

T.C.
Harran Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

**SIÇANLARDA, SUBHİPNOTİK DOZ KRONİK DESFLURAN
MARUZİYETİNDE, DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

Dr. Nuray ALTAY
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa CENGİZ

ŞANLIURFA
2007

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak ilk göreve başladığım günden itibaren benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen ayrıca tez konumun seçiminde ve hazırlanmasında yaptığı katkılardan dolayı Anabilim Dalı Başkanımız kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Mustafa CENGİZ 'e teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre içinde bilgi ve deneyimleri ile bana destek olan hocalarım Doç. Dr. Süleyman GANİDAĞLI, Yrd. Doç Dr. Zeynep BAYSAL ve Yrd. Doç. Dr. Cengiz MORDENİZ' e teşekkür ederim.

Bu çalışmam sırasında yardım ve desteğini esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Zehra KURÇER'e teşekkür ederim.

İhtisasım süresince birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, anestezi teknisyenlerine, ameliyathane personeline ve yoğun bakım çalışanlarına tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Eğitimim süresince maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen anne ve babama, ihtisasım süresince varlıklarıyla bana güç veren eşim Mehmet Akif, kızlarım Bilge ve Miray'a sabırlı bekleyişlerinden dolayı teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BAL	Bronkoalveolar lavaj
CAT	Katalaz
CO	Karbonmonoksit
CO ₂	Karbondioksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EEG	Elektroensefalografi
ETS	Elektron transport sistemi
GC	Guanilat siklaz
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GST	Glutathion-s-transferase
h	Saat
HO [·]	Hidroksil
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HOCl	Hipoklorid
HNO ₃	Nitrik asid
iv	İntravenöz
LOOH	Lipid hidroperoksit
LMP	Low melting point
MAC	Minimum alveolar konsantrasyon
µgr	Microgram
MDA	Malonildialdehid
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NAD	Nikotinamid Dinükleotid
NADH	Redükte Nikotinamid Dinükleotid
NADPH	Redükte Nikotinamid Dinükleotid Fosfat
NO [·]	Nitrik oksit
NO ₂ [·]	Azot dioksit
N ₂ O	Azot protoksit,nitröz oksit
N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksid
NOS	Nitrik oksid sentaz

O ₂	Oksijen
O ₂ [·]	Superoksit
O ₂ ^{↑↓}	Singlet Oksijen
O ₃	Ozon
ONOO [·]	Peroksinitrit
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PaCO ₂	Arteriyel karbondioksit basıncı
PBS	Fosfat buffered saline
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türleri
RO [·]	Alkoksil
ROO [·]	Peroksil
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCE	İkiz kromatid değişimi
SOD	Süperoksit dismutaz
SSS	Santral sinir sistemi
TAK	Total antioksidan kapasite
TBARS	Tiobarbitirik acit reaktif substances
TOS	Total oksidan seviye
XOD	Ksantin oksidaz

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. Giriş ve Amaç.....	1-2
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Genel Anestezi Yöntemleri.....	3
2.2. Genel Anestezi İndüksiyonu.....	3
2.3 Genel Anestezi İdamesi.....	4
2.4. Genel Anestezinin Sonlandırılması.....	4
2.5. Anestezi Devre Sistemleri.....	4-5
2.6. Desfluran.....	5-9
2. 7. Serbest Radikaller.....	9-24
2.8. Genotoksisite.....	24-25
3. Materyal ve Metod	26
3.1. Örneklerin Hazırlanması	27
3.2. .Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu.....	27
3.3. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini	27-30
3.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK).....	30
3.5. Total Oksidan Seviye (TOS).....	30
3.6. İstatistiksel Analizler.....	31
4. Sonuçlar	32
4.1. Demografik Özellikler	32
4.2. DNA Hasarı Sonuçları	32
4.3. Antioksidan Kapasite Sonuçları	33
4.4. Oksidatif Stress Sonuçları	33
5. Tartışma	34-39
6. Sonuç	40
7. Kaynaklar	41-48

TABLO LİSTESİ

Tablo		Sayfa
I	Desfluran'ın yaş ile değişen MAC değerleri	7
II	Oksijen türevi bileşikler	10
III	Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler	17
IV	Grupların demografik verileri	32
V	Grupların DNA hasarı sonuçları	32
VI	Grupların antioksidan kapasite sonuçları	33
VII	Grupların oksidatif stres sonuçları	34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil		Sayfa
1	Desfluran'ın kimyasal yapısı	5
2	Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin vücuttaki etkileri	21
3	8-hidroksi guanin ve Fapy Gua'in oluşum mekanizmaları	22

RESİM LİSTESİ

Resim	Sayfa
1 DNA hasarı sonucu meydana gelen elektroforez migrasyonu sonrası DNA' ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri	29
2 DNA hasarı sonucu meydana gelen elektroforez migrasyonu sonrası DNA' ların floresan mikroskop altındaki toplu görüntüleri	32

ÖZET

Bu uzmanlık tezi çalışmasında, subhipnotik dozda, kronik desfluran gazına maruz kalan sıçanlardaki DNA hasarının araştırılması amaçlandı.

Deneyel çalışma, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu izni sonrasında aynı fakültenin Farmakoloji Laboratuvarında yapıldı. Çalışma için 200-230gr ağırlığında 18 adet dişi Wistar türü albino sıçan kullanıldı. Sıçanların çalışma öncesi ve sonrasındaki beslenme ve bakımları, Harran Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı.

Sıçanlar rasgele 2 gruba ayrıldı (Grup I=Desfluran, Grup II= Kontrol). Anestezik gaz verme sistemi için, özel olarak tasarlanmış plastik kaplar kullanıldı. Grup I' de sıçanlara, Datex-Ohmeda Tec6 Plus vaporizatörü ile hipnoz oluşturmayacak dozlarda (%0.5-1) desfluran verildi. Grup II'de de aynı düzenek kullanıldı, ancak desfluran vaporizatörü kapalı tutuldu. Her iki grupta deney düzeneğine %50 oksijen-hava karışımı 5 litre /dakika taze gaz akışı hızında verildi. Ortamdaki desfluran ve oksijen konsantrasyonları bir anestezik gaz monitörü (Criticare ®) ile sürekli olarak ölçüldü.

Çalışma gazlarına maruz kalma durumu 5 gün boyunca günde 1 saat olacak şekilde tekrarlandı. Deney dışındaki saatlerde sıçanlar kendi kafeslerinde oda şartlarında bakıldılar. Beşinci günün sonunda 50 mg/kg intraperitoneal pentothal ile anestezisi sağlanan sıçanlar, supin pozisyonunda ekstremitelerden masaya tespit edildi. Sıçanlardan intrakardiyak girişimle kan örnekleri alındı. Alınan kanlar heparinli tüplere aktararak özel bir kap içerisinde, soğuk ortamda, en kısa sürede Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı. Deney hayvanları kan alındıktan sonra sakrifiye edilip, üzerlerine kireç kaymağı dökülüp toprağa gömüldüler. Alınan kanlardaki mononükleer lökositlerinden Comet Assay yöntemi ile DNA hasarları ölçüldü. Ayrıca aynı kan örneklerinden, antioksidan kapasite ve oksidatif stres indeks değerleri analiz edildi.

Deneyel çalışma sırasında hiçbir sıçanda genel anestezi durumu oluşmazken, tüm sıçanlar 5 gün boyunca normal aktivitelerini sürdürdüler. Kan örneklerinden çalışılan DNA hasarı, antioksidan kapasite ve oksidatif stres indeks değerleri, her iki grupta benzer bulundu.

Kronik olarak desflurana maruz kalan sıçanlarda, kontrol grubuna göre, belirgin bir DNA hasarının oluşmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Desfluran, Kronik maruz kalma, DNA hasarı, Comet Assay yöntemi antioksidan kapasite, oksidatif stres.

SUMMARY

INVESTIGATION OF DNA DAMAGES IN RATS IN CHRONICALLY EXPOSED TO SUB-HYPNOTIC DESFLURANE

In this thesis we aimed to investigate the DNA damage in rat whose chronically exposed to sub-hypnotic doses of desflurane vapor.

This experimental study was started after approval of Harran University Medical School's Ethics Committee and it was performed in Pharmacology Laboratory of the same Faculty. We used 18 female albino wistar species rats weighted between 200-230 gr. The rats were fattened in Harran University Experimental Animal Laboratory during the study period.

Rats divided randomly in two groups (Group I: Desflurane, Group II: Control). For anesthesia gas delivering system we used specially designed plastic boxes and a Datex-Ohmeda Tec 6 plus vaporizer. Fifty percent air-oxygen mixture with 5 L/min fresh flow was delivered to this anesthesia system. In the Group-I sub-hypnotic doses of desflurane (0.5-1 %) vapor were delivered to the rats throughout one hour period. In the Group-II same system was used but desflurane vaporizer was not opened. Desflurane and oxygen concentrations of the inhaled air were measured continuously by an anesthesia gas monitor (Criticare ®).

We repeated the study for gas exposure through five day. The rats were lived in their cages in room's conditions except experimental study hours. At the end of fifth day, rats were anesthetized with 50 mg/kg intra-peritoneal Pentothal and their extremities fixed to a table in supine position. Blood samples were taken via intra-cardiac route. These samples were stored in heparinated tubes in cold storage conditions and were analyzed in Harran University, Medical School Biochemistry Laboratory. The rats were scarified after blood samples taken and than they were buried with lime. The laboratory was analyzed DNA damages using comets assay method for mononuclear leukocytes in blood samples. In addition blood antioxidant capacity and oxidative stress index were measured.

During the study period, non of the rats were achieved general anesthesia level and al of the subjects lived their normal day life activity. Measured DNA damages antioxidant capacity and oxidative stress index values were found similar between two groups.

In conclusion, we found that chronically sub-hypnotic doses of desflurane exposure did not increase DNA damages in respect of control group

Key words: Desflurane, Chronically exposure, DNA damages, Comet Assay method, anti oxidant capacity, oxidative stress index.

1- GİRİŞ VE AMAÇ

İdeal bir genel anestezi uygulamasında amaç; organizmanın fizyolojisine ve metabolizmasına en az zarar verecek koşulları sağlamaktır. Günümüzde kullanılan anestezi ajanları bu şartları tam anlamıyla yerine getiremediğinden yeni ajanlar geliştirilmekte ve bu ajanların organizmaya olan etkileri araştırılmaktadır.

Genel anestezi vital fonksiyonlarda bir değişiklik olmadan geçici bilinç kaybı ve refleks aktivitede azalma ile karakterizedir (1). Genel anestezi maddeleri hastaya, sıklıkla gaz veya buhar halinde solutularak ya da intravenöz (iv) enjeksiyonla verilir. Solunum yolu ile alınan anestezi gazı alveollere, oradan da kana diffüze olur. Beyne ulaşan anestezi maddesi miktarı, belirli düzeye ulaştığında genel anestezi meydana gelir (1,2). İnhalasyon anesteziğinin solunum, dolaşım, SSS ve böbrek fonksiyonlarında yaptığı depresyon, ajanın kesilmesi ile ortadan kalkar. Bu ajanlardan bazılarının büyük miktarda biyotransformasyona uğradığı, toksik etkilerinin çoğunun metabolik ara veya son ürünlere bağlı olduğu anlaşılmıştır (1).

