

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**SEVOFLURAN VE DESFLURAN ANESTEZİSİNİN
DNA HASARI VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Ali ÇİĞDEM
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Zeynep BAYSAL**

**ŞANLIURFA
2008**

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**SEVOFLURAN VE DESFLURAN ANESTEZİSİNİN
DNA HASARI VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Ali ÇİĞDEM
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Zeynep BAYSAL

ŞANLIURFA
2008

TEŐEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalıştığım süre içerisinde, beni teşvik edip yönlendirip, bilgi ve deneyimleriyle eğitimime, uzmanlık tezimin konusunun seçimine ve hazırlanmasına yaptıkları katkılarında dolayı danışman hocam **Yrd. Doç. Dr. Zeynep BAYSAL**'a, yaptığım çalışmalarında her zaman destek, ilgi ve anlayışını gördüğüm, yetişmemde katkıları olan hocalarım **Doç. Dr. Süleyman GANİDAĞLI**' ya, **Doç. Dr. Mustafa CENGİZ**' e ve **Yrd. Doç. Dr. Cengiz Mordeniz**'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesinde en az benim kadar koşuşturan asistan arkadaşlarıma, anestezi teknisyenlerine, ameliyathane ve yoğun bakımın özverili çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Bu alışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Görevlileri **Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT**' e, **Dr. Hâkim ÇELİK**' e ve **Araş. Gör. Necla ÇELİK**'e teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, varlıkları ile bana güç ve destek veren, bu çalışmam ve uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen, mezun oluşuma kadar her türlü kahrımı çeken eşim **Gulecan** ve oğlum **Alican**'a minnettarım.

Dr. Ali ÇİĞDEM

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Genel Anestezi	3
2.2. Genel Anestezi Yöntemleri.....	3
2.3. Sevofluran.....	4
2.4. Desfluran.....	7
2.5. Serbest Radikaller.....	10
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	24
2.7. DNA Hasarları.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ.....	58
7. KAYNAKLAR.....	59

TABLO LİSTESİ

Tablo		Sayfa
I	Sevofluran 'ın yaş ile değişen MAC değerleri.....	5
II	Desfluran 'ın yaş ile değişen MAC değerleri.....	8
III	Oksijen Türevi Bileşikler.....	12
IV	Fagosit Kökenli Oksidanlar.....	19
V	Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri.....	20
VI	Antioksidan Sistem	25
VII	Demografik Özellikler.....	42
VIII	Grupların DNA Hasar Sonuçları.....	47
IX	Grup I DNA Hasar Sonuçları.....	47
X	Grup II DNA Hasar Sonuçları.....	47
XI	Grupların TAK Sonuçları.....	48
XII	Grup I TAK Sonuçları.....	48
XIII	Grup II TAK Sonuçları.....	48
XIV	Grupların TOS Sonuçları.....	49
XV	Grup I TOS Sonuçları.....	49
XVI	Grup II TOS Sonuçları.....	49
XVII	Grupların OSİ Değerleri.....	50
XVIII	Grup I OSİ Değerleri.....	50
XIX	Grup II OSİ Değerleri.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil		Sayfa
1	Sevofluran'ın kimyasal yapısı	4
2	Desfluran'ın kimyasal yapısı.....	7
3	Grupların kalp atım hızı (KAH) değerleri.....	43
4	Grupların ortalama arter basıncı (OAB) değerleri.....	44
5	Grupların transdermal oksijen satürasyon (SpO ₂)değerleri.....	45
6	Grupların ETCO ₂ değerleri.....	46

FOTOĞRAF LİSTESİ

FOTOĞRAF		Sayfa
1	DNA' da meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası fleuresan mikroskop altındaki görüntüleri	37-39

KISALTMALAR

β	Beta
μg	Mikrogram
ADP	Adenin Difosfat
ASA	American Society of Anesthesiologist
ATP	Adenin Trifosfat
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
BHT	Bütül Hidroksi Toluen
BMI	Body Mass İndex
CCl_4	Karbon Tetraklorür
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
CO	Karbon Monoksit
CO_2	Karbon Dioksit
Cu	Bakır
DAB	Diastolik Arter Basıncı
DETDA	Detra Dietilen Triamin Penta Asetat
dk	Dakika
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksi Ribonükleik Asit
DNPH	2,4-dinitrofenil hidrazin
EDTA	Etilendiamin tetraasetikasit
EEG	Elektroensefalografi
EKG	Elektrokardiyografi
ETCO_2	End tidal karbondioksit basıncı
ETZ	Elektron Transport Zinciri
F^-	İnorganik Florür
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
Fe	Demir
G	Gauge
GC	Guanilat Siklaz
GSH	Redükte Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutatyon
GSSG-R	Glutatyon Redüktaz
GST	Glutatyon-S- Transferaz
h	Saat
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
Hb	Hemoglobin
HFIP	Hegzafloroizopropanol
HNE	Hidroksinoneal
HNO	Nitröz Oksit
HNO_3	Nitrik Asit

HOCl	Hipoklorik Asit
IPPV	Aralıklı Pozitif Basıncılı Ventilasyon
İ/E	İnspiriyum/Expiriyum
im	İntramusküler
iv	İntravenöz
KAH	Kalp Atım Hızı
KAT	Katalaz
Kg	Kilogram
L	Litre
LDL	Low Dansitely Lipoprotein
LMP	Low Melting Point
LOOH	Lipidhidroperoksil
LPO	Lipid Peroksidasyon
MAC	Minimum Alveolar Konsantrasyon
MDA	Malondialdehit
Mg	Magnezyum
MIC	Minimum İntravenöz Konsantrasyon
MIR	Minimum İnfüzyon Hızı
mL	Mililitre
mmHg	Milimetre civa
Mn	Mangan
mRNA	Messenger Ribonükleik Asit
N ₂ O	Azot Protoksit
N ₂ O ₃	Dinitrojen Trioksit
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleoit fosfat
NADPH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit fosfat
NO	Nitrik Oksit
NO ₂	Azot Dioksit
NOS	Nitrikoksit Sentetaz
O ₂	Dioksijen
O ₂ ^{↑↓}	Singlet Oksijen
O ₂ [·]	Süperoksit
O ₂ ⁻²	Peroksi
O ₃	Ozon
OAB	Ortalama Arter Basıncı
OH [·]	Hidroksil
ONOO	Peroksi Nitrit
ONOOH	Peroksi Nitröz Asit
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
PaCO ₂	Arteryel Karbondioksit Basıncı
PaO ₂	Arteryel Oksijen Basıncı
PLGSH-Px	Fosfolipid Hidroperoksit Glutatyon Peroksidaz

PMNL	Polimorf Nüveli Lökosit
PO	Protein Oksidasyonu
R [·]	Radikal
RNA	Ribonükleik Asit
R-NH-X	N-Halojenli Aminler
RNM	Reaktif Nitrojen Metabolitleri
RO [·]	Alkoksil Radikali
ROM.	Reaktif Oksijen Metabolitleri
ROO [·]	Peroksi Radikali
RS [·]	Tiol Radikali
RSH	Redükte Tiol Radikali
RSO [·]	Oksi Radikali
RSO ₂ [·]	Oksisülfür Radikali
SAB	Sistolik Arter Basıncı
Se	Selenyum
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikali
SpO ₂	Periferik Oksijen Satürasyonu
SSS	Santral Sinir Sistemi
TAK	Total Antioksidan Kapasite
TBARS	Tiobarbiturik Asit Reaktif Substance
TCA	Trikloroasetik Asit
TIVA	Total İntravenöz Anestezi
Toc-OH	Tokoferol
TOS	Total Oksidatif Status
XDH	Ksantin Dehidrogenaz
XOD	Ksantin Oksidaz
XOH	Ksantin Hidroksilaz
Zn	Çinko

ÖZET

Sevofluran ve Desfluran Anestezisinin DNA Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Bu çalışmada anestezide sık kullanılan sevofluran ve desfluran gazlarının DNA ve oksidatif stres üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındıktan sonra Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniğinin ameliyathanesinde gerçekleştirildi.

Rasgele seçilen ve ASA I, ASA II sınıfı hastalar 2 gruba ayrıldı. Grup I' de , % 2 sevofluran + 3L/dk hava + 2L/dk O₂ ile Grup II' de % 6–7 desfluran + 3L/dk hava + 2L/dk O₂ ile anestezi idamesi sağlandı. Nöromusküler iletimde % 30 derlenme sağlandığı zaman 0.5 mg kg⁻¹ rokuronyum iv bolus olarak uygulandı.

Tüm gruplarda $_{ET}CO_2$ 25–35 mmHg aralığında olacak şekilde mekanik ventilasyon (Mod; IPPV, solunum sayısı; 12–15 /dk, tidal volüm; 10mL kg⁻¹, İ/E: 1/2) uygulandı.

Anestezi idamesi; anestezi ve cerrahi süresi, hastalarda gelişebilecek komplikasyonlar kaydedildi.

Hastalardan preoperatif dönemde induksiyonun hemen öncesinde ve intraoperatif 120. dakikada 5ml venöz kan alındı. Özel bir kap içerisinde soğuk ortamda en kısa sürede Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. Bu kanlarda mononükleer lökositlerden comet assay yöntemi ile DNA hasarı ölçüldü. Aynı kan örneklerinde total oksidatif durum (TOS) ve Total antioksidan kapasite (TAK) ölçüldü. Oksidatif stres indeks (OSİ) hesaplandı.

Çalışma sonunda sevofluran ve desfluran grubunda intraoperatif 120. dakikada alınan kan örneklerindeki DNA hasarlarında preoperatif değerlere göre anlamlı artış bulundu. Bu artış desfluran grubunda istatistiksel olarak daha anlamlı bulundu.

Antioksidan kapasite sonuçları her iki grupta da farklılık göstermedi. Oksidatif durum, desfluran grubunda sevofluran grubuna göre anlamlı artmış bulundu. Grup içi karşılaştırmalarda her iki grup için de intraoperatif 120. dakika oksidatif durum değerleri preoperatif değerlere göre anlamlı artış gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Sevofluran, Desfluran, DNA, Total Oksidatif Status, Total Antioksidan Kapasite

SUMMARY

The Effects Of Sevoflurane And Desflurane Anesthesia On The DNA Damage And Oxidative Stress

In this study; it is aimed to research the effects of sevoflurane and desfluran gases which are mostly used in anesthesia on DNA and oxidative stress. The study has been realized in the operating room of the Anesthesiology and Intensive Care Clinic after the applause of ethic committee of Harran University Medicine Faculty.

Randomly selected ASA I, ASA II class patients have divided into two groups. In Group I, with 2% sevoflurane + 3L/min air + 2L/min O₂, in Grup II with 6–7% desflurane + 3L/min air+ 2L/min O₂ the perpetuation of anesthesia is provided. In neuromuscular transmission when the compilation provided 0.5 mg kg⁻¹ rocuronium has applied as iv bolus. In both groups in the ETCO₂ 25–35 mmHg interval mechanical ventilation has been applied. (Mod; IPPV, Respiration Number; 12–15 /min, tidal volume; 10mL kg⁻¹, I/E: ½). The perpetuation of anesthesia, surgical duration and the complication might be evolved have been recorded.

In the preoperative period (pre-induction) and intraoperative 120th minute, 5 ml venous blood has been taken. They have been attained to Biochemistry Discipline Laboratory of Harran University Research Hospital in a special container in cold condition. In these bloods, with the method of comet assay DNA damage has been measured. From the same sample of bloods, total oxidative status (TOS) and total oxidative capacity (TAC) have been measured. Oxidative stress index has been evaluated.

In the result of the study, in the sevoflurane and desfluran groups, in intraoperative 120th minute, a meaningful increase has been observed according to the preoperative values in the damage of DNA from the blood samples. This increase has been attained more meaningful due to the statistics in the desfluran group.

Antioxidant capacity results didn't show any difference in both of the groups. The oxidative case in the desfluran group has been detected as increased with the comparison of sevoflurane group. In the comparison of inside the group for both of the groups, in the intraoperative 120th minute, the values of oxidative case has discovered with a meaningful increase according to the preoperative values.

Key Words: Sevoflurane, Desfluran, DNA, Total Oxidative Otatus, Total Antioxidant Capacity.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Genel anestezi uygulamalarında istenen; organizmanın fizyolojisine ve metabolizmasına en az zarar verecek koşulları sağlamaktır. Günümüzde kullanılan anestezik ajanlar bu şartları tam anlamıyla yerine getiremediğinden yeni ajanlar geliştirilmekte ve bu ajanların organizmaya olan etkileri araştırılmaktadır.

Sevofluran ve desfluran anestezikleri, hızlı etki başlangıcı ve anesteziden derlenme çabuk olması nedeniyle genel anestezide sıklıkla kullanılmaktadır (1, 2, 3).

Hücrelerin normal fonksiyonları sırasında açığa çıkan ve bu hücrelerin doğal antioksidan sistemleriyle yok edilen serbest oksijen radikalleri, vücutta oksidatif bir denge halindedirler. Bu oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, bu bileşiklerin zararlı etkilerinden korunmuş olur. Serbest radikal oluşum hızı antioksidan sistemin yok etme gücünü aştığında, denge bozulur ve serbest radikallere bağlı oksidatif stres ortaya çıkar (4).

Serbest radikaller; proteinler, polisakkaridler, nükleik asitler ve doymamış yağ asitleri gibi tüm biyolojik maddelerle reaksiyona girebilirler. Doymamış yağ asitleri hücre membranında yüksek konsantrasyonda bulunur ve radikallerin saldırısına uğrar. Özellikle hidroksi radikallerle membran yapılarının reaksiyonu membran lipidlerinin peroksidasyonuna yol açar. Membran bütünlüğünün bozulmasını hücre ölümü veya hücreler arası bütünlüğün bozulması takip eder (4).

Vücutta serbest oksijen radikallerinin oluşumu anestezinin tipi, süresi ve uygulanan cerrahilerden etkilenmektedir. Anestezik maddelere bağlı oksidan-antioksidan etkiler dokulara göre değişmektedir. Antioksidan kapasitenin azalması hücrelerin yaralanmasına, buna bağlı olarak DNA hasarına ve mutasyonlara zemin hazırlayabilir.

