

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**AKUT AĞRI YÖNETİMİNİN LENFOSİT DNA HASARI
VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Leyla SOLDUK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Özgür SÖĞÜT

ŞANLIURFA
2013

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**AKUT AĞRI YÖNETİMİNİN LENFOSİT DNA HASARI
VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Leyla SOLDUK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Özgür SÖĞÜT

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından tarafından 12143 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince beni her konuda bilgilendiren, deneyim ve yeteneklerinden yararlandığım değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Özgür SÖĞÜT'e; Asistanlığım boyunca bilgi ve birikimlerini içtenlikle paylaşan, yetişmemde katkıları olan değerli Acil Tıp A.D. Öğretim Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Halil KAYA ve Yrd. Doç. Dr. M. Tahir GÖKDEMİR'e;

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, zorlu çalışma koşullarına rağmen büyük bir özveri ve sabırla çalışan değerli Acil Tıp A.D. Asistanı arkadaşlarıma ve tüm Acil Tıp A.D. çalışanları ekibine; Tez çalışmam boyunca desteklerinden dolayı Ortopedi ve Travmatoloji A.B.D. Öğretim Üyelerine, asistanlarıma ve hemşirelerine; Asistanlığım süresince beraber çalıştığım kliniklerdeki başta Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. Öğretim üyesi Doç. Dr. Süda Tekin KORUK ve Halk Sağlığı A.D. Öğretim üyesi Doç. Dr. İbrahim KORUK olmak üzere tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma;

Tez çalışmamdaki değerli katkılarından dolayı başta Biyokimya A.D. Başkanı Prof. Dr. Nurten AKSOY'a, Öğretim görevlileri Hakim ÇELİK ve Abdullah TAŞKIN'a ve tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına; Kayıt yaptığım günden bitirene kadar geçen zamanda her türlü katkılarından dolayı başta Sayın Murat ALKAN ve Sayın Tevrat ZERAY olmak üzere tüm dekanlık personeline;

Katkılarından dolayı değerli arkadaşlarım İdris BENEK, Alaaddin ZİREK, Halil BEKLEN, M.Akif DOKUZOĞLU ve Ali LEVENT'e;

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana her konuda destek olan değerli AİLEME sonsuz teşekkürler...

Dr.Leyla SOLDUK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xv
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağrı	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Ağrı Sınıflaması.....	4
2.1.3. Ağrı İle İlgili Tanımlar.....	6
2.2. Akut Ağrı Yönetimi:	7
2.2.1. Akut Ağrı ve Fیزیopatolojisi:	7
2.2.2. Ağrının Değerlendirilmesi:	10
2.2.3. Ağrı Ölçümü:	11
2.2.3.1 Ağrı Ölçümünde Kullanılan Ölçekler:.....	11
2.2.3.2. Görsel Analog Skala:	12
2.2.3.3.Sayısal Değerlendirme Skalası:	13
2.2.4. Analjeziklerin Sınıflandırılması:	14
2.2.5. Parasetamol (Asetamino fen):.....	14
2.3. DNA Hasarı:	16
2.3.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu:.....	16
2.3.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri:.....	17

2.3.3. DNA Hasarı Tipleri:.....	18
2.3.3.1. Oluş Nedenlerine Göre :	18
2.3.3.2. Neden Oldukları Kalıtsal Değişikliklere Göre :.....	18
2.3.3.3. Sonuçlarına Göre:.....	19
2.3.3.1.1. Spontan Mutasyonlar:	19
2.3.3.1.1.1. DNA Replikasyon Hataları:	19
2.3.3.1.1.2. Deaminasyon:	19
2.3.3.1.1.3. Depürinasyon:.....	20
2.3.3.1.1.4. Alkilasyon:	20
2.3.3.1.1.5. T-T ve T-C Dimerleri Oluşumu :.....	20
2.3.3.1.1.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu:.....	21
2.3.3.1.1.7. Oksidatif Hasar:	21
2.3.3.1.2. İndüklenmiş Mutasyonlar:	21
2.3.3.2.1. Kromozom Sayısındaki Değişiklikler:.....	21
2.3.3.2.2. Kromozom Yapısında ve Düzeninde Değişiklikler:.....	21
2.3.3.2.3. Nokta Mutasyonlar:	22
2.3.3.2.4. Birden Fazla Baz Çiftini İlgilendiren Mutasyonlar:.....	22
2.3.3.3.1. Sessiz Mutasyon:	22
2.3.3.3.2. Nötral Mutasyon:	22
2.3.3.3.3. Yanlış Anlamli Mutasyon:	22
2.3.3.3.4. Anlamsız Mutasyon:	22
2.3.4. DNA Onarım Mekanizmaları:.....	22

2.3.4.1. Direkt Tamir veya Hasarın Geri Döndürülmesi:	22
2.3.4.2. Eksizyon (Kesip - Çıkarma) Onarımı :	23
2.3.4.3. Replikasyon Sonrası (Rekombinasyon) Onarım :	25
2.3.4.4. S. O. S (Acil) Onarımı :	25
2.3.4.5. DNA Çift Zincir Kırığı Onarımı :	25
2.4. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Kapasite :	26
2.4.1. Serbest Radikaller :	26
2.4.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri :	27
2.4.1.1.1. Süperoksit Radikali :	27
2.4.1.1.2. Hidrojen Peroksit :	27
2.4.1.1.3. Hidroksil Radikali :	28
2.4.1.1.4. Singlet Oksijen :	29
2.4.1.1.5. Hipoklorik Asit :	29
2.4.1.2. Serbest Nitrojen Radikalleri :	30
2.4.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri :	30
2.4.2.1. Membranların Lipit Peroksidasyonları :	31
2.4.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu:	31
2.4.2.3. Karbonhidratlara Etkileri:	32
2.4.2.4. Oksidatif Stres ve DNA Lezyonları:	32
2.4.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları:	34
2.4.3.1. Antioksidan Sistemler :	34
2.4.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar :	35

2.4.3.1.2. Non-enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri :	37
2.4.4. Toplam Antioksidan Kapasite :	<u>39</u>
3. MATERYAL ve METOD	40
3.1. Çalışmaya Alınan Olgu ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi :	40
3.1.1. Çalışma Grubu :	40
3.1.2. Olgu Dahil Edilme Kriterleri :	40
3.1.3. Olgu Dışlama Kriterleri :	41
3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler :	41
3.2.1. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu :	41
3.2.2. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini :	42
3.2.2.1.Yöntemin Prensipleri :	42
3.2.2.2.Yöntemin Uygulanışı :	42
3.2.3. Total Antioksidan Seviye (TAS) :	44
3.2.4. Total Oksidan Seviye (TOS) :	45
3.2.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) :	45
3.2.6. İstatistiksel Analiz :	46
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ	59
7. KAYNAKLAR	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Görsel Analog Skala	13
Şekil 2. Sayısal Derecelendirme Skalası.....	13
Şekil 3. DNA Çift Sarmal Yapısı	16
Şekil 4. Nükleotid Yapısı.....	17
Şekil 5. Deaminasyon Oluşumu	20
Şekil 6. Hipoklorik Asit Oluşumu	29
Şekil 7. Nitrik Oksit Oluşumu.....	30
Şekil 8. DNA'daki Farklı Derecedeki Hasarların Mikroskop Görüntüleri.....	44
Şekil 9. Grupların DNA Hasar Düzeyleri.....	50
Şekil 10. Grupların TOS Düzeyleri	51
Şekil 11. Grupların TAS Düzeyleri	52
Şekil 12. Grupların OSİ Düzeyleri	53

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışma Gruplarında Lenfosit DNA Hasarının ve Serum Oksidatif Stres Parametrelerinin Düzeyleri	49
--	----

KISALTMALAR ve SİMGELER

IASP	: Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği
NSAİİ	: Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MR	: Manyetik Rezonans
İV	: İntravenöz Yol
İM	: İntramusküler Yol
SSS	: Santral Sinir Sistemi
PSS	: Periferik Sinir Sistemi
NIH	: Ulusal Sağlık Kurumu
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
KML	: Kronik Myeloid Lösemi
ATP	: Adenozin Trifosfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HO₂	: Perhidroksil Radikali
HOCl	: Hipoklorid
MDA	: Malondialdehit
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil Radikali
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
RCOO	: Organik Peroksit Radikali
RO	: Alfoksil Radikali
ROO	: Peroksil Radikali
GSSG	: Okside Glutasyon

TAS : Toplam Antioksidan Seviye
TOS : Toplam Oksidan Seviye
EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit
CI : Confidence Interval
VAS : Vizüel Analog Skala

ÖZET

AKUT AĞRI YÖNETİMİNİN LENFOSİT DNA HASARI VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Leyla SOLDUK

Acil Tıp Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Erişkin acil servislerine yapılan başvuruların önemli bir kısmını oluşturan travmaya bağlı akut ağrı, ciddi olarak ele alınması gereken bir şikayettir. Uygun akut ağrı yönetimi ile hem mevcut klinik durumun kötüye gitmesi engellenmekte, hem de ileride oluşabilecek kronik ağrılar önlenmektedir. Parasetamol (asetaminofen), akut ağrı tedavisinde en yaygın olarak reçete edilen analjeziktir. Bu, oral veya intravenöz (İV) olarak uygulanabilir. Plasebo ve diğer analjezikler ile karşılaştırıldığında İV parasetamol'ün etkinliği ve güvenilirliği belirsizdir. Bu çalışmada hafif ve orta şiddette travmaya maruz kalan hastalarda oluşan akut ağrının giderilmesinde kullanılan analjeziklerden biri olan parasetamol'ün, lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine ve Ortopedi Polikliniğine başvuran hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan 35 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan analjezi uygulamadan önce, analjezi uygulandıktan sonra 2. saat ve 12. saatte kan örnekleri alındı. Çalışmaya katılan hastaların demografik özellikleri, klinik bulguları ve ağrı düzeyleri Görsel Analog Skala (Visual Analog Scale–VAS) ile kaydedildi. Serum lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri olarak toplam oksidan seviye (TOS), toplam antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres index (OSİ) çalışıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan hastaların yaş ortalaması $39,70 \pm 20,31$ 'di. Analjezi öncesi (grup 1)'de serum lenfosit DNA hasarı (arbitrary unit; AU) $14,97 \pm 12,38$, analjezi sonrası 2. saat (grup 2)'de lenfosit DNA hasarı $13,94 \pm 9,28$ AU ve analjezi sonrası 12. saat (grup 3)'te lenfosit DNA hasarı $10,57 \pm 8,73$ AU olarak

bulundu. Serum lenfosit DNA hasarı yönünden gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0.01$). Ortalama serum TOS düzeyleri ve OSİ değerleri analjezi öncesi (grup 1) ile kıyaslandığında analjezi sonrası grup 2 ve 3'te düşüş gösterdi. Ayrıca, ortalama serum TAS düzeyleri analjezi öncesi (grup 1) ile kıyaslandığında analjezi sonrası grup 3'te artmış olarak saptandı. Ancak, serum TAS ve TOS düzeyleri ve OSİ değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Sonuç: Bu çalışma, akut ağrı yönetiminde kullanılan ilaçlardan biri olan parasetamol'un lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi açısından yapılmış ilk çalışmadır. Sonuçlarımız travmaya maruz kalan hastalarda gelişen akut ağrının oksidatif strese neden olduğunu, bunun da lenfositlerde oksidatif DNA hasarı ile sonuçlandığını göstermektedir. Ancak, travmaya bağlı akut ağrının parasetamol ile tedavisi sonrasında oksidatif stres parametrelerinden TOS düzeyleri ve OSİ değerlerinde azalma olduğu ve lenfosit DNA hasarının da belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Travmalı hastalarda oluşan lenfosit DNA hasarı, oksidatif bir hasar meydana gelmesi ile açıklanabilir. Bu konuda diğer analjeziklerle kıyaslamalı geniş olgu sayılarına sahip randomize ve kontrollü çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Parasetamol (asetaminofen), akut ağrı yönetimi, total oksidan seviye, total antioksidan seviye, oksidatif stres indeksi, lenfosit DNA hasarı.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE IMPACT OF ACUTE PAIN MANAGEMENT ON LYMPHOCYTE DNA DAMAGE AND OXIDATIVE STRESS

LEYLA SOLDUK, MD

Expertise Thesis, Department of Emergency Medicine

Objective: Trauma-related acute pain which consists a large proportion of emergency department admissions is a complaint which should be addressed seriously. Both deterioration of the current clinical condition and potential chronic pain may be prevented with a proper pain management. Paracetamol (acetaminophen) is the most commonly prescribed analgesic for acute pain management. This drug may be administered via peroral (PO) or intravenous (IV) route. Efficiency and safety of IV paracetamol is unclear when compared with placebo and the other analgesics. In this study, we aimed to investigate the effect of paracetamol- one of the analgesics used for treatment of acute pain developing in patients exposed to mild or moderate pain on lymphocyte DNA damage and oxidative stress parameters.

Methods: A total of 35 patients who were admitted to Emergency Department and Orthopedic Outpatient Clinic of Harran University School of Medicine due to mild or moderate trauma were included in the study. Blood samples were obtained from the patients before and at 2 and 12 hours after analgesic administration. Demographic characteristics, clinical findings and pain levels (with visual analogue scale-VAS) of the participants were recorded. Serum lymphocyte DNA damage and total oxidant status (TOS), total antioxidant status (TAS) and oxidative stress index (OSI) were studied as oxidative stress parameters. Obtained results were compared between groups.

Results: Mean age of the patients exposed to mild and moderate trauma was 39.70 ± 20.31 years. Serum lymphocyte DNA damage was found as 14.97 ± 12.38 AU (arbitrary unit) in Group 1 (before analgesia), 13.94 ± 9.28 AU in Group 2 (2 hours after analgesia) and 10.57 ± 8.73 AU in Group 3 (12 hours after analgesia). There was a significant difference between the groups with respect to serum lymphocyte DNA damage ($p < 0.01$). Mean serum TOS and OSI values were lower in Group 2 and 3 compared to Group 1. Furthermore, mean serum

TAS values were found to be higher in Group 3 compared to Group 1. However, there was no significant difference between groups in terms of TAS, TOS and OSI values ($p > 0.05$).

Conclusion: The present study is the first investigating the effect of paracetamol- one of the drugs used in acute pain management- on lymphocyte DNA damage and oxidative stress parameters. Our results indicate that acute pain developing in patients exposed to trauma leads to oxidative stress and this condition is resulted in oxidative DNA damage in lymphocytes. However, it was seen that oxidative stress parameters, TOS and OSI decreased and lymphocyte DNA damage significantly decreased after treatment of trauma-related acute pain using paracetamol. Lymphocyte DNA damage seen in patients exposed to trauma may be explained with oxidative damage. We consider that randomized controlled studies carried out with large case series comparatively with other analgesics are needed.

Keywords: Paracetamol (acetaminophen), acute pain management, lymphocyte DNA damage, total oxidant status, total antioxidant status, oxidative stress index

1. GİRİŞ

Akut ağrı; tüm acil servis başvurularında en sık görülen şikayettir. Fransa’da yapılan bir çalışmada ağrı yakınması ile acil servise başvuran hastaların oranının % 80’in üstünde olduğu gösterilmiştir (1). Uluslararası Ağrı Araştırma Derneği’nin (International Association for the Study of Pain-IASP) yapmış olduğu tanıma göre ağrı; vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan varolan veya olası doku hasarı ile gelişen hoşça gitmeyen duyuşal ve emosyonel bir deneyimdir (2). Ağrı, kişiden kişiye değişiklik gösteren öznel bir duyum olup dikkatli bir değerlendirmeyi gerektirmektedir. Akut ağrının yetersiz yönetimi, tromboembolik ve pulmoner komplikasyonlara, hastaların yoğun bakım ünitelerinde veya hastanede kalış sürelerinin uzamasına, ağrı tedavisi için hastaların taburculuk sonrası hastaneye geri dönmesine, hastaların yaşam kalitelerini azalmasına ve kronik ağrının gelişmesine neden olabilir. Özellikle travma hastalarında bu durum daha da önem kazanmaktadır (1, 2). Travma, akut ağrıların en sık nedenidir. Travmalar; basit cilt kesileri, yumuşak doku travmaları, ekstremitte kırıkları gibi hafif-orta dereceli olabileceği gibi hayatı tehdit eden ciddi dereceli de olabilir. Travmanın şiddetine bağlı olarak ortaya çıkan akut ağrı, Görsel Analog Skalası (Visual Analog Scale–VAS) kullanılarak sınıflandırılabilir. Sınıflandırılan ağrı tipine uygun olarak ağrı yönetimi; hem mevcut olan klinik durumun daha da kötüye gitmesini engellemekte hem de ileride oluşabilecek kronik ağrıların giderilmesinde önem taşımaktadır (3).

Travmalı hastalarda akut ağrı yönetiminde analjezi seçimi, DSÖ’nün üç basamak ilkesine göre yapılmaktadır. Hafif dereceli ağrılarda parasetamol veya nonsteroid antiinflatuar ilaçlar (NSAİİ), orta dereceli ağrılarda parasetamol veya NSAİİ’ a ilave olarak zayıf opioidler, şiddetli ağrılarda ise ilave olarak güçlü opioidler kullanılır. Ayrıca tüm basamaklarda adjuvan ilaçlar eklenebilir (4). Ancak bu basamak tedavisi hastaya zaman kaybettirmekte dolayısıyla ağrının ortadan kaldırılması gecikmektedir. Yapılması gereken en kısa zamanda en uygun analjezi ile hastanın ağrısının kesilmesidir. Hafif ve orta dereceli ağrılarda kullanılan parasetamol grubu analjeziklerin yan etkileri NSAİİ’in kullanımında

ortaya çıkan yan etkilere göre daha az görülmektedir. Bundan dolayı parasetamol (asetaminofen), akut ağrı tedavisinde en yaygın olarak reçete edilen analjeziktir (4, 5).