Genel anestezi vücut için bir stres ve travma kaynağıdır. Bu olay oksidatif cevabı arttırmakta, organizmada varolan oksidan-antioksidan kapasite arasındaki dengeyi oksidan kapasite lehine değiştirmektedir. Antioksidan kapasitenin azalması hücrelerin yaralanmasına, buna bağlı olarak DNA hasarına ve mutasyonlara zemin hazırlayabilir. Bu etkinin tekrarlayan dozlarda olması oluşan hasarın kesin ve kalıcı olmasına sebep olabilir. Kalıcı yanıtın oluşabilmesi için hücre çekirdeğinin zedelenmesi ve DNA hasarının oluşması gerekmektedir. Tüm bunların sonucunda proteinlerin yapı ve fonksiyonları değişecek, karsinogenezin başlamasına katkıda bulunacak ve organizma geri dönüşümü olmayan bir yola girecektir. Bu nedenle ki vücuda zararlı etkenler önceden bilinirse onlara yönelik savunma yapılacaktır ve bu geri dönüşümsüz yola engel olunacaktır.

Çeşitli nedenlerle inhalasyon anesteziğinin genotoksikite potansiyelleri merak edilip incelenmiştir. Birincisi her ne kadar geri dönüş ister istemez doğru olmazsa da birçok kimyasal karsinojen aynı zamanda genotoksiktir. Böylece partiküller anesteziğiler hem potansiyel karsinojen hem de genotoksiktir. İkincisi genotoksik maddeler insan genom bütünlüğü için tehlikelidirler (3).

İnhalasyon anesteziğilerin genotoksik kalıntılara sebep olup olmadığı tartışmalıdır (4). İnhalasyon anesteziğileri ile ilgili yapılan çalışmalarda isofluran ve sevofluranın periferik kan lenfositlerinde genotoksikiteye neden oldukları bildirilmektedir (5). Halotan ve isofluranın da

orta düzeyde genotoksik aktivitesi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (6). Bu konuda desfluranla ilgili yapılmış yeterli bir çalışma bulunmamaktadır.

Desfluran günöbirlik anestezinin popölarite kazanmasıyla birlikte 1990'lı yıllardan beri inhalasyon anesteziği olarak kullanılmaktadır. Hızlı etki başlangıcı ve anesteziden derlenmenin çabuk olması nedeniyle kullanımı yaygınlaşmıştır (7, 8, 9, 10).

Bu çalışmada subhipnotik dozda uygulanan kronik desfluran maruziyetinde DNA hasarı, total oksidan seviye (TOS), total antioksidan kapasite (TAK) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) araştırılması amaçlandı.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. GENEL ANESTEZİ YÖNTEMLERİ

2.1.1. Genel Anestezi

Genel anestezi, yaşamsal bulgularda değişiklik olmadan, geçici bilinç kaybı ve refleks aktivitede azalma ile karakterize bir durumdur. Genel anestezi uygulamasında organizmanın fizyolojisine ve metabolizmasına minimum zarar verecek koşulların sağlanması amaçlanır. İndüksiyon, idame, derlenme adı altında üç fazdan oluşan genel anestezi; inhalasyon, intravenöz, intramuskuler veya rektal yollarla sağlanabilir (1).

2.1.2. İnhalasyon anestezi

Solunum yolu ile alınan anestetik gaz ve buharlar, alveollere buradan da kana geçer. Kan yoluyla beyne ulaşan anestetik madde miktarı belli seviyeye geldiğinde genel anestezi meydana gelir. İnhalasyon anestetiklerinin meydana getirdiği genel anestezinin derinliği, bu maddelerin beyindeki parsiyel basınçlarına bağlıdır. Eter, azot protoksit (N₂O), halotan, izofluran, enfluran, sevofluran ve desfluran inhalasyon anestetikleridir. Erişkinler ve çocuklarda inhalasyon indüksiyonu uygulaması mevcut olmakla birlikte en yaygın uygulama alanları anestezi idamesinde kullanılmalarıdır (11).

2.2. GENEL ANESTEZİ İNDÜKSİYONU

Tam uyanıklık halinden, anestetize hale geçiş dönemidir. Anestezinin başlangıç safhası olup, hasta için mümkün olduğunca rahat ve sorunsuz bir şekilde yapılması gerekir. Hastanın hatırlayabileceği tek safha olarak, daha sonraki uygulamalar için belirli bir deneyim oluşturur ve kötü bir indüksiyon hasta için ürkütücü olabilir. İndüksiyon, solunum sistemi ve kardiyovasküler sistemde de akut ve dramatik değişiklikler meydana getirdiğinden dolayı önemlidir. Bu istenmeyen değişikliklerin, yakından izlenmesi ve en aza indirilmesine gayret edilmelidir (12).

İndüksiyonun üç komponenti vardır: Hipnoz, analjezi, amnezi. Bu üç özelliği optimal düzeyde sağlayabilen ideal bir intravenöz veya inhalasyon ajanı yoktur (13,14).

Hipnoz; bilinç uyanıklığını bloke edip, beynin fonksiyonel aktivitesinin ve metabolizmasının yavaşlatılmasıdır. Anestezide uygulanan hipnotik ilaçlar aynı zamanda doza bağımlı olarak solunum depresyonunda yapmaktadırlar. Subhipnotik dozda kullanılan inhalasyon anestetikleri solunum depresyonu yapmazlar, hastanın ağırlı uyaranlara cevabını

baskılar. Bu etkiye ulaşmak için inhalasyon anesteziği etkin MAC (Minimum Alveolar Konsantrasyon) değerinin altında kullanılmaktadır (15).

2.3. GENEL ANESTEZİ İDAMESİ

Anestezinin devamı için günümüzde en yaygın uygulama oksijen/azot protoksit karışımına düşük yoğunlukta, etkin bir inhalasyon anesteziği eklemektir. İnhalasyon anesteziği yerine kuvvetli analjezikler veya diğer intravenöz anesteziklerle kombinasyonlar da kullanılabilir.

Endotrakeal entübasyon ile anestezinin devamı sırasında, gerekiyorsa kas gevşetici verilir ve elle veya mekanik solutma yaptırılması gerekir (16).

2.4. GENEL ANESTEZİNİN SONLANDIRILMASI

Modern inhalasyon anestezikleri kullanıldığında ayılma, ajanın yağda erirliği ve anestezinin süresine göre değişmekle birlikte olguların çoğu 10 dakika içinde havayolunu koruyabilecek duruma gelir.

Kas gevşetici ve anestezik/analjezik kombinasyonları en çok kullanılan idame yöntemidir. Bu yöntemle inhalasyon anesteziği gereksinimi azaldığından, hastanın daha hızlı uyanması beklenirse de kullanılan diğer narkotik, iv anestezik ve benzeri ilaçlar bunu geciktirebilir. Nondepolarizan kas gevşetici kullanılmışsa girişim sonunda antagonize edilir (17).

2.5. ANESTEZİ DEVRE SİSTEMLERİ

Solunum devreleri hastaya giden ve hastadan dönen gazın içinden geçtiği, hortumlar, valvler, bağlantılar ve rezervuar bağlantıdan oluşan değişik kombinasyonlardaki sistemlerdir. Anestezi devreleri açık, tekrar-solumasız, yarı-kapalı ve kapalı devreler şeklinde gruplandırılmıştır.

2.5.1. Açık devreler

Devrenin bir ucu endotrakeal tüpe, diğer ucu gaz karışımını gerektiren ince hortuma bağlanırken, serbest uç atmosfere açık olup, soluk verme havası buradan dışarı atılır (18).

2.5.2. Tekrar-solumasız devreler

Bu devrelerde, ekspire edilen gazların tekrar solumasına, dolayısıyla karbondioksit birikimine olanak vermeyen tek yönlü valvler vardır. Buradan ekspirasyon havasının tamamı dışarı atılır ve her seferinde hasta taze gaz alır. Spontan ve kontrole solunuma olanak verir (18).

2.5.3. Yarı-kapalı devreler

Burada anestezi buhar ve gaz karışımı, hastaya verilmeden önce bir balon veya tüp içinde biriktirilir. Sistemde mevcut bir valv ya da açıklıkla, soluk verme havasının bir kısmı dışarı atılırken, bir kısmı rezervuar balona gider (18).

2.5.4. Kapalı devreler

Vücudun metabolik gereksinimini karşılayacak miktarda oksijen sağlamak ve karbondioksidi elimine etmek koşulu ile soluk verme ile oluşan gaz karışımının tekrar kullanılması esasına dayanırlar (18).

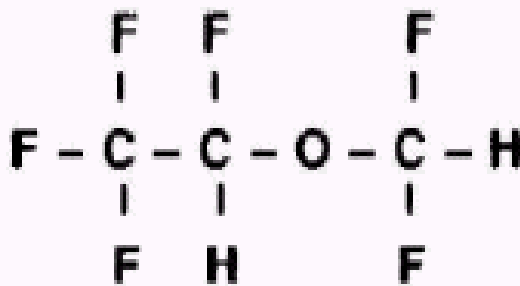
2.5.5. Anestezi gazların ortamdaki uzaklaştırılması

Önceleri patlayıcılıkları nedeniyle sorun olan anestezi gaz ve buharlar, bu sorunun yeni maddeler kullanımı ile ortadan kalkmasından sonra, günümüzde ortam havasını kirleterek bir halk sağlığı sorunu ortaya çıkarmaktadır. Anestezi gazların ortamdaki uzaklaştırılması aktif ya da pasif olarak yapılabilir. Aktif sistemde, anestezi devresi bu iş için ayrılmış bir vakum sistemine bağlanır. Pasif sistemde ise makinenin veya mekanik ventilatörün ekzosu ameliyathanenin ventilasyon sistemine bağlanır (19).

Anestezistler ve ameliyathane çalışanları diğer sağlık çalışanlarına göre ameliyathanelerde daha fazla vakit geçirmektedirler. Bu da anestezi gazların eser miktarlarının uzun vadeli potansiyel etkileri gibi ameliyathane ortamındaki risklere daha fazla maruz kalma demektir. Amerika Birleşik Devletleri Mesleki Sağlık ve Güvenlik İdaresi, nitroz oksit için 25 ppm'den az ve halojenli anestezi gazları için 0,5 ppm (halojenli anestezi tek başına kullanılıyorsa) konsantrasyonu kabul edilebilir en fazla eser konsantrasyon olarak bildirmeyi sürdürmektedir. Bu düşük düzeylerin sağlanması, etkili atık sistemi, yeterli ameliyathane havalandırılması ve bilinçli anestezi tekniğine bağlıdır (20).