Yapılan çalışmalarda, genellikle kronik maruziyet sonrası gelişen DNA hasarı araştırılmıştır. Ameliyatla sınırlı sürelerde sevofluran ve desfluran anestezilerinin DNA hasarı ve oksidatif durum üzerine etkileri ile ilgili sınırlı sayıda araştırma mevcuttur.

Çalışmamızda, klinikte genel anestezi altında elektif cerrahi geçirecek hastalarda sevofluran ve desfluran anestezilerinin DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 GENEL ANESTEZİ

Genel anestezi, basit olarak algılama ve davranışlarda gelişen geçici değişiklikler olarak tanımlanabilir. Verilen ilaçların etkisi ile yaşamsal fonksiyonlarda önemli bir değişiklik oluşmadan gelişen geçici bilinç kaybı, geçici his kaybı ve refleks aktivitede azalma ile karakterizedir. Bu durum genel anestezi etkili ilaçların santral sinir sisteminde (SSS) yaptığı, kortikal ve psişik merkezlerden başlayıp, sırasıyla bazal gangliyonlar, serebellum, medulla spinalis ve medüller merkezlerdeki depresyonunun sonucudur. Bilinç kaybı, reflekslerin azalması ile birlikte kas gevşemesi de genel anestezinin önemli bir komponentidir (5, 6).

2.2 GENEL ANESTEZİ YÖNTEMLERİ

2.2.1. İnhalasyon anestezisi

Solunum yolu ile alınan anestezi gaz ve buharlar alveollere, oradan da kana geçer. Beyne ulaşan anestezi miktarı belli seviyeye geldiğinde genel anestezi meydana gelir. İnhalasyon anesteziplerinin meydana getirdiği genel anestezinin derinliği, doğrudan doğruya bu maddelerin beyindeki parsiyel basıncına bağlıdır. Modern anestezinin başlangıç tarihi, 1846 yılında eterin kullanılmasıyla başlar. Azot protoksitin serüveni de aynı tarih ve dönemlerden geçmiştir. Halotanın bulunması inhalasyon anestezisinde bir dönüm noktası olmuştur. En son kullanılmaya başlanan anestezipler sevofluran ve desflurandır (5, 6).

2.2.2. Total intravenöz anestezi

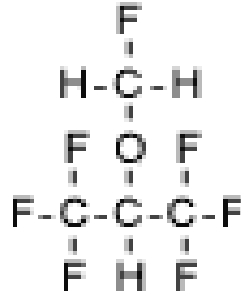
Total intravenöz anestezi (TİVA) O₂/hava karışımı ile ventile edilen hastalarda hipnotik ve analjezik ajanların kombine olarak infüzyon tarzında verildiği bir anestezi tekniğidir. Aralıklı uygulama yerine belli bir hızla sürekli intravenöz (iv) infüzyon uygulandığında ilaçların titrasyonu daha düzgün olur.

Total intravenöz anestezide en sık kullanılan ajanlar; propofol, opioidler ve benzodiazinlerdir. Propofol hızlı indüksiyon, uyanma ve derlenme sağladığından TİVA'de sık kullanılan ajanlardan biridir (5, 6).

İdeal bir iv anestezi ajanının; hızlı, düzgün ve güvenilir bir hipnoz ve derlenme sağlaması; vital fonksiyonlar üzerine minimal etki göstermesi analjezik etkisinin olması; birikici etki göstermemesi; inaktif metabolitlere yıkılması; hipersensitivite, enjeksiyon yerinde ağrı, bulantı, kusma gibi yan etkilerinin olmaması; stabil bir solüsyon halinde olması; tercihen sudaki solüsyonun bulunması, travma ve cerrahi strese uygun yanıt oluşturmaması, oksidatif-antioksidatif durumu hastanın lehine çevirmesi istenir. Ancak henüz böyle ideal bir iv anestezi madde yoktur. Bu ilaçlara karşı gelişen istenmeyen etkilerin bir kısmı, ilacın kendine ait ve beklenen reaksiyonlar iken bir kısmı da beklenmedik şekilde ve şiddette ortaya çıkan aşırı duyarlılık reaksiyonları olabilir (5).

2.3 SEVOFLURAN

Kimyasal formülü $[\text{CH}_2\text{F}-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2]$ (florometil-2,2,2-trifluoro-1-(triflorometil) etil eter) olan sevofluran yanmayan, patlamayan bir gazdır. Hoş kokuludur. (Şekil 1).



Şekil.1 Sevofluranın kimyasal yapısı

2.3.1. Tarihçesi:

Sevofluran 1960 yılında Regan Wallib tarafından sentez edilmiş, 1970'de Japonya'da kullanılmaya başlanmıştır. 1990'larda Amerika Birleşik Devletleri'nde piyasaya sürülmüştür (7, 8, 9, 10).

2.3.2. Fiziko-kimyasal Özellikleri:

Sevofluranın kaynama noktası 58.6°C, buhar basıncı 24/25 °C'de 197mmHg dir. Kan/gaz çözünürlük katsayısı 0.65, beyin/gaz çözünürlük katsayısı 1.7, yağ/kan çözünürlük katsayısı 48'dir.

2.3.3 Minimum Alveoler Konsantrasyon Değeri (MAC):

Minimum alveoler konsantrasyon (MAC); insan veya deney hayvanlarının yarısında, 1 atmosfer basıncında standart bir ağrılı uyarana (cerrahi insizyon gibi) cevapsızlık oluşturan alveoler anestezi konsantrasyonunu tanımlamaktadır. MAC, anestezi ajanının beyin parsiyel basıncının göstergesi olduğundan anestezi ajanlarının etkinliğinin karşılaştırılmasına imkân verir.

Yetişkinlerde sevofluranın MAC değeri oksijen içerisinde %2, %60 azotprotoksitde % 0.66 olarak bulunmuştur. Çocuklarda ise oksijende %2.6, nitrozoksit-oksijende ise %1.98'dir (Tablo I) (7).

Tablo I. Sevofluranın yaş ile değişen MAC (%) değerleri

Yaş	MAC (Sevofluran / O ₂)
1–6 ay	% 3.3
1–12 yaş	%2.6
30–55 yaş	%2.0

2.3.4. Farmakokinetiği:

Sevofluran hızlı bir anestezi indüksiyonu için hem çocuklarda hem erişkinlerde kullanılabilir. Salivasyon, nefes tutma, öksürük veya laringospazm insidansı halotandan daha düşüktür veya onunla karşılaştırılabilir. Sevofluran, inhalasyon anestezi indüksiyon teknikleri için uygun bir anestezi gazdır. Maske ile inhalasyon indüksiyonu, intravenöz (iv) indüksiyon kadar hızlı ve yumuşak uygulanabilir. İndüksiyon hızına etki eden faktörler kan/gaz çözünürlüğü, alveoler ventilasyon, kalp atım hacmi, inspire edilen ajan yüzdesi ve hava yolu irritasyonunun derecesidir.

2.3.5. Metabolizması

Bütün inhalasyon ajanları bir derecede metabolik dönüşüme uğrarlar. Sevofluranın biyotransformasyonunun saptanmış yegane metabolik ürünleri heksafloroizopropanol (HFIP) ve inorganik florürdür (F⁻). Sevofluranın metabolizma hızı %5 veya izofluranın 10 misli kadardır.

Heksafloroizopropanol hızla glukuronik asit ile konjuge edilerek idrar metaboliti olarak elimine edilir. İnorganik flor sevofluran anesteziinden sonra 2-3

saatte doruk yapmakta genellikle anesteziden 48 saat sonra bazal konsantrasyonlara yaklaşmaktadır.

Sodalime, baralime gibi CO₂ absorbanlarıyla etkileşir. Bileşik A denilen flouro metilli bir vinileter ile bileşik B oluşur (7, 9, 10, 11, 12).

2.3.6. Sistemlere Etkileri:

2.3.6.1. Kardiovasküler Sistem Üzerine Etkileri: Sevofluran, dolaşım sistemini ve miyokardiyal kontraktileti deprese eder. Sistemik vasküler rezistans ve arteriyel kan basıncında, izofluran ve desflurana göre daha az düşüş olur. Bunun nedeni, kalp hızı ve kardiyak debiyi fazla değiştirmeden etki göstermesidir. Hem (-) inotropik hem de (-) lusitropik bir ajandır. Sistemik vazodilatasyon yapar. Koroner kan akımını %29 oranında artırır. İskemi sırasında bile koroner kan akımı sevofluran anestezisi sırasında korunur ve koroner steal sendromu tanımlanmamıştır. Disritmik etkisi olmadığı ileri sürülmektedir (7, 13, 14).

2.3.6.2. Solunum Sistemine Etkileri: Sevofluran, diğer inhalasyon ajanları gibi doza bağlı solunum depresyonu yapar. Doza bağlı olarak tidal volümde ve dakika ventilasyonda azalma, buna karşılık solunum frekansında artma meydana getirir. Sonuçta, PaCO₂ artar ve CO₂'deki bu artışa solunum cevabı azalır. Sevofluranın solunum depresyonu yapması; medüller solunum nöronların santral depresyonu, diafragmanın fonksiyon ve kontraktilesinin depresyonu sonucudur.

Sevofluranın bronş düz kasında relaksasyon meydana getirdiği ileri sürülmektedir. Ayrıca hipoksik pulmoner vazokonstrüksiyonu inhibe ettiği de gösterilmiştir. Sevofluran diğer inhalasyon ajanlarına benzer bronkodilatasyon meydana getirir (7, 11, 14).

2.3.6.3. Santral Sinir Sistemine Etkileri: Sevofluran, serebral vasküler rezistansı ve serebral metabolik hızı azaltır. Artan dozlarda uygulandığında, kafa içi basıncı arttırmayacağı görülmüştür. Sevofluran anestezisi sırasında serebral otonöregülasyonun sağlandığı ileri sürülmektedir (7, 11, 15).

2.3.6.4. Karaciğer Üzerine Etkileri: Sevofluran metabolizması trifluoroasetik üzerinden olmadığından hepatotoksik yan etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Karaciğer kan akımı üzerine etkisi az olarak görülmektedir. Albumin, transferin ve fibrinojen sentezini %60–70 oranında azalttığı

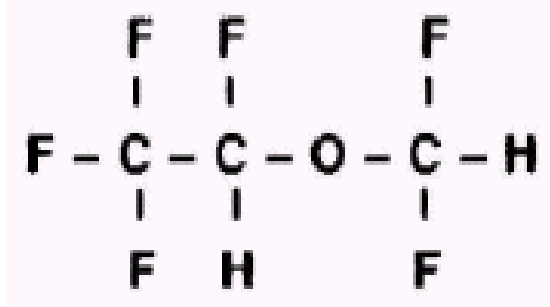
görülmektedir. Sevofluran sitooksijenaz aktivitesini baskıladığı için trombosit agregasyonunu azaltır (7, 11)

2.3.6.5. Böbrekler Üzerine Etkileri: Sevofluran anestezisi sırasında, inorganik fluoride düzeyi yükselse de böbrekte defluorinizasyon az olması nedeniyle nefrotoksisite görülmediği bildirilmiştir. Sevofluran metabolizması ürünlerinden Compound A, soda lime ile etkileşerek böbrek korteks-medulla bileşkesindeki hücrelerde mikroskopik hasar oluşturmaktadır. İdrar konsantrasyon yeteneğini etkilediği bildirilmemiştir (11, 15).

2.3.6.6. Nöromusküler Sisteme Etkileri: Sevofluran, kaslarda yeterli derecede gevşeme meydana getirir. Ek olarak sevofluran non depolarizan nöromusküler blokerlerin etkisini potansiyelize eder (5, 7)

2.4 DESFLURAN

Kimyasal formülü CHF₂-O-CHFC₃ olan desfluranın kimyasal yapısı şekil 3'de verilmektedir.



Şekil 2. Desfluran'ın kimyasal yapısı.

2.4.1. Tarihçesi

Desfluran 1960 yılı başında Terrell ve arkadaşları tarafından Ohio Medical Products laboratuvarlarında sentezlenmiştir. Orijinal adı I-653 olan Desfluran, florla halojenlenmiştir. Buharlaştırma basıncının 1 atmosfere (Atm) yakın olması ve sentezlenmesindeki güçlükler nedeniyle başlangıçta dikkat çekmemiştir. 1980'lerde gününbirlik anestezinin popülerite kazanması nedeniyle tekrar araştırılmaya başlanmış ve 1993'de kullanılmaya başlanmıştır (16).

2.4.2. Fizikokimyasal özellikleri

Desfluran, bir metil etil eter olup, kimyasal olarak izoflurandan farkı, alfa metil kökündeki klor atomu yerine bir flor atomu bulunmasıdır. Bu değişiklik molekülün kandaki eriyebilirliğini azaltmaktadır (16).

Kaynama noktası: 23.5 °C, buhar basıncı: (20 °C) de 644 mmHg'dır. Buharlaştırma basıncının oda ısısında 1 Atm olması nedeniyle standart vaporizatörlerle uygulanamaz. Bunun için özel desfluran vaporizatörü geliştirilmiştir. Desfluranın kan/gaz çözünürlük katsayısı 0.42, beyin/kan çözünürlük katsayısı 1.3, yağ/kan çözünürlük katsayısı 27'dir. Kan/gaz çözünürlük katsayısının düşüklüğü induksiyon ve ayılmanın hızlı olmasını, yağda erirliğinin az olması da etkinliğinin azlığını ve MAC değerinin yüksekliğini açıklar (3, 16).

2.4.3. Minimum Alveoler Konsantrasyon Değeri (MAC)

Minimum alveoler konsantrasyon (MAC); insan veya deney hayvanlarının yarısında, 1 atmosfer basıncında standart bir ağırlı uyarana (cerrahi insizyon gibi) cevapsızlık oluşturan alveoler anestezi konsantrasyonunu tanımlamaktadır. MAC, anestetik ajanın beyin parsiyel basıncının göstergesi olduğundan anestezi ajanlarının etkinliğinin karşılaştırılmasına imkan verir (17).

Desfluranın MAC değeri çeşitli deneklerde % 5.7-10 arasında olup insanda oksijen içinde % 5.17 -7.25, % 60 azot protoksit içinde % 4 olarak bulunmuştur (3, 18).

Tablo II. Desfluran'ın yaş ile değişen MAC (%) değerleri.