Parasetamol, oral veya intravenöz (İV) olarak uygulanabilir. Plasebo ve diğer analjezikler ile karşılaştırıldığında İV formülasyonlarının etkinliği ve güvenilirliği belirsizdir (5). Daha önceki çalışmalarda in vitro ortamda (beyin ve karaciğer hücrelerinde) parasetamolün lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu azaltarak oksidatif stresi azalttığı ve olası antioksidan etkisi olduğu bildirilmiştir (6, 7). Yine şiddetli ağrıda kullanılan güçlü bir opioid (narkotik) analjezik olan morfinin in vitro insan lenfosit hücresi kültüründe DNA hasarı oluşturduğu saptanmıştır (8). Fakat asetaminofenin insan T lenfosit hücrelerinde DNA hasarı üzerine etkisinin değerlendirildiği vaka kontrollü bir klinik çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada hafif ve orta şiddette travmaya maruz kalan erişkin hastalarda oluşan akut ağrının giderilmesinde sıklıkla kullanılan analjeziklerden biri olan parasetamolün, lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. Yukarıda da belirtildiği üzere parasetamol ve morfinin güvenilirliği ile ilgili yapılan çalışmalar genelde in vitro şartlarda olup, yaptığımız çalışmanın klinik çalışma olması ve DNA hasarını belirlemede spesivitesi ve sensivitesi oldukça yüksek alkali comet yönteminin kullanılması literatürdeki diğer çalışmalardan ayıran en önemli farktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

2.1.1. Tanım

Uluslararası Ağrı Araştırma Derneği'nin (International Association for the Study of Pain: ISAP) yaptığı ağrı tanımını en fazla kabul gören tanımdır. Bu tanıma göre ağrı; vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, varolan veya olası doku hasarı ile gelişen, insanın geçmişteki tüm deneyimlerini kapsayan, hoş gitmeyen duyuşsal, emosyonel ve öznel bir duyudur (9). Tanımda; ağrının algılanması fiziksel, hoş olmayan duyunun hissedilmesi duyuşsal, ağrıya bağlı korku ve anksiyetenin olması bilişsel olmak üzere ağrının üç bileşenden oluştuğı belirtilmektedir. Ağrının öznel olması, ağrıyı algılama ve ağrıya karşı verilen tepkilerin de kişiden kişiye değışmesine yol açmaktadır. Ancak ağrı, her insanın hayatı boyunca çok fazla karşılaştığı bir algıdır. Doku hasarı sonucu ortaya çıkan ağrı, aynı zamanda vücut için koruyucu bir mekanizmadır (10).

2.1.2. Ağrı Sınıflaması

Ağrı sınıflaması, ağrıya yaklaşımda önemlidir. ISAP Taksonomi Alt Komitesi; ağrıyı beş eksenli taksonomi olarak eksen düzeyinde sınıflamıştır (11). Bu sınıflamaya göre; birinci eksen ağrının yer aldığı vücut bölgesi ile ilgili, ikinci eksen ağrının etkilediğı sistemler ile ilgili, üçüncü eksen ağrının oluşum süresi ile ilgili, dördüncü eksen hastanın ifadesine göre ağrının şiddeti ve ağrının başladığından bu yana geçen süre ile ilgili, beşinci eksen ise ağrının etyolojisi ile ilgilidir. Raj; ağrıyı 4 ana grupta sınıflandırmıştır (11):

1. Nörofizyolojik Mekanizmaya göre ağrılar: a) Nosiseptif ağrı

- Somatik ağrı

- Visseral ağrı

b) Non-nosiseptif ağrı

- Nöropatik ağrı

- Psikojenik ağrı

2. Süreye bağlı ağrılar: a) Akut ağrı

b) Kronik ağrı

3. Etyolojiye göre ağrılar: a) Kanser ağrısı

b) Postherpetik nevralji

c) Orak hücreli anemiye bağlı ağrı

d) Artrit ağrısı

4. Bölgesel ağrılar: a) Baş ağrısı

b) Yüz ağrısı

c) Bel ağrısı

d) Pelvik ağrı

1. Nörofizyolojik Mekanizmalara Bağlı Ağrılar:

a) Nosiseptif Ağrı: Fizyopatolojik uyarılar (mekanik, termal, kimyasal) aracılığıyla nosiseptörlerin uyarılması sonucu meydana gelir. Bu ağrı tipinde daima doku hasarı vardır. Nosiseptörler, santral sinir sistemi (SSS) dışında tüm doku ve organlarda yer alırlar.

--Somatik Ağrı: Doku hasarı sonucu ortaya çıkan ağrı tipidir. Sabit, iyi lokalize edilir. Duyusal liflerle taşınır, yoğun ve çok acı vericidir. Kemik metastazları ile oluşan ağrılar, bu tip ağrılardır.

--Visseral Ağrı: Doku travması olmadan oluşan ağrı tipidir. Yaygın, iyi lokalize edilemeyen, derinden hissedilen ağrıdır. Sempatik liflerle taşınır. Yansıyan ağrılar, bu tip ağrılardır

b) Non-nosiseptif Ağrı:

--Nöropatik Ağrı: Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (ISAP) tarafından, santral sinir sistemi (SSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) primer lezyonu veya işlev bozukluğunun yol açtığı ağrı olarak tanımlanmıştır (12). Nöropatik ağrılardan tek bir etyoloji sorumlu

değildir. Nöral bir disfonksiyon bulgusudur. SSS lezyonlarına bağlı ağrıya örnek olarak fantom ağrısını, PSS lezyonlarına bağlı ağrıya örnek olarak diyabetik nöropatiyi verebiliriz.

--Psikojenik Ağrı: Ağrı oluşturabilecek yapısal ve fonksiyonel bir bozukluk olmaksızın ortaya çıkan ağrılardır. Hasta tarafından, çok şiddetli hissedildiği tarif edilir. Temelinde anksiyete ve depresyon gibi psikolojik sorunlar vardır ve bazen hastalar bundan sekonder kazanç sağlarlar.

2. Süreye Bağlı Ağrılar:

a) Akut Ağrı: Başlangıcı belli olan ve akut bir hasar sonucu oluşan ağrılardır. Tanısı diğer ağrı tiplerine göre daha kolay konur ve tedavi daha etkindir. Uygun tedavi edilmeyen akut ağrılar hastalığa dönüşür ve kronikleşir. Akut ağrı, hastalık veya sendrom olmayıp hastayı hekime getiren ve 5. vital bulgu olarak da kabul görmeye başlayan bir semptomdur. Hasar düzeldikçe akut ağrı da azalır ve günler – haftalar içinde kaybolur. Akut ağrılarının en sık nedeni travmalardır. Akut ağrı sempatik sistemi aktive ettiği için özellikle travmalı hastalarda tedavisi daha da önem kazanmaktadır.

b) Kronik Ağrı: 3-6 aydan daha uzun süre devam eden, uzun bir tedavi süreci gerektiren, öznel ve çok boyutlu duyusal, duygusal, davranışsal ve bilişsel parametreleri içeren ağrı tipidir (13). Kronik ağrı; bir hastalık ve sendrom olarak kabul edilmektedir. Sempatik aktivasyonu yoktur. Psikiyatrik bir hastalığın belirtisi olabileceği gibi, fiziksel bir bozukluk olarak kişide ruhsal bozukluklara yol açabilir (14). Dolayısıyla kronik ağrının tedavisi disiplinler arası çalışmayı gerektirir.

3. Etyolojiye Göre Ağrılar:

a) Kanser Ağrısı: Hastalığın kendisinden kaynaklanabildiği gibi, uygulanan tedaviye bağlı olarak da ağrı ortaya çıkabilir.

b) Postherpetik Nevralji: Akut herpes zoster enfeksiyonu geçiren kişilerde, deri lezyonları iyileştikten sonra ağrı 1-6 ay veya daha uzun süre devam ediyorsa bu ağrıya postherpetik nevralsi adı verilir. Yanıcı, sızlayıcı, şiddetli bir ağrıdır. Ağrının mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

c) Orak Hücre Anemisine Bağlı Ağrı: Özellikle kemiklerde olmakla beraber tüm organları tutan çok şiddetli ağrı tipidir ve genellikle kriz şeklinde görülmektedir.

d) Artrit Ağrısı: İnflamasyon sonucu genelde eklem bölgelerinde görülen ağrı tipidir.

4. Bölgesel Ağrılar:

- a) Baş Ağrısı: Çoğunlukla ani başlangıçlıdır. İyi lokalize olurlar. Ağrı zonklayıcı, sızlayıcı şeklinde olabilir.
- b) Yüz Ağrısı: Yanıcı tarzda ağrılardır.
- c) Bel Ağrısı: Kas, tendon veya sinir kökenli olabilir.
- d) Pelvik Ağrı: Visseral ağrı şeklinde ağrılardır.

2.1.3. Ağrı İle İlgili Tanımlar:

- a) Allodini: Ağrılı olmayan bir uyarana karşı yanıt olarak ağrı oluşmasıdır
- b) Analjezi: Ağrı duyusunun olmamasıdır.
- c) Anestezi: Ağrı dahil bütün duyuların ortadan kalkmasıdır.
- d) Anestezi Dolorosa : Bir anestetik bölge veya alanda oluşan ağrı
- e) Dizestezi: Hoş olmayan, istenmeyen, anormal his.
- f) Hipoaljezi: Ağrılı uyarana karşı duyarlılığın ve cevabın azalması
- g) Hiperestezi: Uyarana karşı duyarlılığın artması
- h) Hiperpati: Hiperanaljezi ve aşırı reaksiyonla karakterize ağrılı sendrom
- i) Hipoestezi: Uyarana karşı duyarlılığın azalması
- j) Kozalji: Travmatik sinir lezyonundan sonra devam eden ağrı
- k) Nöralji: Bir sinire yayılan ağrı
- l) Parestezi: Anormal duyu
- m) Hiperanaljezi: Ağrılı uyarana karşı duyarlılığın ve cevabın artması

2.2. Akut Ağrı Yönetimi

2.2.1. Akut Ağrı ve Fiziopatolojisi:

Akut ağrı; ağrılı uyarının (cerrahi, travmatik, akut hastalık v.b.) direkt veya doku hasarı oluşturarak nosiseptörleri uyarmasıyla oluşan ağrı tipidir (15). Akut ağrı, sempatik sistemi aktive eder ve bunun sonucunda kan basıncında artış, kalp hızında artış, solunum sayısında artış, idrar retansiyonu, pupillerde genişleme, lokal kaslarda kasılmalar ortaya çıkar (16). Akut ağrının fiziopatolojisi tam olarak anlaşılmış olup, bu durum tedavide hekime büyük kolaylık sağlamaktadır.

Ağrı nörofizyolojisi periferik ve santral mekanizmalar olarak ikiye ayrılır:

1. Periferik Mekanizmalar: Ağrılı uyarıların veya doku hasarı sonucu ortaya çıkan mediatörlerin nosiseptörleri uyarmasıyla, dokunun ağrıyı algılaması süreci başlar. Nosiseptörler, ağrılı uyarılara duyarlılık gösteren primer afferent sinirlerin periferik terminalleridir. Ağrının iletiminde görevli primer afferentler, genellikle myelinli A delta ve myelinsiz C lifleridir. Myelinli A delta lifleri, hızlı ileti lifleridir (20m/sn). Bu liflerin reseptif alanları küme kümedir ve mekanik uyarıların yanı sıra ısıya karşı da hassastırlar. Isıya hassas A delta nosiseptörler, mekanotermal nosiseptör adını alırlar. Bu nosiseptörler sensitizasyona uğrarlar. Sensitizasyon; reseptörün tekrarlanan uyarılara karşı duyarlılığının artmasıdır. Myelinsiz C liflerinin ileti hızı, 2m/sn'dir. Bu liflerin reseptif alanları küçüktür. C liflerinin hemen hemen çoğunun nosiseptör özelliği taşıdığı düşünülmektedir. C lifleri polimodal özellik gösterir yani sadece mekanotermal uyarılara değil, kimyasal uyarılara da duyarlıdır. Nosiseptör alanları küme küme değil, dağınıktır. Bunlar da sensitizasyon gösterirler (17).

Ağrının algılanması 4 aşamada gerçekleşir (18):

- A) Transdüksiyon: Duyusal sinir uçlarındaki çeşitli ağrı oluşturabilen uyarıların, bir enerji şeklinden başka bir enerji şekline dönüşmesidir. Periferde gerçekleşir.
- B) Transmisyon: İlgili yapılarda kodlanmış bilginin merkezi sinir sistemine iletilmesidir. Bu iletim spinal korda kadardır. Periferde gerçekleşir.
- C) Modülasyon: Ağrılı uyarının spinal kordda değişikliğe uğramasıdır.

D) Persepsiyon: Merkezi sinir sistemine iletilen uyarının ağrı olarak algılanmasıdır.

Ağrıda Periferik Sensitizasyon: Nosiseptörlerin eşik değerindeki azalmadır. Doku hasarı sonucu Lewis'e göre bazı nöro-humoral reaksiyonlar meydana gelir. Bunlar dokuda ödem, kan akımındaki artışa bağlı kızarıklık ve nosiseptörlerin sensitizasyonudur (19). Lewis'e göre, ağrılı uyarandan sonra o bölgede en erken ortaya çıkan değişiklik, vazodilatasyondur. Bu vazodilatasyonun çevresinde ikinci bir vazodilatasyon ve ödem oluşur. Birkaç dakika sonra bu bölgede hassasiyet artar. Bu dönemde bazı mediatörler de hasarlı dokudan salınmaya başlar. Bu mediatörler; kininler, P maddesi, nitrik oksit, serotonin, histamin, bradikinin, potasyum, araşidonik asit kaskat elemanları, lökotrienler, prostaglandinlerdir.

Travma sonucu önce hücre içindeki potasyum hücre dışına çıkar. Daha sonra çok güçlü bir aljezik olan bradikinin salınır ve C lifleri aracılığıyla mekanik ısı nosiseptörlerini aktive eder. Salınan serotonin de aljezik etkisinin yanı sıra kızarıklık ve ödem oluşumundan sorumludur. Bradikinin aynı zamanda prostaglandin sentezinde de rol oynar. Prostaglandinler, duyarlı hale gelen sinir uçlarından P maddesinin salgılanmasına neden olurlar. P maddesi, serotonin ile beraber permeabilite artışına yol açar. Bradikinin ve prostaglandinler, yeniden P maddesi salınmasına neden olup hasara uğramış bölgede nosiseptörleri sensitize ederek bir kısır döngüye yol açar (20).

Periferik sensitizasyondan sonra, ağrıya yol açmayan düşük şiddetteki uyarılar ağrı olarak algılanmaya başlar. Hasarın olduğu bölgede ortaya çıkan bu sensitizasyona primer hiperaljezi, çevresinde oluşan ikinci hassas bölgeye de sekonder hiperaljezi denir.

2. Santral Mekanizmalar: Santral sinir sistemi kompleks bir yapıya sahiptir. Burada bulunan nöronlar büyük bir algılama özelliğine sahiptir.

Akut ağrının algılanmasında, ağrıyı periferden serebral kortekse taşıyan üç nöronlu sinir yolları rol oynamaktadır. Primer afferent nöronlar, arka kök gangliyonunda bulunur ve lokalizasyonu, her omurilik seviyesinde vertebral foramenler içindedir. Her bir nöron aksonunun ucu innerve ettiği periferik dokuda, diğer ucu ise omuriliğin arka boynuzundadır. Arka boynuzda primer afferent nöron, ikinci sıradaki nöronla sinaps yapar ve bu ikinci nöronun aksonları orta hattı geçip kontralateral spinotalamik traktustan yukarı çıkarak talamusa ulaşır. İkinci sıradaki nöronlar talamik nükleusta üçüncü sıradaki nöronlarla sinaps

yaparlar, bu üçüncü nöronların uzantıları ise internal kapsül ve korona radiatadan geçerek serebral korteksin postsantral girusuna ulaşır (21).

Spinal kord; hem ağırlı uyarının iletiminde hem de modülasyonda önemli bir yere sahiptir. Santral sinir sistemi ve periferik afferentler arasındaki ilk bağlantı primer afferentler ve spinal kord nöronları arasındaki sinapslardır. Bu sinapslarda, periferden gelen bilgilerin iletiminde rol alan bazı kimyasal maddeler vardır. Bunlara nörotransmitter maddeler denir. Primer afferent nosiseptörler, spinal kord arka boynuzuna gelir ve burada 3 gruba ayrılır:

a) Projeksiyon Nöronları: Nosiseptif bilgiyi daha üst merkezlere iletir.

b) Exitatör Nöronlar: Ağırlı uyarıyı yan projeksiyon nöronlarına ya da motor nöronlara iletir.

c) İnhibitör Nöronlar: Nosiseptif uyarıyı kontrol eder.

Nosiseptif bir uyarının tekrarlanan uyarılar şeklinde uygulanması sonucu tek bir uyarının oluşturduğu ağrıdan daha şiddetli bir ağrı oluşur. Bundan sorumlu tutulan ise C lifleridir. C lifleri uyarıldığında künt, yanma tarzında, iyi lokalize edilemeyen ve uzun süre devam eden ağrı ortaya çıkar. Sürekli ağırlı uyarı, hem myelinli hem de myelinsiz lifleri sensitize etmektedir. Dolayısıyla başlangıçta exite olmayan afferentlerin daha sonra duyarlı hale gelmesine santral sensitizasyon denir.

Ağırlı uyarının duyulması, algılanması ve yanıt oluşması süreci ise kortekste olur.

2.2.2.Ağrının Değerlendirilmesi:

Ayrıntılı bir anamnez, ağrının değerlendirilmesinde en önemli basamaktır. ABD Ulusal Sağlık Kurumu'na (NIH) göre hastanın kendi ifadesi, ağrının varlığı ve şiddetinin en güvenilir göstergesidir (22). Bundan dolayı hastaya mutlaka ağrısının olup olmadığı sorulmalıdır. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği'ne göre ağrı, öznel bir duyudur. Yaş, cinsiyet, kültürel düzey, sosyo-ekonomik düzey, etnik yapı bazı faktörler insanların ağrıyı ifade biçimini etkiler.

Kişiden kişiye değişen ağrı duyusunu objektif parametrelerle değerlendirmek oldukça zordur. Bundan dolayı iyi bir anamnez, hastayı sürekli gözlemek ve uygun ölçüm araçlarından faydalanmak oldukça önemlidir (23).

