp olarak patolojik skorlama yapıldı (Avlan ve ark. 2006).

1.3. Dokuların biyokimyasal analizi

Doku örneklerinin hazırlanması

Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0.2 µM phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4°C'de homojenize edildi. Homojenatlar, 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -80° C'de donduruldu.

1.3.1. CAT Ölçüm Yöntemi

Doku örneklerinde CAT aktivitesi Aebi'nin yönteminine göre saptandı. Fosfat tamponu (50 mM pH:7.4) olacak şekilde, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O) ile hazırlandı. H₂O₂ (30 mM) olarak hazırlandı. Tampon ile dilüe edilmiş örneğe, H₂O₂'li tamponun eklenmesi ile başlayan absorbans değişimi, spektrofotometrede 240 nm'de izlenerek, 15 saniyedeki absorbans değişimi ölçüldü ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapıldı. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi (Aebi 1984).

$$k = (2.3/\Delta t)\log (Abs_1/Abs_2) = 0.1175/\Delta t \text{ (sn}^{-1}\text{)}$$

1.3.2. MDA Ölçüm Yöntemi

Dokuda MDA saptanması Ohkawa'nın yöntemine göre yapıldı. % 0,67'lik TBA (2-Thiobarbutiric acid) çözeltisi Tiyobarbitürik asid ile MDA'nın reaksiyona girmesinden sonra reaksiyon ürünü n-butanol ile ekstrakte edildi. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı. Örneklerdeki absorbanslar spektrofotometrede, 540 nm'de mikroplate okuyucusunda okundu ve hesaplar otomatik olarak çizilen standart eğriden hesaplandı. Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak verildi (Ohkawa ve ark. 1979).

1.3.3. GSH Ölçüm Yöntemi

Dokuda GSH Beutler ve ark.'nın yöntemi ile ölçüldü. Presipite edici solüsyon; metafosforik asit, disodyum EDTA ve sodyum klorür (NaCl) kullanılarak hazırlandı. Disodyum fosfat solüsyonu; di sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) ile hazırlandı.

DTNB solüsyonu; [5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)] ve sodyum sitrat ile hazırlandı. GSH standardı; (reduced glutathione) kullanılarak 1-60 mg/dl'lik standartlar olarak hazırlandı. Standartlar ve örnekler spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı okutuldu. Sonuçlar mg/g yaş doku olarak verildi (Beutler ve ark. 1963).

1.3.4. GSH-Px Ölçüm Yöntemi

Dokuda GSH-Px aktivitesi, Kakkar ve ark.'nın yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı. GSH-Px reaksiyon karışımı; 75 mmol fosfat tamponu (pH 7.0), 60 mmol GSH, 30U/ml GR, 15 mmol Na₂EDTA içermektedir. Küvet 37 °C'ye ayarlanan sperofotometreye kondu. Küvetin içine reaksiyon karışımı konarak gerektiği kadar, dilüe edilmiş hemolizat eklendi. Reaksiyon H₂O₂ (%30) ile başlatıldı ve NADPH'daki absorbansın azalması 340 nm'de 3 dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi (Kakkar ve ark. 1998).

1.3.5. SOD Ölçüm Yöntemi

Dokuda SOD ölçümü, Sun ve ark.'nın yöntemine göre saptandı. Doku süpernatantı kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000g'de 1 saat santrifüjlendikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0.3 mmol/L xantine, 0.6 mmol/L EDTA, 150 µmol//L nitroblue tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L xantine oxidase (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25° C'de su banyosunda, XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon bakır klorür (Cu₂Cl) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözeltisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. SOD standardı (SOD porcine erythrocytes) ile, 0-270 ng/tüp ve % inhibisyon değerleri karşılıklı gelecek şekilde oluşturuldu. İnhibisyon değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı. Her örnek için elde edilen inhibisyon değeri, grafik kullanılarak SOD değeri saptandı. SOD düzeyleri ng/g yaş doku olarak verildi (Sun ve ark. 1988).

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{Kör}} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}})}{\text{Absorbans}_{\text{Kör}}}$$

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi için Mann-Whitney U Testi ve Wilcoxon Testi kullanıldı. Böbrek dokularının patolojik incelenmesi sonucu elde ettiğimiz verilerin ve antioksidan parametrelerin tespiti sonucu elde ettiğimiz verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Biyokimyasal değerlerin grup içi pre ve post değerlerinin istatistiksel analizi için Wilcoxon Testi kullanıldı. Değerlendirmelerde istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ koşulu arandı. Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS 16 programı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya iki gruba ayrılan (Grup 1 ve Grup 2) ratların kan örnekleri alındı. Cerrahi öncesi tüm ratların üre, cr, Na ve K değerlerine bakıldı. Bu değerler normal olarak saptandıktan sonra bir gruba likopen verildi, sonra tüm ratlara sağ nefrektomi uygulandı ve sonra her iki grupta abdominal aort klemplenerek sıcak iskemi oluşturuldu. Toplam 4 rat anestezi ve kanamadan kaybedildi. Bir çok çalışmada sıcak iskemi için yeterli süre olan 45 dakikalık sıcak iskemi uygulandı ve iskemi sonrası 24. saatte tekrar serum üre, cr, Na ve K değerlerine bakıldı, böbrek dokusuna patolojik inceleme ve doku MDA düzeyi ve antioksidan enzimlerini saptamak için nefrektomi uygulandı.

Kan Üre, Cr, Na ve K Düzeyi Açısından Karşılaştırma:

Tablo II: Sağ nefrektomi yapılan ve abdominal aorta 45 dakika klemplenen Grup 1 ratların nefrektomi ve klemp öncesi serum Üre, Cr, Na ve K değerleri

Grup 1	Üre (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Na mmol/L	K mmol/L
Rat 1	58	0,4	145,0	5,2
Rat 2	34	0,6	139,0	4,4
Rat 3	84	0,5	140,2	-
Rat 4	58	0,4	144,7	5,4
Rat 5	50	0,4	143,3	5,3
Rat 6	60	0,4	136,7	-

Kontrol grubu ratların, iskemi öncesi üre değeri ortalaması $57,3 \pm 16,2$ (34-84) mg/dL, iskemi sonrası üre değeri ortalaması $148,8 \pm 72,8$ (46-229) mg/dL olarak saptandı, iskemi öncesi cr değeri ortalaması $0,45 \pm 0,083$ (0,4-0,6) mg/dL, iskemi sonrası cr değeri ortalaması $1,17 \pm 0,97$ (0,5-3) mg/dL olarak saptandı. İskemi modeli açısından pre ve post değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p=0,046$, $p=0,027$) (Tablo II-III). Kontrol grubu ratların, iskemi öncesi Na değeri ortalaması $141,5 \pm 3,37$ (136,7-145) mmol/L, iskemi sonrası Na değeri ortalaması $133,6 \pm 7,26$ (122-143) mmol/L saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,028$). İskemi öncesi ve iskemi sonrası K değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo II-III).

Tablo III: Sağ nefrektomi yapılan ve abdominal aorta 45 dakika klemlenen Grup 1 ratların nefrektomi ve klemp sonrası 24. saat serum Üre, Cr, Na ve K değerleri

Grup 1	Üre (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Na mmol/L	K mmol/L
Rat 1	160	0,7	137,2	3,1
Rat 2	226	3,0	122,0	4,7
Rat 3	141	0,7	130,1	5,3
Rat 4	91	0,6	137,2	5,4
Rat 5	46	0,5	143,0	4,6
Rat 6	229	1,5	132,0	6,0

Tablo IV: Sağ nefrektomi yapılan ve abdominal aorta 45 dakika klemlenen Grup 2 ratların nefrektomi ve klemp öncesi serum Üre, Cr, Na ve K değerleri

Grup 2	Üre (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Na mmol/L	K mmol/L
Rat 1	37	0,4	139,0	4,0
Rat 2	52	0,5	145,0	4,0
Rat 3	73	0,5	143,1	-
Rat 4	86	0,4	142,7	4,9
Rat 5	59	0,4	136,2	-
Rat 6	60	0,5	139,1	-

Likopen grubu ratların iskemi öncesi ortalama üre değeri $61,2 \pm 16,9$ (37-86) mg/dL, iskemi sonrası ortalama üre değeri $159 \pm 78,8$ (28-241) mg/dL, iskemi öncesi ortalama cr değeri $0,45 \pm 0,055$ (0,4-0,5) mg/dL ve iskemi sonrası ortalama cr değeri $1,37 \pm 0,87$ (0,4-2,8) idi, bu gruptaki iskemi öncesi ve sonrası üre ve cr değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p=0,046$, $p=0,046$) (Tablo IV-V).