Yaş	MAC (Desfluran/O ₂)
18-30	% 7.25
31-65	% 6
65 ve üstü	% 5.17

2.4.4. Metabolizması

Desfluran kimyasal olarak stabil bir bileşiktir. Degradasyon ve toksisite arasında potansiyel bir ilişki olduğu için desfluran'ın degradasyona direnci bu ilacın güvenilirliğinin göstergesidir. Desfluran, kurutulmuş CO₂ absorbanları (özellikle baryum hidroksit laym) tarafından klinik olarak önemli düzeylerde karbon monoksit (CO) parçalanır. Burada kullanılan absorbanın tipi, ısısı ve kuruluğu da CO oluşumunu ile doğrudan etkilemektedir. CO oluşumunun, bazik ortamda ajanın yıkımına bağlı olduğu savunulmaktadır. Ayrıca sodalime ile çok uzun süreli temasında düşük miktarlarda fluorofom ortaya çıkmaktadır (CHF₃) (5, 6, 19).

Karaciğerinde metabolizması sonucu oluşan florid ölçülmeyecek derecede azdır. Desfluran kullanımından sonra hiç hepatotoksisite ve nefrotoksisite bildirilmemiştir.

Desfluran düşük doku çözünürlüğü sayesinde daha hızlı vücuttan atılır. Eliminasyonu sırasında, alveoler konsantrasyonu hızla düşer (5, 6).

2.4.5. Sistemlere etkileri

2.4.5.1. Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri: Desfluranın insanda kontrollü ventilasyon sırasında 0.83 ile 1.66 MAC arasındaki değerleri kardiyovasküler fonksiyon ve miyokardiyal kontraksiyon üzerinde doza bağlı depresyon oluşturur. Santral venöz basınçta ve kalp hızında doza bağlı artış; sistemik vasküler direnç, art yük, atım hacmi ve ortalama arteriyel basınçta düşme gözlenir. Sol ventrikül atım hacminin azalmasına rağmen kalp debisi sabit tutulur. Desfluran anestezi süresinin artması (> 7 h) durumunda tolerans gelişimine bağlı olarak, kardiyovasküler depresyon etkileri daha da azalır. Desfluran koroner steal sendromuna neden olmaz (3).

2.4.5.2. Solunum sistemi üzerine etkileri: Desfluran doza bağımlı olarak tidal volümde düşme ve buna bağlı solunum frekansında artmaya neden olur. Desfluran ventilasyon hızındaki artmaya rağmen, dakika volümü ve alveoler ventilasyonu azaltır. Doza bağımlı olarak diğer etkileri şunlardır; PaCO₂ artması, CO₂'e olan ventilasyon cevabında azalma, intrapulmoner şant oranının artması, ölü boşluk ventilasyonunun tidal ventilasyona olan oranının artması (20).

Keskin kokusu ve hava yolu irritasyonu nedeniyle desfluran indüksiyonu sırasında tükürük salınımında artma, nefesin tutulması, öksürük ve laringospazm oluşabilir (21).

2.4.5.3. Santral sinir sistemi üzerine etkileri: Diğer inhalasyon anesteziği gibi desfluran serebral damarları direkt olarak genişleterek normotansiyon ve normokarbide serebral kan akımını ve intrakranial basıncı artırır. Desfluran ile oluşturulan hipotansiyon sırasında metabolik gereksinimler için yeterli perfüzyon sağlanır (16, 20). Desfluran kullanımı ile oluşan epileptik aktivite rapor edilmemiştir (21).

2.4.5.4. Böbrekler Üzerine Etkileri: Desfluran doza bağlı olarak böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını düşürür. Buna rağmen Desfluran kullanımı ile gelişen nefrotoksisite bildirilmemiştir.

2.4.5.5. Karaciğer Üzerine Etkileri: Desfluran karaciğer fonksiyon testlerini etkilemez. Karaciğer kan akımını azaltır. Diğer ilaçların klirensini etkileyebilir.

2.4.5.6. Nöromusküler Sisteme Etkileri: Desfluran, nöromusküler fonksiyonları deprese eder. Trakeal entübasyon için yeterli kas gevşemesi sağlar. Desfluran da diğer volatil ajanlar gibi non depolarizan kas gevşeticilerin etkisini artırmaktadır (16).

2.5 SERBEST RADİKALLER

Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdekle, bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Atom çekirdeğinin çevresindeki, elektronların bulunduğu boşluğa da orbital denir. Her bir orbitalde spinleri birbirine zıt ($\uparrow\downarrow$) olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşleşmiş veya ortaklanmış elektronlar denir

Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş ve ters pozisyonda yer aldıklarından kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulunduklarında bozulur.

Serbest radikaller; bu şekilde atomik veya moleküler yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş "elektron" bulunduran basit bir molekül, atom veya iyonudur. Başka bir ifadeyle serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının, pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir Serbest radikaller

molekölün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgi ile gösterilir($R\cdot$, R^-) (22, 23, 24, 25, 26).

Serbest radikaller bu ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler.

2.5.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız yapısını giderebilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak “Oksijen Radikalleri”ni oluşturur(27).

Serbest oksijen radikalleri, oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu oluşan çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleridir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Süperoksit radikali
2. Hidrojen peroksit
3. Hidroksil radikali
4. Singlet oksijen
5. Hipoklorik asit radikali

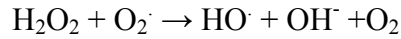
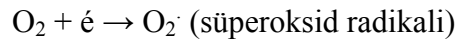
Oluşan radikal, eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non-radikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Oksijen serbest radikalleri sonlarına -i veya -il eki getirilerek isimlendirilirler; Hidroksi/hidroksil, peroksi/peroksil gibi. Reaktif oksijen türleri, maruz kalınan miktar ve süreye bağlı olarak hücre fonksiyonlarını bozarlar.

Tablo III. Oksijen Türevi Bileşikler

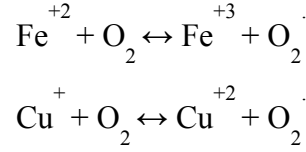
Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO [·])	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO [·])	Singlet Oksijen (O ₂ ^{↑↓})
Peroksil (ROO [·])	Ozon (O ₃)
Superoksit (O ₂ [·])	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO [·])	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ [·])	Peroksinitrit (ONOO [·])

2.5.1.1. Süperoksit Radikali (O₂[·])

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali, O₂[·]), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O₂⁻²) oluşur (28). Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO[·] radikalleri oluşmaktadır.



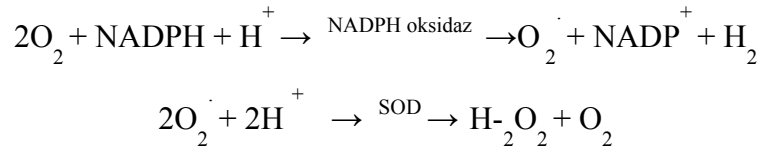
Üretilen bu OH[·] radikalleri oldukça reaktif olup, DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (29). O₂[·] radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir.



Süperoksit radikali, hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan, indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Esas önemi, hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir.

Bu özelliğinden dolayı da olduğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir. Ancak doğrudan doğruya hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir(30).

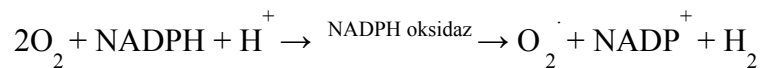
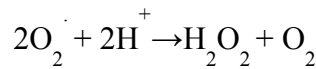
Ayrı bir reaksiyon olarak nötrofillerde süperoksit radikali plazma membranının dış yüzeyine yerleşmiş bulunan NADPH oksidaz aracılığı ile olur. Uygun bir uyarı ile fagositik hücre uyarıldıktan sonra NADPH oksidaz aktive olur. NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül $\text{O}_2 \cdot$ oluşur (31).

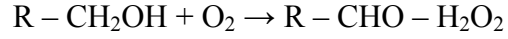


2.5.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) oluşturur(32, 33).

H_2O_2 , süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.





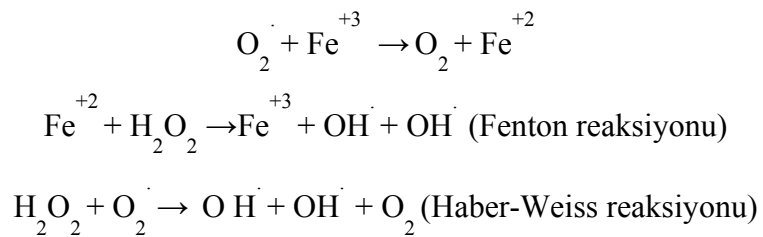
H_2O_2 , membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi eşleşmemiş elektronu olmadığından bir serbest radikal olarak kabul edilmediği halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (34).

Tiroid hücrelerinin apikal plazma membranları üzerinde bulunan NADPH-oksidad tarafından direkt olarak H_2O_2 üretilir. H_2O_2 üretimi, birçok bakteri türünde, fagositik hücrelerde, spermatozooda olduğu gibi hücrelerde de mitokondride, mikrozoamlarda ve kloroplastlarda olur.

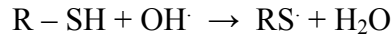
Peroksizomlar çok önemli hücre içi H_2O_2 kaynağıdır. Bu organeldeki D-amino asid oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asid oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar(35).

2.5.1.3. Hidroksil Radikalleri (HO \cdot)

Hidroksil radikali (HO \cdot), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur



OH[·] radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH[·] DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH[·] aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: Timine katılarak timin-radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil-radikaline dönüşmektedir. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH[·] DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir . DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.



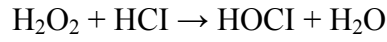
Sonuçta oluşan sülfür radikalleri ilginç kimyasal özelliklere sahiptir. Sülfür radikalleri, O₂[·] ile kombine olabilir ve oksisülfür radikallerini oluşturur. RSO₂[·] ve RSO[·] gibi bunların bir çoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar.

2.5.1.4. Singlet Oksijen (O₂^{↑↓})

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal sayılmamıştır ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattığı için radikal sınıfına sokulan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur (32). Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir.

2.5.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli rol oynarlar. Aktive olan nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini ($O_2^{\cdot-}$) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz etmektedir. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce $O_2^{\cdot-}$ 'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonuyla birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.



2.5.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO[·])

Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir NO bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır(36). Bu lipofilik serbest radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'nun yarı ömrü 10–20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. Sentezlenen NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir.

2.5.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında gelebildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır.

2.5.3.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları

Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Metabolik sürecin ilerleyebilmesi için bu bileşiklerin ara ürün olarak oluşmaları kaçınılmazdır (37).

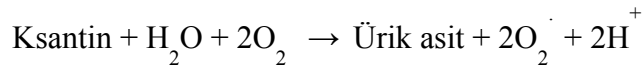
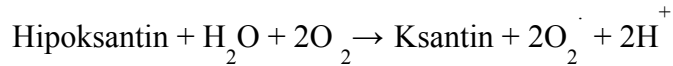
2.5.3.1.1. Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu

Nötral ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otoksidasyon ile serbest radikalleri oluşturur. Bunlar arasında hemoglobin, hormonlar ve doymamış membran lipitleri de vardır. Tüm bu bileşikler ile önce O_2^{\cdot} , daha sonra O_2^{\cdot} 'nin reaksiyonları ile diğer radikaller oluşur (37).

2.5.3.1.2. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

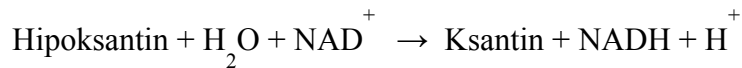
Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz gibi enzimler bunlardan bazılarıdır.

Ksantin oksidaz normalde NAD-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat, in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürik aside oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir (38).



Ksantin oksidaz iskemik dokuların reperfüzyon hasarında rol alır .

Hipoksantin- ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir(39).



Ksantin oksidaz özellikle barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda yaygın olarak bulunur

Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğu aynı olup, süperoksit radikali üretir.

2.5.3.1.3. Mitokondriyal Elektron Transferi

Mitokondriyal solunum zinciri sırasında NADH; $FADH_2$ gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması sırasında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır

İskemi, hemoraji, travma, enfeksiyonlar, radyoaktivite etkisi veya alerjik durumlarda mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve oksidan moleküllerin düzeyi artar.

2.5.3.1.4. Mikromozal Membran Elektron Transferi Zincirleri

Endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinin yer aldığı mikrozomal membran sistemi, birçok sentez ve yıkım enzimleri yanında, flavaprotein (NADH-sit c redüktaz ve NADH-sit b5 redüktaz) ve hemoprotein (sitb5, sit p450)'lerin rol aldığı iki elektron transport sistemini içerir .

Mikrozomlarda yer alan bu elektron transport sistemleri, bir yandan normal metabolizma sonucu oluşan nonpolar bileşikleri hidroksillenmiş türevlerine dönüştürüp bunlara daha polar özellik kazandırırken, diğer yandan organizmaya yabancı maddeleri de metabolize ederler .

2.5.3.1.5. Peroksizomlar

Çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasid oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2 üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak KAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir.

2.5.3.1.6. Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarında prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi prekürsörü arşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında arşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur.

Araşidonik asid oksidasyonu başlatılmış bir serbest radikal reaksiyonudur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin her ikisi de aktiviteleri için peroksitlere ihtiyaç duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. Öte yandan lipooksijenaz lipid peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (37).

Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden bu esnada reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterirler.

2.5.3.1.7. Fagositoz

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini artırırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar . Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar.

Tablo IV. Fagosit kökenli oksidanlar

Trombositler	H_2O_2 , O_2 , OH
Nötrofiller	H_2O_2 , O_2 , OH , $HOCl$
Eozinofiller	H_2O_2 , O_2 , OH , $HOCl$
Makrofajlar	H_2O_2 , O_2 , OH , $HOCl$, NO

Kan monositleri, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler, immunojenik veya özel bir uyararla uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosite edilmiş, patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin

dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutojenik etki oluşturabilirler.

2.5.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları

Organizmanın doğasından kaynaklanmayan, sadece dış etkenlerin varlığında oluşan reaksiyonlar sonucunda da serbest radikaller açığa çıkabilir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

-Antineoplastik ajanlar

-Radyasyon

-Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular.

-Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar.

-Stres: Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır.

2.5.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar(33, 34).