Ağrı değerlendirmesinin çok önemli olduğu ve genelde de akut ağrıların en sık nedeni olarak karşımıza çıkan travma grubu hastalarda, ağrıyı değerlendirirken daha dikkatli olmak gerekir. Travmalar; basit bir cilt hasarı olabileceği gibi çoklu organ yaralanması ile de karşımıza çıkabilir. Dolayısıyla ortaya çıkacak ağrı şiddeti de çeşitlilik gösterecektir. Yine travma hastalarında gözönünde bulundurulması gereken diğer bir nokta da, akut ağrının sempatik sistemi aktive etmesidir. Sempatik sistemin aktive olmasıyla kalp hızında artış, kan basıncında artış, solunum sayısında artış, kan glikoz düzeyinde artış ve idrar retansiyonu gibi durumlar meydana gelir, bu da travma hastasının klinik tablosunun daha da kötüleşmesine neden olur. Travma hastalarında eğer iyi bir değerlendirme yapılmaz ve uygun bir tedavi verilmezse var olan akut ağrı, bir hastalık olarak kabul edilen kronik ağrıya dönüşecektir (3).

2.2.2.Ağrı lm:

Ağrı znel bir duyum olup, ölümünde ilk ve en önemli basamak hastanın kendi ifadesidir. Ancak ağrısını ifade edemeyen veya ifade etmekte güçlük çeken hastaların da bulunmasından dolayı (bebekler, entübe hastalar, ciddi psikiyatrik hastalar, sağlık personeli ile farklı dil konuşanlar v.b.) ağrıyı değerlendirirken bazı objektif ölçekler kullanılmaktadır. Ancak bu ölçekler ağrı değerlendirilmesinde hala istenilen düzeyde değildirler. Bu konuda çalışmalar devam etmektedir.

Ağrı ölümünde dikkat edilmesi gereken noktalar (24):

1. Hastanın tanımladığı ağrı ile ağrıya verdiği yanıt birbiriyle uyumlu olmasa bile dikkate alınmalıdır.
2. Ölümün amacı iyi belirlenmelidir.
3. Ağrının hangi parametresinin değerlendirileceğine karar verilmeli (süresi, şiddeti, tipi v.b.)

Ağrı ölümünde seçilecek yöntemin belirlenmesinde dikkat edilmesi gereken noktalar (24):

1. Kullanılacak lek güvenilir ve geçerli bir yöntem olmalı, farklı yorumlara yol amamalı.
2. Hem uygulayan hem de uygulanan kişi açısından kolay olmalıdır.
3. Hasta tarafından kolay anlaşılır olmalıdır.

4. Ucuz olmalıdır.

5. Yönlendirme yapmamalıdır.

2.2.3.1. Ağrı Ölçümünde Kullanılan Ölçekler:

Bu ölçekler, tek boyutlu veya çok boyutlu ölçeklerdir. Tek boyutlu ölçekler, ağrının şiddetini ölçmeye yöneliktir (25). Ayrıca tedavinin etkinliğini değerlendirmede de kullanılırlar. Çok boyutlu ölçekler, hem ağrının şiddetini hem de ağrının diğer boyutlarını değerlendirmeye yönelik ölçeklerdir.

Tek Boyutlu Ölçekler: 1. Sözel Değerlendirme Skalası (Verbal Descriptor Scales: VDS) (26).

a) Kategori derecelendirme skalası

b) Sözel değerlendirme skalası

2. Sayısal Değerlendirme Skalası (Numerical Rating Scales: NRS) (26).

3. Görsel Analog Skala (Vizuel Analogue Scale: VAS) (27).

4. Analog Renkli Devamlı Skala (Analogue Chromatic Continuous Scale: ACCS) (27).

Çok Boyutlu Ölçekler: 1. Mc Gill Anketi (Mc Gill Pain Questionnaire: MPQ) (26).

2. Dartmonunth Ağrı Anketi (Dartmonunth Pain Questionnaire: DPQ) (26).

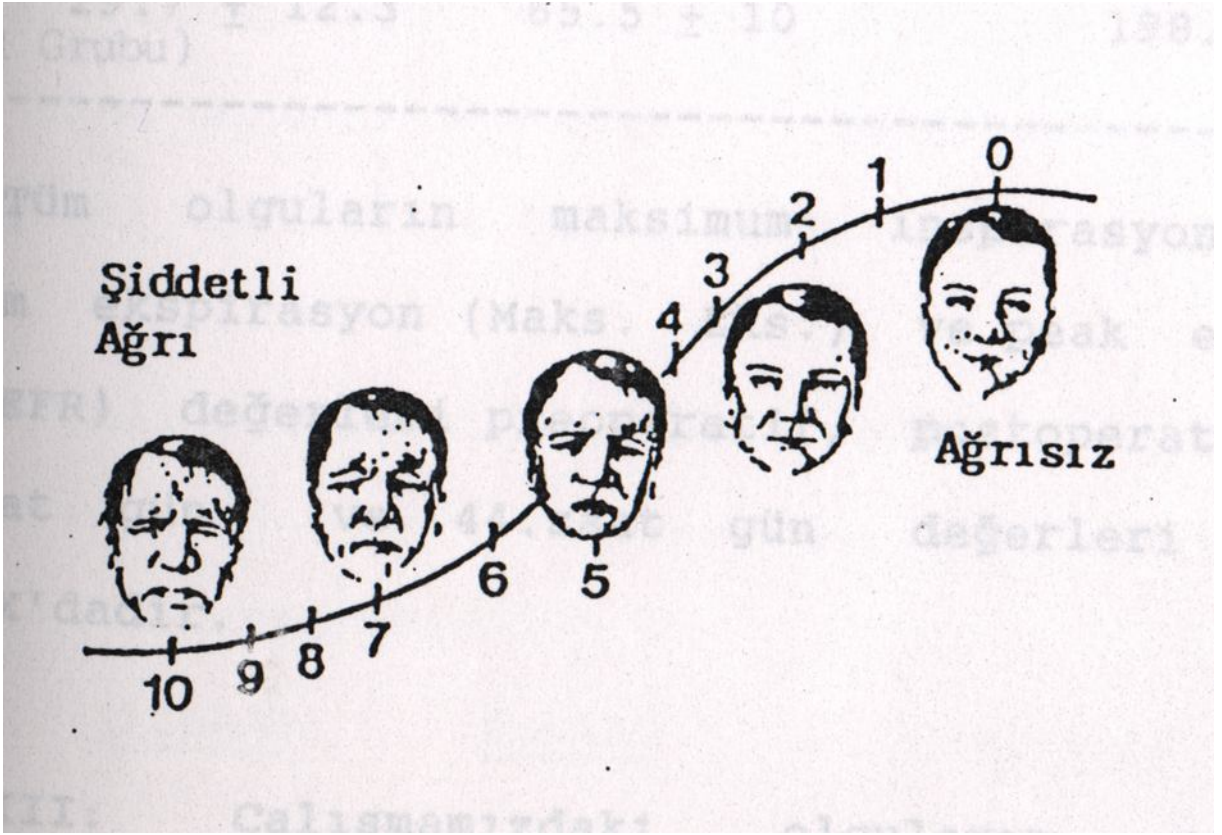
3. West-Haven Yale Çok Boyutlu Ağrı Çizelgesi (West-Haven-Yale Multidimensional Pain Inventory: WHYPPI) (26).

4. Hatırlatıcı Ağrı Değerlendirme Kartı (Memorial Pain Assessment Card: MPAC) (26)

5. Kısa Ağrı Çizelgesi (Wisconsin Brief Pain Inventory: BPI) (28).

2.2.3.2. Görsel Analog Skala (Visual Analog Scale–VAS):

Görsel Analog Skala, Price ve ark. (6) tarafından geliştirilmiştir. Ağrı şiddetini ölçmede ve ağrı takibinde kullanılır. Ölçek 10 cm uzunluğunda olup, iki ucu farklı olarak isimlendirilmiş hat üzerinde (0=ağrı yok, 10= en şiddetli ağrı) ve 5 farklı görüntülü yüz ifadesi ile hastanın hissettiği ağrı şiddetine karşılık gelen bir noktayı işaretlemesi ile uygulanır (Şekil 1). İşaret konulan nokta ile hattın en düşük ucu arasındaki mesafe santimetre olarak ölçülür ve bulunan sayısal değer hastanın ağrı şiddetinin durumunu gösterir.



Şekil 1. Görsel analog skala

2.2.3.3. Sayısal Değerlendirme Skalası (Numerical Rating Scales: NRS):

Tek boyutlu ağrı ölçeği olup, ağrının şiddetini ve tedavi sonrası ağrı şiddetindeki değişiklikleri sayılarla belirlemeye çalışır. Herhangi bir materyale ihtiyaç olmadığından

dolayı çoğu hasta grubunda kolaylıkla uygulanabilmektedir. Bu ölçekte, bir çizgi üzerinde eşit aralıklarla yerleştirilen ve gittikçe büyüyen sayılar yer alır. Sayılar (0-5), (0-10) veya 0-100 arasında olabilir. Hasta ağrı şiddetini belirleyen sayıyı skala üzerinde işaretler.



Şekil 2. Sayısal derecelendirme skalası

2.2.4. Analjeziklerin Sınıflandırılması:

Ağrı tedavisinde kullanılan analjezik ilaçlar 3 gruba ayrılır:

1. Opioid (Narkotik) grubu ilaçlar: Bu grupta yer alan ilaçların hem santral hem de periferik etkileri vardır. Güçlü analjezik etkileri olmasına rağmen antiinflamatuvar ve antipiretik etkileri yoktur. Özellikle orta ve ağır şiddetteki ağrıların tedavisinde tek başına veya diğer analjezik etkili ilaçlarla beraber kullanılırlar. Opioidler; analjezide, anesteziye, akut pulmoner ödem tedavisinde, tedaviye cevap vermeyen öksürükte, tedaviye cevap vermeyen diarede, akut miyokard enfarktüsü tedavisinde kullanılırlar. En sık görülen yan etkileri; bulantı, kusma, sedasyon, öfori, idrar retansiyonu, bilier spazm ve konstipasyondur. Yüksek dozlarda uygulandığında solunum depresyonu ve hipotansiyon yapar. Myozis ve konstipasyon dışında diğer tüm yan etkilere tolerans gelişir.

2. Adjuvan ilaçlar: Bu grup ilaçlar sıklıkla kronik ağrı tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bu ilaçların kullanılmasının nedeni, kullanılan analjezik ilaçların etkinliğini arttırmak ve ortaya çıkan yan etkileri azaltmaktır. Adjuvan ilaçlar, asıl olarak başka hastalıklarda kullanılmakta olup kronik ağrıların tedavisi sırasında analjezik etki gösteren ilaçlardır (30). Bu grupta; antikonvülzifler, antidepresanlar, lokal anesteziye, anksiyolitikler, kalsitoninler, nöroleptikler lityum yer alır (31).

3. Non-opioid (Narkotik olmayan) grubu ilaçlar: a) Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)

b) Parasetamol(asetaminofen)

c) Salisilatlar

2.2.5. Parasetamol (Asetaminofen):

Klinikte yaygın olarak kullanılan, etkinliği kanıtlanmış analjezik ve antipiretik etkinliği olan non-opioid grubu ilaçlardır. Antiinflamatuvar etkisi olmayan bu analjezikler, hafif ve orta şiddetteki ağrılarda kullanılmaktadırlar. Etki mekanizması, santral sinir sisteminde siklooksigenaz (COX) enzimini inhibe ederek prostaglandin sentezinin oluşmasını engeller. Dolaylı olarak da serotoninerjik sistemi de aktive eder (32). Analjezik etkisi; siklooksigenaz (COX) enziminin inhibe olmasıyla ortaya çıkar, antipiretik etkisi ise hipotalamustaki ısı düzenleyici merkezi etkilemesi ile ortaya çıkar.

Uygulamadan sonraki 5-10 dakika içinde etkisi başlar. Pik yaptığı süre 1 saattir. Bu etki 4-6 saat sürer. Antipiretik etkisi ise 30 dakika içinde başlar ve yaklaşık 6 saat sürer.

Parasetamolün dağılım hacmi yaklaşık olarak 1L/kg'dır ve plazma proteinlerine yaygın olarak bağlanmaz.

Parasetamol karaciğerde metabolize olur. Glukoronik asit ve sülfirik asit konjugasyonu meydana gelir. Terapötik dozların üzerindeki dozlarda hızla satüre olur. Küçük bir fraksiyonu (%4'den az) sitokrom P450 tarafından reaktif bir ara ürün olan N-asetil benzokinona elimine olur. Bu ara ürün normal kullanım şartları altında azalan glutatyon tarafından hızla detoksifiye edilir, sistein ve merkaptürik asit ile konjüge olduktan sonra idrarla atılır. Ancak şiddetli zehirlenmelerde bu toksik metabolitin miktarı artar.

Parasetamolün metabolitleri idrarla atılır. Uygulanan dozun %90'ı 24 saat içinde glukoronid (%60-80) ve sülfat (%20-30) konjugatları olarak atılır. %5'inden azı değişmeden atılır. Plazma eliminasyon yarı ömrü 2.7 saat, toplam vücut klirensi 18L/h'dir.

Parasetamol , karaciğerde metabolize olup böbreklerden atıldığı için özellikle karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda dikkatli kullanılması gerekir.

Parasetamolün nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlardan en önemli farklarından biri, gastrik mukozal irritasyon, kanama ve trombositopeni yapmamasıdır.

Parasetamol yüksek dozlarda alındığında özellikle karaciğerde ciddi hasara neden olur. Parasetamol intoksikasyonunda, erken dönemde antidot uygulanması gelişebilecek karaciğer yetmezliğini önlemektedir. Antidot olarak da N-Asetil-Sistein kullanılmaktadır.

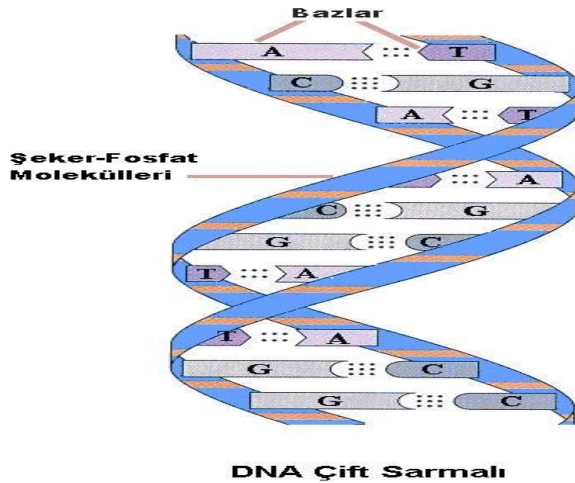
Akut ağrıda erişkinlerde kullanım dozu, 15mg/kg (325-1000mg)'dır. Etkisi 4-6 saat sürmektedir. Günlük maximum doz; 4000 mg'dır (33).

Parasetamolun tablet, çiğneme tableti, kapsül, şurup, supozitivar ve solüsyon formları bulunmaktadır.

2.3. DNA Hasarı:

2.3.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu:

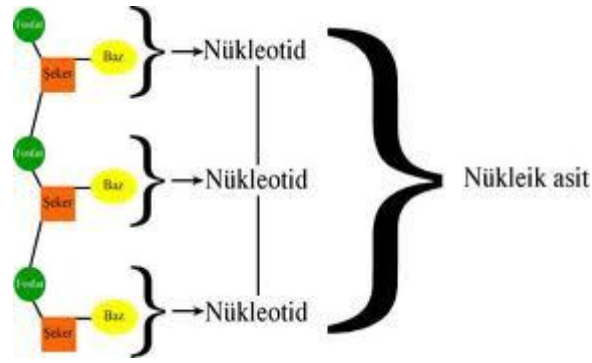
DNA, canlılarda genetik bilginin saklandığı, replikasyon yoluyla nesilden nesile geçmesini sağlayan, genetik çeşitlilikten sorumlu olan ve aynı zamanda canlılar için büyük önem taşıyan protein sentezinden sorumlu olan bir nükleik asittir. Temel yapıtaşı, nükleotidlerdir. Nükleotidler karşılıklı iki zincir şeklinde biraraya gelerek DNA çift sarmal yapıyı oluştururlar (Şekil 2).



Şekil 3. DNA çift sarmal yapısı

Nükleotidler; azotlu bir baz, bir pentoz ve bir fosfat olmak üzere 3 komponentten oluşur:

Azotlu baz ve pentoz birbirine β -N-glikozid bağları ile bağlanarak nükleozidleri, nükleozidlere fosfat eklenmesiyle de nükleotid oluşur. Azotlu bazlar; pürin ve pirimidin bazlarıdır. Bunlar timin (T), adenin (A), sitozin (C), guanin (G) dir. DNA çift sarmalında bir koldaki her bir baz, diğer kolun bir bazına hidrojen bağı ile bağlanarak baz çiftini oluşturur. Hidrojen bağı oluşturulan gruplar ise, amino ve karbonil gruplarıdır. Bir nükleotidin 5'-hidroksil grubu sonraki nükleotidin 3'-hidroksil grubuna fosfodiester bağı ile bağlanır. DNA yapısı ile ilgili en önemli çalışmalardan biri Avusturyalı biyokimyacı Edwin Chargaff tarafından yayınlanan kurallardır (34).



Şekil 4. Nükleik asit ve nükleotid yapısı

Chargaff kuralları:

1. DNA'daki baz yapısı türden türe değişir.
2. Aynı türün farklı dokularından izole edilen DNA örneklerindeki baz yapısı aynıdır.
3. Bir türdeki DNA yapısında yer alan baz yapısı yaş, beslenme, çevresel şartlardan etkilenmez.
4. Tür yapısı ne olursa olsun DNA'daki adenin sayısı timin sayısına, guanin sayısı sitozin sayısına eşittir. Yani pürinlerin sayısı pirimidinlerin sayısına eşittir.

2.3.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri:

Endojen ve ekzojen faktörlerin etkisiyle genetik materyalde meydana gelen değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır (35)

Ekzojen faktörler; güneşten gelen ultraviyole ışınlar, iyonize radyasyon, sigara, parasetamol gibi bazı ilaç intoksikasyonları, pestisidler, mantar kaynaklı aflatoksinler, bazı kemoterapi ilaçları (sisplatin, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin v.b.), demir, bakır, nikel, krom, civa gibi bazı metallerdir.