Likopen grubu ratların iskemi öncesi Na ve K değerleri ile iskemi sonrası Na ve K değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo V: Sağ nefrektomi yapılan ve abdominal aorta 45 dakika klemlenen Grup 2 ratların nefrektomi ve klemp sonrası 24. saat serum Üre, Cr, Na ve K değerleri

Grup 2	Üre (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Na mmol/L	K mmol/L
Rat 1	239	2,8	136,0	5,3
Rat 2	131	1,2	133,0	4,4
Rat 3	157	0,9	138,3	4,7
Rat 4	158	0,9	138,9	4,7
Rat 5	241	2,0	141,0	4,9
Rat 6	28	0,4	139,0	6,0

Böbrek Dokularının Patolojik İnceleme Sonuçları:

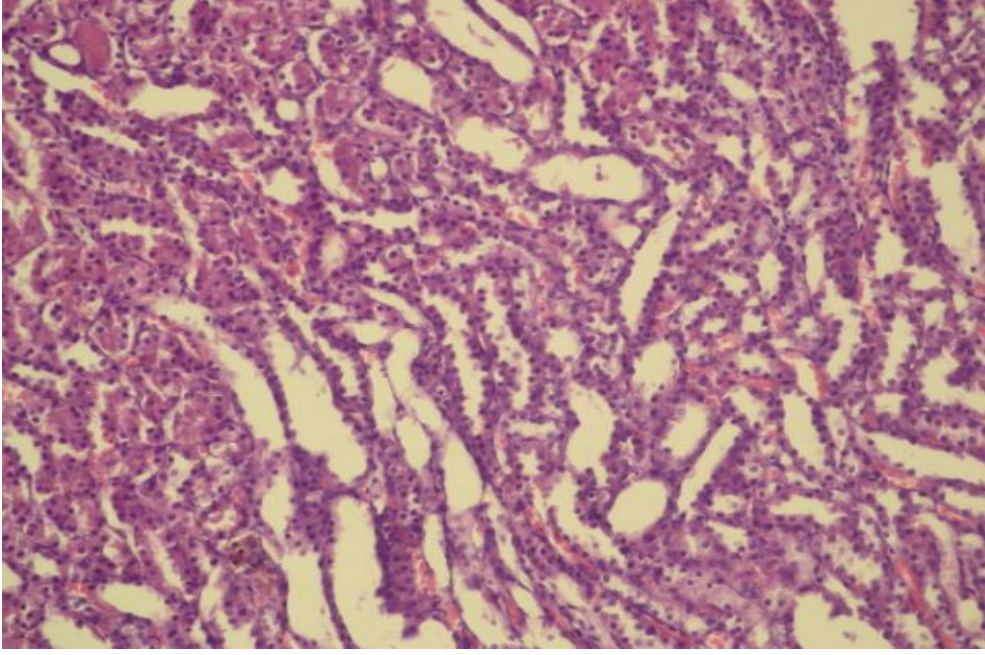
Patolojik olarak kontrol ve çalışma grubundaki ratların böbrek dokuları; enflamasyon, konjesyon, tubuler değişiklikler, bowman kapsülünde dilatasyon, proteinöz cast, vakuolizasyon, nekroz alanları, glomeruler değişiklikler ve fibrozis açısından incelendi.

Kontrol ve çalışma grubunda enflamasyon gözlenmedi.

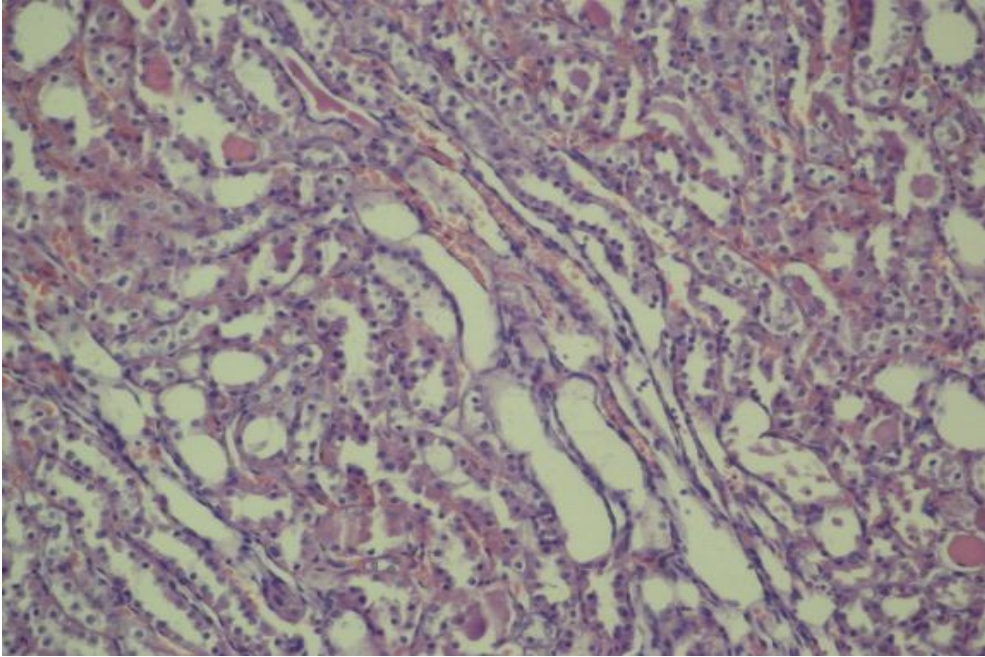
Likopen grubu ratların hiçbirinde konjesyon görülmez iken kontrol grubu ratların %100'ünde (n=6) konjesyon alanları saptandı bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,001) (Tablo VI-VII).

Kontrol grubu ratların %83,3'ünde %10-50 ve 16,7'sinde < %10 oranında tübüler değişiklikler gözlenirken likopen grubu ratların %50'sinde %10-50 ve %50'sinde < %10 oranında tubuler değişiklikler gözlendi (p>0,05).

Kontrol grubu ratların %100'ünde bowman kapsülü dilatasyonu saptanırken, likopen grubu ratların %33'3 ünde hiç dilatasyon saptanmadı (p>0,05).



Resim 2: Tubuler dilatasyon bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)



Resim 3: Tubuler dilatasyon ve proteinöz cast bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)

Tablo VI: Grup 1'deki ratların böbrek dokusu hasar oranları

Grup 1	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Rat 1	0	2	2	2	3	3	2	1	1
Rat 2	0	1	2	2	2	0	0	0	1
Rat 3	0	1	2	2	2	0	0	0	1
Rat 4	0	1	1	2	2	0	0	1	1
Rat 5	0	1	2	1	0	0	0	0	1
Rat 6	0	1	2	1	1	0	2	0	1

I: Enflamasyon **II:** Konjesyon **III:** Tubuler değişiklikler **IV:** Dilatasyon
V: Proteinöz cast **VI:** Vakuolizasyon **VII:** Nekroz **VIII:** Glomeruler değişiklikler
IX: Fibrozis

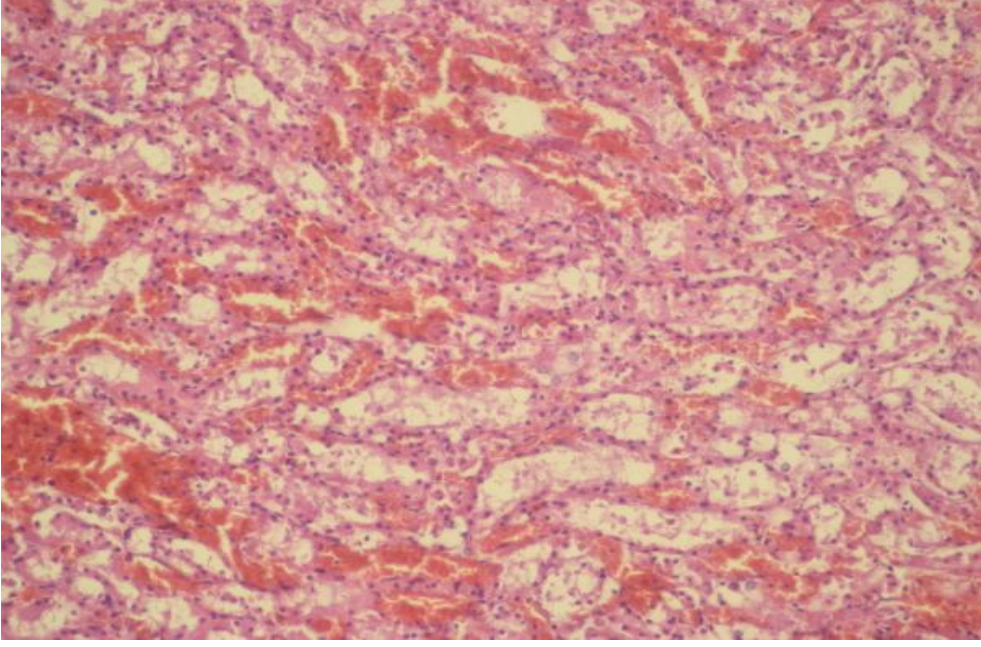
Tablo VII: Grup 2'deki ratların böbrek dokusu hasar oranları

Grup 2	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Rat 1	0	0	2	2	0	0	0	0	1
Rat 2	0	0	2	2	2	0	2	0	1
Rat 3	0	0	2	0	0	0	0	0	1
Rat 4	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Rat 5	0	0	1	2	0	0	0	0	1
Rat 6	0	0	1	1	0	0	0	0	1