2.6. DESFLURAN

Kimyasal formülü $C_3H_2F_6O$ olan desfluranın kimyasal yapısı şekil 1'de verilmektedir.



Şekil 1. Desfluran'ın kimyasal yapısı.

2.6.1. Tarihçesi

Desfluran 1960 yılı başında Terrell ve arkadaşları tarafından Ohio Medical Products Laboratuvarlarında sentezlenmiştir. Orijinal adı I-653 olan Desfluran, florla halojenlenmiştir. Buharlaşıma basıncının 1 atmosfere (Atm) yakın olması ve sentezlenmesindeki güçlükler nedeniyle başlangıçta dikkat çekmemiştir. 1980'lerde günübirlik anestezinin popülerite kazanması nedeniyle tekrar araştırılmaya başlanmış ve 1993'de kullanılmaya başlanmıştır (21,22).

2.6.2. 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 (21,22).

Kaynama noktası: 23.5 °C, buhar basıncı: (20 °C) de 644 mmHg'dır. Buharlaşıma basıncının oda ısısında 1 Atm olması nedeniyle standart vaporizatörlerle uygulanamaz. Bunun için özel desfluran vaporizatörü geliştirilmiştir. Desfluranın kan/gaz çözünürlük katsayısı 0.42, beyin/gaz çözünürlük katsayısı 0.54, yağ/gaz çözünürlük katsayısı 18.7'dir. Kan/gaz çözünürlük katsayısının düşüklüğü induksiyon ve ayılmanın hızlı olmasını, yağda erirliğinin az olması da etkinliğinin azlığını ve MAC değerinin yüksekliğini açıklar (21,23).

Desfluranın kan ve dokudaki düşük erirliği bu anesteziğin çok hızlı yıkınma ve temizlenmesine yol açar. Bundan dolayı, desfluranın alveoler konsantrasyonu diğer volatil ajanlarda olandan daha hızlı olarak solunan konsantrasyona yaklaşma eğilimindedir. Yüksek buharlaşma basıncı, çok kısa etki süresi ve orta derecedeki etkinliği desfluranın en karakteristik özellikleridir (24).

2.6.3. Minimum alveoler konsantrasyon değeri

Minimum alveoler konsantrasyon (MAC); insan veya deney hayvanlarının yarısında, 1 atmosfer basıncında standart bir ağırlı uyarana (cerrahi insizyon gibi) cevapsızlık oluşturan alveoler anestezi madde konsantrasyonunu tanımlamaktadır. MAC, anestezi ajanının beyin parsiyel basıncının göstergesi olduğundan, anestezi ajanlarının etkinliğinin karşılaştırılmasına imkan verir (25).

Desfluranın MAC değeri çeşitli deneklerde % 5.7-10 arasında olup insanda oksijen içinde % 6-7.25, % 60 azot protoksit içinde % 4 olarak bulunmuştur (Tablo I) (23,26,27).

Tablo I. Desfluran'ın yaş ile değişen MAC değerleri.

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

2.6.4. Metabolizması

Metabolizma ilacın terapötik aktivitesi ve toksisitesinde çok etkilidir. İnhalasyon anesteziikleri büyük ve artan miktarlarda metabolize edilmektedirler. Biyotransformasyonun anesteziiklerin farmakolojik aktivitelerinde etkisi azdır, fakat toksisitelerinde önemli bir etkisi vardır. İlaç metabolizmasındaki enzimatik reaksiyonlar oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyondur. Bunlar biyotransformasyon reaksiyonlarıdır (28).

İlaç metabolizması tüm hayvan türlerinde aynıdır, bifaziktir: Biyotransformasyon basamakları ve sentez reaksiyonları. Faz I (biyotransformasyon) hidroksilasyon ve oksidasyonlardan ibarettir. Hidrolizis ya da non polar ilaç ya da lipid çözünürlü ilaç reaksiyonlarıdır. Faz II (sentez) ilaç konjugasyonu ya da endojen bileşiklerle (çoğunlukla glisin, sülfid ya da glukronik asit) metabolize edilmelerinden meydana gelir. Her iki fazda da metabolize olan ürünler idrar ve safra ile kolaylıkla atılırlar. Faz I reaksiyonları birincil olarak endoplazmik retikulumda, Faz II reaksiyonları sitoplazmada oluşur (29).

Desfluran kimyasal olarak stabil bir bileşiktir. Degradasyon ve toksisite arasında potansiyel bir ilişki olduğu için desfluranın degradasyona direnci bu ilacın güvenilirliğinin göstergesidir. Desfluran, kurutulmuş CO₂ absorbanları (özellikle baryum hidroksit laym) tarafından klinik olarak önemli düzeylerde karbonmonoksit (CO) parçalanır. Burada kullanılan absorbanın tipi, ısısı ve kuruluğu da CO oluşumunu doğrudan etkilemektedir. CO oluşumunun, bazik ortamda ajanın yıkımına bağlı olduğu savunulmaktadır. Ayrıca sodalime ile çok uzun süreli temasında düşük miktarlarda fluorofom ortaya çıkmaktadır (CHF₃) (30,31).

Karaciğerde sitokrom p-450 desfluran metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ratlarda serum flor konsantrasyon piki desfluran açılımından hemen sonra görülmektedir. Serumda flor konsantrasyonunun artışı MAC 7.4/saat desfluran uygulamasından sonra ölçülebilmektedir. Serum trifluoroasetik asit konsantrasyonu 24 saat sonra önemli miktarda

artış göstermektedir. İdrarda trifluoroasetik asit atılımında anlamlı olarak artmaktadır. Desfluran defluorinasyona aşırı derecede rezistandır ve serum flor konsantrasyonları cerrahi hastalarda desfluran uygulamasından sonra normal değerlerin üzerinde bir artış görülmemiştir. Bu bulguların sonucunda desfluran kullanımından sonra nefrotoksisite görülmediği söylenebilir (32).

Desfluran düşük doku çözünürlüğü sayesinde daha hızlı vücuttan atılır. Eliminasyonu sırasında, alveoler konsantrasyonu izoflurana oranla daha hızlı düşer (33,34).

2.6.5. Sistemlere etkileri

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 çalma sendromuna neden olmaz (23).

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 bağlı olarak diğer etkileri şunlardır;

- PaCO₂ artması,
- CO₂'e olan ventilasyon cevabında azalma,
- İntrapulmoner şant oranının artması,
- Ölü boşluk solutmasının tidal solutmaya olan oranının artması (34).

Keskin kokusu ve hava yolu irritasyonu, desfluran indüksiyonu sırasında tükürük salınımında artma, nefesin tutulması, öksürük ve laringospazm ile kendini gösterir.

Santral sinir sistemi üzerine etkileri: Diğer inhalasyon anestezikler gibi desfluran da 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 (21,34).

Elektroensefalografi (EEG) üzerindeki etkileri isofluran ile benzerdir. Desfluran kullanımı ile oluşan epileptik aktivite rapor edilmemiştir (35).

Diğer etkileri: Desfluran doza bağlı olarak böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını düşürür. Desfluran kullanımı ile gelişen nefrotoksisite bildirilmemiştir.

Desfluran karaciğer fonksiyon testlerini etkilemez. Karaciğer kan akımını azaltır.

Diğer ilaçların klirensini etkileyebilir.

Desfluran nöromusküler fonksiyonları deprese eder. Trakeal entübasyon için yeterli kas gevşemesi sağlar. Desfluran da diğer inhalasyon ajanları gibi kas gevşeticilerin etkisini arttırmaktadır (30,31).

2.6.6. İlaç etkileşimleri

Desfluran nondepolarizan kas gevşeticilerinin etkilerini potansiyalize eder. Desfluran kalp kasını epinefrinin disritminojenik etkilerine karşı hassaslaştırmadığından 4,5µgr/kg dozlara kadar epinefrin güvenle kullanılabilir (24).

2.6.7. Kontrendikasyonları

Diğer modern inhalasyon anesteziklerin kontrendikasyonlarının çoğu desfluran içinde geçerlidir; ciddi hipovolemi, malign hipertermi ve intrakraniyal hipertansiyon (24).

2.7. SERBEST RADİKALLER

Bilindiği gibi atomların çekirdekleri etrafında dönen elektronlar, belirli enerji düzeylerinde, birbirine zıt momentli çiftler şeklinde bulunmaya eğilimlidirler. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron; atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir ve molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir ($R\cdot$, R') (36,37).

2.7.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen 8 atom numaralı doğada dioksijen (O_2) olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir (36,38).

Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (Tablo II).

Tablo II. 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 [·])

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 nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri iki ana başlık altında incelenmektedir (36,38).

2.7.1.1. Süperoksit Radikalleri (O₂[·])

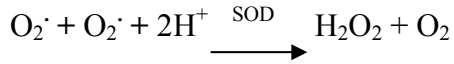
Süperoksit radikalleri (O₂[·]), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilmektedirler. Süperoksit oluşumu; a) elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve b) ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalının kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (39). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO[·] radikallerini oluşturmaktadırlar.



Üretilen bu OH[·] radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (40).

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 radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu spontan

olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.



2.7.1.2. Hidroksil Radikalleri (HO \cdot)

Hidroksil radikali (HO \cdot), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta şekilde görüldüğü gibi iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (OH \cdot).

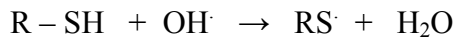


Hidrojen peroksitin (H₂O₂) Fe⁺² veya Cu⁺² ile reaksiyona girmesiyle de OH \cdot oluşmaktadır. H₂O₂ toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan OH \cdot olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.



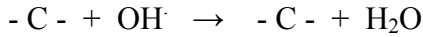
OH \cdot radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH \cdot DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH \cdot 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 \cdot DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA'da iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (39,41).

Deoksiribonükleik asitin pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.

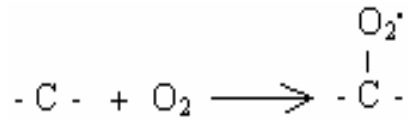


Sonuçta oluşan sülfür radikalleri ilginç kimyasal özelliklere sahiptir. Sülfür radikalleri, O₂ ile kombine olabilir ve oksî-sülfür radikallerini oluşturur; RSO₂ ve RSO[•] gibi. Bunların bir çoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar.

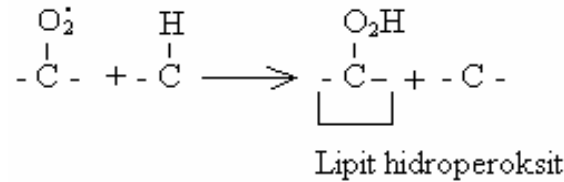
OH[•]'ın sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH[•] membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder. Bu özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu şeklinde gerçekleşir.



Bu reaksiyon sonunda membranda -C- radikali kalır. Bu -C- radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur.



