

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**METİLTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GEN
MUTASYONUNDA AZOT PROTOKSİT'İN B12 VİTAMİNİ VE
HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Sedat HAKİMOĞLU

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Volkan HANCI

ZONGULDAK

2010

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

METİLTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GEN
MUTASYONUNDA AZOT PROTOKSİT'İN B12 VİTAMİNİ VE
HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Sedat HAKİMOĞLU

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Volkan HANCI

ZONGULDAK

2010

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

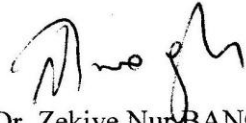
Tez Başlığı : Metiltetrahidrofolat Redüktaz Gen Mutasyonunda Azot Protokstitin'in, B12 Vitamini ve Homosistein Düzeyleri Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Sedat HAKİMOĞLU

Tez Savunma Tarihi: 01/02/2010

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Volkan HANCI


Prof. Dr. Işıl ÖZKOÇAK TURAN
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Zekiye Nur BANOĞLU
Üye

Doç. Dr. Yavuz DEMİRARAN
Üye


Yrd. Doç. Dr. Hilal AYOĞLU
Üye


Yrd. Doç. Dr. Volkan HANCI
Üye


Prof. Dr. N. Aydın MÜNGAN
Dekan

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimime başladığım andan itibaren ve çalışma sürecinde gösterdiği ilgi ve desteklerinden ötürü Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Işıl ÖZKOÇAK TURAN'a teşekkür ediyorum.

Uzmanlık eğitimimde bana her konuda destek veren ve tez çalışmamın başlangıcından itibaren yaptığı yönlendirmelerle çalışmayı yakından takip eden bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Volkan HANCI'ya teşekkür ediyorum.

Tecrübe ve bilgilerini benimle paylaşıp yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Hilal AYOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Dilek OKYAY'a ve Yrd. Doç. Dr. Gülay ERDOĞAN KAYHAN'a teşekkür ediyorum.

Algoloji ve Rejyonel Anestezi alanında bilgi ve deneyimlerini en iyi şekilde aktarmaya çalışan ve uygulamalarda desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Serhan YURTLU'ya teşekkür ediyorum.

Uzmanlık eğitimimin başlangıç yıllarında çalışma fırsatı bulduğum, eğitime katkıda bulunan değerli hocalarım Doç. Dr. Hanife ALTUNKAYA'ya, Doç. Dr. Yetkin ÖZER'e, Yrd. Doç. Dr. Osman YAPAKÇI'ya teşekkür ediyorum.

Laboratuvar tetkiklerinin yapılması ve yorumlanması ile katkıda bulunan Genetik Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Ahmet DURSUN'a ve Dr. Salih ÇİÇEK'e, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Görkem MUNGAN'a, Yrd Doç Dr. Murat CAN'a ve eşim Dr. Yasemin HAKİMOĞLU'na teşekkür ediyorum.

Tez çalışmasının istatistiksel olarak planlanması ve analizinde katkıda bulunan Prof. Dr. Vildan SÜMBÜLOĞLU ve Öğr. Gör. Firuzan KÖKTÜRK'e teşekkür ediyorum.

Berber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, eğitimim boyunca acı, tatlı birçok anı paylaştığım değerli asistan arkadaşlarıma, anestezi teknisyenlerine, ameliyathane personeline ve yoğun bakım çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Sevgi ve özverileri ile beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olduklarını hissettiren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anneme, aileme, eşime ve varlığıyla bana mutluluk veren, yaşam sevincim canım oğlum Ahmet Fatih'e teşekkür ediyorum.

Dr.Sedat HAKİMOĞLU

Zonguldak, 2010

ÖZET

Hakimoğlu S., Metiltetrahidrofolat redüktaz gen mutasyonunda azot protoksitin B12 vitamini ve homosistein düzeyleri üzerine etkisi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezi ve Reanimasyon Tezi. Zonguldak 2010.