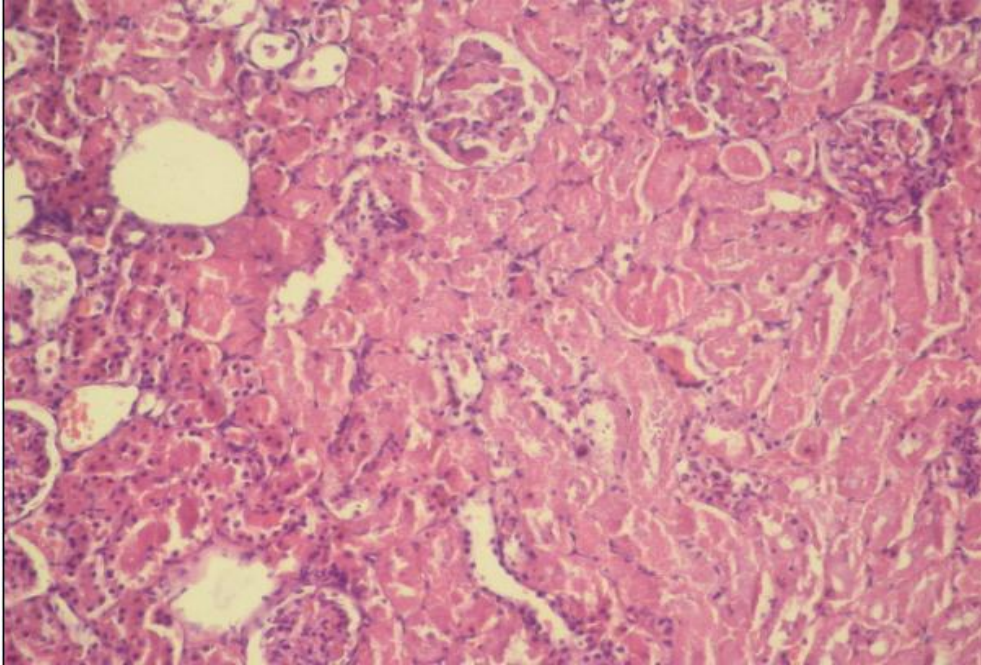
I: Enflamasyon **II:** Konjesyon **III:** Tubuler değişiklikler **IV:** Dilatasyon
V: Proteinöz cast **VI:** Vakuolizasyon **VII:** Nekroz **VIII:** Glomeruler değişiklikler
IX: Fibrozis

Kontrol grubu ratların %83,3'ünde proteinöz cast bulunurken, likopen grubu ratların %33,3'ünde proteinöz cast bulundu ($p>0,05$).

Kontrol grubu ratların %16,7'sinde doku incelemesinde %50-90 oranında vakuolizasyon alanları saptanırken, likopen grubu ratların hiçbirinde vakuolizasyon saptanmadı ($p>0,05$).

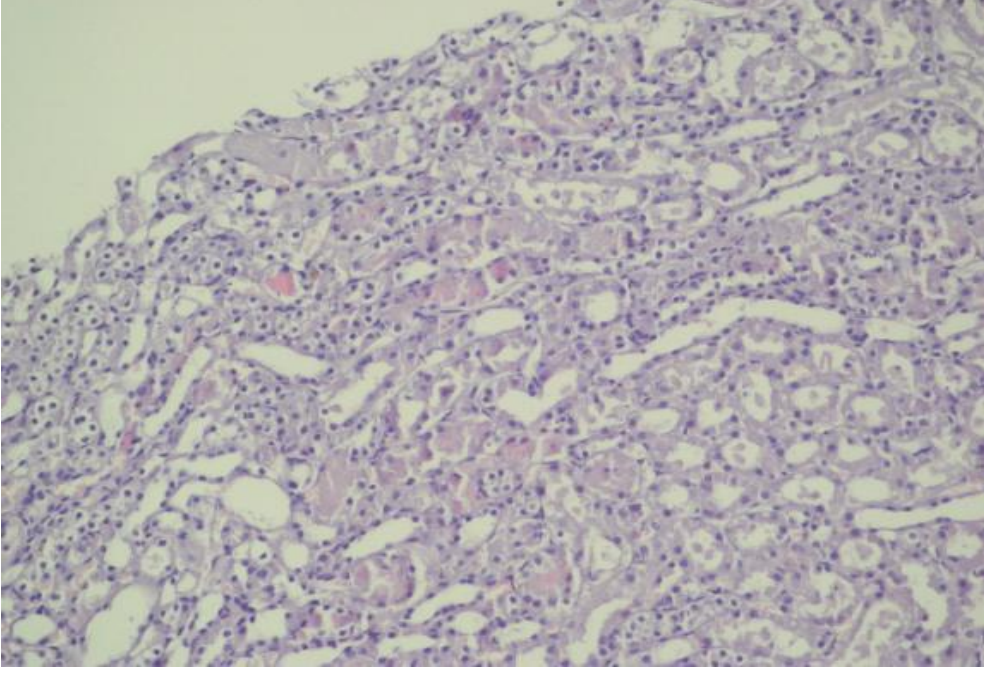


Resim 4: Hemoraji ve tubuler hasar bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)



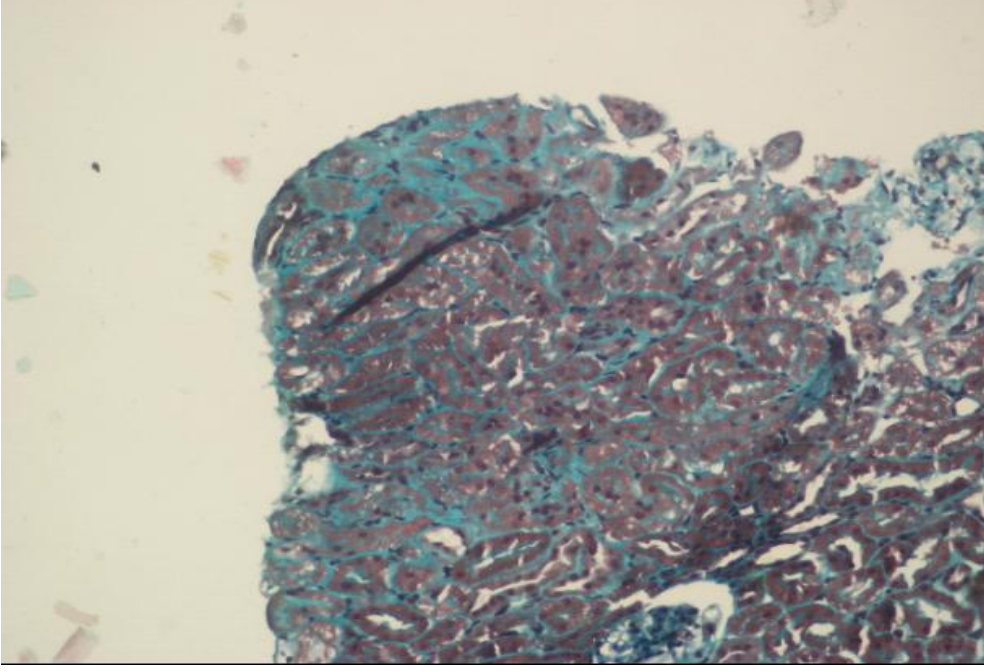
Resim 5: Geniş nekroz alanı bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)

Kontrol grubu ratların %33,3'ünde geniş nekroz alanı bulguları saptanırken, likopen grubu ratların %16,7'sinde geniş nekroz alanı bulguları saptandı ($p>0,05$)

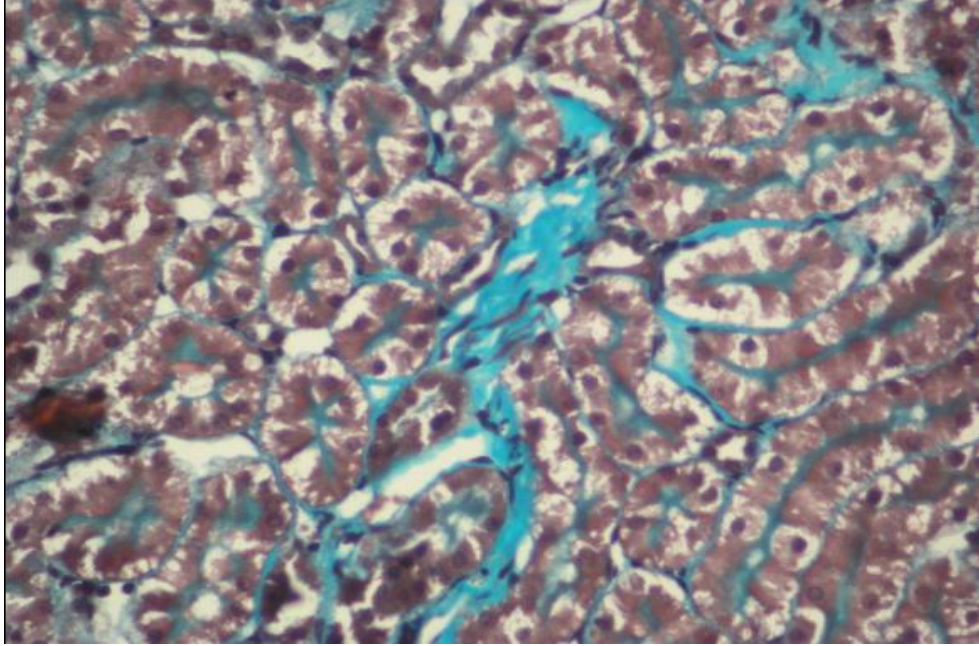


Resim 6: Tubuler nekroz bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)

Kontrol grubuna ve çalışma grubuna ait böbrek doku örneklerinin hepsinde %5 oranında fibrozis saptandı.