Peroksil radikaller reaktiftir ve yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır;

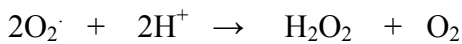


Böylece OH[•] radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipit hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipit hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar. Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehytler, membran proteinlerinde ciddi bir hasara neden olurlar ve membrana bağlı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (38, 42, 43).

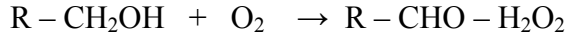
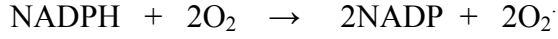
2.7.1.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂^{•-}) hidrojenle yaptığı reaksiyona Dismutasyon Reaksiyonu adı verilir ve dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (38, 44).

Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;

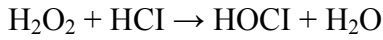


Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O_2^- veya H_2O_2 oluşmasını sağlarlar.



2.7.1.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

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



2.7.1.5. Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal değil ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O_2 , oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir.

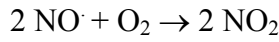
Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri (ROO^\cdot), alkoksil radikalleri (RO^\cdot), karbon merkezli radikaller (R^\cdot) veya tiol radikalleri (RS^\cdot) oluşur. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (45).

2.7.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-)

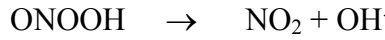
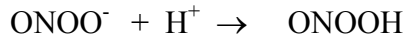
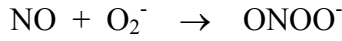
Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir (46). Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen nitrik oksit (NO), bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür (47,48,49). Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir (46). NO^\cdot bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır

(50). Bu lipofilik serbest radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'nın 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. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür.

NO metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksidi (NO₂) oluşturur:



NO'nın ROS'leri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve bunun da ileri dekompozisyonla OH[·] radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir:



OH[·] radikali ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak toksik nitro- türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır.

Sonuç olarak NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir.

2.7.3. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında olduğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerin etkisiyle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini artırırlar. Sitokrom P 450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin

ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar (45, 51) . Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

2.7.3.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Normal olarak metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır.

2.7.3.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi

Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır. Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (52).

2.7.3.1.2. Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P–450 moleküller oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise su oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak adlandırılır.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P–450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal oluşturur. Son durumda bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektrofilik ürün bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur.

Tiyol grubu ise pek çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksisite gösterbilirler (53).

2.7.3.1.3. Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmamaktadır. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (54).

Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve dolayısıyla daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluştuğu Fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (39).

2.7.3.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarında prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi prekürsörü araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik 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 (55).

Araşidonik asit 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 lipit peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (55). Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden bu esnada reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterirler.

2.7.3.1.5. Fagositoz

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

Tablo III. Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

Trombositler	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot}
Nötrofiller	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$
Eozinofiller	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$,
Makrofajlar	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$, NO^{\cdot}

Kan monositleri, doku makrofajları (kuffer 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. Fagosit 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 mutajenik etki oluşturabilirler (55).

2.7.3.1.6. Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında az yada çok otookside olurlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli komponentleridirler (56, 57, 58). Bunlar arasında, hemoglobin gibi metalloproteinler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir.

Bütün otooksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece otooksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar.

2.7.3.1.7. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksid anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz

NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, ürat oksidaz gibi enzimler bunlardan bazılarıdır.

Üzerinde en çok çalışılan enzim ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte ve bu şekilde dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O_2 oluşturmaktadır (59).

2.7.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

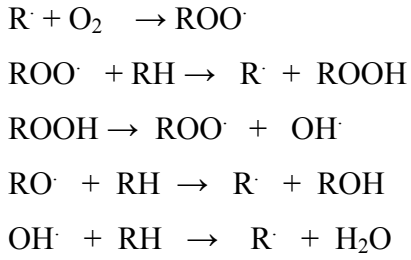
Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (60).

2.7.4. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.7.4.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır (61,62). 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 (61).

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 (61,63).



Birçok olayda bu şekilde oluşan lipid 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 (63).

Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını arttırmaları. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve geçirgenliğini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (55, 63, 64).

2.7.4.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır.

1) Amino asitlerin modifikasyonu, 2) Proteinlerin fragmentasyonu, 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (65).

Aromatik aminoasitlerde (fenilalanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar olduğundan, oksidatif ataklara çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas amino asitlerdir. 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 (66).

Serbest radikaller etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O₂ veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur.

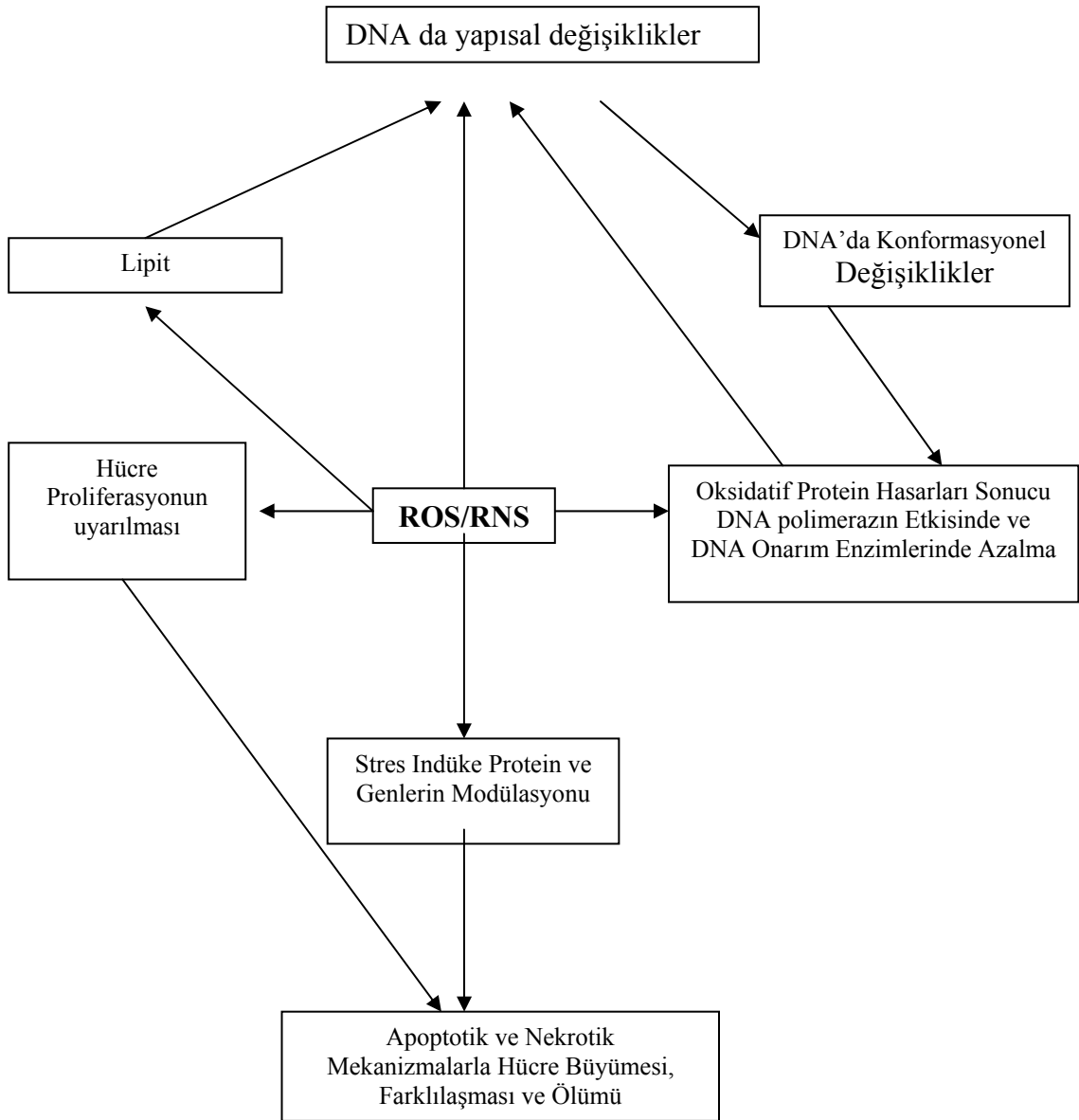
2.7.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar (66).

Enflamatuar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya geçen polimorfonükleer lökositlerden hücre dışı sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂ buradaki mukopolisakkarit olan hyalüranoik asidi parçalarlar. Gözün vitöz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunur. Bununda oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (68).

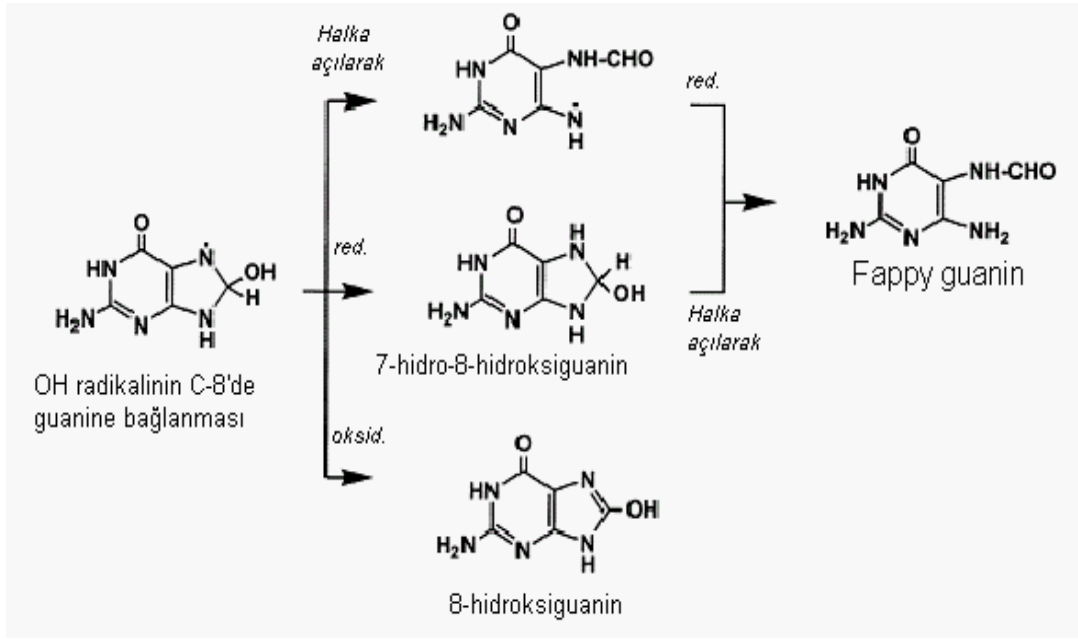
2.7.4.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona 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.



Şekil 2. *Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin (ROS ve RNS) vücuttaki etkileri*

ROS ve RNS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (69). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. 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. Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (70,71). Örneğin O_2^- ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH^\cdot radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır (72). Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (73,74).