Endojen faktörler ise; oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişiklikleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D) J rekombinasyon mekanizması (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V, D ve J şeklinde üç segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir (36).

2.3.3. DNA Hasarı Tipleri:

Mutasyon; genetik materyalde meydana gelen kalıtsal değişikliklere mutasyon denir. Bu değişiklikler eğer üreme hücrelerinde meydana gelirse sonraki nesillere aktarılabilir, somatik hücrelerde meydana gelirse kansere neden olabilir. Dolayısıyla mutasyonlar önemlidir.

2.3.3.1. Oluş nedenlerine göre;

- Spontan olan mutasyonlar
- İndüklenmiş mutasyonlar

2.3.3.2. Neden oldukları kalıtsal değişikliklere göre;

a. Kromozomal mutasyonlar

- Kromozom sayısındaki değişiklikler
- Kromozom yapısında ve düzenindeki değişiklikler

b. Gen mutasyonları

- Nokta mutasyonları
- Birden fazla baz çiftini ilgilendiren mutasyonlar

2.3.3.3. Sonuçlarına göre;

- Sessiz mutasyon
- Nötral mutasyon
- Yanlış anlamlı mutasyon
- Anlamsız mutasyon

2.3.3.1.1. Spontan Mutasyonlar:

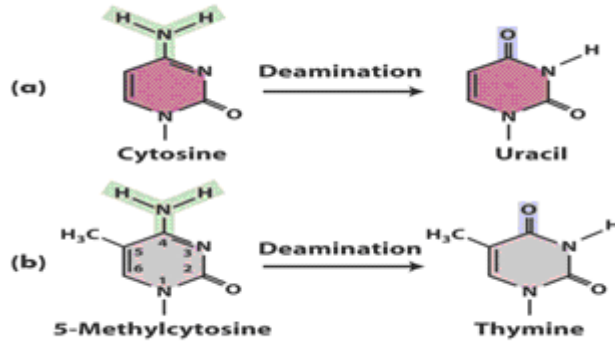
Hücredeki normal fonksiyonlar sonucu oluşan ve genellikle bir ekzojen veya mutajenle etkileşimle ortaya çıkan mutasyonlardır.

2.3.3.1.1.1. DNA replikasyon hataları:

DNA replikasyonunda hatalı eşleşme, baz giriş ve çıkışına göre mutasyonlar olabilir. DNA polimeraz enzimi, replikasyondan sorumlu olup doğru çalışma oranı tiplerine göre değişiklik gösterir. Doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) mekanizmasının aktivitesidir. Bu aktivite, replikasyon sırasında mutasyon oluşumunu engeller.

2.3.3.1.1.2. Deaminasyon:

Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu keto grubuna dönüştürülür. HNO₂ (nitroz oksit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C)→Urasil (U), Adenin (A)→Hipoksantine dönüşür. Hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir. Deaminasyon, DNA'da normalde bulunmaması gereken urasilin fark edilmesiyle onarılır. Eğer fark edilip onarılmazsa Urasilin karşısına Adenin gelmesi sonucu C:G*T:A değişimi ve transisyonel mutasyon oluşur.



Şekil 5. Deaminasyon oluşumu

2.3.3.1.1.3. Depürinasyon:

Pürin bazları ile deoksiriboz arasındaki bağın kopmasından kaynaklanır. Pürin eklenemez veya buraya mutant bir baz eklenir.

2.3.3.1.1.4. Alkilasyon:

Bazlara, alkil grubunun (metil veya etil) eklenmesi işlemidir. Alkilasyon, bazen replikasyonda yanlış eşleşmelere neden olur bazen de polimerazı durdurur. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve N-metil-N1-nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir. Alkilasyon sonucu oluşan 06-etilguanin (veya metil guanin) adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Sonuç olarak DNA replike olduğunda G:C yerine A:T geçer. 06-Metilguanin, alkilleyici ajan varlığında oluşur ve mutajeniktir. 06-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, DNA'da yanlış metillenen bazların CH₃ gruplarını kendi sistein rezidülerine transfer ederek normal Guanin oluşumunu sağlar. Dolayısıyla enzim aktivitesi kadar enzim sayısı da önemlidir.

2.3.3.1.1.5. T-T ve T-C dimerleri oluşumu:

Ultraviyole C ve Ultraviyole B ışınları DNA tarafından kuvvetli bir şekilde absorbe edilir, DNA ile reaksiyona girerek pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluştururlar. Bunlar replikasyon ve transkripsiyonu bloke ederler. Melanom oluşumunda rol oynarlar.

2.3.3.1.1.6. Çift iplik kırıkları oluşumu:

- DNA'daki zararın potansiyel olarak en tehlikeli tipi onarım için bozulmamış kalıp bir DNA ipliği bırakmayacak şekilde çift sarmalın her iki ipliğinin de kırıldığı durumdur.
- Bu tip kırıklar iyonize radyasyon, oksitleyici ajanlar, eşleşme hataları ve hücredeki bazı metabolizma ürünlerinin etkisi sonucu ortaya çıkar.
- Eğer bu bölgeler onarılmadan bırakılırsa kromozomların hızlı bir şekilde daha küçük parçalara ayrılmasına neden olur.

2.3.3.1.1.7. Oksidatif Hasar:

Serbest radikaller, endojen ve ekzojen faktörlere bağlı olarak oluşurlar. Kararsız moleküller olan serbest radikaller, DNA ile kolayca reaksiyona girerek hasara yol açarlar. En önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikalleri; bazlar ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçip DNA'ya ulaşır ve hasar oluşturur. Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur.

2.3.3.1.2. İndüklenmiş Mutasyonlar:

Mutasyonlar, bazı ajanlar veya bileşikler varlığında artarsa buna indüklenmiş mutasyon denir. Bu ajanlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlardır. Isı, radyasyon, kanser tedavisinde kullanılan ajanlar, aflatoksin mutasyon oluşumuna neden olurlar.

2.3.3.2.1. Kromozom Sayısındaki Değişiklikler:

Haploid yapının katları şeklinde olmayan kromozom artışları anöploidi olarak adlandırılır. Bunlar monozomi, trizomi, tetrazomidir. Haploid yapının katları şeklinde olan kromozom artışları ise öploidi olarak adlandırılır.

2.3.3.2.2. Kromozom Yapısında ve Düzeninde Değişiklikler:

Delesyon, translokasyon, inversiyon ve duplikasyon bu grupta bulunan hasar tipleridir.

2.3.3.2.3. Nokta Mutasyonlar:

Transisyon, transversiyon, delesyon ve insersiyon bu grupta bulunan hasar tipleridir.

2.3.3.2.4. Birden Fazla Baz Çiftini İlgilendiren Mutasyonlar:

İnsersiyon, duplikasyon, delesyon, translokasyon bu grupta yer alan hasar tipleridir.

2.3.3.3.1. Sessiz Mutasyon

2.3.3.3.2. Nötral Mutasyon

2.3.3.3.3. Yanlış Anlamalı Mutasyon:

Bir aminoasitin başka bir aminoasite dönüşmesidir.

2.3.3.3.4. Anlamsız Mutasyon:

Bir aminoasitin dur kodonuna dönüşmesidir. CCG→UAG, gln→dur kodonu

2.3.4. DNA Onarım Mekanizmaları:

DNA'da hasar meydana geldiği zaman hücre, bu hasarlara karşı farklı onarım mekanizmalarını aktifleştirmektedir. Ağır hasarlarda hücre, apoptoz yoluna girerek ölüme gider veya onarım mekanizmalarını kullanarak hasarlı bölgeleri onarmaya çalışır. Eğer onarım mekanizmaları hasarı düzeltemezse hücrede genom kararsızlığı meydana gelir bu da kanser, yaşlanma veya genetik hastalıklara yol açar (35, 38, 39). DNA onarım mekanizmalarından sorumlu 130 gen ve bu genlerin kodladığı protein tanımlanmıştır (40, 41, 42, 43):

a. DNA onarımında sinyal iletimi ve onarımın düzenlenmesi ile ilgili genler.

b. Hatalı eşleşme onarımı, baz çıkarma onarımı ve nükleotid çıkarma onarımı ile ilgili genler.

2.3.4.1. Direkt Tamir Veya Hasarın Geri Döndürülmesi:

A. Fotoreaktivasyon:

Ultraviyole ışınların meydana getirdiği DNA hasarları, mavi spektrum (300-500) içeren görünür ışığa maruz kaldığında aktifleşen fotolizaz enzimi tarafından eski biçimine döndürülür. Buradaki mekanizma, ultraviyole ışınların etkisiyle oluşan pirimidin dimerlerinin fotolizaz enzimi ile yok edilmesidir. Bu enzim ökaryot canlılarda yoktur.

B. O-6-metilguanin onarımı:

O-6-metilguanin, guanin'in O-6 pozisyonundaki alkilasyonu (metilasyonu) ile oluşur. Yani alkilleyici ajanın etkisiyle meydana gelir. Hücrelerde DNA tamir proteini olan O-6-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, guanin bazındaki yanlış alkilasyonu geri çevirerek normal guanin oluşumunu sağlar (44, 45). Ancak bu enzim görevini bitirdikten sonra irreversibl olarak baskılanır. Dolayısıyla enzimin aktivasyonu kadar sayısı da önemlidir.

C. Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu:

X-Ray veya peroksitler gibi bazı ajanlar DNA zincirinde basit kırıklara neden olarak DNA hasarı oluştururlar. Bu basit kırıklar DNA Ligaz enzimi tarafından tamir edilirler. Söz konusu hasar, DNA Ligaz enziminin, 5' fosfat grubu ile 3'OH grubu arasında fosfodiester bağını oluşturmasıyla onarılır (46, 47, 48).

2.3.4.2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Onarımı:

En önemli onarım mekanizmalarından biridir. 3 aşamadan oluşur:

- Nükleaz enzimi tarafından, oluşan hasar veya hata tanınır ve kesilip çıkarılır.
- DNA polimeraz enzimi, oluşan boşluğu doğru bazlarla doldurur.
- DNA ligaz enzimi, ligasyonla boşluğu tamamen kapatır (41, 43).

A. Baz eksizyon onarımı (base excision repair-BER):

Yanlış yerleştirilmiş veya hasarlı bazları uzaklaştırmak için kullanılan tamir sistemidir. 3 basamaktan oluşur (49, 50, 51).

1. Yanlış bazın uygun bir DNA N-glikozilaz tarafından uzaklaştırılması ve bir AP (Apürinik/ Apirimidinik) bölge oluşması. AP bölgeleri spontan olarak kaybolan ya da glikozilaz etkisiyle uzaklaştırılan DNA bölgeleridir. Bir memeli hücresi günde 10000 pürin ve 500 pirimidin kaybeder.
2. Hasarlı DNA'ya AP bölgesinin 5' ucuna doğru AP endonükleaz tarafından çentik atılması ve AP bölgesine komşu bir 3'-OH ucu oluşturulması.
3. AP bölgesinin kesilip çıkarılarak (excision) uzaklaştırılması ve DNA polimeraz tarafından 3'-OH ucunun uzatılması.

İnsan hücrelerinde çok sayıda DNA N-glikozilaz tanımlanmıştır. DNA N-glikozilaz, DNA sarmalı üzerinde hatalı eşleşmeden kaynaklanan bükülmüş yapıyı tanır, baz ve deoksiriboz arasındaki N-glikozidik bağı hidroliz ederler. Ayrıca glikozilazlar bazların yüksek afinite gösterdiği bağlanma bölgelerine sahiptirler. Bu iki etken birleşince yanlış eşleşen bazın DNA çift sarmalından çıkarılması kolaylaşır. DNA N-glikozilazlar ayrıca AP liyaz aktivitesine sahiptirler. Bu şekilde AP bölgedeki 3'-OH ucunda DNA omurgasını keserler. Bir sonraki adımda AP endonükleazları 5' fosfodiester bağı hidroliz ederler ve uygun nükleotidin yer alması için abazik deoksiribozu uzaklaştırırlar.

Son basamakta, DNA polimeraz (polimeraz- β) tarafından doğru nükleotidin yerleştirilmesi ve zincirin ligasyonu ile onarım tamamlanır (49).

B. Nükleotid çıkarma onarımı (nucleotide excision repair-NER):

Birçok farklı hasarı tanıyabilen ve en etkili onarım mekanizmasıdır (52). Hasarın tanınması, protein kompleksinin hasarlı bölgeye bağlanması, yaklaşık 24-32 nükleotid uzunluğunda bir fragmant içinde bırakacak şekilde lezyonun her iki tarafından hasarlı zincirin kesilmesi (insizyon), hasarı içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması (degradasyon) , DNA sarmalı üzerinde meydana gelen boşluğun DNA polimeraz tarafından doldurulması (polimerizasyon) ve ligasyon aşamalarından oluşur (49).

Nükleotid çıkarma onarımındaki bozukluk otozomal resesif geçişli 3 sendroma neden olur (35):

- Kseroderma pigmentosa
- Cockayne sendromu
- Trikotiyodistrofi

C. Yanlış eşleşme onarımı (Mismatch excision repair-MER):

DNA replikasyonu sırasında oluşan ve çift sarmalda anormal boyutlara neden olan normal bazların hatalı eşleşmelerini düzeltir (49). Yanlış eşleşme onarım sistemi, küçük tek zincir DNA halkalarının ve yanlış eşleşmenin replikasyon sonrası tamirini sağlar (38). Yanlış eşleşme tamir mekanizmasındaki bozukluğun, non-polipozal kolon kanserine yatkınlığı arttırdığı görülmüştür (49, 53).

2.3.4.3. Replikasyon Sonrası (Rekombinasyon) Onarım:

DNA tamir mekanizmaları ile onarılamayan DNA hasarı, replikasyondan sonra bu onarım sistemi ile tamir edilir. Hasarlı olan DNA replike olurken DNA polimeraz enzimi, önce lezyon bölgesine gelerek duraklar. Daha sonra yeni sentezlenen zincirde bir boşluk bırakarak işlemine devam eder. Burdaki boşluğa yanıt olarak Rec-A proteini rekombinasyonel değiş tokuş işlemi ile hasarsız segmenti bu boşluğa yerleştirir. Bu arada verici sistemde oluşan boşluk da doldurulur (46).

2.3.4.4. S. O. S. (Acil) Onarımı:

DNA hasarının ciddi olduğu durumlarda ve diğer tamir mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda aktive olan acil onarım mekanizmasıdır. DNA sentezi sırasında bir lezyonun üzerinden atlamak yerine DNA polimerazın, lezyon karşısında replikasyonunu devam ettirmesini sağlar. Fakat replikasyonun doğruluğundan fedakarlık edilir. Bundan dolayı bu sisteme hataya meyilli sistem de denir (46, 47, 48).

2.3.4.5. DNA Çift Zincir Kırığı Onarımı:

İyonize radyasyon, topoizomerez inhibitörleri (etoposid, adriamisin), V(D)J rekombinasyonu DNA çift zincir kırıklarına neden olan en önemli ajanlardır. DNA çift zincir kırıkları, DNA hasarları içinde en ciddi olanıdır. Çünkü bu hasarlar onarılmadığı zaman veya yanlış onarıldığında hücre ölümüne, kansere neden olurlar (49).

A. Homolog olmayan uçların bağlanması (NHEJ):

Homolog olmayan uçların bağlanmasında rol oynayan en önemli protein Ku 70-Ku 80 (DNA bağımlı protein kinaz katalitik subunit) dir. DNA bağımlı protein kinaz aktif hale gelir ve diğer proteinlerin hasarlı bölgeye gelmesine neden olur. Oluşan protein kompleksi, kırık uçların onarılmasını sağlar (38). Bu, homolog bir kromozomdan yararlanmadan DNA uçlarının bağlanmasının biyokimyasal bir yoldur. Çünkü kırık DNA uçları bağlanabilir olmayabilir veya bu yol bazen genetik bilgilerin kaybolmasına neden olabilir.

Homolog olmayan uçların bağlanmasındaki hatalar iyonize radyasyon duyarlılığına ve immun yetmezliğe neden olur. Tek zincirdeki basit kırıklar DNA ligaz tarafından onarılır. Ancak DNA ligaz sadece 5'-fosfat ve 3'-hidroksil grubuna sahip uçları birleştirebilir (36, 54,

55, 56, 57, 49). Bu onarım yolundaki hataların Burkitt lenfoma, KML gibi hastalıklarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (46, 58).

B. Homolog uçların bağlanması(homolog rekombinasyon-HR):

DNA çift zincir kırıkları, genetik bilgi korunarak homolog rekombinasyon ile onarılabilir. Mayalar bu yolu çok etkin kullanmaktadırlar (36, 54, 55, 56, 57). Homolog rekombinasyonda rol oynayan BRCA-1 ve BRCA-2 genlerindeki mutasyonların meme ve over kanseriyle bağlantılı olduğu görülmüştür (46, 47).

2.4. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Seviye:

Oksijen, bütün canlılar için hayati önem taşıyan bir elementtir. Organizmada metabolik olaylar sırasında oksijen, bazı ara ürünlere dönüşür. Bu ara ürünler serbest oksijen radikalleridir. Organizmada serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile bunlara karşı devreye giren anti-oksidan sistem arasında normalde bir denge söz konusudur. Eğer bu dengede, serbest radikallerin miktarı artar veya anti-oksidan sistem yetersiz kalırsa serbest radikaller hücrenin tüm yapısına zarar vererek oksidatif hasara yol açar. Serbest radikallerin hücrede meydana getirdiği bu zararlı etkiye ‘‘oksidatif stres’’ adı verilir (59).

2.4.1. Serbest Radikaller:

Kimyasal olarak en dış yörüngede elektron kaybetmiş, kararsız, aktif bileşiklerdir. Kararsız olan bu bileşikler, daha kararlı hale geçmek için diğer moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron almaya çalışır. Serbest radikaller, vücutta birçok metabolik olay sırasında oluşurlar ve aslında organizma için gerekli olan bileşiklerdir. Ancak oluşan serbest radikallerin miktarı çok fazla olursa veya anti-oksidan sistem yetersiz kalırsa hücrede hasar oluşmaya başlar. Serbest radikallerin kaynağı endojen veya ekzojen faktörler olabilir.

Endojen kaynaklar; organizmada meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon tepkimeleridir. Ekzojen kaynaklar ise güneş ışınları, sigara dumanı, bazı ilaçlar, bazı kimyasal maddeler, bazı elementlerdir.