Resim 7: Fibröz doku artışı bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x200)



Resim 8: Fibröz doku artışı bulguları gösteren böbrek dokusu (H&E x400)

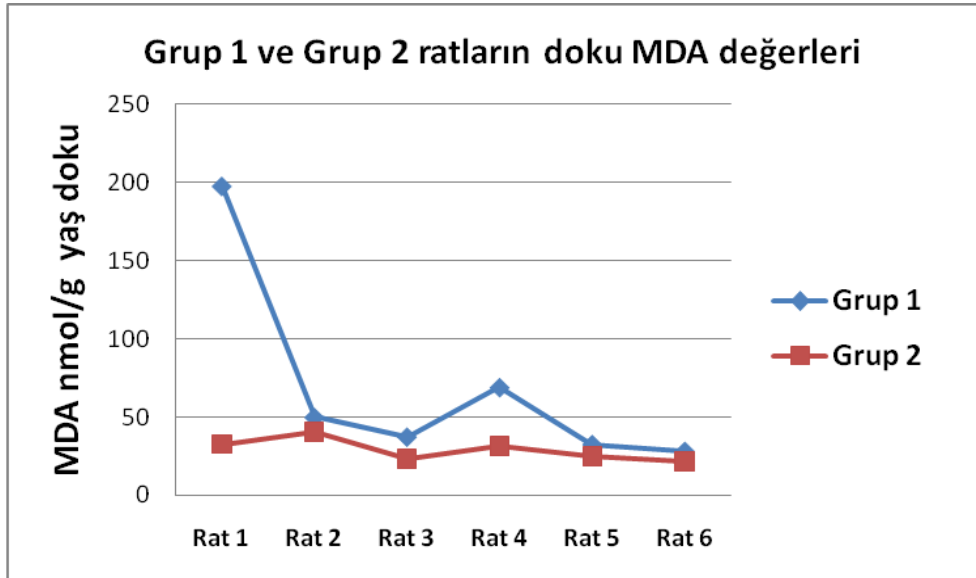
Tablo VIII: Grup 1 ve Grup 2 ratların patolojik skorlaması

Skor	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6
Grup 1	3	2	2	2	2	2
Grup 2	2	2	2	1	1	1

Kontrol grubu ratların patolojik skoru $2,17 \pm 0,41$ (2-3) idi. Likopen grubu ratların patolojik skoru $1,5 \pm 0,55$ (1-2) saptandı. Patolojik skorlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Tablo VIII).

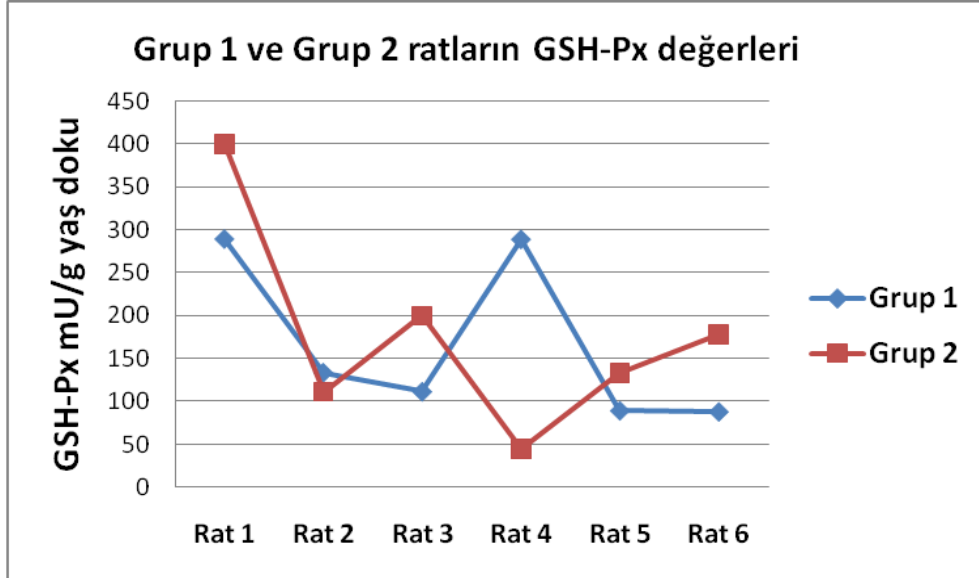
Böbrek Dokularının MDA ve Antioksidan Değerlerinin İncelenmesi:

Kontrol grubunun iskemi sonrası doku MDA düzeyi ortalaması $68,96 \pm 64,70$ (28,02-197,57) nmol/g idi. Likopen grubu ratların iskemi sonrası doku MDA düzeyi ortalaması $28,97 \pm 7,12$ (21,45-40,29) nmol/g saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0,055$).



Şekil 5: Ratların iskemi sonrası doku MDA düzeyleri

Kontrol grubunun iskemi sonrası doku GSH-Px düzeyi ortalaması $166,17 \pm 96,11$ (87,47-288,52) mg/g idi. Likopen grubu ratların iskemi sonrası doku GSH-Px düzeyi ortalaması $177,57 \pm 121,56$ (44,40-399,49) mg/g saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo XI-X).



Şekil 6: Ratların iskemi sonrası doku GSH-Px düzeyleri

Tablo IX : Grup 1 ratların doku SOD, CAT, GSH, GSH-Px ve MDA değerleri

Grup 1	SOD ng/g yaş doku	CAT U/g yaş doku	GSH mg/g yaş doku	GSH-Px mU/g yaş doku	MDA nmol/g yaş doku
Rat 1	45,23	205,68	4,52	288,52	197,57
Rat 2	48,35	365,60	3,33	133,18	49,73
Rat 3	43,80	173,93	6,96	110,90	37,16
Rat 4	41,75	171,89	4,38	288,19	68,85
Rat 5	52,86	213,10	11,44	88,77	32,43
Rat 6	44,87	248,24	2,56	87,47	28,02

Tablo X : Grup 2 ratların doku SOD, CAT, GSH, GSH-Px ve MDA değerleri

Grup 2	SOD ng/g yaş doku	CAT U/g yaş doku	GSH mg/g yaş doku	GSH-Px mU/g yaş doku	MDA nmol/g yaş doku
Rat 1	40,86	189,77	2,81	399,49	32,45
Rat 2	42,58	329,41	4,39	110,98	40,29
Rat 3	48,51	189,50	3,05	199,77	23,07
Rat 4	46,48	380,10	2,86	44,40	31,52
Rat 5	50,53	238,91	2,68	133,15	25,05
Rat 6	44,94	60,00	4,81	177,65	21,45

Kontrol grubu ratların iskemi sonrası doku GSH değeri ortalaması $5,53 \pm 3,25$ (2,56-11,44) mg/g idi. Likopen grubu ratların iskemi sonrası doku GSH değeri ortalaması $3,43 \pm 0,92$ (2,68-4,81) mg/g saptandı. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo IX-X). Kontrol grubu ratların iskemi sonrası doku SOD değeri ortalaması $46,14 \pm 3,93$ (41,75-52,86) ng/g idi. Likopen grubu ratların iskemi sonrası doku SOD değeri ortalaması $45,65 \pm 3,62$ (40,86-50,53) mg/g saptandı. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). Kontrol grubu ratların iskemi sonrası doku CAT değeri ortalaması $229,74 \pm 72,27$ (171,89-365,60) U/g idi. Likopen grubu ratların iskemi sonrası doku CAT değeri ortalaması $231,28 \pm 113,70$ (60-380,1) U/g saptandı. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

TARTIŞMA

Renal hücreli karsinom, böbreğin en sık görülen malign hastalığıdır ve lokalize hastalığın etkili tek tedavisi cerrahi tedavidir. Günümüzde görüntüleme yöntemlerinin yaygın kullanımı ile bir çok olgu küçük boyutlu, lokalize tümör ile saptanmaktadır (Canda ve ark. 2001). Radikal nefrektomi'nin ciddi böbrek fonksiyon kaybına yol açacağı durumlarda zorunlu nefron koruyucu cerrahi yapılmaktadır. NKC günümüzde çoğu renal tümör için seçilecek cerrahi yaklaşım türüdür. NKC, karşı böbreğin normal olduğu elektif durumda güvenli olarak tek, ekzofitik ve 4 cm'den küçük böbrek tümörlerinde yapılabilmektedir. Deneyimli merkezlerde ise teknik olarak mümkün olan tüm böbrek tümörlerinde yapılabılır (Kırkcalı ve Van Hoppel 2004).

Renal hücreli kanserin tanı, prognoz ve tedavisindeki ilerlemelerin yanı sıra yeni gelişen teknolojiler, hastalığın tedavisini sürekli güncellemektedir. Laparoskopi gibi minimal invazif yaklaşımlar, hastaların hem iyileşme sürelerini kısaltmış, hem de daha iyi kozmetik sonuçlar sağlamıştır. Günümüzde deneyimli merkezlerde 7 cm'ye kadar tümörlerde nefron koruyucu cerrahi uygulanmaktadır. Birçok tecrübeli laparoskopist, nefron koruyucu cerrahinin endike olduğu olgularda laparoskopik tekniği başarı ile uygulamaktadır (Bilen 2007).