Tablo VI. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri

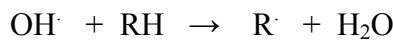
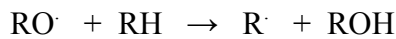
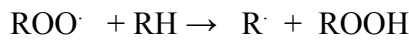
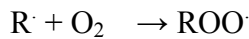
Doymamış yağlar	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon Lipidlerde çapraz bağlanmalar Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	Hidroksilasyonlar, Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar, Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Kükürtlü amino grup asitler	Protein denatürasyonu ve çaprazlanma
Proteinler	Enzimlerde inhibisyon Peptid zincirlerinde kopma Denatürasyon
Nükleik asitler	Tek ve çift iplikçik kırılmaları Proteinlerde çapraz bağlar Baz içermeyen bölgeler
Hiyaluronik asit	Sinovyal sıvı akışkanlığında değişme

2.5.4.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır). Serbest radikallerin en belirgin etkileri lipidler üzerindedir. Bu etki lipid peroksidasyonu (LPO) olarak tanımlanır. LPO bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve progresyonunda rol oynamaktadır(23, 40, 41, 42).

Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalın süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır.

Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir ve RH dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder.



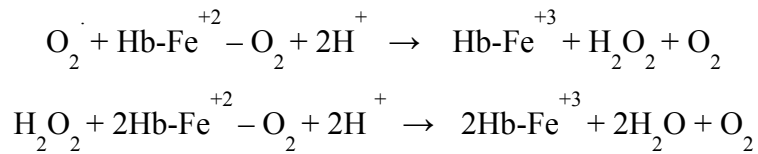
Bir çok olayda bu şekilde oluşan lipit peroksiti RO \cdot ve OH \cdot verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R \cdot radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur.

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder.

Malonildialdehid (MDA) üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelir ve tiyobarbitürik asitle ölçülebilir. Bu metod lipid peroksit düzeylerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA; yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon göstermektedir (24, 43).

2.5.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin O_2^{\cdot} veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (44).



2.5.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler.

Karbonhidrat oksidasyon ürünü olan Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar(45).

Glikozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskositesinde önemli rol oynayan hyalüronik asitin reaktif oksijen türleri ile etkilenmesi sonucu bağ dokusu stabilitesi bozular. Synovial sıvıya geçen PMNL'lerden extrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2 buradaki mukopolisakkarit olan hyalüranoik asidi parçalarlar .Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunur. Bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (4, 40).

2.5.4.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır (39, 46).

Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asid (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler.

Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer .

Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (47).

Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur.

Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır . C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler) ve formamidopirimidinler oluşur

Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir. İndirgeyici ajanlar formamido- pirimidinlerin oluşumunu

arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir (4, 23, 25).

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır. Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli radikaller parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. C1 merkezli radikallerin oksidasyonu ile şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurlar. Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağı kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikaline dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır. DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

2.6 ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta "antioksidan savunma sistemi" adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar. Savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır ve savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır.

2.6.1. Antioksidan etki mekanizmaları

A. Toplayıcı (scavenging) etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler bu tipte etki gösterirler.

B. Bastırıcı (quencher) etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ve inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki denir. A vitamini ve flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

C. Onarıcı (repair) etki:

D. Zincir kırıcı (Chain breaking) etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller zincir kırıcı özellik gösterirler.

Tablo VI. Antioksidan Sistem

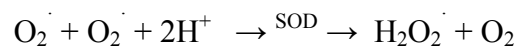
Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon (GSH)	Albümin
Katalaz (KAT)	α -Tokoferol (vit E)	Seruloplazmin
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	Askorbat (vit C)	Transferrin
Glutasyon S-transferaz (GST)	β -Karoten	Laktoferrin
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Flavonoidler	Melatonin
Mitokondriyal Sitokrom oksidaz	Ürat	Sistein
	Bilirubin	

2.6.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.2.1. Süperoksit Dismutaz

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksitin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimidir(28, 48).

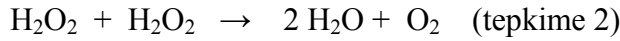
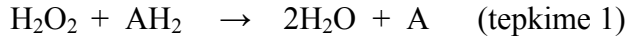
Oluşan hidrojen peroksidin (H_2O_2) bloke edilmesi için bundan sonraki reaksiyonların katalaz ve glutasyon peroksidaz ile tamamlanması gerekiyor.



2.6.2.2. Katalaz

Katalaz (KAT), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Daha çok peroksizomlarda lokalizedir. KAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır(44, 49).

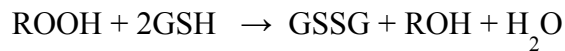
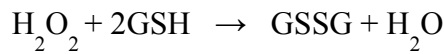
H₂O₂ oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1) veya H₂O₂ oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdaki uzaklaştırır.



2.6.2.3. Glutasyon Peroksidaz

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu, selenyum içeren bir enzimdir. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde etkili enzimdir(42).

Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir.

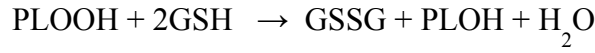
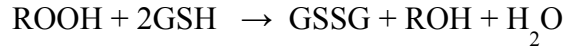
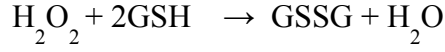


GSH-Px'in, hücredeki dağılımı, GSSG-R'a bağlıdır. Her iki enzim de sitozolde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur.



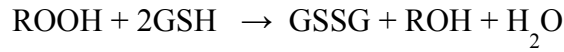
Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan

olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar.



2.6.2.4. Glutasyon S-Transferaz

“Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px” olarak adlandırılır. Membran LPO’nu yalnızca fosfolipaz A2’nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite göstererek antioksidan etki gösterir (51) .



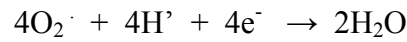
2.6.2.5. Glutasyon Redüktaz

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), GSSG-R’in katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH’a ihtiyaç vardır(44).



2.6.2.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.

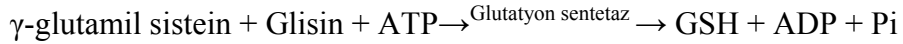
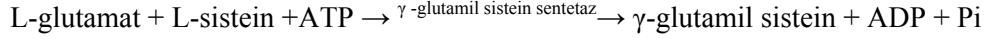


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak, süperoksit üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksitin zararlı etkilerine engel olurlar (52, 53).

2.6.3. Nonenzimatik Antioksidanlar

2.6.3.1. Glutasyon

Redükte glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilir(54, 55).



Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur .

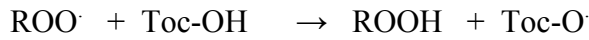
2.6.3.2. Vitamin E (α -Tokoferol)

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır.

Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim, teşekkül etmiş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (44, 47).

Sellüler ve subsellüler membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturduğu ve bu nedenle bu bölgelerde yoğunlaştığı düşünülmektedir (47).

Vitamin E eksikliğine bağlı hücrel hasarlara, lipid peroksidasyonunun yol açtığı kabul edilmektedir.



2.6.3.3. Askorbik Asit

C vitamini, Suda çözünme özelliği gösterir; ancak lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur.

C vitamini, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. E vitaminin rejenerasyonunda görev alarak tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte LDL oksidasyonunu etkili bir şekilde engellemiş olur.

C Vitamini, fagositoz için de gereklidir. Bu vitaminin kemotaktik cevabı artırdığı görülmüş; oksidatif patlama sırasında çevreye yayılan reaktif bakterisidal moleküllerin antibakterisidal etkisini sağlayan intrasellüler konsantrasyonlarında bir azalma yapmadan, oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini önlediği gözlemlenmiştir.

2.6.3.4. Karotenler

Doğada yaygın olarak bulunan ve hücreleri korumada önemli görevleri olan pigmentlerdir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan vazife gördüğü tesbit edilmiştir (56, 57).

2.6.3.5. Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca besinsel kaynakları elma, portakal, limon gibi meyveler ile patates, karnabahar gibi sebzelerdir. Şarap, üzüm suyu ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde de bulunurlar.

Flavonoidler, 3'-4' dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan aktiviteye sahiptir. Fenolik antioksidan, lipid radikallere hızla H^{\cdot} vermesi şeklinde lipid oksidasyonu ile etkileşir. Görevi ROO^{\cdot} ve RO^{\cdot} radikalini parçalamak ve böylece LPO zincir reaksiyonunu sonlandırmaktadır (58).

2.6.3.6. Ürat

Süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisizleştirir fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. C vitamini oksidasyonunu da engeller(59).

2.6.3.7. Bilirubin

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok efektif bir lipid antioksidandır. Bilirubinin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakalayıp zincir kıran antioksidan olarak davranır (34, 60).

2.6.3.8. Albümin

Albümin kuvvetli şekilde bakır ve zayıf olarak da demiri bağlar. Yüksek konsantrasyonlarda (40–60 mg/ml) bulunur. Albumine bağlı bakır, Fenton

reaksiyonuna katılabilir fakat albumin yüzeyinde oluşacak olan OH radikali albumin tarafından temizlenir ve radikalın serbest solüsyona kaçmasına izin vermez. Bu biyolojik olarak önemli olmayan, albumine ait bir reaksiyon örneğidir. Aynı zamanda myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler (61).

2.6.3.9. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı akut faz proteini olan seruloplazminden kaynaklanır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın Fe(II)'yi Fe(III)'e oksitler. Seruloplazmin demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer (57).

2.6.3.10. Transferin ve Laktoferrin

Demiri bağlayarak lipid peroksidasyonu ve demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonlarına katılımını durdurur veya yavaşlatır (44).

2.6.3.11. Melatonin

En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır. Lipofilik özelliğe sahiptir. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyerini de kolayca geçer. DNA hasarını da çok etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Yaş artımı ile birlikte melatonin üretimi de azalmaktadır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli olabileceği düşünülmüştür (59).

2.6.3.12. Sistein

Süperoksit ve hidroksil radikallerinin toplayıcısıdır.

2.7 DNA HASARLARI

2.7.1. Çekirdek DNA'sında gelişen oksidatif hasar

Stabil bir molekül olan DNA da, lipidler, karbonhidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde yüzlerce kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (62). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır.

Yeni doğan sıçanlarda dahi oksidatif baz modifikasyonunun (8OHdG) olduğu gösterilmiştir (63). Serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve/veya DNA onarım mekanizmalarında defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır (64, 65).

Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), glikoz hasarı meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir (64, 65).

1- "Fenton Kimyası" hipotezinde OH[·] radikalleri DNA'ya saldırarak hasar oluşturur. O₂ gibi H₂O₂' de doğrudan DNA'da hasar yapmaz. OH[·] radikalinin DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir.

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe^{+2/+3} ve Cu^{+1/+2} iyonları negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler. Redoks aktif transisyon metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü H₂O₂'in hedefi haline getirmektedir (62). DNA'ya bağlı metal iyonları ile H₂O₂'in DNA üzerinde reaksiyonlaşmasından oluşan OH[·] radikalleri, OH[·] radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmamaktadır. Ayrıca, OH[·] radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir (66).

2-Nükleaz aktivasyonu hipotezine göre oksidatif stres, sitozolik Ca⁺² iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nukleusdaki Ca⁺² bağımlı endonükleazları aktive etmekte ve DNA'nın fragmantasyonuna neden olmaktadır. Nükleaz aktivasyonu DNA bazlarında kimyasal değişikliklere neden olmamaktadır. Ca⁺² şelatörlerinin kullanımı ile DNA hasarının engellenebildiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (67). *İn vivo* her iki hipotezin de birlikte geçerli olduğu kabul edilmektedir. Hücre tipine ve oksidatif stres etkenine bağlı olarak mekanizmalardan biri öne çıkmaktadır. Metal iyonlarının varlığı reaksiyon hızını, mekanizmasını ve baz modifikasyonunun türünü etkilemektedir (67).

Reaktif nitrojen metabolitleri (RNM; NO₂, ONOOH, N₂O₃, HNO₃) DNA bazlarının nitrolanmasına veya deaminasyonuna neden olmaktadır. RNM etkisi ile sitozinden urasil, guaninden ksantin ve adeninden hipoksantin oluşmaktadır.

Ayrıca lipid radikalleri de $O_2^{\uparrow\downarrow}$ gibi OH^\cdot radikallerinden daha özgün davranır ve tercihen guanin bazına etki eder. Oluşan başlıca lezyon tek dal kırıklarıdır.

DNA'da oksidatif hasar ile ilk oluşan lezyon dal kırıklarıdır. Dal kırıkları DNA onarımı sırasında nukleaz aktivitesi ile de oluşabileceğinden her zaman oksidatif DNA hasarını göstermemektedir. Tek dal kırıklarında, diğer daldaki bilgi doğru okunarak 'hasarlı dal onarıcı enzimlerle onarılabildiğinden çift dal kırıkları daha önemlidir (65). OH^\cdot radikali pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirmektedir.

Aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları mutlaka gereklidir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilmektedir. Ancak, DNA onarım enzimleri ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar (62). DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşmektedir. DNA'da dal kırıklarının oluşumundan sonra DNA onarım mekanizmasının bir komponenti olan NAD⁺ bağımlı poli ADP-riboz polimeraz enzimi (PARP) aktive olmakta ve DNA hasarı belirli bir düzeyi aştığında aşırı NAD⁺ ve ATP tüketimi sonucunda hücre ölüme gitmektedir. Hücrenin 'NAD⁺-bağımlı programlı ölümü' olarak adlandırılan bu olayın, yaygın hasarlı DNA'ya sahip hücrelerde, malign potansiyelli somatik mutantların oluşumunu engellemeye yönelik 'intihar yanıt' olduğu öne sürülmüştür(68). Orta düzeylerdeki oksidatif DNA hasarının maligniteye yol açma olasılığı çok yüksektir (67).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analizlenmiştir. Cu^{+2} iyonları DNA'da G-C'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğundan oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanindir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı 8OHdG'dir. 8OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir "biomarker"ı olarak kabul edilmektedir (64, 65, 69).