Serbest radikaller; serbest oksijen radikalleri (ROS) ve serbest nitrojen radikalleri (NOS veya RNS) olmak üzere ikiye ayrılır.

2.4.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri:

Organizmada çoğu metabolik olay için oksijen gereklidir. Oksijen, aerobik canlıların enerji metabolizmasında çok önemli bir yere sahiptir. Bunun yanı sıra yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde gerçekleşen enzim inhibisyonları ve oluşan serbest oksijen radikalleri ile toksik etki de yapabilmektedir (59, 60, 61, 62). Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (63, 64, 65, 66).

Vücutta üretilen serbest radikaller aslında organizma için gerekli olan bileşiklerdir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur.

En önemli serbest oksijen radikalleri; süperoksit (O_2^-) radikali, hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen, peroksil radikali (ROO), hipoklorid (HOCl), organik peroksit radikali (RCOO), alfoksil radikali (RO) ve perhidroksil radikali (HO_2) gibi reaktif oksijen türevleridir.

2.4.1.1.1. Süperoksit Radikali:

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşur (67). Süperoksit radikalının hücre içi kaynağı, mitokondri iç zarında bulunan solunum zincirinde meydana gelen oksidatif fosforilasyon olayıdır. Hücre dışı kaynak ise endotel hücreler, trombositler, lenfositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlardır. Süperoksit radikali zayıf bir oksidan olup tek başına önemli hücre hasarlarına yol açmaz (68). Ancak süperoksit radikalleri, oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilmiş fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilmektedir (60, 61, 63, 68). Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 oluştururlar.

2.4.1.1.2. Hidrojen Peroksit:

Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir. Yapısında

paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özellik taşımaz, reaktif bir tür değildir. Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebi demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davranmasıdır (69, 70).

Fosfolipitler nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Hidrojen peroksit, membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir.

Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (61, 68, 69).

2.4.1.1.3. Hidroksil Radikali:

Hidroksil radikali, “Fenton reaksiyonu” ve “Haber-Weiss reaksiyonu” ile hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Hidroksil radikali, en aktif ve en toksik oksijen radikali olup birçok molekül ile reaksiyon verir. Yarı ömrü çok kısadır ama verdiği zararlar çok fazladır. Hidroksil radikali, iyonlaştırıcı radyasyonun (X-ışınları) etkisiyle su moleküllerinin homolitik kırılması sonucunda oluşabildiği gibi hidrojen peroksit molekülünün metaller ile reaksiyonu sonucunda eksik indirgenmesi ile de oluşabilmektedir. Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan OH, su dahil ortamda rastladığı her molekül ile tepkimeye girer. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile de etkileşebilmektedir (69). Bütün bu tepkimeler, OH'nın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır.

Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Hücre zarı su içermediğinden OH'nın başlıca hedefi yağ asididir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu, zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (61, 68).

2.4.1.1.4. Singlet Oksijen:

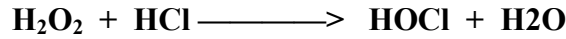
Oksijenin uyarılmış şekline “singlet oksijen” denir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal olarak değil ancak serbest radikal reaksiyonları başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonunda da oluşabilir. Doymamış yağ asitleri

ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Karbon-karbon bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği en önemli bağlardır. Billirubin, karotenler, histidin, metionin vb. bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe ederler (68).

Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir.

2.4.1.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl):

Hipoklorik asit de tek başına reaktif olmayan ama reaktif oksijen türleri içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monosit makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini üretirler. Radikal üretimi, fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Başlıca hedefinin proteinler olduğu ve protein karbonil bileşiklerinin (PCC) oluşumunu indüklediği bildirilmektedir. Özellikle nötrofiller myeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O_2^- 'i oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.

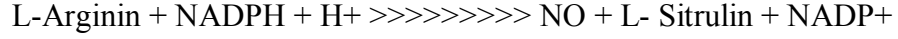


Şekil 6. Hipoklorik asit oluşumu

2.4.1.2. Serbest Nitrojen Radikalleri:

Reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi, nitrik oksittir (NO). NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. L-Arginin'in enzimatik olarak L-Sitrulin'e dönüşümü sırasında açığa çıkar. Nitrik oksit oluşumunda rol alan enzim, nitrik oksid sentetaz enzimidir (NOS). Yağda çözünür ve hücre zarlarından kolaylıkla geçer. Yarılanma ömrü çok kısa olup 3-5 sn'dir. Damar düz kas hücrelerinde gevşemeye, trombosit adezyon ve agregasyonunda ise inhibisyona yol açar. 3 tip nitrik oksit vardır. Bunlar; nöronal nitrik oksit, indüklenebilir nitrik oksit ve endotelial nitrik oksittir. Vücutta çok fazla oluşurlarsa protein, karbonhidrat, DNA ve lipidlerde hasara neden olurlar.

NOS



Şekil 7. Nitrik oksit oluşumu

2.4.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri:

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, plazma membranında, endoplazmik retikulumda, mitokondride, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından serbest radikallere dönüştürülmektedir. Oksijenden oluşan süperoksit anyonları, Süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksite dönüştürülmektedir. Cu⁺²/Fe⁺² ile katalize olan'' Fenton reaksiyonu ''yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe⁺³'ün Fe⁺²'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunurlar (59).

2.4.2.1. Membranların Lipid Peroksidasyonu:

Hücre ve organel zarları lipid ve proteinlerden oluşmaktadır. Zarlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından peroksit, alkol, malondialdehit, etan ve pentan gibi yıkım ürünlerine dönüşmesine lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu geri dönüşümsüz bir hasardır (67, 71). Lipid peroksidasyonu reaksiyonu zincir reaksiyonu şeklindedir.

Serbest radikaller, çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunu uzaklaştırarak zincir reaksiyonunu başlatırlar. Hidrojen atomu uzaklaşınca karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve karbon merkezli lipid radikali (L-) haline gelir. Bu radikal, oksijen molekülü ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikali (LOO-) haline gelir. Lipid peroksil radikali komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına neden olurken bir yandan da açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Ve yayılarak çok sayıda lipid hidroperoksitlerine dönüşür. Bunlar ilerleme reaksiyonu olarak adlandırılır (67, 71, 72, 73, 74).

Lipid hidroperoksitler oldukça kararlı bileşiklerdir ve lipid peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipidlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikallerin oluşması ‘‘enzimatik lipid peroksidasyonu’’, diğer radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonu ise ‘‘non-enzimatik lipid peroksidasyonu’’ olarak adlandırılır (75).

Lipid peroksidasyonunun son bileşeni malondialdehit (MDA) membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyona sebep olur.

Sonuç olarak da hücrede deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonuna yol açar (67, 76). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir.

2.4.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu:

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Proteinler, aminoasit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Serbest radikallerin etkisi ile protein molekülleri üzerindeki sülfhidril gruplarında daha fazla hasar meydana gelmektedir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler daha duyarlıdır. İmmunglobülin G ve albumin gibi proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (71, 75, 77). Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedir. Proteinlerin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir (78, 79).

2.4.2.3. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (68). Açığa çıkan okzoaldehitlerin proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı kanser ve yaşlanmaya neden olurlar (67). İnflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂⁻ buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunmasının oksidatif hasar yoluyla katarakt oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (68, 80).

2.4.2.4. Oksidatif Stres ve DNA Lezyonları

Lipidler, karbonhidratlar ve proteinler gibi DNA da serbest radikaller tarafından oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 103 kez

oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (60). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle sağlıklı bireylerde de çok düşük düzeylerde DNA hasarı saptanabilmektedir. Antioksidan sistemde yetersizlik, DNA onarım mekanizmalarında bozukluklar oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, baz dizilimi hataları, hatalı eşleşmeler, DNA-protein arasında çapraz bağlanma oksidatif hasarla olabilir (60, 81, 82).

Serbest radikaller, DNA'da mutasyonlara ve hücre ölümlerine neden olabilirler. Hidroksil ve süperoksit radikalleri, DNA'da oksidatif hasar oluşturan radikallerdir. Hidroksil radikali, DNA'daki dört bazın herhangi birine saldırı yapabilirken, süperoksit radikali dal kırığından ziyade, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (60, 74).

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içeren ve çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe ve Cu iyonları; negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı oldukları gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedir. Metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü hidrojen peroksidin hedefi haline getirmektedir. Doğrudan DNA'da hasar yapmayan hidrojen peroksid, membranı kolayca geçerek nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) reaktivitesi çok yüksek olan hidroksil radikallerini oluşturarak DNA'da hasara neden olur. Oluşan hidroksil radikalleri, radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmazsa veya hidroksil radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir. Doku kültür ortamının Fe²⁺ ve Cu²⁺ iyon konsantrasyonunun artırılması ile oksidatif DNA baz hasarının arttığı ve H₂O₂'ye maruz bırakılan hücrelerde Cu²⁺ ve/veya Fe²⁺ şelatörlerinin kullanımının DNA'daki oksidatif hasarı önlediği belirtilmiştir (84).

Yine oksidatif stres hücrede, sitozolik Ca²⁺ iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nükleustaki Ca bağımlı endonükleazları aktive etmekte ve DNA'nın fragmantasyonuna neden olmaktadır (Nükleaz aktivasyonu hipotezi). Ca şelatörlerinin kullanımı ile DNA hasarının engellenebildiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (85).

DNA'da oksidatif hasar ile başlangıçta dal kırıkları oluşur. Tek dal kırıklarında, karşı daldaki bilgi doğru okunarak 'hasarlı dal onarıcı enzimlerle' onarılabilir. Bu yüzden çift dal kırıkları daha önemlidir (82).

Organizmada normal şartlarda oluşan düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı, DNA onarım enzimleri sayesinde minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilir. Ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar (60, 85).

DNA'daki oksidatif hasar yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü gerçekleşmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analizlenmiştir. Bakır iyonları DNA'da guanin-sitozin'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz 'guanin' dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı, 8-hidroksideoksiguanozin'dir.

8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif DNA baz hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (60, 81, 82, 85).

2.4.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları:

2.4.3.1. Antioksidan Sistemler

Vücutta serbest radikallerin seviyelerini normal sınırlarda tutmak ve meydana getirebilecekleri hasarları engellemek için bazı savunma mekanizmaları bulunmaktadır (86, 87). Serbest radikalleri non-reaktif hale dönüştüren, serbest radikal oluşumunu engelleyen, serbest radikalleri ortamdan uzaklaştıran veya ortadan kaldıran sistem "antioksidan sistem" olarak adlandırılır, bu özelliklere sahip maddeler de "antioksidan maddeler" olarak adlandırılır. Hücrelerde pek çok antioksidan sistem ve maddeler bulunmaktadır.

Bu antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (65, 68, 86):

1. Endojen antioksidanlar; enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzimatik olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Non-Enzimatik olanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, alfa tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir.
2. Ekzojen antioksidan olarak da; allopurinol, folik asit, B12, B2, B5, C vitamini, E vitamini, flavinoidler, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (60, 68, 86, 88).

Antioksidanlar ayrıca birincil, ikincil ve üçüncül olarak da sınıflandırılmaktadır. Birincil antioksidanlar; yeni serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidanlardır. Örnek olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin verilebilir. İkincil antioksidanlar; oluşan serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, beta karoten, ürikasit ve albümin gibi maddeler bu grupta yer alırlar. Üçüncül antioksidanlar; serbest radikaller tarafından hasara uğrayan biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler de bu grupta yer almaktadırlar. Methionin sülfoksit, redüktaz ve DNA onarım enzimleri üçüncül antioksidanlardır.

Bir başka sınıflandırma da hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları şeklinde olan sınıflandırmadır.

Hücre içi antioksidanlar; süperoksit dismutaz enzimi, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimidir.

Zar antioksidanları; E vitamini, koenzim Q, β karotendir.

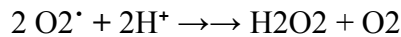
Hücre dışı ise; transferin, laktoferrin, haptoglobin, albumin, seruloplazmin, bilirubin, askorbik asittir (71).

2.4.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar:

A. Süperoksit Dismutaz (SOD):

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu katalize bir metalloenzimdir (75, 89, 90).

SOD

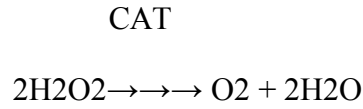


Prokaryot canlılarda Fe ve Mn SOD, ökaryot canlılarda ise Mn, Cu, Zn ve ekstrasellüler SOD bulunur (91). Primer antioksidan enzimdir. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu enzim sayesinde hücrelerde süperoksit

düzeyleri normal seviyelerde tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (68).

B. Katalaz (CAT):

Katalaz, peroksizomlarda yüksek oranda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksitin, su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalize eder.



Katalazın yapısında protoporfirin-IX ve Fe (Hem) grubu bulunur. Yapısındaki hem grubundan dolayı hemoprotein kabul edilir. Kan, kemik iliği, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.

C. Glutasyon Peroksidaz (GPx):

Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi, hidrojen peroksit veya organik peroksitlerin glutasyon tarafından indirgenmesi reaksiyonunu katalize eder. Hücrenin sitozollerinde bulunur ve fagositlerde önemli fonksiyona sahip bir enzimdir. Bu enzimin en önemli özelliği düşük hidrojen peroksit düzeyinde aktive olmasıdır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır ancak selenyum bağımsız glutasyon peroksidaz enzimi de bulunur. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi tarafından indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (68). Glutasyon peroksidaz enzimi (GPx) eritrositlerde serbest radikallere karşı en etkili antioksidandır. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve toplam antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı tespit edilmiştir (66, 68).

D. Glutasyon-S-Transferazlar (GST):

Glutasyon-S-Transferaz enzimi karsinojenleri, çevresel etmenleri, ilaç ve geniş spektrumlu ksenobiyotikleri metabolize eder, hidroksialkenler, lipid peroksidasyon ürünlerinden propenaller ve DNA hidroperoksitleri gibi zararlı bileşikleri detoksifiye eden bir antioksidandır. Aktivitesi sitozoliktir. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra bilirübin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (68, 78).

E. Glutasyon Redüktaz (GR):

Glutasyon redüktaz enzimi, flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren bir NADPH bağlı flavo enzimdir. Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşür. Okside glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi tarafından redükte formuna dönüşür (68).

F. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz:

Mitokondrial sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksit serbest radikalini suya çevirerek detoksifiye eder.

G. Tiyoredoksin Sistem:

Tiyoredoksin sistem; tiyoredoksin (Trx) ile tiyoredoksin redüktazı (TrxR) içeren iki antioksidan enzim sistemi içerir.

2.4.3.1.2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

A. Glutasyon (GSH):

Glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir antioksidandır. İndirgeyici özelliğe sahip bir antioksidan olan glutasyon, hücreyi serbest radikallere karşı korumaktadır (92, 93). Proteinlerdeki sülfür gruplarının korunmasında, aminoasit transportunda, protein ve DNA sentezinde önemli rol oynar (94). Antioksidan olarak da hidrojen peroksit, süperoksit ve organik peroksitleri (lipit peroksit gibi) süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimi ile ortadan kaldırır (95). Bu reaksiyon sırasında glutasyon, peroksidaz enzimi tarafından bir çift hidrojen iyonu vererek GSSH' a yükseltgenir, GSSH ise glutasyon redüktaz tarafından

katalizlenerek tekrar glutatyona indirgenir (96). Bu reaksiyon GPx ile oluşur, böylece GSH'ın meydana gelebilmesi için bir redoks döngüsü sağlanmış olur (97).

Bazı maddeler glutasyon miktarını azaltırken bazıları da glutasyon miktarını artırır. Örneğin parasetamol (asetaminofen) grubu ilaçlar, karaciğerde sitokrom P450 tarafından metabolize olup glutasyon miktarını azaltırken, N-Asetil sistein ise hücre membranını geçip hücre içinde sisteine dönüşerek glutasyon miktarını artırır (98).

B. Vitamin C (Askorbik Asit):

Suda eriyen bir vitamindir. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olup oksijen, nitrat, sitokrom a ve sitokrom c gibi bileşikler indirger. C vitamini, süperoksit ve hidoksil serbest radikalleri ile reaksiyona girerek onları ortadan kaldırır. Ancak ortamda düşük konsantrasyonlarda olurlarsa süperoksit oluşumuna yol açarak oksidan görevi görürler. Dolayısıyla C vitamininin antioksidan etkisinin yanında pro-oksidan etkisi de söz konusudur (78, 99).

C. Vitamin E (Tokoferol):

Alfa tokoferol yağda eriyen bir vitamindir. Lipid zincirini kırmasından dolayı organizmada antioksidan özelliğe sahiptir. En aktif formu α -tokoferoldür. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri α -tokoferol ile birleşerek serbest radikal zincirini kırarlar (100, 101, 102, 103, 104). Bu reaksiyon sırasında α -tokoferol, α -tokoferol-O[•]'e dönüşür. Oluşan bu radikalın aktivitesi düşüktür. Daha sonra askorbik asit aktivitesi düşük olan bu radikali tekrar tokoferole dönüştürür (100, 101, 102, 103, 104). Askorbik asit E vitamininin etkisini artırır.

D. Vitamin A (Beta Karoten):

Görme, üreme, büyüme, epitel dokunun bütünlüğünün sağlanması ve glikoprotein sentezinde rol oynayan yağda çözünen bir vitamindir. A vitamininin ön maddesi olan beta karoten ise güçlü singlet oksijen temizleyicisi ve zincir kırıcı bir antioksidandır (78).

E. Seruloplazmin:

Bir akut faz reaktanıdır. Demir ve bakır metabolizmasında önemli rol oynar. Oksidan ve antioksidan özelliğe sahiptir. Ferrooksidaz aktivitesiyle Fenton reaksiyonunu inhibe eder

(106). Lipid artıklarını, poliansatüre yağ asitlerinin ve fosfolipidlerin oksidasyonunu inhibe ettiği, DNA hasarını engellediği görülmüştür (107, 108).