Çalışmamızda azot protoksitin, MTHRF gen mutasyonu olan ve olmayan hastalarda plazma total homosistein, serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Etik kurul onayı ve olguların yazılı onamının alınması ardından, operasyonu 1-4 saat süren, 18-70 yaş arası 93 olgu çalışmaya alındı. Azot protoksit kullanımının kontrendike olduğu hastalar çalışma dışı bırakıldı. Tüm hastaların MTHFR gen mutasyonunu belirlemek amacıyla kan örneği alındı. Anestezi induksiyonu 3 mg/kg propofol ve 1 µg/kg fentanil ile sağlandı. Anestezi idamesi 1-2 MAC sevofluran ile %40 O₂ %60 N₂O olacak şekilde 2 lt/dk taşıyıcı gaz ile sağlandı. Hastaların plazma total homosistein, serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri analizi için damar yolu açılması sonrasında, anestezinin 60. dakikasında ve ekstübasyondan 24 saat sonra venöz kan örnekleri alındı.

Çalışmaya dahil edilen 81 olguda, postoperatif vitamin B12 ve folik asit değerlerinin, preoperatif değerler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düştüğü belirlendi (p<0,05). Postoperatif plazma total homosistein, serum vitamin B12 ve folik asit düzeylerine MTHRF gen polimorfizminin anlamlı bir etkisi olmadığı bulundu (p>0,05). Postoperatif plazma total homosistein düzeyi, operasyon süresi 3 saatin altındaki hastalar ile 3 saatin üstündeki hastalar karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklıydı (p=0,028).

Sonuç olarak, 3 saatin üzerinde azot protoksit ile genel anestezi uygulanan hastalarda homosistein düzeylerinin yükselebileceğini ve postoperatif dönemde nörolojik ve kardiyak semptomlar konusunda dikkatli olunması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Azotprotoksit, genel anestezi, postoperatif homosistein, postoperatif vitamin B12, postoperatif folik asit, metiltetrahidrofolat redüktaz

ABSTRACT

Hakimoğlu S., The effect of nitrous oxide on vitamine B12 and homosistein levels in methyltetrahydrofolate reductase gene mutation, Zonguldak Karaelmas University School of Medicine, Anaesthesiology and Reanimation Thesis, Zonguldak 2010.

In our study, the investigation of the effects of nitrous oxide on plasma total homosistein, serum folic acid and vitamin B12 levels was aimed in patients with or without methyltetrahydrofolate reductase (MTHRF) gene mutation.

After obtaining the ethics committee approval and written informed consents of the patients, 93 patients in between 18-70 years of age and with operation durations of 1-4 hours were included in the study. The patients with contraindications for nitrous oxide usage were excluded from the study. Blood samples were obtained from all the patients for the determination of MTHFR gene mutation. Anaesthesia induction was achieved with 3 mg/kg of propofol and 1 µg/kg of fentanyl. Anaesthesia maintenance was performed with 1-2 MAC of sevoflurane and with a carrier gase of 2 L/ min having %40 O₂ and %60 N₂O. Venous blood samples were obtained after venous canulation, at 60th minute of anaesthesia and 24 hours after extubation for the analysis of plasma total homosistein, serum folic acid and vitamine B12 levels . In 81 patients included in the study, postoperative vitamine B12 and folic acid levels were found to be significantly lower when compared with their preoperative levels (p<0,05). It is found out that MTHRF gene polymorphism has had no significant effect on postoperative plasma total homosistein, serum vitamine B12 and folic acid levels (p>0.05). Postoperative plasma total homosistein levels were found to be significantly different when the patients with operation times lower than 3 hours were compared with the patients with operation times longer than 3 hours (p=0,028).

In conclusion, we decide that homosistein levels may rise in patients applied general anesthesia with nitrous oxide longer than 3 hours and attention needed for neurological and cardiac symptoms in postoperative period.