Şekil 3. 8-hidroksiguanin ve FapyGua'in oluşum mekanizmaları

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (74). 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 (Şekil 3) (74). Şekil 3'de 8-hidroksiguanin (7,8-dihidroksi-8-oxoguanin:8-OH-Gua) ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir. İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleozidi şeklinde ölçülmektedir (75).

Timinin alil radikalının oksidasyonu ile 5-hidroksimetilurasil ve 5-furmilurasil oluşmaktadır. Dehidrasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına yalnızca sitozin katılabilmektedir. Böylece sitozin; glikol dehidrasyonla urasil, glikol deaminasyon ile 5-hidroksi urasil (5-OH-Ura), dehidrasyon ve deaminasyon ile de 5-hidroksisitozini (5-OH-Cyt) vermektedir (76,38).

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (60). 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 (77). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagenezise, kanserogeneze ve yaşlanmaya yol açmaktadır (78).

Serbest radikallerin, DNA'ya etkileri mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona 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.

ROS ve RNS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (69). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid (NO) veya nitrojen dioksid (NO₂), peroksinitrit (ONOO⁻), dinitrojen trioksid (N₂O₃) ve nitrik asid (HNO₃) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (70,71). Örneğin O₂ ve H₂O₂ hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH⁻ radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır (72). Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (73,74).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (74). 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-pürünler) ve formamidopirimidinler oluşur (74). 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleozidi şeklinde ölçülmektedir (75).

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (51). 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 (77). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagenezise, kanserogenezise ve yaşlanmaya yol açmaktadır (78).

2.8. GENOTOKSİSİTE

Mutasyonlar genetik bilginin değişimi ile gelecek kuşaklara aktarılır. Germ hücrelerinde tamir edilemeyen mutasyonlar kuşaktan kuşağa geçiş yapar. Somatik hücrelerde

tamir edilemeyen mutasyonlar kanserleri de içine alan hastalıklara sebep olur. Dört tip mutasyon tanımlanmıştır; temel çift mutasyonu, şekil değiştirme mutasyonları, kopmalar ya da kromozom segmentlerinde yeni düzen ve ikiz kromatid değişimi (79).

3. MATERYAL VE METOD

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındıktan sonra deneysel çalışmaya başlandı. Araştırma için 200-230gr ağırlığında 18 adet dişi Wistar türü albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar daha önce bir çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı tarafından Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden alınmış olup çalışma öncesinde hiçbir işlem görmemiş sağlıklı hayvanlardı. Deney hayvanları standart pellet yemle ve çeşme suyu ile beslendi. Deney süresi boyunca Harran Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında bakımları yapıldı. Çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarında yapıldı. Anestezik gaz Eczacıbaşı-Baxter firması tarafından üretilen Datex-Ohmeda Tec6 Plus desfluran vaporizatörü ile verildi ve gaz çıkışına konulan bir örnek hat ile ortama geri çıkan anestezik gaz, oksijen ve karbondioksit konsantrasyonları ölçüldü. Sıçanlar randomize olarak 2 gruba ayrıldı. Grup I (desfluran) %50 O₂, 0,5 MAC'dan desfluran gazına maruz bırakıldı. Grup II'ye (kontrol), %50 O₂ verildi. 5 gün boyunca aynı saatte olmak üzere birer saat bu işlem tekrar edildi. Hayvanlar 2 ya da 3 erli gruplar halinde yaklaşık ebatları 20 x 25 cm olan plastik bir kutuya konuldular. Bu kutuya 2 x 2cm çapında bir delikten gaz girişi sağlanırken kutudaki diğer aynı boyutlardaki delik vasıtasıyla da içerideki gazın atılması sağlandı. Deney dışındaki saatlerde sıçanlar kendi kafeslerinde oda şartlarında bakıldılar. Beşinci günün sonunda kan alma işlemi sırasında ağrı duymamaları için tüm sıçanlara 50 mg/kg pentotal periton içine insülin enjektörüyle uygulanarak derin anestezi sağlandı. Sıçanlara anesteziye ilave olarak kas gevşetici veya narkotik analjezik gibi başka bir farmakolojik ajan kullanılmadı. Operasyon masasına alınan sıçanlar supin pozisyonunda ekstremitelerinden masaya tespit edildi. Toraks ve batin üzerindeki cilt ve kas dokuları sağ ve sol tarafa açılarak kostalara kadar serbestleştirildi. İntrakardiyak girişimle kan örnekleri alındı. Alınan kanlar heparinli tüplere aktarılarak özel bir kap içerisinde, soğuk ortamda, en kısa sürede Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı. Deney hayvanları kan alındıktan sonra sakrifiye edilip, üzerlerine kireç kaymağı dökülüp toprağa gömüldüler. Deney hayvanlarının DNA hasarları mononükleer lökositlerinden Comet Assay yöntemi ile değerlendirildi. Ayrıca antioksidan kapasite ve oksidatif stres indeksleri ölçüldü.

3.1. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

Alınan kanlar heparinli tüplere aktarıldı. Özel bir kap içerisinde, soğuk ortamda en kısa sürede Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi 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.

3.2. 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 ($\text{pH}=7.4$) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C 'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu ($\text{pH}=7.4$) ile 10^6 mononükleer lökosit / μl olacak şekilde dilüe edildi.

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

3.3.1. Yöntemin Prensipleri

Comet assay yöntemi alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agarozta 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 (80,81).

3.3.2. Yönteminin Uygulanışı

3.3.2.1. Slaytların Hazırlanması

%1,0 'lik NMP agaroz jel hazırlanarak $80\mu\text{l}$ jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında ($2-4^{\circ}\text{C}$) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lameller nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm^3 'te 10^4 hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden $10\mu\text{l}$ alınarak $80\mu\text{l}$ %0,5'lik low melting point (LMP) agaroz jel (37°C) 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 (80,81).

3.3.2.2. 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 (80,81).

3.3.2.3. 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) (80,81).

3.3.2.4. 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 (80,81).

3.3.2.5. Nötralizasyon

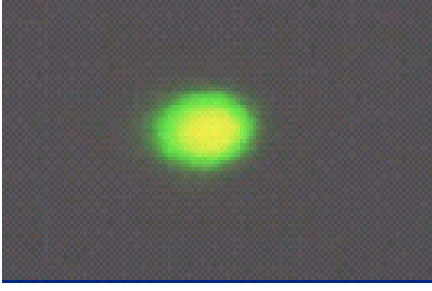
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (80,81).

3.3.2.6. Boyama

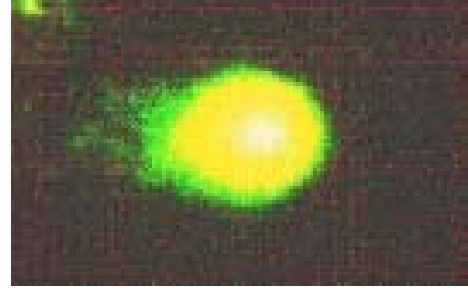
Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanıldı. Herbir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan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

3.3.2.7. Analiz

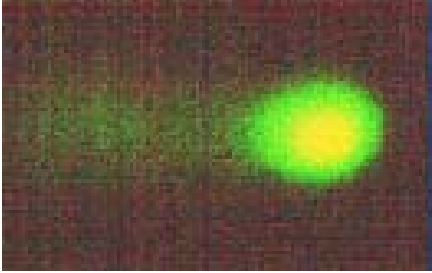
Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA lar beş kategoride değerlendirildi. Resimlerde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA lar 0, maksimum hasar olan DNA lar 5 olarak değerlendirildi (Resim 1).



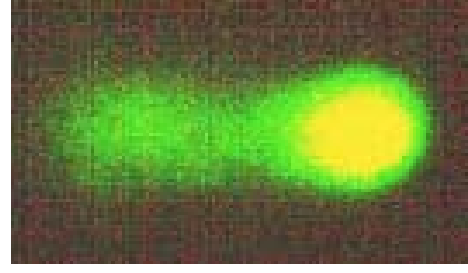
Resim: A



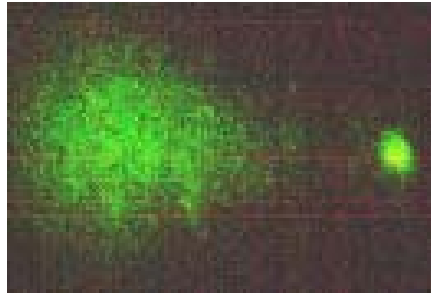
Resim: B



Resim: C



Resim: D



Resim: E

Resim 1- DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri. DNA çekirdeği bütünlüğünü korumaktadır (A). DNA çekirdeğinde minimal bir hasar oluşmuştur (B). DNA çekirdeği zedelenmiş ve migrasyon başlamıştır (C). DNA çekirdeğindeki zedelenme belirgindir ve migrasyon artmıştır (D). DNA çekirdeği bütünlüğünü kaybetmiş, migrasyon uzunluğu ve fragmentasyon miktarı artmıştır. Yönteme adını veren kuyruklu yıldız görünümü oluşmuştur (E).

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (80,81).

3.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Reaktifler

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

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM Fe(NH₄)²(SO₄)²-6H₂O çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe²⁺-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 (82).

3.5. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (82).

Reaktifler

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihidrochloride 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 (83).

3.6. Yapılan İstatistiksel Analizler

Ticari bir program olan SPSS 11.0 kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. $p < 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar Mann-Whitney U Testi ile değerlendirildi.

4. SONUÇLAR

4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Gruplar demografik özellikleri açısından benzerdi. Cinsiyet, yaş, ağırlık ve anestezi süreleri bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$)(Tablo IV). Çalışma süresince kaybedilen sıçan olmadı.

Tablo IV: Grupların demografik verileri

Demografik veriler	Grup I (n=10)	Grup II (n=8)
Cinsiyet(K/E)	10/0	8/0
Yaş (ay)	3	3
Ağırlık (gr)	200 ± 30	200 ± 30
Anestezi süresi (dk)	60	60

4.2. DNA HASARI SONUÇLARI

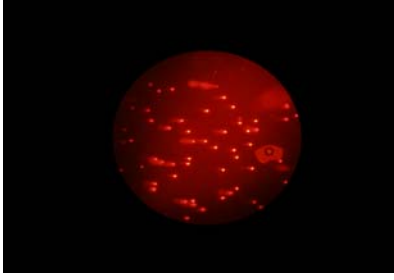
Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo V).

Tablo V. Grupların DNA hasarı sonuçları

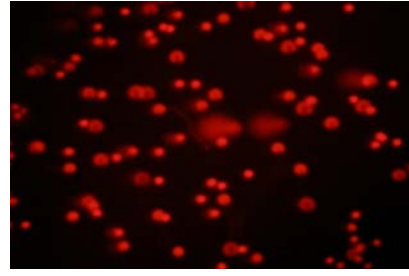
	Grup I (n=10)	Grup II (n=8)	
DNA hasarı (arbitrary units)	20.90 ± 8.21	15.20 ± 15.04	$p > 0.05$

Comet Assay yöntemi ile ölçülen DNA hasarı bakımından gruplar arasında fark gözlenmedi.