2.7.2. Mitokondriyal DNA'da Oksidatif Hasar

Mitokondri, disfonksiyonu önemli sonuçlara neden olan bir organeldir. Mitokondriyal disfonksiyona bağlı olarak membran potansiyeli azalır, serbest oksijen radikali oluşumu artar. ATP sentezinde azalma olur, potansiyel toksisiteleri olan Ca^{+2} iyonlarının tutulumu azalır. Oksidatif hasara bağlı mutasyonel yk artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin azalması/hasarlanması mitokondrilerin hasar ve mutasyona yatkınlığını arttırır(70). mtDNA'nın ROM' ların başlıca oluşum yeri olan i membrana yakınlıkları ve koruyucu histonlarının bulunmaması nedeni ile oksidasyon riski yüksektir. Protein ve lipidler kolay bir şekilde yıkılıp yeniden sentezlenebildikleri halde, DNA'daki oksidatif modifikasyonlar mutasyonlar ve diğer genomik instabilizasyonlardan dolayı kalıcı hale gelir (71).

Mitokondriyal elektron transport zincirinden (ETZ) elektron kaçağı sonucu oluşan serbest radikaller önce mitokondride ve sonra hücrede hasar oluşurmaktadır. Bu kısır döngü belli bir yaştan sonra ölüm hızında görülen büyük artışı açıklamaktadır (72, 73).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun ve hastaların yazılı onayı alındıktan sonra, ASA I ve ASA II risk grubuna giren, yaşları 30–50 arasında değişen, elektif cerrahi ameliyat planlanan jinekoloji, üroloji, ortopedi, genel cerrahi bölümlerinden 50 hasta çalışmaya dahil edildi. Acil cerrahi girişim yapılacak hastalar, metabolik hastalığı olanlar, midesi dolu hastalar, sigara içenler, herhangi bir nedenle kemoterapi veya radyoterapi almış olanlar ve gebelik öyküsü olan hastalar çalışma dışında bırakıldı.

Tüm hastalara premedikasyon amacı ile ameliyattan 30 dakika (dk) önce 0.1 mg kg⁻¹ midazolam intramusküler (im) uygulandı. Ameliyat öncesi antekübital veya el üstü venlerine 18–20 G intravenöz kanül ile damar yolu açılarak 10 mL kg⁻¹ % 0.9 NaCl solüsyonu infüzyonuna başlandı. Hastalara standart D II derivasyonundan elektrokardiografi (EKG), kalp atım hızı (KAH), transdermal oksijen saturasyonu (SpO₂), ortalama arter basıncı (OAB), endtidal CO₂ (ETCO₂) ve endtidal gaz monitörizasyonu yapıldı (Datex - Engstrom AS/3 monitör, Helsinki, Finland). Veriler anestezi öncesi, anestezi indüksiyonu ve entübasyon sonrası ve ameliyat süresince kaydedildi.

Hastalara yaklaşık 3 dk boyunca 4L/dk oksijen solutulduktan sonra, anestezi indüksiyonu 3 µg kg⁻¹ fentanil, 2 mg kg⁻¹ propofol iv sonrası 1mg kg⁻¹ süksinil kolin iv verilerek endotrakeal entübasyon yapıldı. Endotrakeal entübasyon sonrası hastalar anestezi idamesine göre rasgele 2 gruba ayrıldı.

Grup I'de , % 2 sevoflurane + 3L/dk hava + 2L/dk O₂ ile, Grup II'de % 6-7 desfluran + 3L/dk hava + 2L/dk O₂ ile anestezi idamesi sağlandı. Nöromusküler iletimde % 30 derlenme sağlandığı zaman 0.5 mg kg⁻¹ rokuronyum iv bolus olarak uygulandı.

Tüm gruplarda ETCO₂ 25–35 mmHg aralığında olacak şekilde mekanik ventilasyon (Mod; IPPV, solunum sayısı; 12–15 /dk, tidal volüm; 10mL kg⁻¹, İ/E: 1/2) uygulandı.

Anestezi idamesi; anestezi ve cerrahi süresi, hastalarda gelişebilecek komplikasyonlar kaydedildi.

Hastalardan preoperatif dönemde indüksiyonun hemen öncesinde ve intraoperatif 120. dakikada 5 ml venöz kan alınarak; total antioksidan kapasite

(TAK) ve total oksidatif durum (TOS) değerleri ve DNA hasarı (comet assay yöntemiyle) bakıldı, oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı.

3.1 ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE ÖLÇÜMÜ

Alınan kanlar heparinli tüplere aktarıldı. Özel bir kap içerisinde, soğuk ortamda en kısa sürede Biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Tüplerden alınan 1 ml'lik kan mononükleer lökositlerin seperasyonu için kullanıldı. Kalan kanlar 3000 rpm de beş dakika santifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar TAK, TOS, OSİ çalışılmak üzere -80°C 'de saklandı.

3.1.1. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C '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 25°C 'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10^6 mononükleer lökosit / μl olacak şekilde dilüe edildi.

3.1.2. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini

Yöntemin Prensipleri

Comet assay yöntemi alkali pH da farklı moleköl ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agarozaya yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar.

Yönteminin Uygulanışı

Slaytların Hazırlanması

%1,0 'lik NMP agaroz jel hazırlanarak 80µl jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 oC) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lamlar nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm³'te 10⁴ hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik low melting point (LMP) agaroz jel (37⁰C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slaytların hazırlanması tamamlandı .

Lizis aşaması

Agaroz jel kuruduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM trizma base ve %1 oranında triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı .

Elektroforez Tamponu

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

Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5–25 °C'de 30 dakika yürütüldü.

Nötralizasyon

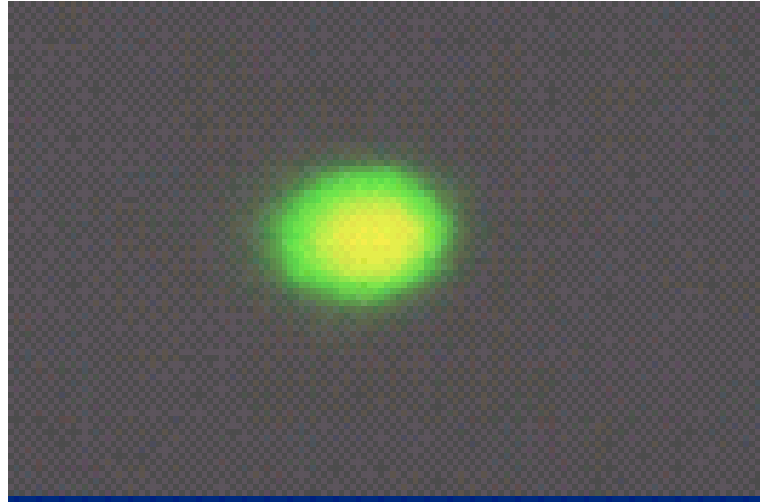
Elektoroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı .

Boyama

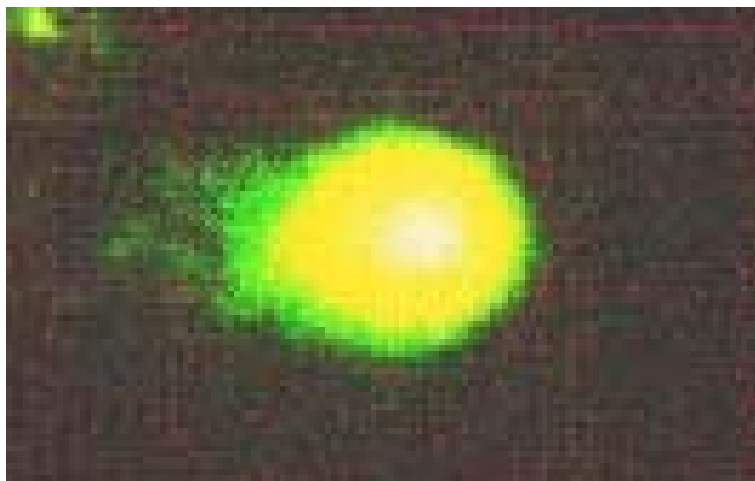
Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanıldı . Herbir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 50 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.

Analiz

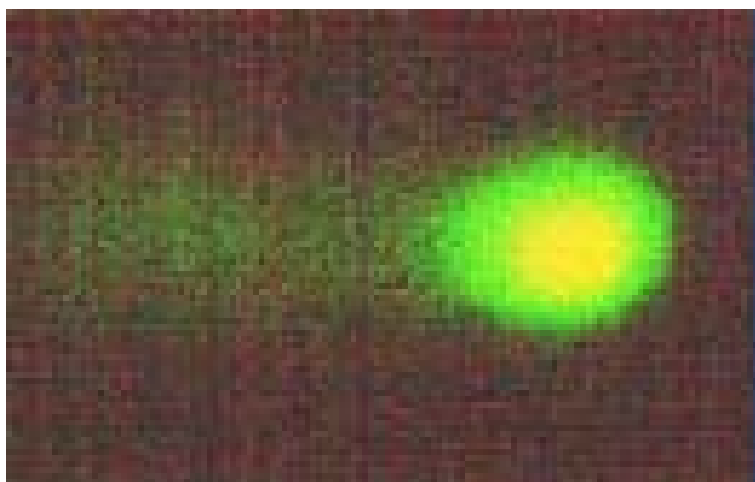
Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA lar beş kategoride değerlendirildi. Resimde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA lar 0, maksimum hasar olan DNA lar 5 olarak değerlendirildi.



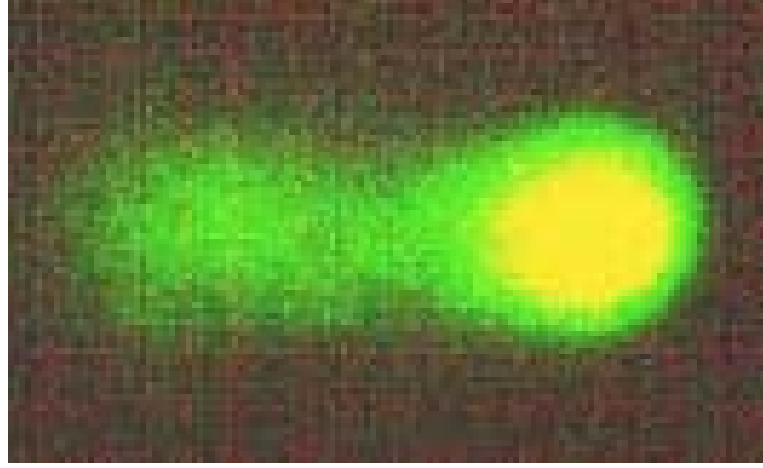
Fotoğraf 1: 0. kategori



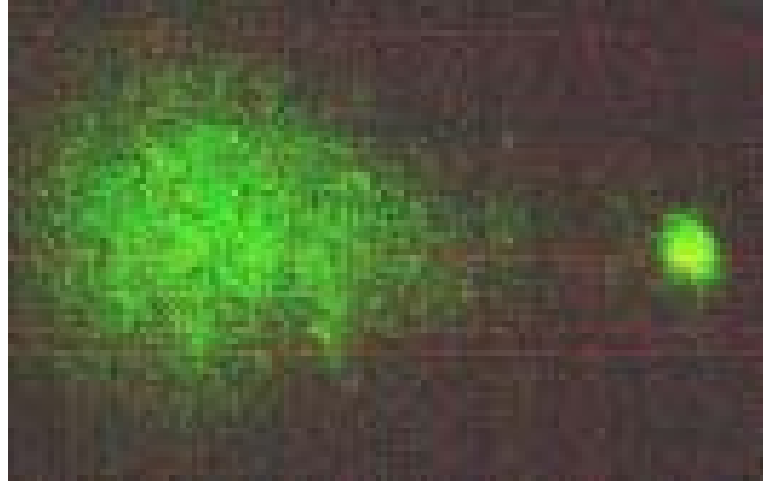
Fotoğraf 2: 1. kategori



Fotoğraf 3: 2. kategori



Fotoğraf 4: 3. kategori



Fotoğraf 5: 4. kategori

Fotoğraf 1–5. DNA' da meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası flouresan mikroskop altındaki görüntüleri.

3.1.3. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Reaktifler

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur(74, 75).

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: 7,5 mM 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.

3.1.4. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktifler

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H_2SO_4 çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 μ M Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içeriside önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

3.1.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidatif Stress (TOS) / Total Anatioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı (75).

3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Ticari bir program olan SPSS 11,0 kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. $p < 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için student t-test kullanıldı. Demografik veriler hazırlanırken cinsiyet için Chi-Square testi kullanıldı. Tekrarlayan ölçümlerin değerlendirilmesinde Systat Analysis of Variance Estimate model tekrarlı ölçüm analizi kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise korelasyon analizi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Gruplar demografik özellikleri açısından benzerdi. Cinsiyet, yaş, BMİ, cerrahi süre ve anestezi süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo VII).

Tablo VII. Hastaların Demografik özellikleri (Ort \pm SS)

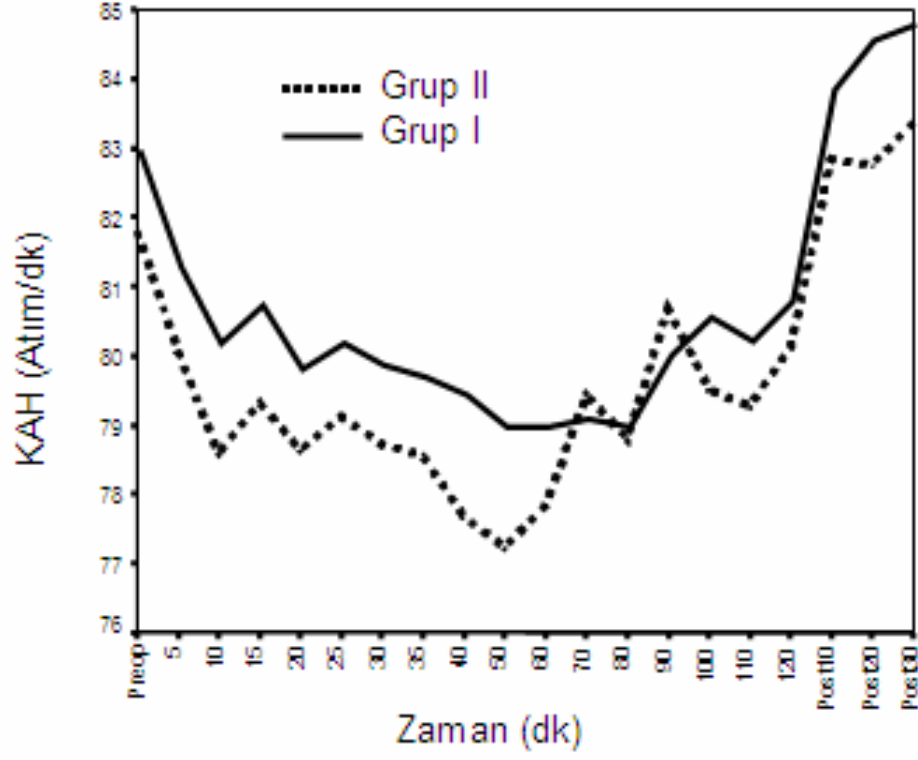
Parametre	Grup I (n=25)	Grup II (n=25)	p
Cinsiyet(E/K)	14/11	13/12	0.77
Yaş(Yıl)	42.6 \pm 6,9	43.1 \pm 10,6	0.83
BMI (Kg/m²)	25.6 \pm 2,4	25.4 \pm 1,7	0.71
Cerrahi süre (dk)	129.0 \pm 6,5	130.6 \pm 8,1	0.44
Anestezi süresi (dk)	142.6 \pm 7,8	145.2 \pm 10,7	0.33

BMI (body mass indeks)

4.2. HEMODİNAMİK DEĞERLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

4.2.1 Kalp atım hızı

Kalp atım hızı (KAH) değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Şekil 3).