Key Words: Nitrous oxide, general anaesthesia, postoperative homosistein, postoperative vitamine B12, postoperative folic acid, methyltetrahydrofolate reductase

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER.....	xii
TABLolar.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Anestezi.....	2
2.1.1. Genel anestezi.....	2
2.1.2. Anestezik İlaçlar.....	2
2.1.2.1. Azot protoksit.....	2
2.1.2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikler:.....	3
2.1.2.1.2. Sistemik Etkileri:.....	3
2.1.2.1.3. Etkileşimleri:.....	3
2.1.2.1.4. Eliminasyon.....	4
2.1.2.1.5. Yan etkiler.....	4
2.1.2.1.6. Kontrendikasyonları.....	4
2.1.2.1.7. Toksisite.....	5
2.1.2.3. Sevofluran.....	5
2.1.2.3. Propofol.....	6
2.1.2.4. Midazolam.....	8

2.1.2.5. Fentanil.....	8
2.1.3. Vekuronyum.....	9
2.2. Metiltetrahidrofolat Redüktaz.....	10
2.2.1. Klinik Etkileri.....	10
2.2.2. Gen Mutasyonları.....	11
2.2.2.1. C677T Mutasyonu.....	11
2.2.2.2. A1298C Mutasyonu.....	12
2.2.2.3. A1298C ve C677T Kombinasyonu.....	12
2.3. Homosistein.....	13
2.3.1. Klinik Etkileri.....	16
2.3.2. Plazma Homosisteininin Normal Değerleri.....	16
2.3.3. Hiperhomosisteinemi ve Kardiyovasküler Hastalıklar.....	16
2.3.4. Homosistein ve Vitamin Düzeyi İlişkisi.....	17
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Genetik Analiz.....	20
3.1.1.Periferik kandan DNA elde edilmesi.....	20
3.1.2.Testin Prensibi.....	21
3.1.3.Testin İçeriği.....	21
3.1.4.Testin Hazırlanması.....	22
3.1.5.PCR Programı.....	22
3.1.6.Analiz.....	22
3.2.Biyokimyasal analiz.....	25
3.3.Postoperatif takip.....	25
3.4.İstatistiksel analiz.....	25
4.BULGULAR.....	26
5.TARTIŞMA.....	32

6.SONUÇLAR.....	39
KAYNAKLAR.....	40
EK 1 Etik Kurul Onayı.....	49

KISALTMALAR DİZİNİ

ASA	: Amerikan Anesteziyoloji Derneği
BUN	: Kan üre azotu
DAB	: Diyastolik arter basıncı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
EKG	: Elektrokardiyogram
Et CO ₂	: End-tidal karbon dioksit konsantrasyonu
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotit
GABA	: Gamma aminobütirik asit
HFIP	: Heksafloroizopropanole
İ.M.	: İntramüsküler
İ.V.	: İntravenöz
KAH	: Koroner arter hastalığı
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
L	: Litre
MAC	: Minimum alveolar konsantrasyon
MTHFR	: Metiltetrahidrofolat redüktaz
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NADPH	: Nikotin Adenin Dinükleotid Fosfat
ng	: Nanogram
N ₂ O	: Azot protoksit
µl	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
ort	: Ortalama
OAB	: Ortalama arteriyel basınç
O ₂	: Oksijen

pg	: Pikogram
PO ₂	: Parsiyel oksijen basıncı
SS	: Solunum sayısı
SAB	: Sistolik arter basıncı
ss	: Standart sapma
SpO ₂	: Periferik oksijen satürasyonu
THF	: Tetrahidrofolat
tHcy	: Total plazma homosisteini
TV	: Tidal volüm

ŞEKİLLER

Şekil 1: Homosistein metabolizması.....	14
Şekil 2: Normal amplifikasyon dağılımı.....	23
Şekil 3: Heterozigot amplifikasyon dağılımı.....	23
Şekil 4: Homozigot mutant amplifikasyon dağılımı.....	24

TABLULAR

Tablo 1. Olgularda gözlenen MTHFR gen mutasyonlarının dağılımı.....	26
Tablo 2. Gruplarda preoperatif BUN, kreatinin ve albümin değerleri (ort.±ss).....	27
Tablo 3. Preoperatif yaş, boy, kilo ve operasyon süresi değerleri (ort.±ss).....	27
Tablo 4. Tüm homozigot hastalar ve diğer hastaların preoperatif değerleri (ort.±ss)	28
Tablo 5. Tüm hastaların (n=81) preoperatif ve postoperatif serum vitamin B12, serum folik asit ve plazma total homosistein değerleri (ort.±ss).....	29
Tablo 6. Gruplara göre preoperatif ve postoperatif plazma total homosistein, serum folik asit, serum vitamin B12 değişiklikleri (ort.±ss).....	30
Tablo 7. Operasyon süresi ile preoperatif ve postoperatif serum vitamin B12, serum folik asit, plazma total homosistein değişiklikleri (ort.±ss).....	31