LPN sonrası postoperatif komplikasyonlar için risk oluşturabilecek faktörleri belirleyebilmek için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD ve Cleveland Clinic Foundation merkezli bir çalışmada (Turna ve ark.) Eylül 1999'dan itibaren gerçekleştirilen ve prospektif olarak kaydedilen 507 operasyonun LPN verileri retrospektif olarak analiz edilmiş. Komplikasyonların ciddiyeti Ulusal Kanser Enstitüsü Ortak Toksikite Kriter'ine göre derecelendirilmiş. Çok yönlü analiz sonuçlarına göre soliter böbrek varlığı, operasyon esnasında artan kan kaybı ve uzamış iskemi zamanı postoperatif komplikasyonlar için risk faktörleri olarak ortaya çıkmıştır. Aynı merkezli bir başka çalışmada soliter böbreklerdeki renal tümörlere LPN uygulanmış, cerrahi sonrası renal fonksiyonel kayıp değerlendirilmiş ve postoperatif glomerüler filtrasyon hızındaki ortalama azalma % 26 olarak saptanmış. Glomerüler filtrasyon hızındaki bu düşüşün muhtemel sebepleri arasında cerrahi sırasında çıkarılan fonksiyonel böbrek dokusu, oluşturulan sıcak iskemi süresi ve operasyon esnasındaki kan kaybı olarak düşünülmüştür.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (Sözen ve ark.) yapılan bir çalışmada 2004-2008 yılları arasında küçük böbrek tümörü tanısı ile LPN uygulanan 42 hasta çalışmaya alınmış. Ortalama

sıcak iskemi süresi 27,4 dak ve ortalama kan kaybı 200 cc olarak saptanmış. Bugün için açık cerrahiye göre komplikasyon oranları yüksek olsa da bu teknik, artan tecrübe ve yeni gelişmelerle standart cerrahi olma yolunda ilerleme sağlanmıştır.

Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniğinde (Tuğcu ve ark.) yapılan bir çalışmada böbrek tümörlerinin tedavisinde LPN diğer tedavi seçenekleriyle karşılaştırıldığında daha az invaziv bir tedavi yaklaşımı olarak kabul edilmiş ve ortalama sıcak iskemi süresi 30 dakika olarak saptanmış. Bizim çalışmamızda da cerrahi sırasındaki iskemi süresinin ortalama 30-35 dakika olabileceği düşünülerek ve uzamış iskemi süresinin de olabileceği bilindiğinden 45 dakikalık iskemi sonrası reperfüzyon uygulandı.

Literatür gözden geçirildiğinde, çeşitli ilaçların (gentamisin, cisplatin) ve ağır metallerin (kadmiyum, civa) ratlara maruziyeti sonucu akut renal yetmezlik geliştiği gösterilmiştir. Bu ajanlara karşı maruziyet sonrası renal hasarlanmayı azaltmak için non enzimatik antioksidan bir ajan olan likopen'in dokudaki histopatolojik değişiklikler, dokudaki enzimatik değişiklikler ve serum böbrek fonksiyon testleri üzerindeki koruyucu etkisi gösterilmeye çalışılmış. LPN ve APN'de oluşturulan, iskemi reperfüzyonunun renal oksidatif hasara yol açtığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiş. Ancak cerrahi sırasında oluşturulan renal iskemi reperfüzyon sonrasında oluşan oksidatif hasarlanmaya yönelik likopen'in antioksidatif etkisi ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda, likopen'in, oluşturulan geçici renal hipoksi sonrası oluşan oksidatif renal hasarlanmaya karşı olası koruyucu etkisi gösterilmeye çalışılmıştır.

Karahan ve ark. tarafından 2005 yılında Fırat Üniversitesinde yapılan bir çalışmada gentamisin maruziyeti sonrası ratlarda serum cr değeri $1,37 \pm 0,19$ mg/dl, üre değeri $110 \pm 5,6$ mg/dl olarak saptanmış bu değerler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark saptanmış ($p < 0,001$). Aynı çalışmada bir grup rata gentamisin maruziyeti öncesi likopen verilmiş ve cr değeri $0,82 \pm 0,17$ mg/dl, üre değeri 77 ± 3 mg/dl saptanmış. Bu iki grubun üre ve cr değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p < 0,05$). Bu çalışmada kontrol grubunda, gentamisine maruz kalan grupta ve gentamisin + likopen uygulanan grupta serum Na ve K değerleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamış. Yaptığımız çalışmada iskemi oluşturduğumuz kontrol grubunda iskemi öncesi üre, cr, ve Na değerleri ile iskemi sonrası üre, cr ve Na değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptandı ve bu bizim iskemi modelimizin nefropati oluşturabildiğini serum üre, cr ve Na değerini bozduğunu gösterdi. İskemi öncesi likopen uyguladığımız ve iskemi sonrası serum üre, cr ve Na

değerlerine baktığımız ratların üre ve cr değerlerinin likopen ile korunamadığını gördük, Na değerinin ise likopen alan grupta iskemiye rağmen bozulmadığını saptadık. K değeri açısından her iki grupta iskemi öncesi ve sonrası istatistiksel fark saptanmadı.

Son yıllarda bir çok hastalığın patogenezinden sorumlu tutulan serbest radikaller, LPN ve APN sonrası komplikasyonları açısından da önem kazanmıştır. Oksidatif stres terimi genel olarak prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulduğu ve hemen hemen tüm patolojik durumlarla ilişkisi olan reaksiyonlar serisi olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin başlıca ana kaynağı oksijendir. SOR, normal hücre metabolizması sırasında ortaya çıkan yan ürünlerdir ve başlıca hedef molekülleri çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerdir (Gutteridge 1995). Normal koşullar altında SOR'un fizyolojik seviyesi/reaktivitesi detoksifikasyon mekanizmalarıyla hassas bir şekilde dengelenir ve bu dengede özellikle antioksidan savunma mekanizmaları önemli rol oynamaktadır. SOD, GSH-Px ve CAT gibi bazı antioksidan enzimler, GSH, tiyoller, E ve C vitamini gibi antioksidan vitaminler, selenyum gibi eser elementler ve ürik asit, bilirubin gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler antioksidan savunma mekanizmalarının en önemlilerindedir. SOD, ekstraselüler ve intraselüler membranlarda bulunan lipitlerin reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikalinin peroksidan etkilerinden korunmasından sorumlu önemli bir antioksidan enzimdir. Bir çok çalışmada, iskemi reperfüzyon hasarında serum ekstraselüler süperoksit dismutaz (ec-SOD) konsantrasyonlarının kontrollere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak bizim çalışmamızda gruplar arasında SOD değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Bu çalışmalar, iskemi reperfüzyon nedeniyle serbest oksijen radikallerinin arttığını ve bu durumun endotel hasarından sorumlu olabileceğini ortaya koymuştur. SOR, hücre ve organel membranlarında lipit peroksidasyonuna neden olur ve özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısını, hücre transport kapasitesini ve enerji üretimini bozarak etkilerini gösterirler. Nefronlar aerobik metabolizmanın belirgin bir şekilde gerçekleştiği, oksijenizasyonun fazla olduğu dokulardır, vücut oksijen tüketiminin % 10'undan sorumludurlar. Kardiak outputun % 20'sine de maruz kalan böbrekler, bu özelliklerinden dolayı dolaşımdaki PMNL ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu sonucunda ek bir oksidatif strese maruz kalırlar. Böbrekler, yüksek O₂ tüketimi ve metabolik aktiviteye ek olarak, infiltratif hücreler ve kendi tübül hücrelerinden de reaktif O₂ türleri

oluşması nedeniyle zaman zaman, kendi antioksidan korunma mekanizmasını aşan oksidatif stresle karşılaşmakta ve böbreklerde reaktif O₂ türlerine bağlı doku hasarları oluşmaktadır.

Selçuk ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılan bir çalışmada iskemi sonrası reperfüzyon ile meydana gelen serbest oksijen radikallerinin iskemik akut renal yetmezlik patogenezinde önemli rol oynadığı ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit düzeyinin en fazla iskemiye takiben reperfüzyon sırasında arttığı tespit edilmiş ve antioksidan ajanlarla bu hasarları azaltılabileceği gösterilmiş. Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacı ile vücutta reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini enzimatik veya non enzimatik antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilir. İyi bir antioksidan serbest radikalleri belirli bir şekilde ortadan kaldırır, redoks metallerini tutar, antioksidan ağı içerisinde diğer antioksidanları tetikler. GSH ve GSH-Px'in organizmada bulunuşu önemli olup bu enzimlerin aktivitesi çeşitli hastalıklara ve fizyolojik, patolojik durumlara göre doku faydası yönünde değişiklikler göstermektedir. GSH-Px aktivitesindeki azalma H₂O₂ düzeylerinin yükselmesine ve hücre hasarına yol açmaktadır.

Atessahin ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada, ratlarda cisplatin maruziyeti sonrası oluşan nefrotoksisite ile oksidatif hasar ve antioksidan enzimler araştırılmış. Kontrol grubu ile likopen uygulanan grubun CAT, GSH ve GSH-Px değerleri karşılaştırılmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmış ($p < 0,05$). Bizim çalışmamızda kontrol grubu GSH-Px ortalama değeri likopen alan grubun ortalama değerinden düşük idi ancak kontrol grubu ile likopen uygulanan grubun CAT, GSH ve GSH-Px değerleri arasındaki fark $p > 0,05$ olarak saptandı.

Mersin Üniversitesi'nde 2006 yılında Avlan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 45 dakikalık renal iskemi reperfüzyon sonrası oluşan doku hasarının antioksidatif tedavi uygulanan grupta daha az olduğu, dokudaki MDA düzeyinin daha düşük olduğu saptanmış ($p < 0,05$). Likopen, insan vücudunda sentezlenmeyen non enzimatik bir antioksidan ajandır ve insan serumundaki en baskın karotenoiddir. Jonker ve ark. tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada ratlara yüksek doz likopen, vücut ağırlığının %1'ine kadar olan dozlarda uzun süreli uygulanmış ve sonuç olarak toksisite belirtisi gözlenmemiş olup güvenlik aralığının geniş olduğu düşünülmüş.