Oluşan DNA hasarları görüntülendi (Resim 2).



Resim: A



Resim: B

Resim 2: DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki toplu görüntüleri. (A,B)

4.3. ANTİ-OKSİDAN KAPASİTE SONUÇLARI

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo VI)

Tablo VI. Grupların Antioksidan Kapasite sonuçları

	Grup I (n=10)	Grup II (n=8)	
TAO (mmol TroloxEq/L)	1.30 ± 0.18	1.35 ± 0.20	$p > 0.05$

4.4 OKSİDATİF STRES SONUÇLARI

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo VII)

Tablo VII. Grupların Oksidatif stres sonuçları

	Grup I (n=10)	Grup II (n=8)	
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)	12.80 ± 4.87	12.93 ± 6.10	$p > 0.05$

5.TARTIŞMA

Genel anesteziye kullanılmakta olan anestezi maddeleri ve anestezi süresi, cerrahi travmanın oluşturduğu stresle birlikte, vücudun immünolojik ve antioksidan savunma sistemlerini bozan önemli faktörlerdendirler (84, 85, 86, 87).

İnhalasyon anesteziyelerinin genotoksitesileri ile ilgili en erken çalışmayı 1977 yılında Rosenberg ve arkadaşları yapmışlardır. Operasyon odasındaki hemşirelerle, cerrahi hemşirelerin kan lenfositleri arasında kromozomal hata sayıları araştırılmış ve anlamlı bir fark bulunamamışlardır. Sonuç olarak 312 ay ve fazlasında anestezi gazlara maruz kalan personelin lenfositlerinde kromozomal hata ya da ikiz kromatid değişimi riskini yüksek bulmamışlardır (88).

1990 ve 1992 yıllarında yapılan iki ayrı klinik çalışmada ise anestezi gazlara maruz kalan operasyon odası personeline sitogenetik hasar açıkça gösterilmiştir (89).

Hoerauf ve arkadaşları inhalasyon anesteziyelerinden isofluran ve nitroz oksit genotoksik potansiyelini *in vitro* ortamda çalışmışlardır. İkiz kromatid değişimi (SCE) kontrol ve karşılaştırmalı hücreler arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Sonuç olarak, isofluran ve nitroz oksit subanestezi konsantrasyonlarının, periferik lenfositlerde *in vitro* olarak genetik hasar meydana getirdiğini göstermişlerdir (4).

Yine Hoerauf ve arkadaşları ameliyathane odasındaki sağlık personellerinin düşük doz anestezi ajanlarına kronik/subkronik maruziyetini çalışmışlardır. Çalışmada sağlık personellerinin kan lenfositlerinden elde edilen kültür kromozomlarında ikiz kromatidler arasındaki sayı değişikliklerini değerlendirmişlerdir. Etkilenen mutajenlerde SCE değişiklikleri sayı olarak arttığını bulmuşlardır. Sonuç olarak yüksek konsantrasyonlarda halotan ve nitroz oksite maruz kalan ameliyathane odasındaki personelerde SCE oranında artış tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya göre düşük konsantrasyonlarda bile inhalasyon anesteziyelerine maruz kalma genetik hasar riskini arttırmaktadır. Ameliyathane çalışanlarında anestezi gazlara bağlı gelişen kronik maruziyet DNA mutasyonlarına neden olabilmektedir. Artan morbiditenin altında genetik hasarın rolünün olup olmadığı ise henüz gözlemlenememiştir (90).

Karpinski ve arkadaşları desfluranın insan lenfositlerinde genotoksitesisini *in vitro* olarak comet assay yöntemi ile çalışmışlardır. Bu çalışmada göstermişlerdir ki desfluran DNA fragmentasyonuna kadar uzanan potansiyel genotoksiteye neden olmaktadır. Bu DNA fragmentasyonu sonucu genotoksik ajanlar direkt olarak hücre ölümüne yol açmaktadırlar.

Diğer anestezi ajanlarından halotanın genotoksisite yaptığını pozitif kontrolle saptamışlardır. Bu çalışmada görülmüştür ki desfluranın genotoksisitesi halotanla karşılaştırılabilir düzeydedir. Bununla beraber her iki ilacın farmakodinamisi göz önüne alındığında, sağlık çalışanlarında desfluranın genotoksisitesinin daha az olduğu bildirilmiştir (91).

Karabıyık ve arkadaşları isofluran ve sevofluranın genotoksisitesini *in vivo* comet assay yöntemi ile çalışmışlardır. İnsan lenfositlerinde anestezi öncesi, anestezi sırasında ve sonrasında genotoksisiteyi *in vivo* çalışmışlardır. Her iki ajanın genotoksik aktivitesini ölçmüşlerdir. Venöz kan örnekleri anestezi induksiyonu öncesi ve anesteziyi takip eden 60 ve 120.dakikalarda ve 1, 3 ve 5. günlerde alınarak DNA hasarını değerlendirmişlerdir. Anestezi sonrası 120.dakikada DNA hasarının belirgin bir şekilde arttığı fakat postoperatif 5. günde tamama yakın onarıldığı gözlemlenmiştir (5).

Szyfter ve arkadaşları sevofluranın genotoksisitesini *in vivo* ve *in vitro* araştırmışlardır. Bu çalışmayı sevofluranın potansiyel genotoksisitesini araştırmak, halotan ve isofluran ile karşılaştırmak amacıyla planlanmışlardır. Bu üç ajanın insan periferik lenfositlerindeki etkilerini *in vitro* comet assay yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Sevofluranın DNA imigrasyonunu etkilemediğini bulmuşlardır. Sonuç olarak sevofluranın genotoksik etkisinin olmadığını *in vivo* ve *in vitro* şartlarda göstermişlerdir (6).

Bilban ve arkadaşları operasyon odasında kronik inhalasyon ajan maruziyetinin oluşturduğu sitogenetik etkiyi araştırmışlardır. Sağlık sektöründe ameliyathane personeli operasyon ve uyanma odasında, ayaktan tedavi kurumlarında çalışanlara göre daha yüksek oranda kronik anestezi ajan maruziyetine uğramaktadır. Sitogenik analiz çalışmasını(yapısal kromozomal hata, ikiz kromatid değişimi ve mikronukleus test) anestezi uzmanları, anestezi gazlarla çalışan diğer personel, ara sıra iyonize radyasyon odasında çalışanlarla, radyoloji uzmanlarında yapmışlardır. Genotoksik ajanlara (inhalasyon anestezikleri ve x-ray radyasyon) kronik maruz kalanlarla, ara sıra düşük dozlarda karşılaşanlar arasında somatik hücrelerde kromozomal hata oranını daha fazla bulmuşlardır (92).

Natarajan ve arkadaşları işte çalışma süresi ile kromozomal hata oranı üzerinde çalışmışlardır. Operasyon odasında çalışma süresi ile kromozomal hata görülme olasılığı arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir, ikiz kromatid değişimi riskinde bununla doğru orantılı olarak arttığını göstermişlerdir (93).

Husum ve arkadaşları operasyon odasında ve diğer anestezi gazlarla çalışanlarda ikiz kromatid değişimi analizini çalışmışlardır. Uzun süre halotan ve nitroz oksit konsantrasyonları ile çalışan personellerde ikiz kromatid değişiminin arttığını göstermişlerdir (94).

Yine Husum ve arkadaşları DNA'daki değişimin teratojenite ve karsinogenezisteki etkisini araştırmışlardır. Anestezik gazların DNA larda değişimi indüklediğini, böylece mutasyonlara yol açtığını, DNA 'daki bu değişimin teratojenite ve karsinogeneziste önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir (95).

Hoerauf ve arkadaşlarıda uzun süre operasyon odasında çalışanlarla, anestezik gazlarla çalışanlarda yapısal kromozomal hatayı araştırmışlardır. Bu sağlık çalışanlarında ikiz kromatid değişim sıklığının arttığını göstermişlerdir (96).

Sardas ve arkadaşları inhalasyon anestezikleri ile çalışanlarda DNA zincir hasarını araştırmışlardır. İnhalasyon anestezikleri ile çalışanlarda DNA zincir hasar oranının arttığını gözlemlemişlerdir (97).

Bruce ve arkadaşları operasyon odasında çalışanlarda spontan abortus, konjenital malfomasyonlu bebek ve kanser riskini araştırmışlardır. Geriye dönük yapılan bu çalışmada operasyon odasında çalışanlarda spontan abortus, konjenital anomalili bebek ve kanser riskinin arttığını bildirmişlerdir (98).

Rozdaj ve arkadaşları anesteziklere maruz kalmanın kromozomal hasarı başlatıp başlatmadığını araştırmışlardır. Anesteziyolog, teknisyen ve ameliyathane hemşirelerinde kromozomal hata, kromatid değişiklikleri ve mikronukleus belirleme sıklığını incelemişlerdir. Anesteziklere maruz kalanlarda kromozom hasarlarını artmış olarak bulmuşlardır. Kromatid değişiklik sıklığı önemsizken, kromozomal hata ve mikronukleus sıklığı bayanlarda daha fazla olmak üzere, anlamlı olarak artmış olarak gözlemlemişlerdir (99).

Tannenbaum ve arkadaşları anestezik gazların fertilité üzerine etkilerini anesteziklerle çalışan sağlık personeli üzerinde çalışmışlardır. Bu gruptaki sağlık çalışanlarında spontan abortus insidansının ve konjenital anomalilerin artmış olduğunu bildirmişlerdir (100).

Reitz ve arkadaşlarıda isofluran ve nitroz oksidin periferik insan lenfositlerinde DNA hasarını araştırmışlardır. Bu ajanlara maruz kalan ameliyathane çalışanlarında DNA tekli bağ kırılmaları olduğunu göstermişlerdir (101).

Jaloszynki ve arkadaşlarıda halotan ve isofluranın insan lenfositlerinde genotoksisitesini çalışmışlardır. Bu anestezik gazlara maruz kalan sağlık çalışanlarında insanların lenfositlerinde DNA migrasyonunun çok artmış olduğunu *in vitro* olarak gözlemlemişlerdir (102).

Coate ve arkadaşlarıda farklı anesteziklerle sitogenetik değişiklikleri araştırmışlardır. Memeli ve insanlarda *in vivo* ve *in vitro* olarak sitogenetik değişiklikler olduğunu bildirmişlerdir (103).

Natarajian ve Santhiya ameliyathane hemşirelerinde kromozom hasarını araştırmışlardır. Kromatid değişikliklerinin frekansının arttığını söylemişlerdir (104).

Chang ve arkadaşları da yine ameliyathane hemşirelerinde kromozom hasarı üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Bu grup sağlık çalışanlarında mikronukleus formasyonunun arttığını tespit etmişlerdir (105).

Bigatti ve arkadaşları da ameliyathane çalışanlarında kromozom hasarını araştırmışlardır. Anesteziklere maruz kalanlarda kromozomal yapışıklıkların fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (106).