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Folik asit metabolizmasında görevli önemli bir enzim olan 5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), 656 aminoasitten oluşan bir flavoproteindir. Bu enzim folik asit metabolizmasında görevli önemli bir enzimdir. İnsan MTHFR geni 1. kromozomun kısa kolunda 36.3 bölgesinde yer alır (1).

MTHFR gen mutasyonu otozomal resesif bir hastalıktır (2). Bu mutasyon nedeni ile MTHFR enzim düzeyinde azalma, plazma total homosistein (tHcy) düzeyi artışına, tromboembolik olaylara ve miyokard enfarktüsü riskinde artışa neden olabilmektedir (3).

Azot protoksit, güçlü analjezik özelliği nedeniyle anestezi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan tek inorganik bileşiktir (4). Azot protoksitin kullanıldığı genel anestezi uygulamalarının sonrasında plazma total homosistein düzeylerinde artış tespit edilmiştir. (3,5). Postoperatif dönemde plazma total homosistein düzeylerindeki artışın önemli postoperatif komplikasyonlar olan tromboembolik olaylar ve miyokard enfarktüsü riskinde arttırdığı belirtilmektedir (6). Azot protoksitin MTHFR gen mutasyonlu hastalardaki etkilerini araştıran çalışma sayısı kısıtlıdır (2).

Prospektif mendeliyen randomize ve çift kör olarak planlanan çalışmamızda, anestezi pratiğinde sıklıkla kullanılan azot protoksitin, MTHFR gen mutasyonu olan ve olmayan hastalarda plazma total homosistein, serum folik asit ve serum vitamin B12 düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anestezi

Anestezi sözcüğü, bugünkü anlamında ilk kez yunanlı filozof Dioscorides tarafından kullanılmıştır. Anestezi, AN (olumsuzluk) eki ve ESTEZİ (duyu, his) sözcüğünden oluşur ve duyarsızlık, hissizlik demektir (7).

2.1.1. Genel anestezi

Genel anestezi vital fonksiyonlarda bir değişiklik olmadan, geçici bilinç kaybı ve refleks aktivitede azalma ile karakterizedir. Bu durum, genel anestezi etkili ilaçların santral sinir sisteminde yaptığı, kortikal ve psikişik merkezlerden başlayıp aşağıya doğru ilerleyen bir depresyonun sonucudur (7).

2.1.2. Anestezi ilaçları

Genel anestezi uygulamasında kullanılan ilaçlar volatil anestezi ve intravenöz anestezi olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Volatil anestezi genel anestezide en sık kullanılan ilaçlardır. Solunum yolu ile gaz şeklinde uygulanmaktadır (8).

2.1.2.1. Azot protoksit (N₂O)

Azot protoksit genel anestezi uygulamalarında volatil olarak kullanılan tek inorganik bileşiktir (4). Analjezik etkisi ilk defa Humphry Davy tarafından gösterilmiştir (9).

2.1.2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikler:

Azot protoksit kontrollü bir şekilde ısıtılan Amonyum Nitrat'dan oluşur. Azot protoksit solunum yollarını irrite etmeyen renksiz ve kokusuz bir gazdır. Kaynama noktası $-8,5^{\circ}\text{C}$, molekül ağırlığı 44 gr/mol'dür. Oda ısısında buhar basıncı 50 atmosferdir. Yanıcı değildir, fakat 450°C 'nin üzerinde azot ve O_2 'ne ayrılarak yanmayı kolaylaştırır. Kan-gaz dağılım katsayısı [0.47] ve kanda erirliği düşüktür. Bu özellik, etkisinin hızlı başlayıp hızlı sonlanmasıyla ve anestezinin daha kolay kontrol edilebilmesiyle sonuçlanır (10).