Karahan ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada ratlarda gentamisin maruziyeti sonrası açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin böbrekte oluşturduğu hasara bakılmış ve likopen'in olası koruyucu etkisi gösterilmeye çalışılmış ve histopatolojik olarak

incelendiğinde gentamisinden önce likopen verilen grupta dejeneratif değişiklikler, hücresele düzeyde nekroz alanları gözlenirken, gentamisin sonrası likopen verilmeyen grupta belirgin tubuler nekroz alanları gözlenmiş. Aynı çalışmada doku MDA düzeyleri sadece gentamisin uygulanan grupta $128,5 \pm 5,1$ nmol/g protein olarak saptanmışken, likopen + gentamisin uygulanan grupta $52,4 \pm 2,18$ nmol/g protein olarak saptanmış ($p<0,001$).

Rencüzoğulları ve ark. tarafından 2006 yılında Mustafa Kemal Üniversitesinde yapılan bir çalışmada, kadmiyum uygulamasının lipidlerde oluşturduğu peroksidasyon sonucu açığa çıkan MDA, kan plazması ($p<0,001$) ve böbrek dokusunda ($p<0,05$) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmış. Kadmiyum ile birlikte likopen verilen grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna yakın değerlere düşürülmüş, likopen'in kadmiyum gibi toksik bir maddenin neden olduğu lipitlerdeki peroksidasyona bağlı hasarı düzeltebileceğini söylemişlerdir. Bizim çalışmamızda, iskemi sonrası kontrol grubu böbrek dokusu MDA seviyelerinin ortalama değeri ($68,96 \pm 64,7$ nmol/g), likopen sonrası iskemi uyguladığımız çalışma grubu MDA seviyelerinin ortalama değerinden ($28,97 \pm 7,12$ nmol/g) yüksek saptandı ($p=0,055$).

Avlan ve ark. 2006 yılında yaptığı bir çalışmada iskemi reperfüzyon sonrası renal dokudaki hasarlanmayı kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırmak için histopatolojik skorlamayı kullanmış ve istatistiksel olarak anlamlı farklılığı saptamış ($p<0,05$). Yine aynı yöntem Karahan ve ark. tarafından yapılan çalışmada kullanılmış iskemi reperfüzyon sonrası oluşan doku hasarına skorlama uygulanmış ve likopen uygulanan gruptaki histopatolojik skor anlamlı oranda düşük saptanmış ($p<0,05$).

Williams ve ark tarafından 1997 yılında renal iskemi reperfüzyon hasarını göstermeye yönelik yapılan bir çalışmada ratlara 45 dakikalık iskemi sonrası reperfüzyon uygulamış ve gruplara ayırmış, 24. saat sonunda nefrektomi yapılan grupta konjesyon, nekroz, tubuler dilatasyon, eozinofilik cast, sitoplazmik granüler dejenerasyon saptamış ancak fibrozisin ve tubuler atrofinin 1. hafta sonunda nefrektomi yapılan ratların dokularında, daha önce nefrektomi yapılan gruplara göre belirgin oranda arttığını saptamış. Bizim çalışmamızda ise bütün ratlara 24. saat sonunda nefrektomi uygulandı ve her iki grupta da %5 gibi düşük oranda fokal fibrozis alanları saptandı.

Likopen'in renal cerrahi öncesi iskemi reperfüzyon hasarından korunmak için kullanılabileceğini düşündük, elektrolit (Na) dengesini koruduğunu, likopen alan grupta doku hasarının daha az, patolojik skorun daha düşük olduğunu saptadık ($p<0,05$). Doku MDA seviyesi likopen alan grupta daha düşük bulunmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Doku GSH-Px ortalama değeri likopen alan grupta daha yüksek saptandı ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

SONUÇLAR

Abdominal aortaya uygulanan 45 dakikalık klemp sonrası renal iskemi reprefüzyon hasarına bağlı üre, cr ve Na değerindeki değişmeler anlamlı bulundu.

Likopen uyguladığımız grupta iskemi sonrası Na değerinin korunduğunu saptadık.

Kontrol grubu ratların %100'ünde konjesyon saptandı, likopen alan ratlarda ise hiç konjesyon görülmedi ($p<0,001$).

Anormal proteinöz madde birikimi likopen alan ratların böbrek dokusunda daha az oranda saptandı ($p=0,062$).

Fibrozis 24. saat sonunda her iki grupta da %5 idi.

Kontrol grubu ratların patolojik skoru $2,17\pm0,41$ (2-3) idi. Likopen grubu ratların patolojik skoru $1,5\pm0,55$ (1-2) saptandı. Patolojik skorlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü ve hücre üzerinde genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkisi olan MDA ortalama değeri likopen alan grupta daha düşük saptandı ($p=0,055$).

Önemli bir antioksidan enzim olan GSH-Px'in likopen grubu ratların böbrek dokusundaki ortalama değeri, kontrol grubundan yüksek bulundu ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, likopen'in açık/laparoskopik parsiyel nefrektomide oksidatif hasara karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceği düşünüldü.

ÖZET

RATLARDA RENAL HİPOKSİYE BAĞLI OLUŞAN OKSİDATİF STRESS ÜZERİNE LİKOPEN'İN OLASI KORUYUCU ETKİSİ

Giriş ve Amaç: Günümüzde nefron koruyucu cerrahi, erken tanı yöntemleri ile böbrek tümörlerinin tedavisinde sıklıkla uygulanan bir yöntem olmuştur, teknolojik gelişmeler ile de bu tümörlere laparoskopik yaklaşım sıklığı artmıştır. Cerrahi sırasında (APN-LPN) geçici olarak renal arterin klemplenmesi ile böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı oluşur bu durum özellikle soliter böbreği olan hastalarda ve residü parankimi sınırlı olan hastalarda nefrotoksisiteye bağlı sorunların (üre, cr yüksekliğine bağlı geçici diyaliz) ortaya çıkmasına neden olabilir. Özellikle soliter böbrekli hastalar başta olmak üzere, renal cerrahi sırasında iskemi reperfüzyona bağlı renal dokuda oksidatif hasar gelişebilecek tüm olguları bu hasarın komplikasyonlarından korumak amacı ile cerrahi öncesi, insan vücudunda sentezlenmeyen, tüketilen besinlerden elde edilen, karotenoid, non enzimatik antioksidan ajan olan likopen ile profilaksisi amaçlandı.

Yöntem: Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarlarında çalışmaya alınan ratların serum üre, cr, Na ve K değerlerine bakıldı, ratlar iki gruba ayrıldı. Bir grup rata cerrahi öncesi 24 saat ara ile toplam iki kez 4 mg/kg likopen gavaj yöntemi ile verildi. Daha sonra çalışmaya alınan tüm ratlara sağ nefrektomi uygulandı ve abdominal aorta 45 dakika klemplenerek sol böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı oluşturuldu. Klemp açıldıktan 24 saat sonra tüm ratların serum üre, cr, Na ve K değerlerine bakıldı ve sol nefrektomi uygulandı. Ratlar sakrifiye edildi. Böbrek dokusunun yarısı patolojik inceleme için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na diğer yarısı doku enzim seviyesinin tespiti için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na gönderildi.

Bulgular: Kontrol grubu ratların, iskemi öncesi üre değeri ortalaması $57,3 \pm 16,2$ (34-84) mg/dL, iskemi sonrası üre değeri ortalaması $148,8 \pm 72,8$ (46-229) mg/dL olarak saptandı, iskemi öncesi cr değeri ortalaması $0,45 \pm 0,083$ (0,4-0,6) mg/dL, iskemi sonrası cr değeri ortalaması $1,17 \pm 0,97$ (0,5-3) mg/dL olarak saptandı (sırasıyla $p=0,046$, $p=0,027$). Kontrol

grubu ratların, iskemi öncesi Na değeri ortalaması $141,5 \pm 3,37$ (136,7-145) mmol/L, iskemi sonrası Na değeri ortalaması $133,6 \pm 7,26$ (122-143) mmol/L saptandı ($p=0,028$). Likopen grubu ratların iskemi öncesi ortalama üre değeri $61,2 \pm 16,9$ (37-86) mg/dL, iskemi sonrası ortalama üre değeri $159 \pm 78,8$ (28-241) mg/dL, iskemi öncesi ortalama cr değeri $0,45 \pm 0,055$ (0,4-0,5) mg/dL ve iskemi sonrası ortalama cr değeri $1,37 \pm 0,87$ (0,4-2,8) idi (sırasıyla $p=0,046$, $p=0,046$). Likopen grubu ratların serum Na seviyesinde iskemi öncesi ve sonrasında anlamlı fark saptanmadı. Kontrol grubu ratların patolojik skoru $2,17 \pm 0,41$ (2-3) idi. Likopen grubu ratların patolojik skoru $1,5 \pm 0,55$ (1-2) saptandı ($p<0,05$). Kontrol grubu ratların doku MDA seviyesi ortalaması, likopen grubu ratların doku MDA seviyesinden daha yüksek saptandı ($p>0,05$). GSH-Px'in doku düzeyi ortalaması likopen alan grupta daha yüksek idi ($p>0,05$).