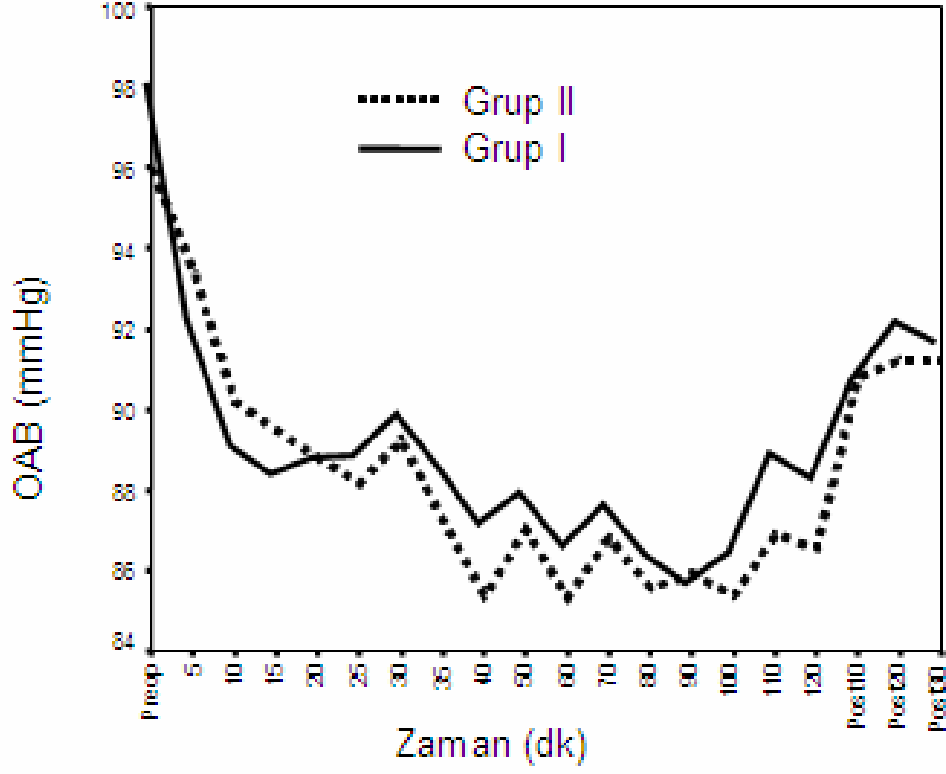


Preop:Operasyon öncesi, Post :Operasyon sonrası

Şekil 3. Grupların KAH değerleri

4.2.2. Ortalama arter basıncı

Ortalama arter basınç (OAB) değerleri açısından gruplar arasında, anlamlı bir istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 4).

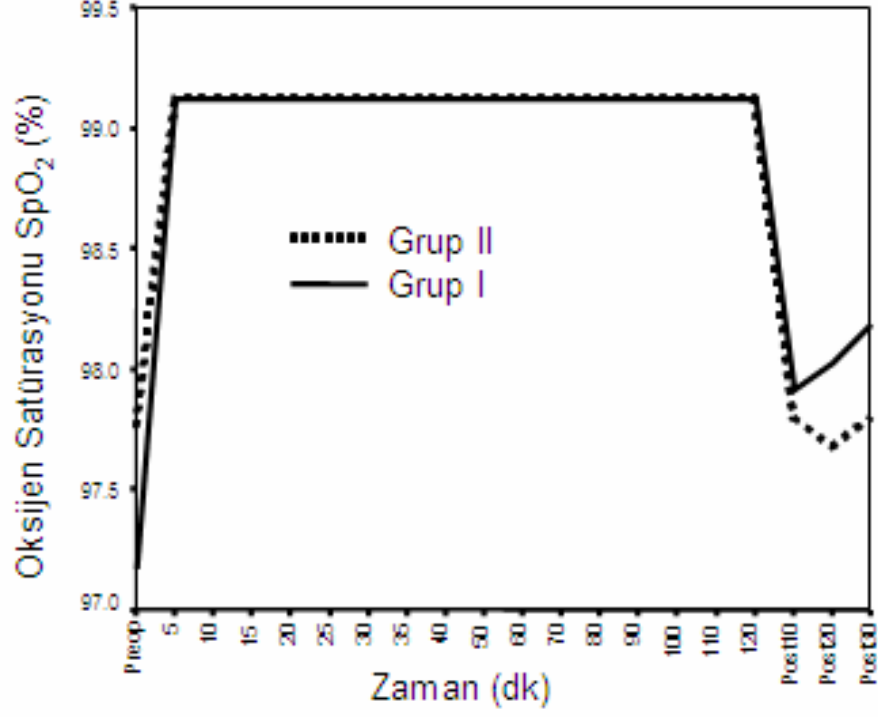


Preop:Operasyon öncesi, Post :Operasyon sonrası

Şekil 4. Grupların OAB değerleri.

4.3. TRANSDERMAL OKSİJEN SATURASYONU

Oksijen saturasyon (SpO_2) değerleri bakımından, gruplar arasında, karşılaştırma yapıldığı zaman istatistiksel bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 5).

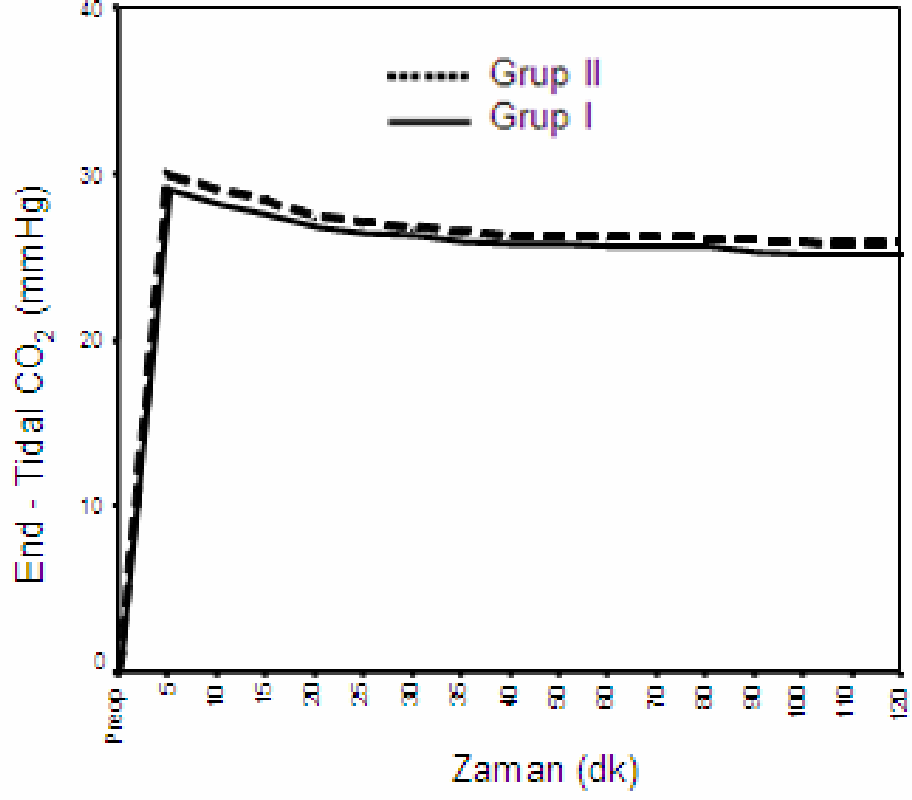


Pre:Operasyon öncesi, Post :Operasyon sonrası

Şekil 5. Grupların SpO_2 değerleri

4.4. ENDTİDAL KARBONDİOKSİT

Endtidal karbondioksit ($ETCO_2$) değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 6).



Pre:Operasyon öncesi, Post :Operasyon sonrası

Şekil 6. Grupların $ETCO_2$ değerleri

4.5. DNA HASARI SONUÇLARI

Grupların DNA hasarı değerleri karşılaştırıldığı zaman, II. grupta ölçülen değerler, I.grubun değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0.05$) (Tablo VIII).

Tablo VIII. Grupların DNA Hasar Sonuçları

	Grup I (n=25)	Grup II (n=25)	<i>p</i>
G DNA hasarı (arbitrary units)	10.7 ± 7.65	16.6 ± 11,5	0.039

Grup içi karşılaştırmalarda; Grup I' in postoperatif dönemde ölçülen DNA hasarı değerleri preoperatif dönem değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artmış bulundu ($p< 0.001$) (Tablo IX). Grup II' nin de postoperatif dönemde ölçülen DNA hasarı değerleri preoperatif dönem değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p< 0.001$) (Tablo IX)(Tablo X).

Tablo IX. Grup I DNA Hasar Sonuçları

Grup I (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
DNA hasarı (arbitrary units)	7.08 ± 6.13	13.7 ± 10.65	<0.001

Tablo X. Grup II DNA Hasar sonuçları

Grup II (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
DNA hasarı (arbitrary units)	7.1 ± 5,5	16.6 ± 11,5	<0.001

4.6. TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE (TAK) SONUÇLARI

Grupların TAK değerleri karşılaştırıldığı zaman, her iki grupta da ölçülen TAK değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo XI).

Tablo XI. Grupların TAK Sonuçları

	Grup I (n=25)	Grup II (n=25)	<i>p</i>
TAK (mmol TroloxEq/L)	1.81 ± 0.46	1.96 ± 0.34	0.21

Grup içi karşılaştırmalarda; Grup I ve Grup II' nin postoperatif dönemde ölçülen TAK değerlerinde preoperatif dönem ölçülen değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.84$, $p=0.23$) (Tablo XII) (Tablo X).

Tablo XII. Grup I TAK Sonuçları

Grup I (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
TAK (mmol TroloxEq/L)	1.78 ± 0.46	1.81 ± 0.46	0.84

Tablo XIII. Grup II TAK Sonuçları

Grup II (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
TAK (mmol TroloxEq/L)	2.04 ± 0.35	1.96 ± 0.34	0.23

4.7. TOTAL OKSİDATİF STRES (TOS) SONUÇLARI

Grupların TOS değerleri karşılaştırıldığı zaman, Grup II'nin TOS değerleri Grup I'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Tablo XIV).

Tablo XIV. Grupların TOS Sonuçları

	Grup I (n=25)	Grup II (n=25)	<i>p</i>
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	14.0 \pm 3.06	17.81 \pm 3,4	0.001

Grup içi karşılaştırmalarda; Grup I ve Grup II' nin postoperatif dönemde ölçülen TOS değerlerinde, preoperatif dönemde ölçülen değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p=0.003$, $p<0.001$) (Tablo XV) (Tablo XVI).

Tablo XV. Grup I TOS Sonuçları

Grup I (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	12.35 \pm 1.45	14.03 \pm 3.06	0.003

Tablo XVI. Grup II TOS Sonuçları

Grup II (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	13.4 \pm 2,1	17.81 \pm 3,4	0.001

4.8. OKSİDATİF STRES İNDEKSİ

Grupların OSİ değerleri karşılaştırıldığı zaman, Grup II'nin OSİ değerleri Grup I'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p = 0.001$)(Tablo XVII).

Tablo XVII. Grupların OSİ Değerleri

	Grup I (n=25)	Grup II (n=25)	<i>p</i>
OSİ	12.52 ± 2.89	15.7 ± 3.48	0.001

Grup içi karşılaştırmalarda; Grup I ve Grup II' nin postoperatif dönem OSİ değerlerinde preoperatif dönem değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p=0.001$, $p<0.001$) (Tablo XVIII) (Tablo XIX).

Tablo XVIII. Grup I OSİ Değerleri

Grup I (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
OSİ	10.68 ± 1.79	12.52 ± 2.89	0.001

Tablo XIX. Grup II OSİ Değerleri

Grup II (n=25)	Preoperatif Dönem	Postoperatif Dönem	<i>p</i>
OSİ	11.6 ± 2.06	15.7 ± 3.48	0.001

5. TARTIŞMA

Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışarak, hücreyi serbest oksijen radikallerinin toksik etkilerine karşı korurlar. Bunu, organizmadaki oksidan ve antioksidan sistemleri denge halinde tutarak sağlarlar. Bu dengenin oksidan kapasite lehine bozulduğu durumlarda, lökositler tarafından inflamatuvar mediatörler ve serbest oksijen radikalleri üretilir. Bunlar da hücre membranında lipid peroksidasyonu oluşturarak DNA hasarına ve hastalıkların ortaya çıkmasına neden olurlar (76, 77).

Genel anestezi uygulamalarında amaç, anesteziyi etkin bir şekilde oluştururken organizmaya zarar verecek koşulları en alt düzeye çekmek olmalıdır. Bu amaca uygun anestezik madde, kimyasal olarak saf ve stabil olmalı, etkisi hızlı başlayıp hızlı sonlanmalı, uygulama sırasında ve sonrasında yaşamsal fonksiyonlar üzerinde istenmeyen etki oluşturmamalıdır. Oysa genel anesteziye kullanılmakta olan anestezik maddeler ve anestezi süresi, cerrahi travmanın oluşturduğu stresle birlikte, vücudun immünolojik ve antioksidan savunma sistemlerini bozan önemli faktörlerdendir (5, 77, 78, 79).