Bizim yaptığımız çalışmada gruplar arasında DNA hasarı sonuçlarında anlamlı bir fark bulunmamasını maruziyet süresinin az olmasından kaynaklandığını düşündük.

İnhalasyon anesteziklerinin mekanik ventilasyon sırasında bronkopulmoner lavajda proinflamatuvar sitokinleri ve serbest radikal oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Ayrıca deneysel çalışmalarla, inhalasyon anesteziklerinin alveoler makrofajların sitotoksik kapasite ve fagositoz yanıtını baskılayıcı etkileri de gösterilmiştir (87, 107, 108).

Desfluran klinik kullanıma son yıllarda giren inhalasyon anestezigidir. Kan ve dokulardaki çözünürlüğü düşük olduğundan hızlı indüksiyon, yağda eriyebilirliği düşük olduğu için de çabuk derlenme sağlar. Bu yapısıyla desfluranın, ideal anestezik maddede bulunması gereken özelliklere sahip olduğu söylenebilir. Fakat desfluranla yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla pulmoner alveolo-kapiller membranlarda oksidatif strese bağlı doku hasarına yol açtığı ileri sürülmektedir (107, 109).

Oksidatif strese maruz kalan hücrelerde meydana gelen serbest radikaller, hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerini etkileyerek oksidatif hasar meydana getirirler (110, 111, 112).

Johnson ve arkadaşları yaptıkları *in vitro* çalışmada klinikte sıkça kullanılan inhalasyon anesteziklerinin pulmoner endotel hücrelerinde oksidatif hasarı artırdığını bulmuşlardır (113).

Shaveyitz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada halotanla oksidatif hasar arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Pulmoner hasarı belirlemek için pulmoner kapiller geçirgenlik katsayısı ve araşidonik asit mediatörlerinin üretimini incelemişler, sonuç olarak *ex vivo* koşullarda perfüze edilen ve halotan ile ventile edilen tavşan akciğerlerinde; pulmoner kapiller yatak geçirgenliğinin bozulduğu ve tromboksan A₂ üretiminin arttığını gözlemlemişlerdir (114).

Allaouchiche ve arkadaşları propofol ve desfluranın akciğerlerde oksidatif stres cevaba olan etkilerini araştırmak amacı ile bronkoalveolar lavaj(BAL) örneklerinde MDA,

SOD(süperoksit dismutaz) ve GSH-Px(glutatyon peroksidaz) konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Bu çalışmada desfluranın MDA değerlerini anlamlı derecede artırdığını ve GSH-Px değerlerini azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca propofolün MDA değerlerini azalttığı, GSH-Px değerlerini artırdığı, SOD değerlerinde ise gruplarda anlamlı değişiklik bulunmadığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre desfluranın alveoler oksidatif stresi artırdığını buna karşılık propofolün ise antioksidan etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir (115).

Köksal ve arkadaşları sevofluran ve desfluranın lipid peroksidasyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacı ile hastalardan alınan Bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde MDA ve SOD değerlerini karşılaştırmışlardır. Desfluran grubunda MDA değerlerinin sevofluran grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, SOD değerlerinde ise anlamlı farklılık gözlenmediği, sonuç olarak desfluranın lipid peroksidasyonunu artırdığını bildirmişlerdir (116).

Dikmen ve arkadaşları desfluran ve sevofluranın enzimleri metabolize eden serbest radikallere etkilerini araştırmışlardır. Ratlarda yaptıkları bu çalışmada kontrol grubuna(grup I) hiçbir ajan vermemişler, grup II'e %2 sevofluran+hava/O₂, grup III'e %6 desfluran+hava/O₂, grup IV'e ise %100 O₂ vermişler. Bu işlemi üç gün boyunca 60 dk yapmışlardır. Ratlarda SOD, katalaz(CAT), GSH-Px, glutathion-s-transferase(GST) ve tiobarbitirik asit reaktif substances(TBARS) düzeyleri ölçülmüş ve elektron mikroskopundaki değişikliklerini araştırmışlardır. Desfluran ve sevofluran verilen gruplarda elektron mikroskopundaki değişiklikler benzer olmasına rağmen, sevofluran grubunda enzimleri metabolize eden serbest radikal düzeylerinin arttığını ve daha fazla hücre hasarı oluşturduğunu gözlemlenmiştir (117).

Yerer ve arkadaşları sıçanlarda desfluran anestezisi altında kırmızı kan hücrelerinde deformiteyi çalışmışlardır. Ratlar genç kontrol(grupI), genç(grupII), yaşlı kontrol(grupIII), yaşlı(grup IV) olarak ayrılmışlardır. %6 desfluran+hava /O₂ bir saat boyunca sıçanlarda vermişlerdir. Kırmızı kan hücrelerinde deformatite indeksini araştırmışlardır. Desfluranın yaşlı sıçanlarda hemodinamik parametreleri etkileyerek daha ciddi problemlere sebep olduğunu bildirmişlerdir (118).

Özer ve arkadaşları sıçanlarda halotan, sevofluran ve desfluranın subanestezik konsantrasyonlarda öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını nasıl etkilediklerini araştırmışlardır. Sıçanlar randomize olarak dört ayrı gruba ayrılmışlar. Grup I'e %0.1 halotan+O₂, grup II'e %0.3 sevofluran+O₂, grup III'e %0.6 desfluran+O₂ ve grup IV'e O₂ 3L/dk konsantrasyonlarda otuz gün boyunca hergün ikişer saat verilmişlerdir. Her üç inhalasyon anestezisinde subanestezik konsantrasyonların kronik maruziyetlerinde sıçanlarda

davranışsal değişikliklere sebep olduğunu gözlemlemişlerdir. Desfluranın öğrenme ve hafıza test sonuçlarını en az etkilediğini bildirmişlerdir (119).

Bu araştırmada sıçanlarda, subhipnotik dozda uygulanan kronik desfluran maruziyetinde antioksidan kapasite ve oksidatif stres indeks sonuçları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Operasyon odasındaki genotoksisitenin anestezi gazlara olduğu kadar çalışma ortamına, kimyasal ve fiziksel ajanlarada bağlı olduğunuda göz önüne alarak daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇ

Anestezik gazlarla çalışan sağlık personellerinde DNA kromozomlarında hasar oluşumu mutasyonlara yol açabilir. Bunun sonucunda gelecek kuşaklarda tedavisi mümkün olmayan konjenital anomaliler oluşacaktır. Konjenital anomalili bir bebeğin kendisine, ailesine ve topluma getireceği maddi manevi yükün ağırlığı ise tartışılmayacak kadar büyüktür.

Sonuç olarak biz anestezişterleri, ameliyathane çalışanlarını ve hastalarımızı koruyabilmek için anestezide yeni, etkili ve az zararlı ilaçlara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 1997, 56.
2. Morgan G, Mikhail M, Murray M, et al.: Clinical Anesthesiology. 3 ed The McGraw-Hill Companies,Inc., Los Angeles, 2002, 127.
3. Ronald D. Miller:Anesthesia. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000,166.
4. Hoerauf K.H,Schrögendorfer K.F.,Wiesner G,Grober M,Spacek A,Kress H.G and Rüdiger H.W ,Sister chromatid Exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro,British Journal of Anesthesia 82(2):268-70(1999)
5. Karabıyık L,Şardaş S,Polat U,Kocabaş N.A,Karakaya A.E, Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay,Mutation Research 497:99-107 (2001)
6. Szyfter K,Szule R,Mikstacki A,Stachecki I,Rydzanicz M,Jaloszynski P,Genotoxicity of inhalation anaesthetics:DNA lesions generated by sevoflurane in vitro and in vivo,J.Appl.Genet.45(3):369-374 (2004)
7. 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.
8. Kharasch ED, Thummel KE. Identification of cytochrome P450 2E1 as the predominant enzyme catalyzing human liver microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane, Anesthesiology, 1993; 79: 4, 795-807
9. Özatamer O, Alkış N, Batislam Y, et al.: Anestezi Güncel Konular. Fast-Tracking. 2002, 417.
10. 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.
11. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 1997, 63.
12. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 1997, 84.
13. Duthie, D.J., Co-induction of anaesthesia: the cardiac patient. Eur J Anaesthesiol Suppl, 1995. 12: p. 21-4.
14. Driver, I.K., et al., Midazolam co-induction and laryngeal mask insertion. Anaesthesia, 1996. 51(8): p. 782-4.
15. Dikmen Y:Anestezinin Sırları .Nobel Tıp Kitabevleri Lmd.Şti..İstanbul,2006,386

16. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 2004, 72
17. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 2004, 73
18. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 2004, 133,138
19. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 2004, 149
20. Tolunay M,Cuhruk H: Lange Klinik Anesteziyoloji. Güneş Kitabevi. Ankara,2004, 907
21. Eger EI. The clinical use of desflurane, Yale J Biol Med, 1993; 66: 5, 491-500
22. Eger EI, 2nd, Johnson BH, Ferrell LD. Comparison of the toxicity of I-653 and isoflurane in rats: a test of the effect of repeated anesthesia and use of dry soda lime, Anesth Analg, 1987; 66: 12, 1230-123
23. 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.
24. Tolunay M, Cuhruk H: Lange Klinik Anesteziyoloji. Güneş Kitabevi. Ankara, 2004, 144
25. Kanto J, Gepts E. Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol, Clin Pharmacokinet, 1989; 17: 5, 308-326.
26. Özatamer O, Alkış N, Batislam Y, et al.: Anesteziye Güncel Konular. Fast-Tracking. 2002, 417.
27. Thomson IR, Bowering JB, Hudson RJ, et al. A comparison of desflurane and isoflurane in patients undergoing coronary arter surgery, Anesthesiology, 1991; 75: 5, 776-781.
28. Ronald D. Miller:Anesthesia. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000, 148
29. Ronald D. Miller:Anesthesia. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000,149
30. Elar Z: Klinik Anestezi El Kitabı. 3 ed. Logos Yayıncılık Tic. A.Ş. p.İstanbul, 1997; 128-138.
31. Morgan G, Mikhail M, Murray M, et al.: Clinical Anesthesiology. 3 ed The McGraw-Hill Companies,Inc., Los Angeles, 2002, 435-459.
32. Ronald D. Miller:Anesthesia. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000, 162
33. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 1997, 270-291
34. O'Keeffe NJ, Healy TE. The role of new anesthetic agents, Pharmacol Ther, 1999; 84: 3, 233-248.