2.4.4. Toplam Antioksidan Seviye (TAS):

Ekzojen ve endojen faktörler sonucu oluşan serbest radikaller oksidatif strese neden olurken, organizma da buna karşılık olarak antioksidan sistemlerini devreye koymaktadır. Antioksidan sistemin değerlendirilmesinde en anlamlı yol ise total antioksidan seviye (TAS) nin ölçümüdür. Total antioksidan kapasitenin çoğunu plazmadaki antioksidan moleküller oluşturur. Albumin, ürik asit ve askorbik asit total antioksidan kapasiteye en fazla katkı sağlayan antioksidanlar olup %85 den fazlasını oluşturur (110, 111). Bunun nedeni , bu maddelerin diğer antioksidanlara göre (bilirubin, alfa tokoferol, beta karoten v.b.) daha yüksek konsantrasyonlarda olmalarıdır (60, 112).

Plazma, kan bileşenlerini oksidatif hasara karşı korurken aynı zamanda da dışarıdan alınan antioksidanların taşınması ve dağılmasında da önemli rol oynar (109).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini ve sülfühidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır. Toplam antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (60, 112).

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Çalışmaya Alınan Olgu ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışmaya Temmuz 2012- Kasım 2012 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil servisine ve Ortopedi ve Travmatoloji polikliniğine başvuran hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan ve aşağıda belirtilen kriterlere uygun olan olgular dahil edildi. Çalışmaya dâhil edilen olgular, çalışmanın amacı ve yapılacak işlem hakkında bilgilendirildi. Sonrasında, çalışmaya katılmayı kabul eden olgulardan yazılı olarak onam alındı.

Çalışmaya kabul edilen olgularda ağrı şiddeti, Görsel Analog Skala (Visual Analog Scale–VAS) kullanılarak belirlendi. VAS ile hafif-orta seviyede ağrısı saptanan olgulara İV yoldan 20 dakika süreyle 100 ml (10 mg/mL) parasetamol (asetaminofen) tedavisi uygulandı. Olgular kendi içinde analjezi uygulamasından önce (kontrol grubu; grup 1), analjezi uygulamasından 2 saat sonra (analjezi sonrası 2. saat; grup 2) ve analjezi uygulamasından 12 saat sonra (analjezi sonrası 12.saat; grup 3) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Bu olgulardan analjezi uygulamadan önce, analjezi uygulandıktan sonra 2. saat ve 12. saatte kan örnekleri alındı.

3.1.1. Çalışma Grubu

Çalışma dönemi boyunca hafif ve orta şiddette travma nedeni ile başvuran ve kriterlere uyan 35 hasta dâhil edildi. Çalışmaya katılan hastaların demografik özellikleri, klinik bulguları ve ağrı düzeyleri Görsel Analog Skala (Visual Analog Scale–VAS) ile kaydedildi.

Bu hastalardan analjezi uygulamadan önce (kontrol grubu; grup 1), analjezi uygulandıktan sonra 2. saat (grup 2) ve 12. saatte (grup 3) kan örnekleri alındı. Serum lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri olarak toplam oksidan seviye (TOS), toplam

antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres index (OSİ) çalışıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

3.1.2. Olgu Dahil Edilme Kriterleri:

1. 18 yaş üzerinde hafif ve orta şiddette travmaya maruz kalan erişkin olgular.
2. VAS ile ağrı şiddeti hafif-orta seviyede saptanan olgular.
3. Çalışmaya katılmayı kabul eden ve yazılı onamı alınan olgular.

3.1.3. Olgu Dışlama Kriterleri:

1. 18 yaş ve altında olan olgular,
2. Ciddi travmaya maruz kalan olgular,
3. Alkol alma öyküsü olanlar ya da kanda alkol olduğu tespit edilen olgular,
4. Çalışmaya katılmayı istemeyen ya da sonradan çalışmadan çıkmak isteyen olgular,
5. Uyutucu-uyuşturucu veya teskin edici madde kullanımı hikâyesi veya bağımlılığı olanlar, son 7 gün içerisinde herhangi bir nedenle ilaç kullanma hikayesi olanlar
6. Gebelik öyküsü ya da şüphesi olanlar,
7. Halen geçirilmekte olan aktif somatik ya da psikiyatrik hastalık hikayesi olanlar,
8. Bilgisayarlı tomografi (BT) ve/veya manyetik rezonans (MR) çekilen olgular

3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler:

Araştırmaya dâhil edilen kişilerden lenfosit DNA hasar seviyesinin ölçümü için vakumlu EDTA'lı kan alma tüpüne analjezi öncesi, 2. saat ve 12. saatte venöz kan alındı. Hemen biyokimya laboratuvarına ulaştırılarak çalışması sağlandı.

Oksidatif stres parametreleri için jelli vakumlu tüpe 5 ml kan alındı. Alınan kan örnekleri en kısa zamanda biyokimya laboratuvarında bulunan Hettich marka santrifüj cihazında 4000 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -80°C derin dondurucuda depolanarak muhafaza edildi. Ölçümlerin yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirildikten sonra çalışıldı.

3.2.1. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu:

Bir ml histopaque -1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça ilave edirm ve 25⁰C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (Ph: 7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25⁰C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu ile 10⁶ mononükleer lökosit / μ l olacak şekilde dilüe edildi.

3.2.2. Comet Assay (Alkali mononükleer tek hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini:

3.2.2.1. Yöntemin Prensibi

Comet assay yöntemi, alkali Ph'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin, elektriksel alanda farklı hızda göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agar jel içine yerleştirilir ve lizisten sonra açığa çıkan DNA moleküllerinde herhangi bir hasar oluşmamış ise göç esnasında tek moleküle ve yüküne sahip olduklarından elektroforetik göç esnasında birlikte hareket edeceklerinden comet (kuyruk) oluşturmazlar. Eğer hasara uğramış, kırılmış DNA varsa farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar.

3.2.2.2. Yöntemin Uygulanışı:

A. Slaytların Hazırlanması:

%1.0'lik normal erime noktasına (NMP) sahip agaroz jel hazırlanarak pipetle 55⁰C sıcaklıkta 80 μ l kadar alınıp, kenarları kumlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri hemen lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4⁰C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan normal erime noktasına sahip jel kaplı lamalar nemli kutularda bekletildi. Kaplı lamalar üzerine PBS (Fosfat buffered saline) ile mm³'te 10⁴ hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 μ l alınarak 80 μ l %0.5'lik düşük erime noktasına (LMP) sahip agaroz jel (37⁰C) ile karıştırılarak tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda düşük erime noktasına sahip agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slaytların hazırlanması sağlandı.

B. Lizis Aşaması:

Agaroz jel donduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren (100Mm EDTA, 2.5M NACI, 10Mm trizma baz, %1 triton X-100, Ph10) soğuk lizis solüsyonunda bekletilerek hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı.

C. Elektroforez Tamponu:

Elektroforezde yürütmeden önce, DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar, alkali elektroforez tamponunda (1mM EDTA ve 300Mm sodyum hidroksit (pH<13)) 20-30 dakika inkübasyona bırakıldı.

D. Elektroforezde Yürütme:

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300Ma,elektriksel alanda ve 5-25⁰C'de 30 dakika yürütüldü.

E. Nötralizasyon:

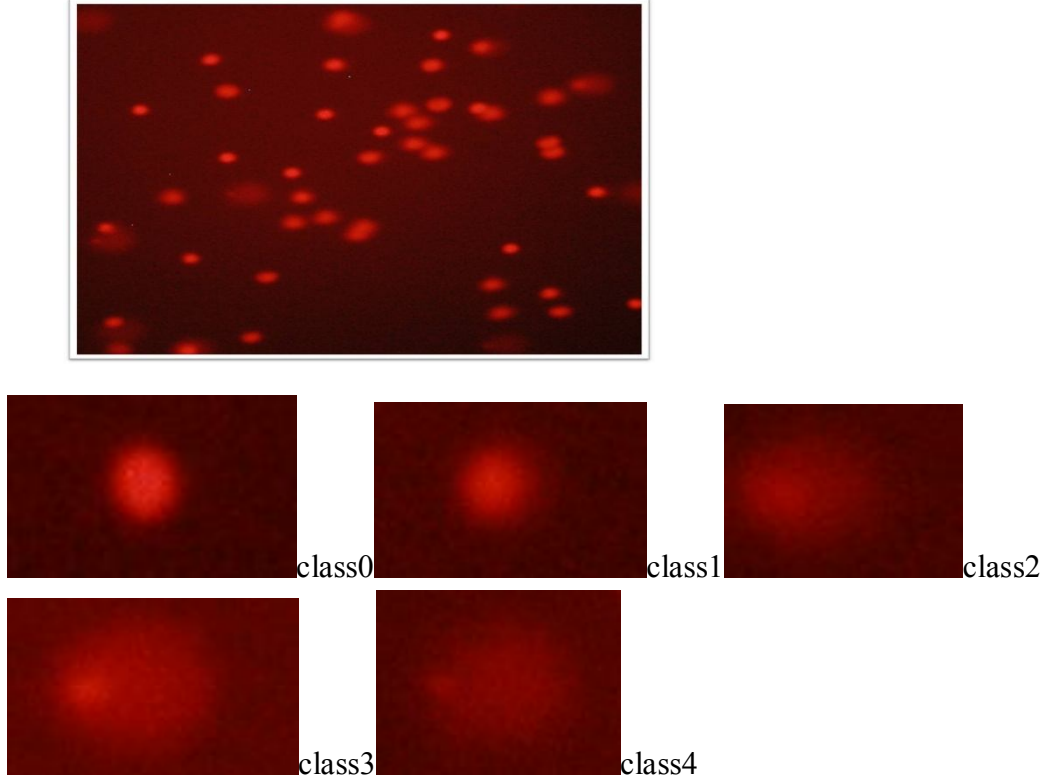
Elektroforez yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dakika süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, Ph: 7.5) yıkandı.

F. Boyama:

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra floresan DNA boyası olan etidyum bromit ile(5µg/ml) her bir slayt için 80µl boya kullanılarak boyandı. Lamaların üzeri lamel ile kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) değerlendirildi.

G. Analiz:

Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA beş kategoriye ayrıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 5. kategoride değerlendirildi.



Şekil 8. DNA'daki farklı derecelerdeki hasarın mikroskop altındaki görüntüleri

3.2.3. Total Antioksidan Seviye (TAS):

Serbest oksijen radikallerine karşı vücudun toplam antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (113, 114).

Reaktif 1:

75 mM Clark tamponu (pH: 1.8) içerisinde, 10mM o-Dianisidine ve 45µmol $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2:

7.5mM hidrojen peroksit, 75 mM Clark tamponu (pH: 1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip:

Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksi, hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH⁻radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da, renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini

oluştururlar. Dianisidyl radikalleri, ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir. Birim: $\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$

3.2.4. Total Oksidan Seviye (TOS):

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (113, 114).

Reaktif 1:

140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine, 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce %10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 μM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2:

Ana solüsyon içerisinde, önce 10mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip:

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon –o-dianisidine kompleksini ferik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol, bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Birim; $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$ (87).

3.2.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ):

Toplam Oksidan Seviye (TOS) / Toplam Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde bölünerek, Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı (114).

3.2.6. İstatistiksel Analiz:

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 11.5 (Statistical Package for the Social Sciences 11.5, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programıyla değerlendirildi. Çalışmada Student-t Testi, One-Way Anova ve Kolmogorov Smirnov Testi kullanıldı. Gruplar arasında fark bulununca fark yaratan grubu bulmak için İkili Analiz testi yapıldı. $p \leq 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 12'si kadın, 23'ü erkek olmak üzere toplam 35 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması $39,71 \pm 20,31$ (yaş aralığı; 18-81) idi. Hastaların çalışma gruplarına göre dağılımı aşağıdaki gibidir.

- Grup 1: Parasetamol (asetaminofen) uygulamasından önce (kontrol grubu; analjezi öncesi) kanları alınan hastalar (n=35).
- Grup 2: Parasetamol (asetaminofen) uygulamasından 2 saat sonra (analjezi sonrası 2.saat) kanları alınan hastalar (n=35).
- Grup 3: Parasetamol (asetaminofen) uygulamasından 12 saat sonra (analjezi sonrası 12.saat) kanları alınan hastalar (n=35).

Analjezi öncesi (grup 1) vizüel analog skala (VAS) değeri ortalaması $3,42 \pm 0,65$, analjezi sonrası 2. saat (grup 2) VAS değeri ortalaması $2,11 \pm 0,58$ ve analjezi sonrası 12. saatteki (grup 3) VAS değeri ortalaması $1,08 \pm 0,65$ olarak bulundu.

VAS skorları açısından incelendiğinde, analjezi öncesi (grup 1) ve analjezi sonrası 2. saat (grup 2) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı (% 95 CI, Güven Aralığı 1,11-1,51; $p= 0,000$). Analjezi sonrası 2. saat (grup 2) VAS skoru ortalaması ($2,11 \pm 0,58$) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) VAS skoru ortalaması ($1,08 \pm 0,65$) arasında anlamlı bir fark bulundu (% 95 CI, Güven Aralığı 0,78-1,27; $p= 0,035$). Analjezi öncesi (grup 1) VAS skoru ortalaması ($3,42 \pm 0,65$) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) VAS değeri ortalaması ($1,08 \pm 0,65$) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı (% 95 CI, Güven Aralığı 2,10-2,57; $p= 0,006$).

Analjezi öncesi (Grup 1)'de serum lenfosit DNA hasarı değeri ortalaması (arbitrary unit; AU), analjezi sonrası 2. saat (Grup 2) serum lenfosit DNA hasarı değeri ortalaması ile karşılaştırıldığında daha yüksek olarak bulundu ($14,97 \pm 12,38$ ve $13,94 \pm 9,28$, sırasıyla). Analjezi sonrası 12. saat (Grup 3)'te serum lenfosit DNA hasarı değeri ortalaması (arbitrary unit; AU) en düşük idi ($10,57 \pm 8,73$). Serum lenfosit DNA hasarı yönünden gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p= 0,009$; Tablo 1 ve Şekil 9).

Analjezi öncesi (grup 1)'de serum total oksidan seviye (TOS) değerleri ortalaması $17,91 \pm 5,40$, analjezi sonrası 2. saat (grup 2) serum TOS değerleri ortalaması $15,92 \pm 4,10$ ve analjezi sonrası 12. saatteki (grup 3) serum TOS değerleri ortalaması $15,13 \pm 3,95$ olarak bulundu. Ortalama serum TOS düzeyleri analjezi öncesi (grup 1) ile kıyaslandığında analjezi sonrası grup 2 ve 3'te düşüş gösterdi. Ancak, serum TOS değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,114$; Tablo 1 ve Şekil 10).

Analjezi öncesi (grup 1)'de serum total antioksidan seviye (TAS) değerleri ortalaması $0,97 \pm 0,11$, analjezi sonrası 2. saat (grup 2) serum TAS değerleri ortalaması $0,94 \pm 0,07$ ve analjezi sonrası 12. saatteki (grup 3) serum TAS değerleri ortalaması $0,99 \pm 0,11$ olarak bulundu. Ortalama serum TAS düzeyleri analjezi öncesi (grup 1) ile kıyaslandığında analjezi sonrası grup 3'te artış gösterdi. Ancak, serum TAS değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p= 0,161$; Tablo 1 ve Şekil 11).

Analjezi öncesi (grup 1)'de oksidatif stres index (OSİ) değerleri ortalaması $1,83 \pm 0,51$, analjezi sonrası 2. saat (grup 2) OSİ değerleri ortalaması $1,70 \pm 0,45$ ve analjezi sonrası 12. saatteki (grup 3) OSİ değerleri ortalaması $1,53 \pm 0,38$ olarak bulundu. Ortalama OSİ düzeyleri analjezi öncesi (grup 1) ile kıyaslandığında analjezi sonrası grup 2 ve 3'te düşüş gösterdi. Ancak, OSİ değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,147$; Tablo 1 ve Şekil 12).