Sevofluran ve desfluran klinik kullanıma son yıllarda giren inhalasyon anestezikleridir. Sevofluran, hızlı bir anestezi indüksiyonu için hem çocuklarda hem erişkinlerde kullanılabilir. Desfluran ise kan ve dokulardaki çözünürlüğü düşük olduğundan hızlı indüksiyon, yağda eriyebilirliği düşük olduğu için de çabuk derlenme sağlar.

Anestezik ajanlara kronik maruziyetlerin sonuçları ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur.

Hoerauf ve arkadaşlarının, ameliyathane personelinin anestezik ajanlara kronik/subkronik maruziyetlerini araştırmak amacıyla planladıkları çalışmada, kan lenfositlerinden elde ettikleri kromozomlarda, kardeş kromatidler arasındaki sayı değişiklikleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre, düşük konsantrasyonlarda bile inhalasyon anesteziklerine maruz kalma genetik hasar riskini arttırmaktadır. Ameliyathane çalışanlarında anestezik gazlara bağlı gelişen kronik maruziyet DNA mutasyonlarına neden olabilmektedir (80). Hoerauf ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında; uzun süre operasyon

odasında çalışanlarda yapısal kromozomal değişikliklerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonuç olarak ikiz kromatid değişim sıklığının arttığını göstermiştir (81).

Husum ve arkadaşları çalışmalarında operasyon odasında çalışanlarda ikiz kromatid değişimi analizi yapmışlar, uzun süre halotan ve nitroz oksit konsantrasyonlarına maruz kalanlarda ikiz kromatid değişiminin arttığını göstermişlerdir (82). Rozgaj ve arkadaşları anesteziyelere maruz kalanların kromozomal hasarı başlatıp başlatmadığını araştırmışlardır. Anesteziyelere maruz kalanlarda kromozom hasarlarında artış bulmuşlardır. DNA'larda kromozomal hata ve mikronukleus sıklığında bayanlarda daha fazla olmak üzere, anlamlı artış gözlemlenmiştir (83).

Natarajan ve arkadaşları çalışma süresi ile kromozomal hata oranı üzerinde çalışmışlardır. Operasyon odasında çalışma süresi ile kromozomal hata görülme sıklığı arasında pozitif korelasyon olduğunu ispatlamışlardır. Bu çalışmada kardeş kromatid değişim riskinin de bununla doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (84).

Sardas ve arkadaşları, inhalasyon anesteziyelere ile çalışanlarda DNA zincir hasarını araştırmışlar, sonuç olarak DNA zincir hasar oranının arttığını gözlemlenmiştir (85).

Anesteziyelere gazlara kısa süreli maruziyetle ilgili çalışmalar, ameliyat olan hastalar üzerinde veya deneysel yollarla yapılmaktadır.

Bu çalışmada, rutin klinik kullanımdaki desfluran ve sevofluran anesteziyelere DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırıldı. Çalışmaya ASA I-II risk grubuna giren, yaşları 25–60 arasında değişen, operasyon süresi en az 120 dakika olan elektif cerrahi geçirecek hastalar dahil edildi. Sigara içenler, herhangi bir nedenle kemoterapi veya radyoterapi almış olanlar ve gebelik öyküsü olanlar çalışma dışında bırakıldı.

Reitz ve arkadaşları nörocerrahi geçirecek hastalarda isofluran ve nitroz oksit ile 180 dakika süren operasyon sonrası periferik insan lenfositlerindeki DNA hasarını araştırdıklarında, DNA tekli bağlarında kırılmalar olduğunu bulmuşlardır (86).

Sardas ve arkadaşları, isofluran anestezi uyguladıkları ortalama operasyon süresi 133 dakika olan hastalardan aldıkları PMNL ile yaptıkları comet assay ölçümlerinde 60. dakikada başlayan kuyruk uzunluğunun 3. günde

azalmaya başladığını ve 5. günde tamamen kontrol değerlerine indiğini göstermişlerdir (87).

Hoerauf ve arkadaşları, invitro ortamda insan lenfosit hücrelerinde 60 dakika süreyle isofluranın 0,3, 0,6, 1,2 mmol/l gibi üç farklı konsantrasyonda ve nitroz oksitin % 50'lik anestezi konsantrasyonunda uygulanmaları sonucunda kardeş kromatid değişiminin başlangıç değerlerine göre her iki grupta anlamlı derecede arttığını bulmuşlardır. Bu değişimin günde 10–20 sigara içen kişilerle olan değişikliklerle paralel seyrettiğinden genotoksik olarak ihmal edilebilir olduğunu savunmuşlardır (88).

Karabıyık ve arkadaşlarının isofluran ve sevofluran anestezileri sonrası yaptıkları comet assay ölçümlerinde DNA hasarının 60. dakikada başladığı; 120. dakikada pik yaptığı ve 5. günde ortalama kontrol değerlerine indiğini görmüşlerdir. Bu değişiklikler gruplar arasında farklılık göstermemiştir (89).

Krause ve arkadaşlarının çocuklar üzerinde sevofluran/azot anestezisi idamesiyle yaptıkları bir çalışmada, hastalarda periferik kan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimlerinin başlangıç değerlerine göre anlamlı olmadığı, bu durumun cinsiyete göre de değişmediğini bulmuşlardır. Bu çalışmada gaza maruziyetin ortalama 24 dakika gibi kısa sürmesi DNA'nın olası hasar için yeterli bir zaman sağlamadığı muhtemeldir (90).

Lüleci ve arkadaşları ise sevofluran anestezisi altında 60. dakikada aldıkları kan ile yaptıkları genotoksik çalışmada kardeş kromatid değişimlerinin olduğunu, bu anlamlı değişikliklerin postoperatif 24. saatte azalmaya başlayıp postoperatif 5. günde tamamen kontrol seviyelerine geldiğini bulmuşlardır (91).

Karpinski ve arkadaşları, sağlıklı genç erkek gönüllülerden aldıkları lenfositleri *in vitro* ortamda ortalama 50 dakika desfluran ve halotana maruz bıraktıktan sonra comet assay ile yaptığı ölçümlerde her ikisinde de kuyruk uzunluklarının arttığını bulmuşlar. Farmakodinamikleri ve metabolizasyonları göz önüne alındığında desfluranın daha az genotoksik olduğunu düşünmelerine rağmen gruplar arasında gerçekte istatistiksel fark bulunmamıştır (92).

Akın ve arkadaşlarının sadece kadınlarda desfluran/azot ile yaptıkları çalışmanın sonuçlarında, kardeş kromatid değişimlerinin ortalama 60. dakikada başladığı, 120. dakikada maksimum seviyeye çıktığı ve 12. günde kontrol değerlerine indiği bulunmuştur. Bu çalışmanın süre olarak yeterli olması ve

menstrüel siklusun luteal fazında olanların dahi çalışmadan çıkarılmış olmasıyla araştırmanın değerinin arttırdığı söylenebilir (93).

Çalışma sonucunda hem sevofluran hem desfluran anestezisinde ameliyat öncesi değerlere göre ameliyat sonrasında DNA hasarlarında artış bulundu. Bu artış desfluran grubunda sevofluran grubuna göre daha anlamlıydı. Bu çalışmanın yapıldığı dönemde halotan ve isofluran gibi kullanıma ilk giren anestezi ajanlarıyla ilgili fazla sayıda araştırma mevcut iken sevofluran ve desfluranla ilgili çalışmalar seyrekti. Karpinski ve ark. çalışmalarında ortalama 50 dakika süren desfluran anestezisinde bile DNA hasarı bulunmuştur. Akın ve ark. desfluran-azot anestezisinde DNA hasarında artış görmüşlerdir. Bu çalışma azot kullanmaksızın desfluranla yapılan anestezi idamesinde DNA' da hasar oluşumunu göstermesi açısından önemlidir. Karabıyık ve Lülecı' nin sevofluranla yaptıkları anestezi uygulamalarında buldukları DNA hasarı sonuçları bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Krause ve ark. çalışmasında ise sevofluran anestezisine bağlı DNA hasarı gösterilememiştir. Araştırmamıza tezat gibi görünen bu sonucun bulunması, çalışmanın çocuklar üzerinde yapılmış olması ve anestezi süresinin kısa sürmesine (24 dakika) bağlanabilir.

Çalışmamızda operasyonun induksiyon fazında verilen propofolün hem total intravenöz anestezi (TİVA) dozunun çok altında olması (TİVA' nın yaklaşık % 10'u oranında) hem de bu dozun etkisinin kısa sürmesi (maksimum 15 dk) nedeniyle çalışmayı olumsuz etkileyecek bir kullanımı olmamıştır.

Tomıoka ve arkadaşlarının *in vitro* ortamda hem sedasyon hem de anestezi dozlarında en az 120 dakika propofole maruz bıraktıkları Çin hamsterlerinin over hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada kardeş kromatid değişimlerinde bir farklılık bulamamışlardır (94).

Karahalil ve arkadaşları açık kalp cerrahisi geçirecek hastalar üzerinde diazepam ve TİVA dozundaki propofol ile karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışmada propofolün genotoksik etkilerine rastlamamışlardır(95).

Krause ve arkadaşlarının çocuklarda kısa süreli cerrahi girişimlerde induksiyon sonrası idame dozlarında verilen propofolün kardeş kromatid değişikliği yapmadıklarını savunmuşlardır (96).

DNA hasarının sevofluran ve desfluran anestezileriyle ilgili karşılaştırmalı çalışmalarına literatürde rastlanmamıştır. Bu yönüyle çalışmanın bir ilk olduğu söylenebilir.

Wong ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *in vitro* olarak PMNL' nin 60 dakika boyunca sevofluranın %1 ve %3 konsantrasyonlarına maruziyetleri sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit ve nitroz oksit seviyelerinde anlamlı bir artma, GSH seviyelerinde de anlamlı bir azalma bulmuşlardır. Comet assay ölçümleri de anlamlı artışlar göstermişlerdir (97).

Köksal ve arkadaşları laparoskopik kolesistektomi geçirecek hastalarda sevofluran ve desfluranın lipid peroksidasyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacı ile hastalardan aldıkları bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde MDA ve SOD değerlerini karşılaştırmışlardır. Desfluran grubunda MDA değerleri sevofluran grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken SOD değerlerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak desfluranın lipid peroksidasyonunu artırdığı bildirilmiştir (98).

Dikmen ve arkadaşları ratlarda desfluran ve sevofluranın serbest radikallere etkilerini araştırmışlardır. Grup I 'e kontrol grubu olarak hiçbir ajan vermemişler, grup II' ye %2 sevofluran+hava/O₂, grup III' e %6 desfluran+hava/O₂, grup IV' e ise %100 O₂ vermişlerdir. Bu işlemi ard arda üç gün boyunca 60 dk süre ile uygulamışlardır. Katalaz (CAT), GSH-Px, Glutathion-S-Transferaz (GST) ve tiobarbitirik asit reaktifsubstansları (TBARS) düzeylerinin anestezik gaz alan her iki grupta anlamlı olarak yükseldiğini ve elektron mikroskobunda hücre hasarı oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (99).

Allouchiche ve arkadaşları, domuzlar üzerinde oksidatif durumu belirlemek amacıyla propofol (8 mg/kg/saat), desfluran (% 10) ve sevofluranı (% 2.5) karşılaştırmışlardır. Anestezik ajanlara ortalama 120 dakika maruz bırakılan domuzlarda; propofolün hem bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında hem de dolaşımda glutatyon peroksidaz düzeylerinde (GSH-Px) anlamlı artışlar yaptığı, malondialdehit (MDA) düzeylerinde ise anlamlı düşüşler yaptığı görülmüştür. Buna karşın desfluranın BAL sıvısı ve dolaşımda MDA da anlamlı bir artma ve BAL sıvısı ile dolaşımda GSH-Px üzerinde anlamlı azalma yaptığı görülmüştür. Sevofluranlı grupta ise hem BAL sıvısında hem de dolaşımda GSH-Px ve MDA seviyelerinde anlamlı değişiklikler saptanmamıştır. Desfluran anestezisi ile

oluşan bu oksidatif stresin, alveolar makrofajlarda proenflamatuar sitokinlerin aşırı artışı ile ilgili olabileceğini ifade edilmektedir (100).

Sıvacı ve arkadaşları laparoskopik cerrahi geçirecek hastalarda ortalama 70 dakika süren ameliyatlara postoperatif 6. ve 24. saatlerdeki ölçümlerinde, sevofluran alan grupta MDA ve karbonil bileşikler daha az artmış iken, desfluran grubunda ise anlamlı artış tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca sevofluran grubunda antioksidan aktivite minimal etkilenirken desfluran grubunda daha şiddetli düşüş göstermiştir. Araştırmacılar plazma MDA düzeyindeki artışı pnömoperitonun etkilerine bağlamışlardır. Pnömoperitonun kendi başına dokuları iskemik travmaya maruz bıraktığını, bunun da azalmış kan akımı ile enflamatuar bir süreci başlatıp nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin salınımını arttırarak doku hasarı meydana getirdiklerini savunmuşlardır (101).

Çalışmamızda hem sevofluran hem de desfluran anestezisinde ameliyat öncesi değerlere göre ameliyat sonrasında TOS değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. İki gazın kendi arasındaki karşılaştırmasında ise desfluran grubundaki TOS artışı daha anlamlıydı. Sıvacı ve ark yaptıkları çalışmada, desfluran anestezisi uyguladıkları grupta MDA seviyelerini sevofluran grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Sıvacı ve ark. çalışmasında kullanılan MDA lipid peroksidasyonu hakkında bilgi vermektedir. Allouche'nin çalışmasında ise oksidatif stres parametreleri desfluran grubunda artış gösterirken sevofluran grubunda değişmemiştir. Domuzlarda yapılan bu çalışma çalışmamızdan farklı sonuç vermiştir. İnsan çalışması olup bizim çalışmayla benzer sonuçları veren tek çalışma, bir tek parametrenin çalışıldığı (MDA) Sıvacı ve ark. çalışmasıdır.