35. Shafer A, Doze VA, Shafer SL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol infusions during general anesthesia, *Anesthesiology*, 1988; 69: 3, 348-356.
36. Meister A. Glutathione Ascorbate and cellcycle regulation *FEBBS letters*. 1994: 1-4
37. Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxjgen radicals and human discase. *J. Annals. int. Med.* 1987;107(6): 526 – 45.
38. Southorn P, Powis G. Free radical in medecine I. Chemical nature and bidogical reactions.*J.MayoClin.Proc.*1988;63:381-8.
39. Dizdaroğlu M. Mechansms of Oxidative DNA Damage; Lesion and Their Measurement. *Kluwer Academic/Plenum Publihers*. 1999; 302: 67-87.
40. Brent JA, Rumack HH. Role of Free Radicals in Txic Hapatic Injury I. Free Radical Chemistry.*J.ClinicalToxicology.*1993;49(4):481-93.
41. Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA.*JFreeRadicalBiology&Medicine.*1993;61(3):225-242.
42. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effetes on antioxidants on antioxidant induce: sister chromatid Exchange formation. *J. Clin. Invest.* 1985; 75:35 – 7.
43. Slater TF. Free radical mechanismin tissue injury. *J. Biochem.* 1984; 222: 1-15.
44. Tappel AL, Dillard JC. Invivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protectionbyvitaminE.*J.Federationproceedings*1981;40(3):174-8.
45. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J. Clin Chem.*1995; 42(6):18-19.
46. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, patophysiology, and pharmacology. *J. Pharmacol Review* 1991; 43(29): 109-37.
47. Lancaster J. Nitric oxide, principles and and actions. Copyright by Academic Press. Inc. California/USA. 1990.
48. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. *J. Biochem.* 1994; 298(12):249-58.
49. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J. Biol. Chem.* 1993; 268(7):123-5.
50. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxinitrite formation and action. *J. Hypertension* 1996; 28(21): 488-93.
51. Halliwell B. Oxygen is poisonous: The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci.* 1984; 41(3):157-62

52. Canbař A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakóltesi Yayını No: 78, Ç. Ü. Adana.1983.
53. Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxygen Species in Toxicity. *J. Toxicology*. 1992; 64 (65): 547–51.
54. Halliwell B. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *J. The American Journal of Medicine*. 1991; 91(3C): 14–22.
55. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in molecular biology. *J. Aging and disease*. 1984; 65(24): 53–66.
56. Notarjan D. Oxidants and signal transduction in vasler endothelium. *J. Clin. Med*. 1994; 125(35): 26–37.
57. Logani MK, Davies RE. Lipid Oxidation: Biolojic effects and antioxidants *J. Lipids*. 1985; 15(5): 6-12.
58. Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirjbels JMF, Monnens LA. Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acids in rat liver, heart. *J. M. Quadri ceps. Lipids*. 1992; 24(7):11–16.
59. Arıcioğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 1994; 2(3): 139–242
60. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. *J. Cancer Res*. 1994; 54(6): 12–15.
61. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. *J. Free radicals, Aging and Dejenervative Diseases*. 1986; 427–456.
62. Niki E. Antioxidants in retation to lipid peroxidation chemistry and physics of lipids. 1987; 44(6): 227–53.
63. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr*. 1989;119(12): 109–111.
64. Braughler M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferraus iron during peroxidation of lipid substrates. *J. Biochemica and Biohysica Acta*. 1987; 921(21): 457–64.
65. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids I, and The Oxidative Strees Study Graup: Oxidative strees in chronic obstructive pulmorary disease. *J. Respir Crit Care Med*. 1997; 156(26): 341–347.
66. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J. Biochem* 1992; 286(35): 607–11.

67. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem 1993; 26(4): 351–7.
68. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1995; 5:1–3.
69. Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance J. Free Radical Res. 1992; 16: 75–87.
70. Dizdaroglu M. DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, Chichester 1993; 19–39.
71. Halliwell B, Aruoma OI. FEBS Lett. 1991; 281: 9–19.
72. Horwood E, Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester 1993; 41–65.
73. Van den Akker E, Lutgerink JT, Laqueur MVM, Joenje H, Retel J. Mutat. Res. 1994; 309: 45–52.
74. Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e^- and OH adducts. J. Chem. Rev. 1989; 89(24):503–520.
75. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. J. Mutat. Res. 1992; 275(35): 331–342.
76. Wilke TA, Söyletir G, Doganay M. İnfeksiyon Hastalıkları, Sıtma. 1. baskı, Nobel, 1996: 511–525.
77. Aruoma OI, Halliwell B. DNA and Free Radicals: Techniques Mechanisms and Applications. OICA International 1998; 3–26.
78. Totter JR. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1980; 77: 1763–7.
79. Ronald D. Miller: Anesthesia. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000, 166
80. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JB, Brant LJ, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. J. Mutat Res. 1990; 237(8):123–30.
81. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome J. Mutation Research 2005; 135(4) 22–35.
82. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. J. Clinical Biochemistry 2004; 37: 112–9.
83. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. J. Clinical Biochemistry 2005; 47(5): 119–29.
84. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease, Am J Med, 1991; 91: 3C, 14S–22S.
85. Kayhan Z: Klinik Anestezi. Logos Yayıncılık Tic. Aş. Ankara, 1997, 270–291.

86. 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.

87. 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.

88. Rosenberg PH, Kallio H, et al. Operating –theatre gas pollution and chromosomes. *Lancet* 2: 452, 1977

89. Ronald D. Miller: *Anesthesia*. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000, 167

90. 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

91. Karpinski T.M,Kostrzevska-Poczekaj M,Stachecki I,Mikstacki A,Szyfter K, et al.Genotoxicity of the volatile anaesthetic desflurane in human lymphocytes in vitro,established by comet assay,*J.Appl Genet* 2005;46(3) 319-324

92. Bilban M,Bilban Jakopin C,Ogrine D,et al. Cytogenetic tests performed on operating room personnel(the use of anaesthetic gases),*Int Arch Occup Environ Health* 2005;78:60-64

93. Natarajan D,Santhiya S T, et al. Cytogenetic damage in operation theatre personnel ,*Anaesthesia* 1990;45: 574–577

94. Husum B,Nieburh E,Wulf H,C,Norgaard I,et,al.Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in lymphocytes in operating room personnel, *Acta Anaesthesiology Scand* 1983;27: 262–265

95. Husum B, et.al.Mutagenicity of inhalation anaesthetics studied by the sister chromatid Exchange test in lymphocytes of patients and operating room personnel,*Dan Med Bull* 1987;34:159-170

96. Hoerauf K,Lierz M,Wiesner G,Schroegendorfer K,Lierz P,Spacek A,Brunnberg L,Nusse M,et al.Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide,*Occup Environ Med* 1999;56:433-437

97. 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

98. Bruce DL, Eide KA, Linde HW, Eckenhoff JE, et al. Causes of death among anaesthetists. *Br J Anaesth* 1994;71:100-104.
99. Rozdaj R, Kasuba V, Jazbec A. Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anaesthetic gases. *Mutagenesis* 2001;16: 139-143
100. Tannenbaum TN, Goldberg RJ. Exposure to anesthetic gases and reproductive outcome. *J. Occup. Med* 1985;27:659-668
101. Reitz M, Antonini Rumpf E, Lanz E. DNA single-strand breaks in peripheral human lymphocytes after anaesthesia with isoflurane-nitrous oxide-oxygen. *Arzneimittelforschung* 1993;43: 1258-1261
102. Jaloszynski P, Kujawski M, Wasowicz M, Szule R, Szyfter K. Genotoxicity of inhalation anaesthetics halotane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. *Mutat. Res.* 1999;439:199-206
103. Coate WB, Ulland BM, Lewis TR. Chronic exposure to low concentrations of halotane-nitrous oxide; reproductive and cytogenetic effect in the rat. *Anaesthesiology* 1979;50:310-318
104. Natarajan D, Santhiya ST. Cytogenetic damage in operation theatre personnel. *Anaesthesia* 1990;45:574-577
105. Chang WP, Lee SR, Tu J, Hseu S. Increased micronucleus formation in nurses with occupational nitrous oxide exposure in operating theaters. *Environ. Mol. Mutagen.* 1996;27:93-97
106. Bigatti P, Lamberti L, Ardito G, Armellino F, Malanetto C. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in occupationally exposed workers. *Med. Lav.* 1985;76:334-339
107. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, et al. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth*, 1992; 68: 6, 613-618.
108. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J*, 1990; 265: 3, 659-665.
109. Musacchio E, Rizzoli V, Bianchi M, et al. Antioxidant action of propofol on liver microsomes, mitochondria and brain synaptosomes in the rat. *Pharmacol Toxicol*, 1991; 69: 1, 75-77.
110. Abella A, Clerc D, Chalas J, et al. [Concentrations of superoxide dismutase (copper and manganese), catalase and glutathione peroxidase in red cells, platelets and plasma in patients with rheumatoid polyarthritis]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 1987; 45: 2, 152-155.
111. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 1984; 105: 121-126.

112. Ansley DM, Sun J, Visser WA, et al. High dose propofol enhances red cell antioxidant capacity during CPB in humans, *Can J Anaesth*, 1999; 46: 7, 641-648.

113. Johnson ME, Sill JC, Uhl CB, et al. Effect of volatile anesthetics on hydrogen peroxide-induced injury in aortic and pulmonary arterial endothelial cells, *Anesthesiology*, 1996; 84: 1, 103-116.

114. Shayevitz JR, Varani J, Ward PA, et al. Halothane and isoflurane increase pulmonary artery endothelial cell sensitivity to oxidant-mediated injury, *Anesthesiology*, 1991; 74: 6, 1067-1077.

115. Allaouchiche B, Debon R, Goudable J, et al. Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane, *Anesth Analg*, 2001; 93: 4, 981-985.

116. 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.

117. Dikmen B, Ünal Y, Pampal HK, Nurlu N, Kurtipek O, Canpolat O, Özoğul OKavutçu M. Effects of repeated desflurane and sevoflurane anaesthesia on enzymatic free radical scavenger system, *Mol Cell Biochem* 2007;294(1-2):31-37

118. Yerer MB, Aydoğan S, Comu FM, Arslan M, Güneş-Ekinci I, Kurtipek O, Ünal Y. The red blood cell deformability alterations under desfluran anaesthesia in rats, *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35(1-2):213-218

119 . Özer M, Baris S, Karakaya D, Kocamanoğlu S, Tur A. Behavioural effects of chronic exposure to subanesthetic concentrations of halothane, sevoflurane and desflurane in rats, *Can J Anaesth* 2006;53(7):653-660

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA**

Dr.Nuray ALTAY'ın hazırladığı "Siçanlarda, Subhipnotik Doz Kronik Desfluran Maruziyetinde, DNA Hasarının Araştırılması" başlıklı tezi 30.11.2007 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Yrd.Doç.Dr.Cengiz MORDENİZ
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

Doç.Dr.Mustafa CENGİZ
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD.

ÜYE

Yrd.Doç.Dr.Zeynep BAYSAL
Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD

ÜYE

Yrd.Doç.Dr.Alpaslan TERZİ
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

ÜYE

Prof.Dr.Abdurrahim KOÇYİĞİT
Biyokimya Anabilim Dalı

ONAY

07.12.2007
Prof.Dr.Abdurrahim KOÇYİĞİT
DEKAN