Tablo 1. Çalışma gruplarında lenfosit DNA hasarının ve serum oksidatif stres parametrelerinin düzeyleri

	Grup 1*	Grup 2**	Grup 3***	p
DNA hasarı (arbitrary units)	14,97 ± 12,38	13,94 ± 9,28	10,57 ± 8,73	0,009
TOS ^a (µmol H ₂ O ₂ equiv./L)	17,91 ± 5,39	15,92 ± 4,10	15,13 ± 3,95	0,114
TAS ^b (mmol Trolox equiv./L)	0,97 ± 0,11	0,94 ± 0,07	0,99 ± 0,117 ^{b***}	0,161
OSİ ^c (arbitrary units)	1,83 ± 0,50	1,69 ± 0,45	1,53 ± 0,38 ^{b***}	0,147

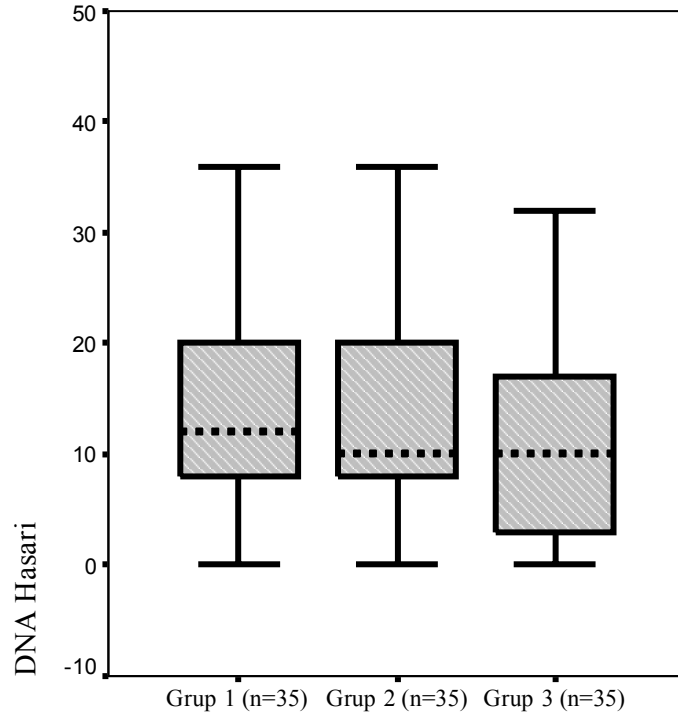
Sonuçlar ortalama ± standart sapma veya sayı olarak verilmiştir

* Analjezi öncesi; Grup 1

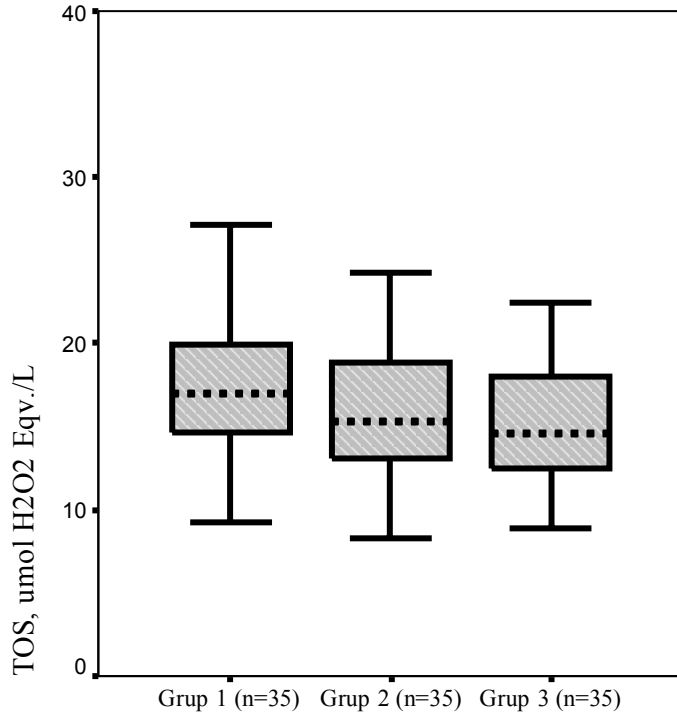
** Analjesi sonrası 2.saat; Grup 2

*** Analjezi sonrası 12.saat; Grup 3

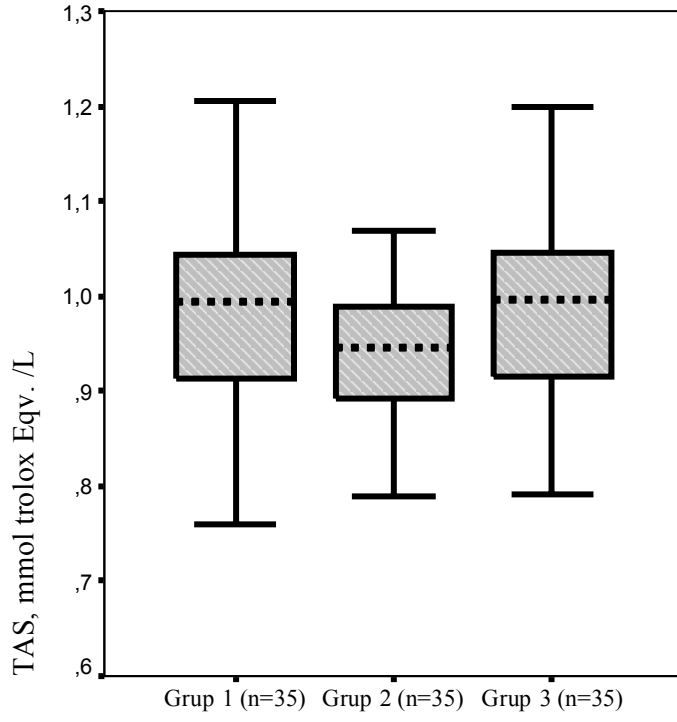
^a TOS; total oksidan seviye, ^bTAS; total antioksidan seviye, ^cOSİ; oksidatif stres indeksi



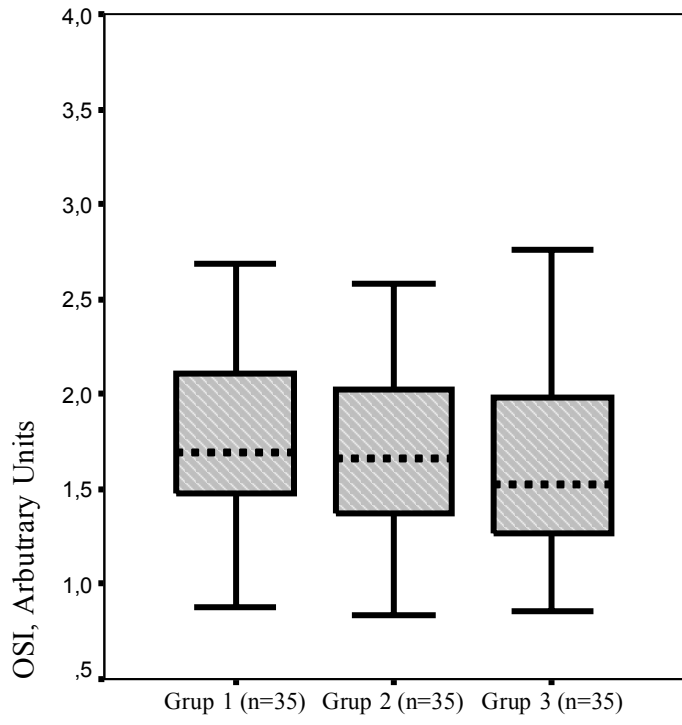
Şekil 9. Analjezi öncesi (grup 1), analjezi sonrası 2. saat (grup 2) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) DNA hasarının düzeyleri



Şekil 10. Analjezi öncesi (grup 1), analjezi sonrası 2. saat (grup 2) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) TOS düzeyleri



Şekil 11. Analjezi öncesi (grup 1), analjezi sonrası 2. saat (grup 2) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) TAS düzeyleri



Şekil 12. Analjezi öncesi (grup 1), analjezi sonrası 2. saat (grup 2) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) OSİ düzeyleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, hafif ve orta şiddette travmaya maruz kalan erişkin hastalarda oluşan akut ağrının yönetiminde sıklıkla kullanılan ilaçlardan biri olan parasetamolün insan T lenfosit hücrelerinde DNA hasarı ve serum oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi açısından in vivo şartlarda yapılmış ilk klinik çalışmadır. Ayrıca, DNA hasarını belirlemede spesivitesi ve sensivitesi oldukça yüksek alkali comet yönteminin kullanılması çalışmamızı literatürdeki diğer in vitro çalışmalardan ayıran en önemli farktır.

Acil servislere en sık başvuru nedeni ağrıdır. Ağrı şikayeti sıklıkla akut ağrı şeklinde olup, bunun da en sık nedeni travmadır (1, 115). Travmalı hastalarda akut ağrı yönetimi, tedavinin önemli parçasıdır. Çünkü travma hastalarında ağrının kontrol altına alınmaması mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır. Uygun ağrı yönetimi ile travma hastasının hem mevcut durumunun kötüye gitmesi engellenmekte hem de ileride oluşabilecek kronik ağrılar önlenmektedir (3).

Ağrı, göğüs duvarı hareketinde ve diafragma hareketinde azalmaya neden olarak atelektazi gibi solunum sistemi komplikasyonlarına neden olmaktadır. Sempatik hiperaktiviteye neden olan ağrı, kalp hızının ve kan basıncının artmasına ve miyokardın oksijen tüketimini attırarak kardiyak komplikasyonlara yol açmaktadır (1, 2). Ayrıca ağrı nedeniyle meydana gelen hareket kısıtlılığı, tromboembolik komplikasyonlara neden olabilmektedir (2, 3). Ağrının bunların dışında anksiyete, hiperglisemi ve yara iyileşmesinde gecikme gibi komplikasyonları da vardır (3). Tüm bu nedenlerden dolayı travma hastalarında ilk yapılması gereken, hekim ve diğer sağlık çalışanlarının hastalara, ağrılarının olup olmadığını sorması ve hastaların ağrı ile ilgili şikayetlerini ciddiye almalarıdır (23). Ancak literatürde, hekimlerin ve diğer sağlık çalışanlarının akut ağrı yönetimi konusunda yeterli eğitime sahip olmadıklarını dolayısıyla hastalara yeterli düzeyde analjezi sağlamadıkları, uzun süre analjezi için bekletildikleri ve çoğunlukla tam bir analjezi sağlanmadan taburcu edildiklerini gösteren çalışmalar mevcuttur (23, 116). Lewis ve ark. yaptığı bir çalışmada akut ağrısı ve kemik fraktürü olan 401 hastanın sadece %30'unun acil serviste analjezi aldığı gösterilmiştir (116). Hekimlerin ve diğer sağlık çalışanlarının analjezi sağlanması konusundaki bu tutumlarının nedenleri arasında analjeziklerin semptomları baskıladığına dair

yanlış bilgiler, ilaç bağımlılığı, ilaçların yan etkilerinden korkulması ve ağrı kontrolü konusundaki bilgi eksikliği sayılabilir (23).

Travmaya bağlı akut ağrı yönetiminde en önemli aşamalarda biri de hangi analjeziğin kullanılması gerektiğine karar verilmesidir. Bunun için ilk yapılması gereken ağrının şiddetinin belirlenmesidir. Travmanın şiddetine bağlı olarak ortaya çıkan akut ağrı, Görsel Analog Skalası (Visual Analog Scale–VAS) kullanılarak sınıflandırılabilir (3).

Çalışmamızda travmaya maruz kalan hastalarda ağrı şiddeti, Görsel Analog Skalası (Visual Analog Scale–VAS) kullanılarak değerlendirilmiştir. Acil servise hafif ve orta şiddette travma nedeniyle başvuran hastalar çalışmaya alınmış olup şiddetli travmaya maruz kalan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışmamızda hastaların tamamında hafif-orta şiddette ağrı olduğu saptandı (VAS ortalama değerleri $3,42 \pm 0,65$).

Travmalı hastalarda analjezikler intramüsküler (İM) yoldan verilmemelidir. Çünkü İM yol, ağrı ve travmanın tekrarlamasına yol açar. Ayrıca ilacın iyi emilmemesine ve etkisinin geç başlamasına neden olur. Yine kullanılan analjeziklerin yan etkilerinin az olması (bulantı, kusma, kanamaya eğilim, solunum depresyonu v.b.) önemlidir. Parasetamol (asetaminofen), akut ağrı tedavisinde sık kullanılan bir analjeziktir. Asetaminofen, oral veya intravenöz (İV) yoldan uygulanabilir. Oral olarak etkinliği kanıtlanmış analjezik ve antipiretik özelliğe sahiptir (5, 117). Ayrıca parasetamolün gastrik mukozal irritasyon, kanama ve trombositopeni gibi yan etkilerinin olmaması ve diğer nonsteroid antiinflamatuar ilaçlarla (NSAİİ) karşılaştırıldığı çalışmalarda etkinlik açısından anlamlı bir farklılık bulunmaması akut ağrı yönetiminde sıklıkla tercih edilme nedenlerini oluşturmaktadır (118). Asetaminofenin 15mg/kg dozunda analjezik etkisi 10 dakikada başlar ve 1 saat içinde pik yapar, etkisi 4-6 saat sürer (33, 117). Önerilen günlük total doz 4 gr civarındadır. Daha yüksek dozlarda karaciğer toksisitesine yol açar (33).

Parasetamolün yan etkileri diğer analjezilere göre daha az olup çalışmamızda tercih nedenlerimizden biri de bu özelliğiydi. Çalışmamızda VAS ile hafif-orta seviyede ağrısı saptanan olgulara analjezik olarak İV yoldan 20 dakika süreyle tek doz 100 ml (10 mg/mL) asetaminofen tedavisi uygulandı. Analjezi uygulamasından önce (kontrol grubu; grup 1), VAS ortalama değeri $3,42 \pm 0,65$ iken uygulamadan 2 saat sonra (analjezi sonrası 2. saat; grup 2) ortalama VAS skoru $2,11 \pm 0,58$ olarak bulundu. VAS skorları açısından incelendiğinde, analjezi öncesi (grup 1) ve analjezi sonrası 2. saat (grup 2) arasında anlamlı

bir fark olduğu saptandı ($p= 0,000$). Parenteral asetaminofen uygulaması ile 2. saate ağrı şiddetinde yaklaşık %40 oranında azalma gözlemlendi. Yine, analjezi öncesi (grup 1) VAS değeri ortalaması ($3,42 \pm 0,65$) ve analjezi sonrası 12. saatlerdeki (grup 3) VAS değeri ortalaması ($1,08 \pm 0,65$) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p= 0,006$). Parenteral asetaminofen uygulamasından 12 saat sonra (analjezi sonrası 12.saat; grup 3) ağrı şiddetinde yaklaşık %70 oranında azalma gözlemlendi. Plasebo ve diğer analjezikler ile karşılaştırıldığında İV asetaminofen formülasyonlarının etkinliği ve güvenilirliği tartışmalıdır (5). Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda tek doz parenteral asetaminofen uygulamasının travma nedeniyle gelişen hafif-orta şiddette ağrının hızlı ve etkili biçimde giderilmesi açısından güvenilir ve etkin bir analjezik olduğu söylenebilir.

Travmaya maruz kalmış kişilerde hem travma mekanizmasına bağlı olarak hem de ortaya çıkan akut ağrıya bağlı olarak vücutta oksidan-antioksidan sistemde bazı değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir (119). Literatürde, travma hastalarında erken dönemde travmanın şiddetiyle orantılı oksidatif stres parametrelerinin arttığı buna karşılık antioksidanların ise azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (119, 120). Oldham ve ark. (120) travma ile başvuran hastaları travma şiddet skoruna göre hafif ve ağır olarak sınıflandırarak 1, 2, 3, 4, 6, ve 8. günlerde antioksidan düzeylerini ölçmüşlerdir. Çalışmalarında, hafif travmalı hastaların %9,9'unda ve ağır travmalı hastaların %34,3'ünde antioksidanların azaldığını ve bu azalmanın 7 günlük süre boyunca devamlılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan hastalarda serum oksidatif stres belirteçleri olarak TOS ve OSİ düzeyleri analjezi öncesi ($17,91 \pm 5,40$ ve $1,83 \pm 0,51$; sırasıyla; grup 1) ile kıyaslandığında parasetamol uygulaması sonrası grup 2 ve 3'te düşüş gösterdi (TOS; $15,92 \pm 4,10$ ve $15,13 \pm 3,95$; sırasıyla) (OSİ; $1,70 \pm 0,45$ ve $1,53 \pm 0,38$; sırasıyla). Armagan ve ark. (7) in vitro ortamda beyin hücrelerinde parasetamolün lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu azaltarak oksidatif stresi azalttığını göstermişlerdir. Çalışmamızda da Armagan ve ark. çalışmasıyla uyumlu olarak parasetamol sonrası ağrının azalmasıyla beraber grup 2 ve 3'te serum oksidatif stres belirteçlerinde (TOS ve OSİ) değerlerinde azalma olduğu görüldü. Ancak, serum TOS ve OSİ değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Yine, Garrido ve ark. (6) parasetamolün in vitro ortamda karaciğer hücrelerinde olası antioksidan etkisi olduğunu bildirilmişlerdir. Çalışmamızda da hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan hastalarda serum TAS düzeyleri analjezi öncesi ($0,97 \pm 0,11$; grup 1) ile kıyaslandığında parasetamol uygulaması sonrası 12. saate artmış olarak saptandı. ($0,99 \pm 0,11$; grup 3) Ancak, serum TAS değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu.

Alkolün oksidan-antioksidan sistemi değiştirerek antioksidanları azalttığı, oksidatif stres parametrelerini ise attırdığı bildirilmiştir (121). Yine uyutucu ve uyuşturucu maddelerin oksidatif stres parametrelerini arttırdığını gösteren pek çok çalışma yapılmıştır (122-125). Yıldız ve ark. yaptığı çalışmada kontrastı arttırılmış MR'ın yüksek lenfosit DNA hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (126). Çalışmamızda dahil edilen tüm hastaların hafif ve orta şiddette travmaya maruz kalmaları, kanda alkol saptanmaması, alkol kullanma öykülerinin olmaması, uyutucu uyuşturucu veya teskin edici madde kullanım hikayesi ve bağımlılığının olmaması, herhangi bir nedenle ilaç kullanım hikayelerinin olmaması, geçirilmekte olan somatik veya psikiyatrik hastalık öyküsünün olmaması, BT ve MR çekiminin olmaması çalışma gruplarının oksidatif stres belirteçlerinin ve DNA hasarının karşılaştırılması yönünden uygun olduğunu göstermektedir.

Akut ağrı yönetiminde kullanılan güçlü opioid (narkotik) analjezik gruplardan biri olan morfin ile ilgili yapılan çalışmada, morfinin bağışıklık sisteminin işlevlerini etkilediği ve in vitro olarak insan CD3⁺ T hücrelerinde □ opioid reseptör üzerindeki etkisi aracılığıyla DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Morfin kaynaklı DNA hasarının muhtemelen p53 kaynaklı sinyal transdüksiyonu yoluyla immün süpresyona yol açan □ opioid reseptör üzerindeki aktivitesiyle oluştuğu iddia edilmiştir (8). Ayrıca, parasetamolün (asetaminofen) de tedavi dozlarında bile karaciğerde hasarlanmaya yol açabileceği bildirilmiştir (127). Fakat asetaminofen'in in vivo şartlarda insan T lenfosit hücrelerinde DNA hasarı üzerine etkisinin değerlendirildiği vaka kontrollü bir klinik çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda hafif ve orta derecede travmaya maruz kalan hastalarda serum lenfosit DNA hasarı değeri ortalaması ortalaması (arbitrary unit; AU), analjezi öncesi ($14,97 \pm 12,38$ AU; grup 1) ile kıyaslandığında parasetamol uygulaması sonrası grup 2 ve 3'te belirgin düşüş gösterdi ($13,94 \pm 9,28$ ve $10,57 \pm 8,73$; sırasıyla). DNA hasarı yönünden gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p= 0,009$).

Çalışmamızda travmalı hastalarda DNA hasarı yüksek olarak bulundu, analjezi uygulamasından sonra, ağrının ortadan kaldırılmasıyla beraber DNA hasarı gittikçe azalmaya başlamıştır. Yine, travmaya bağlı akut ağrının parasetamol ile tedavisi sonrasında, oksidatif stres parametrelerinden TOS düzeyleri ve OSI değerlerinde azalma olduğu ve lenfosit DNA hasarının da belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Travmalı hastalarda oluşan lenfosit DNA hasarı, oksidatif bir hasar meydana gelmesi ile açıklanabilir.