Sonuç: Renal iskemi reperfüzyon sonrası dokuda nefrotoksisite ve doku hasarı oluştu bu hasarın bir göstergesi olan doku MDA seviyesi ve patolojik skor likopen alan grupta daha düşük seviyede idi. Likopen'in serum Na seviyesini iskemik hasara karşı koruduğunu saptadık. Tüm bu sonuçlar dahilinde likopen'in APN ve LPN'de oksidatif hasara karşı koruyucu olabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Likopen, renal iskemi, iskemi reperfüzyon hasarı, açık/laparoskopik parsiyel nefrektomi

SUMMARY

THE PROBABLE PROTECTIVE EFFECT OF LYCOPENE ON HYPOKSIA INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS

Introduction and Aim: Today nephron sparing surgery with early diagnosis provides effective curative therapy for patients with localized renal cell carcinoma. With technological developments laparoscopic surgery usually used on this tumors. On surgery (OPN-LPN) when renal arter temporary clamping renal ischemia-reperfusion injury occurs (temporary dialysis for patients dependent on üre and cr increased). On this condition nephrotoxicity improved especially have a soliter kidney or determinate kidney parancime patients. The present study was designed to invastigate the possiple protective effects of lycopene against hypoksia induced renal damage. Lycopene is the one of the potent carotenoid antioxidant agent to take on foods which couldn't synthesis on human body.

Material and Method: Twelve rats are included to study from Adnan Menderes University Veterinary Faculty Laboratories, serum üre, cr, Na and K levels are detected for all rats. Famale wistar rats were divided into two groups of six rats in each one; first group served as control, the other group were treated two days of orally lycopene (4mg/kg per day) before surgery. All wistar rats were subjected to right nephrectomy and after abdominal aorta clamping for 45 minutes for ischemia reperfusion injury. After 24 hours blood samples for taken again analysis of serum üre, cr, Na and K levels. And done left nephrectomy for biochemical and histopathological evaluation on Adnan Menderes University Medical Faculty Biochemistry and Pathology Laboratories.

Findings: Mean of control group pre ischemia üre levels was $57,3 \pm 16,2$ (34-84) mg/dL, post ischemia üre levels was $148,8 \pm 72,8$ (46-229) mg/dL ($p=0,046$). Mean of control group pre ischemia cr levels was $0,45 \pm 0,083$ (0,4-0,6) mg/dL, post ischemia cr levels was $1,17 \pm 0,97$ (0,5-3) mg/dL ($p=0,027$). Mean of control group pre ischemia Na levels was $141,5 \pm 3,37$ (136,7-145) mmol/L, post ischemia Na levels was $133,6-7,26$ (122-143) mmol/L ($p=0,028$). Mean of lycopene group pre ischemia üre levels was $61,2 \pm 16,9$ (37-86) mg/dL, post ischemia üre levels was $159 \pm 78,8$ (28-241) mg/dL ($p=0,046$). Mean of lycopene group pre ischemia cr levels was $0,45 \pm 0,055$ (0,4-0,5) mg/dL, post ischemia cr levels was $1,37 \pm 0,87$ (0,4-2,8)

mg/dL ($p=0,046$). There was no significant between pre ischemia Na levels and post ischemia Na levels on lycopene group. Mean of control group pathological score levels was $2,17\pm0,41$ (2-3), mean of lycopene group pathological score levels was $1,55\pm0,55$ (1-2) ($p<0,05$). Mean of control group tissue MDA levels was higher than lycopene group ($p>0,05$). Mean of lycopene group tissue GSH-Px levels was higher than control group ($p>0,05$).

In conclusion: Ischemia reperfusion induced oxidative stress and nephrotoxicity caused significant increases in pathological score. And elevated tissue MDA levels, serum ure, cr, Na levels. Post ischemia serum Na levels was protected on lycopene group. For all results a natural antioxidant lycopene might have protective effects against hypoksia induced nephrotoxicity and utilizable on OPN and LPN.

Key words: Lycopene, renal ischemia, ischemia reperfusion injury, open/laparoscopic parsiyel nephrectomy.

KAYNAKLAR

- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stres: a review. *Med. Sci. Monit.* 2004; 10: 141-147.
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 1984; 105: 121-125.
- 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.
- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
- Andreoli SP: Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatri Nefrol* 1991; 5: 733-742.
- Andreoli SP, McAteer JA. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubuler epithelial cells in vitro. *Kidney. Int* 1990; 38: 785-794.
- 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): 405-411.
- Aşıcıoğlu, Y. T. Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Bölümü 2005; 47-49.
- Ateşşahin A, Yılmaz S, Karahan İ. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats *Toxicology* 2005; 116-123.
- 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: 1686-1693.
- Baud L, Ardaillou R: Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.
- Baud L, Ardaillou R: Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *British Med Bulletin.* 1993; 49:621-630.
- Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000;12: 31-9.
- Belldegrün A, Tsui KH, deKernion JB, Smith RB. Efficacy of nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma: analysis based on the new 1997 tumor-node-metastasis staging system. *J Clin Oncol.* 1997;17 (9):2868-2875.
- Beutler E, Durgun O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 51:882-888.

- Bhayani SB, Rha KH, Pinto PA, et al. Laparoscopic partial nephrectomy: Effect of warm ischemia on serum creatinine. *J Urol*. 2004;172:1264-1266.
- Bhuvaneswari V, Velmurugan B, Nagini S. Induction of glutathione-dependent hepatic biotransformation enzymes by Lycopene in the hamster cheek pouch carcinogenesis model. *J Biochem Mol Biol Biophys* 2002; 6: 257-260.
- Bilen CY. Laparoskopik radikal ve nefron koruyucu cerrahi. *Üroonkoloji kitabı* 2007; 2 (70B):997-1010.
- Boileau AC, Merchen NR, Wasson K, Atkinson CA, Erdman JS, Jr. Cis-lycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and also in vivo in the lymph cannulated ferret. *J Nutr*. 1999; 129:1176-1181.
- Boyce NW, Tipping PG, Holdsworth SR: Glomerular macrophages produce reactive oxygen species in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1989; 35: 778-782.
- Bramley, P.M. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*, 2000; 54, 233-236.
- Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J* 1995; 9:1551-1558.
- Bulkley GB: Free radical-mediated reperfusion injury: A selective review. *Br J Cancer* 1987; 55 (Supl. 8): 66-73.
- Bulkley GB. Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: Aberrant triggering of reticuloendothelial function. *Lancet* 1994; 344: 934-936.
- Butler BP, Novick AC, Miller DP, et al. Management of small unilateral renal cell carcinomas: radical versus nephron-sparing surgery. *Urology* 1995; 45:34-41.
- Canda AE, Şahin MO, Tüzel E, Mungan MU, Kirkali Z, Sade M. Rastlantısal renal hücreli karsinomların önemi. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi* 2001; 7 (3-4):105-109.
- Cantrell A, McGarvey DJ, Truscott TG, Rancan F, Bohm F. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. *Arch Biochem Biophys*, 2003; 412, 47-54.
- Cervello I, Lafuente A, Giralt M, Mallol J, (1992), Enhanced glutathione S transferase (GST) activity in pregnant rats treated with benzo(a)pyrene. *Placenta* 13 (3), 273-280.

- Clinton SK, Emenhiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ, Erdman Jr. JW. Cis-trans lycopene isomers, Carotenoids and retinol in the human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5, 823-833.
- Conn PF, Schalch W, Truscott TG, Photochem J, (1991), The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Photobiol, B* 11, 41–47.
- Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach.* Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland 1996.
- Desai MM, Gill IS, Ramani AP, et al. The impact of warm ischemia on renal function after laparoscopic partial nephrectomy. *BJU Int.* 2005; 95:377-383.
- Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 1989; 274:532-538.
- Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, Brown ED, Collins JK, Perkins- Veazie P, et al. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and β -carotene in humans. *J Nutr.* 2003; 133, 1043–1050.
- El-Agemey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties *Arch Biochem Biophys.* 2004; 430, 37-48.
- Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell. Mol. Neurobiol.* 1998; 18: 667-682.
- Fang YZ, Yang S, Wu G, et al. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002;18:872-879.
- Ferreira AL, Yeum KJ, Liu C, Smith D, Krinsky NI, Wang XD, Rusell LM. Tissue distribution of lycopene in ferrets and rats after lycopene supplementation. *J Nutr.* 2000; 130, 1256-1260.
- Floyd R.A. DNA Damage and Repair “Oxidative Damage Repair”, (Davies K.J.A. ed). Pergamon Press 1992:175-180.
- Fuhrman B, Ells A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of Lycopene and beta carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233:658-662.
- Gerster H, The potential role of lycopene for human health. *J. Amer. Coll. Nutr.* 1997; 16: 109-126.

- Gill I, Abreu S, Desai M, et al. Laparoscopic ice slush renal hypothermia for partial nephrectomy: the initial experience. *J Urol*. 2003; 170:52–56.
- Greene EL, Paller MS: Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner electrolyte metab* 1991; 17: 124-132.
- Gupta SK, Triverdi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma, SD. Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutr* 2003; 19: 794-799.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41:1819-1928.
- Hadley CW, Clinton SK, Schwartz SJ. The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J Nutr*. 2003; 133, 727–732.
- Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. *J Urol*. 1999;162 (6):1930-1933.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford Science Publications, 2001; 22-24.
- Huxtable RJ. Physiological Actions of Taurine. *Physiological Reviews* 1992; 72(1): 101-163.
- Johns RJ, Klebanoff SJ, Ochi RF, Adler S, Baker P, Sparks L, Couser WG: Participation of the myeloperoxidase-H₂O₂-halide system in immunocomplex nephritis. *Kidney Int* 1987; 32: 342-349.
- Jonker D, Kuper CF, Fraile N. Ninety day oral toxicity study of lycopene from *Blakeslea trispora* in rats *Reg. Toxicology and P*. 2003; Vol.37 396-406.
- Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 1998; 94: 623-632
- Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2002; 202: 227-235.
- Karahan İ, Ateşşahin A, Yılmaz S. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats *Toxicology* 215 (2005) 198-204.