Antioksidan durum açısından bakıldığında ameliyat öncesi değerler ile ameliyat sonrası değerler arasında fark bulunmadı. Sevofluran ve desfluran anestezileri arasında da antioksidan durum değişmedi. Literatürdeki sonuçlar da çelişkili ve sınırlı sayıdadır. Dikmen' in hem sevofluran hem de desfluran anestezisinde bazı antioksidan parametrelerde artış bulunduğu çalışma, bu çalışmadan farklı olarak ratlarda yapılmıştır. Anestezi ortama inhalasyon yoluyla uygulandığından, kısa temas süresi savunma sistemini aktifleyip cevap olarak antioksidan durumu oluşturmuş olabilir. Daha uzun maruziyetlerin direkt savunma sistemini baskılaması olasıdır. Allouchiche' nin çalışması ise

domuzlarda yapılmış olup, desfluran grubunda istatistiksel anlamda antioksidan parametrelerde düşüş bulmuşlardır. Bu çalışmaya benzer şekilde sevofluran grubunda ise değişiklik bulamamışlardır.

Bu çalışmada oksidatif durum ile DNA hasarı arasında herhangi bir ilişki bulunamadı. Bu nedenle gelişen DNA hasarı, kullanılan anestezi gazlarının direkt olarak etkisine bağlandı. Yapılan çalışmalarda halotan ve isofluran'ın direkt pürin bazlarında alkalizasyon yolu ile DNA hasarına neden olabileceği söylenmiştir (102). Sevofluran ve desfluranın ajanlarının DNA üzerinde direkt etkilerini gösterecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada elektif cerrahi geçirecek, anestezi süresi 120 dakikayı geçen hastalarda sevofluran ve desfluran anestezilerinin DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırıldı. Desfluran grubunda daha fazla olmak üzere her iki anestezi gazının DNA hasarı yaptığı ve oksidatif stresi arttırdığı sonucuna varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. De Hert SG, Van der Linden PJ, ten Broecke PW, et al. Effects of desflurane and sevoflurane on length-dependent regulation of myocardial function in coronary surgery patients, *Anesthesiology*, 2001; 95: 2, 357–363.
2. Özatamer O, Alkış N, Batislam Y: Anesteziye Güncel Konular. Fast-Tracking. 2002, 417.
3. Patel SS, Goa KL. Desflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its efficacy in general anaesthesia. *Drugs*, 1995; 50: 4, 742–767.
4. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Ed, Konya; Mimoza Yayınları.1995
5. Kayhan Z. Klinik Anestezi. Ankara; Logos Yayıncılık Tic. Aş. 1997; 270–291.
6. Morgan G, Mikhail M, Murray M. *Clinical Anesthesiology*. 3 ed, Los Angeles; The McGraw-Hill Companies Inc. 2002; 435–459.
7. Morgan G, Mikhail M., Murray M. Tulunay M. Klinik Anesteziyoloji. 3 ed, Ankara; Güneş Kitabevi. 2004; 475–524.
8. Hall JE, Stewart JI, Harmer M, Single-breath inhalation induction of sevoflurane anaesthesia with and without nitrous oxide: a feasibility study in adults and comparison with an intravenous bolus of propofol. *Anaesthesia*, 1997; 52: 5, 410–415.
9. Patel SS, Goa KL, Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs*, 1996; 51: 4, 658–700.
10. Smith I, Nathanson M, White PF. Sevoflurane a long-awaited volatile anaesthetic. *Br J Anaesth*, 1996; 76:3, 435–445.
11. Kayhan Z. Klinik Anestezi. 3 th ed. İstanbul, Logos Tıp Yayıncılık. 1997; 171–185.
12. Walpole R, Logan M, Effect of sevoflurane concentration on inhalation induction of anaesthesia in the elderly. *Br J Anaesth*, 1999; 82:1, 20–24.
13. Miller R. *Anesthesia. Pulmonary Pharmacology*. 5 ed. Philadelphia; Churchill Livingstone ed. Vol. 1. 2000: 125–143.
14. Hatch DJ, New inhalation agents in paediatric anaesthesia. *Br J Anaesth*, 1999; 83:1, 42–49.

15. Loscar M, Conzen P, [Volatile anesthetics]. *Anaesthesist*, 2004; 53: 2, 183–198.
16. Eger EI. The clinical use of desflurane. *Yale J Biol Med*, 1993; 66: 5, 491–500.
17. Kanto J, Gepts E. Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clin Pharmacokinet*, 1989; 17: 5, 308–326.
18. Kaplan JA. *Cardiac Anesthesia*. 1999
19. Elar Z. *Klinik Anestezi El Kitabı*. 3 ed. İstanbul, Logos Yayıncılık Tic. A.Ş. 1997; 128–138
20. O'Keeffe NJ, Healy TE. The role of new anesthetic agents. *Pharmacol Ther*, 1999; 84: 3, 233–248.
21. Eger EI. New inhaled anesthetics. *Anesthesiology*, 1994; 80: 4, 906–922.
22. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, et al. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*, 1987; 79: 6, 990–997.
23. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 1993; 49: 3, 481–493.
24. Erden M. Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri*, 1992; 12: 201–207.
25. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?, *Lancet*, 1994; 344: 721–724.
26. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance, *Clin Biochem*, 1993; 26: 351–357.
27. Naqui A, Chance B, Cadenas E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem*, 1986; 55: 137–66
28. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*. 1975; 44: 147–59.
29. Gyton KZ, Kersler TW. Oxidative mechanism in carcinogenesis. *Br. Med. Bull*. 1993; 49: 523–44
30. Ünal D. Serbest radikaller. *Sendrom*, 1999; Mart: 68–80.
31. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in Inflammation. Second messengers and mediators of tissue destruction. *British Medical Bulletin*, 1993: 506–522.
32. Cross C, Halliwell B, Borish E, Pryor Wa, Ames B, Saul R, McCord J, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, 1987; Oct,107(4): 526–45.

33. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49(3):481–93.
34. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.*1995. 1819–28.
35. Oyanagui Y. Active oxygen research of today future. *The journal of toxicological Sciences*, 1991;16(Supp): 65–69.
36. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *J. Amino Acids* 2003; 25(1): 207–218.
37. Freeman B, Crapo J.. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 1982; 47: 412–425.
38. Southorn P, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc*,1988; 63: 390–408.
39. Ames B, Shigenaga M, Hagen T.. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; Sep 1;90(17): 715–22.
40. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 1991; 40: 4, 405–412.
41. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance, *Am J Clin Nutr*, 1993; 57: 5 Suppl, 715S-724S; discussion 724S-725S.
42. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Jpn J Physiol*, 1996; 46: 1, 15–32.
43. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress, *Life Sci*, 1991; 48: 4, 301–309.
44. Rice-Evans C, Diplock A. Symons M. *Techniques in free radicals research.* Elsevier, Amsterdam, 1991; vol 22.
45. Maxwell S, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter M, Thorpe G, Jones A, Barnett A. Poor glycaemic control is associated with reduced serum free radical scavenging (antioxidant) activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem.* Nov; 1997; 34 (Pt 6): 638–44.
46. Halliwell B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* Sep 10; 344(8924):721–4.
47. Halliwell B, Gutteridge J. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet.* 1984; Jun 23; 1(8391): 1396–7.

48. Mc Cord J, Fridovich I.. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969; Nov 25; 244(22): 6049–55.
49. Rachmilewitz D, Karmeli F, Okan E, Samuni A. A novel antiulcerogenic stable radical prevents gastric mucosal lesions in rats. 1994; *Gut*, 35: 1181–1188.
50. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant component of the immune system, *Adv Exp Med Biol*, 1990; 262: 145–158.
51. Mannervik B. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 1985; 113:490–5.
52. Bast A, Haenen G, Cees JAD. Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine*, 1997; 91(Suppl 3C):30
53. Smirnoff N, Pallanca JE. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 1995; 24: 16.
54. Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963; 61: 882–8.
55. Champe PC, Harvey RA.. Glikozaminoglikanlar. A. Tokullugil, M. Dirican, E. Ulukaya. *Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya. İkinci baskı, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi.*1997; 147–156.
56. Frei B.. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action.,*The American Journal of Medicine*, 1994; 97(Suppl 3A): 26
57. Mascio P, Murphy M, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53 (Suppl I): 194–200.
58. Feredoon S, Janitha Pk, Wanasundara Pd.. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1992; 32(1): 67–103.
59. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Kuzucular ofset, Mimoza yayınları. 1995.
60. Krinsky N. Membrane antioxidants. *Ann N Y Acad Sci*, 1988;551: 17–32
61. Halliwell B, Gutteridge J. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990; 280(1):1–8.
62. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 3rd ed. London, Oxford University Press. Inc, 1999.
63. Randerath K, Zhou GD, Monk SA, Randerath E. Enhanced levels in neonatal rat liver of 7, 8-dihydro–8-oxo–2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1419–1421.

64. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J* 2003; 17: 1195–1214.
65. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays* 2004; 26: 533–542.
66. Milligan JR, Ward JF. Yield of single-strand breaks due to attack on DNA by scavenger-derived radicals. *Radiat Res* 1994; 137: 295–299.
67. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters* 1991; 281: 9–19.
68. Winyard PG, Perrett D, Blake DR, Harris G, Chipman JK. Measurement of DNA oxidation products. *Anal Proceedings* 1990; 27: 224–227.
69. Halliwell B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat Res* 1999; 443: 37–52.
70. Luft R. The development of mitochondrial medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3731–3738.
71. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Mitochondrial decay in aging. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 165–170.
72. Sastre J, Pallardo FV, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 1–8.
73. Barja G. Endogenous oxidative stress: Relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 397–411.
74. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry* 37 (2004) 112–119.
75. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 37 (2004) 277–285.
76. Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischaemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet, *J Pharm Pharmacol*, 1994; 46(6): 519–520.
77. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease, *Am J Med*, 1991; 91(3): 14–22.

78. Muggli D. Physiological requirements of vitamin E as a function of the amount and type of polyunsaturated fatty acid., *Fatty acids and lipids*, 1994; 75: 166-168.
79. Murphy PG, Bennett JR, Myers DS, et al. The effect of propofol anaesthesia on free radical-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes, *Eur J Anaesthesiol*, 1993; 10: 4, 261–266.
80. Hoerauf K.H, Wiesner G, Schroegendorfer K.F, Jobst B.P, Spacek A, Harth M, Sator-Katzenschlager S, Rudiger H.W, et. al. Waste anaesthetic gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel, *British Journal of Anaesthesia* 1999; 82(5) 764–766
81. Hoerauf K, Lierz M, Wiesner G, Schroegendorfer K, Lierz P, Spacek A, Brunberg L, Nusse M, et al. Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide, *Occup Environ Med* 1999; 56: 433–437
82. Husum B, Niebuhr E, Wulf HC, Norgaard I. Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in lymphocytes in operating room personnel. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1983; 27(3): 262–65.
83. Rozgaj R, Kasuba V, Jazbec A. Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anaesthetic gases, *Mutagenesis* 2001; 16: 139–143
84. Natarajan D, Santhiya S T, et al. Cytogenetic damage in operation theatre personnel, *Anaesthesia* 1990; 45: 574–577
85. Şardaş S, Aygun N, Gamli M, Unal Y, Berk N, Karakaya AE, et al. Use of alkaline comet assay to detect DNA damages in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to anaesthetic gases, *Mutat Res* 1998; 418: 93–100
86. Reitz M, Antoninirumpf E, Lanz E. DNA single-strand breaks in peripheral human lymphocytes after anaesthesia with isoflurane-nitrous oxide-oxygen, *Arzneimittelforschung* 1993; 43: 1258–1261
87. Sardas S, Karabiyik L, Aygün N. DNA damage evaluated by the alkaline comet assay in lymphocytes of humans anaesthetized with isoflurane. *Mutat Res*. 1998 Sep 25; 418(1): 1–6
88. Hoerauf K.H., Schrögendorfer K.F., Sister Chromatid Exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro. *British Journal of Anaesthesia* 1999; 82 (2) : 268-70

89. Karabıyık L, Sardas S. Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. *Mutation Research* 2001; 492: 99–107
90. T. Krause, J. Scholz¹, L. Jansen¹, H. Boettcher¹, C. Koch¹, F. Wappler¹ and J. Schulte am Esch. Sevofurane anaesthesia does not induce the formation of sister chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of children. *British Journal of Anaesthesia* 2003; 90 (2): 233–238
91. Lüleci N, Sakarya M, Topcu I. Effects of sevofluran on cell division and levels of sister chromatid Exchange. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2005; 40(4): 213–16.
92. Karpinski Tomasz M, Kostrzevska-Poczekaj Magdalena. Genotoxicity of the volatile anaesthetic desflurane in human lymphocytes in vitro, established by comet assay. *J Appl Genet*, 2005; 46(3): 319–324
93. Akın A, Ugur F, Ozkul Y. Desflurane anaesthesia increases sister chromatid exchanges in human lymphocytes. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 1559—1561
94. Tomioka S. And Nakajo N. No genotoxic effect of propofol in Chinese hamster ovary cells: Analysis by sister chromatid exchanges. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 1261–1265
95. Karahalil B, Yağar S, Bahadır G. Diazepam and propofol used as anesthetics during open-heart surgery do not cause chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res.* 2005; 581(1–2):181–86.
96. Thorsten KW. Krause, L, Jens Scholz et al. Propofol anesthesia in children does not induce sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Mutation Research* 2003;542: 59–64
97. Wong CH, Liu Tsan-Zon. Sevoflurane-induced oxidative stress and cellular injury in human peripheral polymorphonuclear neutrophils. *Food and Chemical Toxicology* 2006;44: 1399–1407
98. Koksall GM, Sayilgan C, Aydin S, et al. The effects of sevoflurane and desflurane on lipid peroxidation during laparoscopic cholecystectomy. *Eur J Anaesthesiol*, 2004; 21: 3, 217–220
99. Dikmen B, Ünal Y, Pampal HK, Nurlu N, Kurtipek O, Canpolat O, Özoğul O. Effects of repeated desflurane and sevoflurane anaesthesia on enzymatic free radikal scavenger system, *Mol Cell Biochem*, 2007; 294(1–2): 31–37

100. Allaouchiche B, Debon R. Oxidative Stress Status During Exposure to Propofol, Sevoflurane and Desflurane. *Anesth Analg*, 2001;93: 981–5
101. Sivaci R, Kahraman A. Cytotoxic effects of volatile anesthetics with free radicals undergoing laparoscopic surgery. *Clinical Biochemistry*, 2006;39: 293–298
102. Epe B. DNA damage profiles induced by oxidizing agents. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol*, 1995;127: 223–248.