6. SONUÇ

Akut ağrı yönetimi; hem hastalar yönünden hem de acil hekimlik pratiğinde tedavinin önemli bir parçasıdır. Ağrı yönetiminde seçilecek analjezi etkin, hızlı, güvenilir ve hastanın kliniğine uygun olmalıdır. Hafif ve orta şiddette ağrıda sıklıkla tercih edilen parasetamolün (asetaminofen), oral olarak etkinliği çok sayıda çalışmada kanıtlanmış olup, yan etkileri diğer analjeziklere göre daha az olan bir analjeziktir. Buna karşın parasetamolün İV formülasyonunun uygulamasının etkinliği ve güvenilirliği konusunda yapılan çalışmalar yeterli değildir. Çalışmamızda travmaya maruz kalan hastalarda İV parasetamol (asetaminofen) uygulamasından sonraki 2. saat ve 12. saatte TOS ve OSİ değerlerinde azalma ve buna bağlı olarak lenfosit DNA hasarında azalma meydana gelmiştir.

Sonuçlarımız travmaya maruz kalan hastalarda gelişen akut ağrının oksidatif strese neden olduğunu, bunun da lenfositlerde oksidatif DNA hasarı ile sonuçlandığını göstermektedir. Çalışmamız, literatürde travmanın oksidatif stres parametrelerinde artışa neden olduğuna dair çalışmaları desteklemektedir. Ancak çalışmamız parasetamolün (asetaminofen) lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri olan TOS ve OSİ değerlerinde azalmaya neden olduğunu göstermesi açısından in vivo şartlarda yapılmış ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda tek doz parenteral asetaminofen uygulamasının travma nedeniyle gelişen hafif-orta şiddette ağrının hızlı ve etkili biçimde giderilmesi açısından güvenilir ve etkin bir analjezik olduğu ortaya konulmuştur. Ancak bu konuda diğer analjeziklerle kıyaslamalı, geniş olgu sayılarına sahip randomize ve kontrollü daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Milojevic KG, Cantineau JP, Ruiz R, Coudert B, Bataille S, Boutot F, Simon N, Lambert Y. Can severe acute pain escape visual analog scale screening in the ED? *Am J Emerg Med.* 2004; 22(3): 238-41.
2. Erdine S. Ağrı nörofizyolojisi. *Hipokrat Dergisi.* 1996; 9-12.
3. Yücel A. Travmaya Uğrayan Hastalarda Ağrı Tedavisi. Ertekin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu N, Editörler. *Travma*, 1. Baskı; İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2005; 304-17.
4. Çizmeci P, Babacan A. Analjezikler ve Analjezik Kullanım İlkeleri. *Clinic Medicine.* 2007; 2: 9-14.
5. McNicol ED, Tzortzopoulou A, Cepeda MS, Francia MB, Farhat T, Schumann R. Single-dose intravenous paracetamol or propacetamol for prevention or treatment of postoperative pain: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2011; 106(6): 764-75.
6. Garrido A, Arancibia C, Campos R, Valenzuela A. Acetaminophen does not induce oxidative stress in isolated rat hepatocytes: its probable antioxidant effect is potentiated by the flavonoid silybin. *Pharmacol Toxicol.* 1991; 69(1): 9-12.
7. Armagan G, Kanit L, Yalcin A. Effects of non-steroidal antiinflammatory drugs on D-serine-induced oxidative stress in vitro. *Drug Chem Toxicol.* 2012; 35(4): 393-98.
8. Tsujikawa H, Shoda T, Mizota T, Fukuda K. Morphine induces DNA damage and P53 activation in CD3+ T cells. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1790(8): 793-99.
9. Sparks L. Taking the ‘ouch’ out of injections for children. Using distraction to decrease pain. *MCN Am J Matern Child Nurs.* 2001; 26(2): 27-8.
10. Howard L. Fields, Joseph B, Martin. Section-1 Harrison’s Principles of Internal Medicine, 16.th Edititon T.R. Harrison, Mc Grow-Hil, Section 11 Pain: Pathophysiology and management, (2005), 71-2 pp.
11. Raj PP. Ağrı taksonomisi. Erdine S(ed). Ağrı, Birinci Baskı, İstanbul: Alemdar ofset, (2000), 12-20 pp.

12. Merskey HM, Bogduk N, Classification of chronic Pain, 2nd ed. Seattle: IASP Press, (1994), 211 pp.
13. Gonzales VA, Martelli MF, Baker JM. Psychological assessment of persons with chronic pain. *Neuro Rehabilitation*. 2000; 14(2): 69-82.
14. Kara H, Abay E. Kronik ağrıya psikiyatrik yaklaşım. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2000; 1(2): 89-99.
15. Cousins MJ: Acute pain and the injury response immediate and prolonged effects. *Reg. Anaesth*. 1989; 16: 162-76.
16. Yücel A. Travma ve yanık ağrısı. *Algoloji*, Birinci baskı; İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004; 125-31.
17. Meyer RA, Ringkamp M, Campbell JN, Raja SN: Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In: Wall and Melzack's Textbook of pain. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, (2006), 635-51 pp.
18. Erdine S. Ağrı Mekanizmaları. Erdine S(ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar ofset 2000, 20 pp.
19. Coderre JJ, Melzack P: Cutaneous hyperalgesia contributions of the peripheral and central nervous system to the increase in pain sensitivity after injury. *Brain Res*. 1987; 404: 95-106.
20. Tüzüner F. Akut Ağrı Mekanizmaları. *Ağrı*. 1999; 11(4): 39-45.
21. Rockville MD. Acute Pain Management Guideline Panel. Acute Pain Management: Operative or Medical Procedures and Trauma: Clinical Practice Guideline. Washington DC, US Department of Health and Human Services, (1992).
22. Murray MJ. Pain problems in the ICU. *Crit Care Clin*. 1990; 6: 235-53.
23. Güzeldemir ME. Pain Assessment Methods. *Sendrom*. 1995: 11-21.
24. Alexander JI, Hill RG: Pain: The size and of the problem. In: postoperative pain control. Blackwell Scientific Pub, Oxford, (1987), 1-20 pp.

25. Richards CF. Establishing an emergency department pain management system. *Emerg Med Clin North Am.* 2005; 23(2); 519-27.
26. Chapman CR, Syrjala KL: Measurement of Pain, The Management of Pain, Edit By JJ Bonica 2nd edit. Vol 1, Lea&Febiqer, Philadelphia, London, (1991). 580 pp.
27. Bird HA, Dixon JS: The measurement of pain, Bailliere's Clinical Rheumatology, 1987; 1: 71-2.
28. Türkoğlu, M. Ağrının tanımlanması ve ölçümü, Ed. İ. Yegül, Ağrı ve Tedavisi, Yapım Matbaacılık, İzmir, (1993). 19 pp.
29. Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain.* 1983; 17: 45-56.
30. Lussier D, Porteroy RK. Adjuvant Analgesics in pain management. In: Doyle D, Hanks G, Cherny N, et al, eds. *Textbook of Palliative Medicine*, Third Ed. Oxford, England: Oxford University Press, (2003). 349-77 pp.
31. Kutsal Y. G (Ed); A. Akıncı Sivri. Analjezik ve antiinflamatuvar ilaçların akılcı kullanımı; Analjezik ve Antiinflamatuvar ilaçların sınıflandırılması. Ankara, (1990;). 33-9 pp.
32. Carlsson KH, Monzel W, Jurna I. Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents, metamizol (dipyrone), lysine acetylsalicylate, and paracetamol, of activity in rat thalamus neurones evoked by electrical stimulation of nociceptive afferents. *Pain.* 1988; 32(3): 313-26.
33. Zed PJ, Krenzelok EP. Treatment of acetaminophen overdose. *Am J Health Syst Pharm.* 1999; 56(11):1081-1091; quiz 1091-3.
34. *Molecular Biology/history of biology since the beginning of XX century to the present day.* M: Hayka. Moscow: Nauka. (1975), 454 pp.
35. Kulaksız G, Sancar A. Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2007; 32(3): 104-11.
36. Chu G. Biochemistry 201: DNA repair, <http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Handouts/dnarepair.pdf>.

37. What is DNA repair? [http://www.nih.gov/sigs/dna-rep/what is.html](http://www.nih.gov/sigs/dna-rep/what%20is.html).
38. Zhang Y, Rohde LH, Wu H. Involvement of nucleotide excision and mismatch repair mechanisms in double strand break repair. *Curr Genomics*. 2009; 10(4): 250-58.
39. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001; 41: 367-401.
40. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature*. 2003; 421(6921): 436-40.
41. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage check points, *Annu Rev Biochem*. 2004; 73: 39-85.
42. Ronen A, Glickman BW. Human DNA repair genes. *Environ Mol Mutagen*. 2001; 37(3): 241-83.
43. Wood RD, Mitchell M, Sgourosj, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Science*. 2001; 291(5507): 1284-9.
44. Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst)*. 2007; 6(8): 1079-99.
45. Sciuscio D, Diserens AC, van Dommelen K, Martinet D, Jones G, Janzer RC, Pollo C, Hamou MF, Kaina B, Stupp R, Levivier M, Hegi ME. Extent and patterns of MGMT promoter methylation in glioblastoma- and respective glioblastoma-derived spheres. *Clin Cancer Res*. 2011; 17(2):255-66.
46. Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F. DNA hasarı ve onarım mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2009; 7(2): 61-70.
47. William S. Klug, Micheal R. Cummings. *Genetik Kavramlar*. Altıncı Baskıda Türkçe Çeviri. Palme Yayıncılık. Ankara, (2002) 477-81 pp.
48. Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman. *Hücre Moleküler Yaklaşım*. Türkçe çeviri. Üçüncü Baskı. İzmir Tıp Kitabevi, İzmir, (2006). 192-230 pp.

49. Debeleç Bürtüner B, Kantarcı G. Mutasyon, DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi. Ankara Ecz. Fak. Derg. 2006; 35(2): 149-70.
50. Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Early steps in the DNA base excision/single-strand interruption repair pathway in mammalian cells. Cell Res. 2008; 18(1): 27-47.
51. Karahalil B, Hogue BA, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations. FASEB J. 2002; 16(14): 1895-902.
52. Hanawalt PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. Oncogene. 2002; 21(58): 8949-56.
53. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. Cell Res. 2008; 18(1): 85-98.
54. DNA Damage, http://saturn.roswellpark.org/cmb/huberman/DNA_Repair/damage-types.html.
55. Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair:an update. Toxicology. 2003; 193(1-2): 3-34.
56. Haber JE. Partners and pathways repairing a double-strand break, Trends Genet. 2000; 16(6): 259-64.
57. Haber JE. DNA recombination: the replication connection. Trends Biochem Sci. 1999; 24(7): 271-75.
58. Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, Kow YW, Roy R. Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. DNA Repair (Amst). 2007; 6(4): 470-80.
59. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 1997; 3-4: 92-5.
60. Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan-antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2006.
61. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 2002; 33: 110-18.

62. Jensen SJK. Oxidative stres and free radikals. J Mol Struct. 2003; 666: 387-92.
63. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. J Dermatol Sci. 2001; 27 Suppl 1: S1-4.
64. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. Free Radic Biol Med. 1990; 9(4): 315-25.
65. Yiğit A, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağı hastalıklar. Çocuk Sağığı ve Hastalıkları Dergisi. 1997; 39: 749-65.
66. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem. 1993; 26(5): 351-57.
67. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. Arşiv; 13: 120-3.
68. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları, 1995; 47-60.
69. Baykal Y, Gök F, Erikçi S. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. Sendrom 2001; 14(1): 94-100.
70. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. Free Radic Biol Med. 1990; 9(4): 315-25.
71. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995; 41(12 Pt 2):1819-28.
72. Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 2004; 14: 52-60.
73. Sodergen E. Lipid Peroxidation İnvivo Evolution and Application of Methods for Measurements, Sweeden, Tryck&Medier, 2000.
74. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clin Chim Acta. 2001; 306(1-2):1-17.
75. Akkuş İ, Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya, (1995). 1-15 pp.

76. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD. Oxidative status and malondialdehyde in beta-thalassaemia patients. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32 Suppl 1: 55-60.
77. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv.* 2002; 11: 299-300.
78. Çelik H. Malarya hastalarında oksidatif strese ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Şanlıurfa, 2005.
79. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156(2 Pt 1): 341-57.
80. Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1995; 270(11): 5756-63.
81. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003; 17(10): 1195-214.
82. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays.* 2004; 26(5): 533-42.
83. Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat JL. Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res.* 2003; 531(1-2): 5-23.
84. Zastawny TH, Altman SA, Randers-Eichhorn L, Madurawe R, Lumpkin JA, Dizdaroglu M, Rao G. DNA base modifications and membrane damage in cultured mammalian cells treated with iron ions. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18(6): 1013-22.
85. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 1991; 281(1-2): 9-19.
86. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci.* 2002; 27(9): 483-6.
87. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol.* 2000; 35(1): 17-20.

88. Makarov VG, Makarova MN, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005; 74(1): 10-3.
89. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001; 54(3): 176-86.
90. Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31(11): 1287-312.
91. Oberley LW. Representative of Polypeptid Structure of Bovine CuZnSOD. *Superoxide Dismutase.* 1982; 1: 28.
92. Mitchell JB, Russo A. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *Br J Cancer Suppl.* 1987; 8: 96-104.
93. Compoti M. Glutathione depleting agents and lipid peroxidation in the aging rat. *Com Biochem Phys.* 1987; 88: 177-80.
94. Ziegler DM. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem.* 1985; 54: 305-29.
95. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys.* 1986; 246(2): 501-14.
96. Orłowski M, Karkowsky A. Glutathione metabolism and some possible functions of glutathione in the nervous system. *Int Rev Neurobiol.* 1976; 19: 75-121.
97. Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18(6) :1079-86.
98. Saraçoğlu F. SSPE hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Uzmanlık Tezi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2009.
99. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989; 119: 109-11.

100. Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN. Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J Nutr Biochem.* 2002; 13(7): 427-34.
101. Steinberg FM, Chait A. Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68(2): 319-27.
102. Jialal I, Grundy SM. Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation.* 1993; 88(6): 2780-6.
103. Van Haaften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1548(1): 23-8.
104. Singh U, Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1031:195-203.
105. Gökkusu C, Palanduz S, Ademoğlu E, Tamer S. Oxidant and antioxidant systems in niddm patients: influence of vitamin E supplementation. *Endocr Res.* 2001; 27(3): 377-86.
106. Burkitt MJ. Chemical, biological and medical controversies surrounding the fenton reaction. *Prog. React. Kinet. Mech.* 2003; 28: 75-103.
107. Cha MK, Kim IH. Ceruloplasmin has a distinct active site for the catalyzing glutathione-dependent reduction of alkyl hydroperoxide. *Biochemistry.* 1999; 38(37): 12104-10.
108. Park YS, Suzuki K, Taniguchi N, Gutteridge JM. Glutathione peroxidase-like activity of caeruloplasmin as an important lung antioxidant. *FEBS Lett.* 1999; 458(2): 133-6.
109. Quiles JL, Huertas JR, Manas M, Battino M, Ochoa JJ, Mataixj. Plasma antioxidants are strongly affected by iron-induced lipid peroxidation in rats subjected to physical exercise and different dietary fats. *Biofactors.* 1998; 8: 119-27.
110. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci.* 1993; 84(4): 407-12.

111. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ. The relative contribution of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta*. 1987; 924: 408-19.
112. Romay C, Pascual C and Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz J Med Biol Res*. 1996; 29: 175-83.
113. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*. 2004; 37: 112-9.
114. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry*. 2005; 47: 119-29.
115. Berthier F, Pottel G, Leconte P. Comparative study of methods of measuring acute pain intensity in an ED. *Am J Emerg Med*. 1998; 16: 132-6.
116. Lewis LM, Lasater LC, Brooks CB. Are emergency physicians too stingy with analgesics? *South Med J*. 1994; 87:7-9.
117. Hall LG, Oyen LJ, Murray MJ. Analgesic agents. Pharmacology and application in critical care. *Crit Care Clin*. 2001; 17: 899-923.
118. Gotzsche PC. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: The pendulum swings. *BMJ*. 2000; 320: 1058-61.
119. Rael LT, Bar-Or R, Aumann RM, Slone DS, Mains CW, Bar-Or D. Oxidation-reduction potential and paraoxonase-arylesterase activity in trauma patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 361(2): 561-5.
120. Oldham KM, Wise SR, Chen L, Stacewicz Sapuntzakis M, Burns J, Bowen PE. A longitudinal evaluation of oxidative stress in trauma patients. *J Parenter Enteral Nutr*. 2002; 26(3): 189-97.
121. Nordmann R. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol Alcohol*, 1994; 29 (5): 513-22.

122. Singh O. P, Chakraborty I, Dasgupta A, Data S. A comparative study of oxidative stress and relationship of important antioxidants in haloperidol and olanzapine treated patients suffering from schizophrenia. *Indian J. Psychiatry*. 2008; 50: 171-7.
123. Goudas LC, Langlade A, Serrie A, Matson W, Milbury P, Thurel C, Sandouk P, Carr DB. Acute decreases in cerebrospinal fluid glutathione levels after intracerebroventricular morphine for cancer pain. *Anesth Analg*. 1999; 89(5): 1209-15.
124. Shenouda SK, Lord KC, McIlwain E, Lucchesi PA, Varner KJ. Ecstasy produces left ventricular dysfunction and oxidative stress in rats. *Cardiovasc Res*. 2008; 79(4): 662-70.
125. Ozmen I, Naziroğlu M, Alici HA, Sahin F, Cengiz M, Eren I. Spinal morphine administration reduces the fatty acid contents in spinal cord and brain by increasing oxidative stress. *Neurochem Res*. 2007; 32(1): 19-25.
126. Yildiz S, Cece H, Kaya I, Celik H, Taskin A, Aksoy N, Kocyigit A, Eren MA. Impact of contrast enhanced MRI on lymphocyte DNA damage and serum visfatin level. *Clin Biochem*. 2011; 44(12): 975-9.
127. Bromer MQ, Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clin Liver Dis*. 2003; 7(2): 351-67.