2.1.2.1.2. Sistemik Etkileri:

Serebral kan akımı ve serebral kan volümünü artırarak kafa-içi basıncında hafif yükselme yapar. Serebral oksijen tüketimini de artırır. Doğrudan etkiyle miyokard depresyonuna neden olur. Bu etki sağlıklı bireylerde sempatik aktivitenin artışı ile dengelenir. Bu mekanizma, koroner arter hastalığı ya da ciddi hipovolemisi olanlarda yetersiz kalabilir. Azot protoksit endojen katekolaminleri artırdığı için epinefrin kökenli disritmiler sık görülebilir. Solunum sayısını artırır, tidal volümü azaltır. Diğer inhalasyon ajanları gibi önemsiz derecede kas gevşemesi oluşturur. Hepatik ve renal kan akımını azaltır. Muhtemelen medulla oblongatada yer alan kusma merkezinin ya da kemoreseptör trigger zonu uyarmasına bağlı olarak, postoperatif bulantı ve kusmaya neden olduğu düşünülmektedir (11).

2.1.2.1.3. Etkileşimleri:

Azot protoksit minimum alveol konsantrasyon (MAK) değerinin [104] yüksek olması nedeniyle genellikle daha güçlü volatil anesteziklerle birlikte kullanılır. Azotprotoksitin inspiratuar gaz karışımı içerisinde %65 konsantrasyonunda kullanılması ile volatil anesteziklerin MAK değerini yaklaşık olarak %50 azaltır (4).

2.1.2.1.4. Eliminasyon

Derlenme sırasında, N₂O'nin çok büyük bir kısmı ekspirasyonla elimine edilir ve çok küçük bir kısmı da deri yoluyla atılır (11).

2.1.2.1.5. Yan etkiler

Azot protoksit, vitamin B12'deki kobalt atomunu geri dönüşümsüz bir biçimde okside ederek inaktive eder. Azot protoksitin hücre fonksiyonlarına toksik etkisi, vitamin B12'nin inaktivasyonu yoluyla olur. Vitamin B12 ile etkileşerek metiyonin sentetazı inhibe etmesi, plazma total homosistein konsantrasyonunda yükselme ile sonuçlanır. Hiperhomosisteinemi ise serebrovasküler hastalık ve koroner hastalık için bir risk faktörüdür. Geri dönüşümsüz metiyonin sentetaz inaktivasyonu, megaloblastik anemiye ve medulla spinaliste subakut kombine dejenerasyona da neden olabilir (10).

Miyelin oluşumu için gerekli olan metionin sentetaz ve deoksiribonükleik asit (DNA) sentezi için gerekli olan timidilat sentetaz enzimini de geri dönüşümsüz bir biçimde inaktive eder. Azot protoksite uzun süre anestezi konsantrasyonlarda maruz kalma, kemik iliği depresyonu, megaloblastik anemi, nörojenik yetersizlik periferik nöropati ve pernisiyöz anemi ile sonuçlanır (12).

Ayrıca, polimorfonükleer lökositlerin hareketlerini ve kemotaksisi etkileyerek infeksiyonlara immünolojik yanıtları da değiştirebilir (11).

Yapılan çalışmalarda, ratlarda N₂O'nin nörolojik dokuya toksik etki yaptığı ve bu etkinin GABA'erjik inhibisyonu artıran ilaçlarla önlenemediği gösterilmiştir (10).

2.1.2.1.6. Kontrendikasyonları

İleus, pnömoensefali, pnömotoraks, östaki borusu tıkanıklığı ve hava embolisi gibi boşlukların içine kolayca difüze olur. Çözünürlüğü fazla olduğu için vücut doku ve boşluklarında havanın hapsediği tüm durumlarda kontrendikedir

Uzun süren batın ameliyatlarında N₂O'in gaz içeren alanlara difüzyonu barsak distansiyonuna, barsak işlevinin geri dönüşünde gecikmeye ve cerrahi koşulların olumsuz etkilenmesine yol açar (13).

Azot protoksitin hem normal hem de kafa-içi patolojisi olan bireylerde indirekt vazodilatör etki ile kafa-içi basıncını artırdığı bilinmektedir (10).