- Kaur A, Sethi AK, Ganguly NK, Majumdar S: Concentration dependent function of superoxide dismutase in oxygen free radicals mediated tissue injury in renal brush border membrane. *Biochemistry International*. 1989; 19:385-395.
- Kaya S, Prinççi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi:35 Ankara, 1998 ;s.222,232,273,276,355.
- Kayalı R., Çakatay U. Basic mechanisms of protein oxidation. *Cerrahpaşa J med* 2004; 35:83-89.
- Khachik F., Askin FB., Lai K.: Distribution, bioavailability, and metabolism of carotenoids in humans. In: Bidlack WR, Omaye ST, Meskin MS, Jahner D. Eds. *Phytochemicals, a New Paradigm*. Lancaster, PA: Technomic Publishing. 1998; Chapter 5: pp77-96.
- Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY., Katz NB.: Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med (Maywood)*. Review 2002; 227(10):845-851.
- Kehrer, JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23 (1): 21-48.
- Kırkcalı Z, Canda E. Açık radikal nefrektomi ve nefron koruyucu cerrahi. *Üroonkoloji kitabı* 2007; 2 (70A): 982-992.
- Kırkcalı Z, Van Hoppel H. Developments in organ preserving treatments for renal cell cancer: *Open Surgery*. *Eur Urol*. 2004; 3:9-13.
- Kim YG, Kim SK, Kwon JW, Park OJ, Kim SG, Kim YC, et al. Effects of cysteine on amino acid concentration and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. *Life Sci* 2003; 72:1171-81.
- Konya L, Bencsath P, Szenasi G, Takacs L, Schaff Z, Vereckel A, Feher J: Effect of free radicals in ischaemic renal failure in the dog. *Acta Physiologica Hungarica* 1990; 76: 319-331.
- Küçük O, Sarkar FH, Sakr W, et al. Phase II randomized clinical trial of Lycopene supplementation before radical prostatectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:861-868.
- Kumar V, Robbin S.L: *Robbin's Basic Pathology*, 4. baskı, 1987, S.593-639.
- Kumar V, Robbin S.L: *Robbin's Basic Pathology*, 6. baskı, 2000, S.6-9.
- Larson AR.; *Naturally Occuring Antioxidants*, Boca Raton (Lewis Publishers) 1997.

- Lee CT, Katz J, Shi W, et al. Surgical management of renal tumors 4 cm. or less in a contemporary cohort. *J Urol.* 2000;163 (3):730-736.
- Levy J. Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either alpha-carotene and beta-carotene. *Nutrition and Cancer* 1995; 24, 3: 257-266.
- Mangels AR, Holden JM, Beecher GR, Forman MR, Lanza E. Carotenoid contents of fruits and vegetables: an evaluation of analytical data. *J Am Diet Assoc.* 1993; 93, 284-296.
- Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C: Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2005; 16: 577–586.
- Mates JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 2000; 153: 83-104.
- Matos HR., Capelozzi VL., Gomes OF., Mascio PD., Medeiros MH.: Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys.* 2001; 15;396(2):171-177.
- Mayne ST. Beta carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB J.* 1996; 10, 690-701.
- McCall MR, Frei B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Rad Biol Med.* 1999; 26, 1034–1105.
- McCord J M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652–659.
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* 1996; 384, 240-246.
- Nath KA, Paller MS. Dietary deficiency of antioxidants exacerbates ischemic injury in the rat kidney. *Kidney Int* 1990; 38:1109-1117.
- Nieder AM, Taneja SS. The role of partial nephrectomy for renal cell carcinoma in contemporary practice. *Urol Clin North Am.* 2003; 30 (3): 529-542.
- Niki E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids.* 1987; 44:227-253.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N: Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2005; 338: 668–676.

- Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N, et al. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J* 1998; 135:115.
- Nordberg J, Arner E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine* 2001; 31(11):1287-1312.
- Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi, 1979: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95, 351-358.
- Ono Y, Kinukuwa T, Hattori R, Gotoh M, Kamihira O. The long term outcome of laparoscopic radical nephrectomy for small renal cell carcinoma. *The J. Urol* 2001; 65:1867.
- Özdem SS, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.* 1994; 11: 63-71.
- Paller MS, Neumann TV: Reactive oxygen species and renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation *Kidney Int* 1991; 40:1041-1049.
- Pamuk ER, Byers T, Coates RJ, Wann JV, Sowell AL, Gunter EW. Effect of smoking on serum nutrient concentrations in African-American Women, *Am J Clin Nutr.* 1994; 59, 891-895.
- Parvez Z, Ruhman M, Moncada R: Contrast media-induced lipid peroxidation in the rat kidney. *Investigative Radiology* 1989; 24:697-702.
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal. Biochem.* 1990; 16: 259-264.
- Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, et al. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 1997; 18:1847-1850.
- Porrini M, Riso P. Lymphocyte Lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. *J Nutr* 2000; 130:189-192.
- Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1984; 105:273-283.
- Priuska, E.M, Schacht, J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol* 1995; 50 (11): 1749-1752.
- 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, 2352-2359.

- Rable H, Khoschorur G, Colombo T, Petritsch P, Rauchenvald M, Költringer P, Tatzber F, Esterbauer H: A multivitamin infusion prevents lipid preoxidation and improves transplantation performance. *Kidney Int.* 1993; 45: 912-917.
- Rao AV, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res* 1999; 19, 199–203.
- 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; 396: 514-519.
- Rousseau EJ., Davison AJ., Dunn B.: Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: Implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* Review 1992;13(4):407- 433.
- Rovin BH, Wurst E, Kohan DE: Production of reactive oxygen species by tubular epithelial cells in culture. *Kidney Int.* 1990; 37:1509-1514.
- 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.
- Serafini M, Del Rio D, et-al. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool. *Redox Report* 2004; 9(3):145-152.
- Shah SV: Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease. *Kidney Int.* 1989; 35:1093-1106.
- Sözen S, Bilen C, Bayazıt Y, Küpeli B, Özen H, Doran Ş, Üre İ, Tombul T, Aytutuldu A. Küçük böbrek tümörlerinde laparoskopik parsiyel nefrektomi: Çok merkezli erken dönem cerrahi sonuçlar. *Türk Üroloji Dergisi* 2008; 267.
- Sözmen EY: Yaşlanma Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara 2002; pp: 665-674.
- Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys.* 1996; 336, 1–9.
- Stahl W, Junghans A, de Boer B, Driomina ES, Briviba K, Sies H. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: Synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett.* 1998; 427, 305– 308.

- Stratta P, Canavessa C, Dogliani M, Mazzucco G, Manga G, Vercellone A: The role of free radicals in the progression of renal disease. *Am J Kidn Dis* 1991; 17 (Supl.1): 33-37.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
- Şekeroğlu MR, Şahin H, Dülger H, Algün E: The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 2000; 33:669-674.
- Tanumihardjo SA., Furr HC., Amedee-Manesme O., Olson JA.: Retin ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. *Int J Vitam Nutr Res*. 1990; 60(4):307-313.
- Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharma* 2004; 58: 100-110.
- Thomas MJ: The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Critical Rev. Food. Sci. And Nutrit*. 1995; 35 21-39.
- Thornton MA, Zager RA: Brief intermittent reperfusion during renal ischemia: Effect on adenine nucleotides, oxidant stress, and the severity of renal failure. *J Lab Clin Med* 1990; 115: 564-571.
- Tonucci LH, Holden JM, Beecher GR, Khachik F, Davis CS, Mulokozi G. Carotenoid contents of thermally processed tomato based food products. *J Agric Food Chem*. 1995; 43, 579–586.
- Tuğcu V, Taşçı A, Su F, Polat H, Gürbüz N. Böbrek tümörlerinin tedavisinde laparoskopik retroperitoneal parsiyel nefrektomi sonuçlarımız. *Türk Üroloji Dergisi* 2008; 28.
- Turna B, Frota R, Kamoi K, Lin Y, Aron M, Desai M, Kaouk J, Gill I. Laparoskopik parsiyel nefrektomi için postoperatif komplikasyonların risk faktörlerinin analizi. *Türk Üroloji Dergisi* 2008; 29.
- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik gelişim*.1998; 11: 336–341.
- Van Poppel H, Baert L. Elective conservative surgery for renal cell carcinoma. *AUA Update Series* 1994; 13:246-251.
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 2004; 25: 612–628.

- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol 2001; 54:176-186.
- Waz WR, Feld LG: Reactive oxygen molecules in the kidney. Adv Exp. Med Biol 1994; 366:171-183.
- Walker WF, Homberger DG: Anatomy and Dissection of the Rat. Third edition. 1997; 4:58.
- Williams P, Lopez H. Characterization of Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats JPM Vol.37,No.1 February 1997; 1-7.