Azot protoksitin koroner perfüzyonu bozulmuş olan hastalarda kullanılması, sol ventrikül diyastol sonu basıncında artış ile miyokard kontraktilesinin belirgin şekilde azalmasına neden olur. Ağır kalp hastalığı ve latent miyokard yetersizliği olan hastalarda N₂O kullanımından kaçınılması gerekir (14).

İlk iki trimesterdeki gebe kadınlarda, in vitro fertilizasyonda ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda DNA sentezinde kanıtlanmış zararlı etkileri nedeniyle, kontrendike olarak kabul edilir (15, 16).

2.1.2.1.7. Toksikite

Hayvan deneylerinde embriyotoksik ve teratojenik etkileri bulunmuş olmasına rağmen, N₂O'e eser miktarlarda kronik maruz kalınmasının ameliyathane personeli için gerçekten tehlikeli olup olmadığı konusu bilimsel olarak tartışmalıdır. Pek çok ülkede, çalışma ortamında bulunabilecek N₂O konsantrasyonu için izin verilen bir eşik değer belirlenmiştir ve belli aralıklarla yasal ölçüm zorunluluğu vardır. Ameliyathane atmosferi için izin verilen en yüksek N₂O konsantrasyonu ülkelere göre 25-100 ppm arasında değişmektedir (15, 17).

Azot protoksit, ozonu nitrik oksit üreterek azaltır ve böylece küresel ısınmaya da katkıda bulunur. Anestezi, küresel N₂O salınımının %1'den daha azından sorumludur (18).

2.1.2.2. Sevofluran

Sevofluran flor ile halojenize edilmiş hoş kokulu alev almayan ve patlamayan bir sıvıdır. Kaynama noktası 58,8°C, buhar basıncı 20°C'de 160 mmHg, partiyon katsayıları kan/gaz için 0,69, yağ/gaz için 47,2'dir. Kan ve dokuda çözünürlüğünün düşük olması nedeni ile hızla elimine edilir ve çabuk absorbe edilir.

Bu nedenle hızlı anestezi indüksiyonu, kontrol edilebilir anestezi derinliği ve hızlı derlenme sağlar. Minimum alveolar konsantrasyon (MAK) değeri %100 oksijen içinde 2, %60 azot protoksit içinde 0.66 olarak bulunmuştur (19).

Serebral kan akımı ve kafa içi basıncını artırır. Serebral metabolik oksijen tüketimini azaltır. Kalp kasının kasılma gücünü hafif deprese eder. Desflurana göre daha az sistemik vazodilatasyon ve kan basıncında düşmeye neden olur. Tidal volüm, solunum sayısı ve ekspiryum sonu volümü en az etkileyen volatil anesteziiktir. Hepatik kan akımı ve O₂ sunumu korunur (8).

Sevofluranın hızlı pulmoner eliminasyonu, metabolizma için arta kalan anesteziik madde miktarını minimize etmektedir. Sevofluran %3–5 oranında metabolize olmaktadır (19).

Büyük bir kısmı karaciğerde sitokrom P450'nin 2E1 fraksiyonu tarafından deflorine edilmektedir. Oksidasyon sonucu inorganik florür ve organik florür Heksafloroizopropanole (HFIP) ayrılan geçici bir ara bileşik oluşturur. HFIP' in %8'den fazlası glukuronid olarak hızla konjuge olur ve idrarla atılır. Karaciğer makromoleküllerine bağlanma yeteneği düşüktür (19).

Sevofluranın karbondioksit absorbanları ile temasıyla nefrotoksitesite kanıtlanmış bir ürün olan Compound A (Pentafluorometoksi izopropil fluometil eter) meydana gelir. Compound A' nin birikimi solunum gazı ısısının yüksek olması, düşük akımlı anestezi, kuru baralaym kullanılması, yüksek sevofluran konsantrasyonu ve uzun süreli anestezi uygulanması ile artar (20).

Düşük oranda metabolize olması nedeniyle nefrotoksitesite klinik olarak sorun yaratmamaktadır (8).

2.1.2.3. Propofol

Kimyasal yapısı 2–6-diizopropilfenoldür. Barbitürat veya steroid gibi aromatik ajanlara benzemeyen alkil fenol grubundan anesteziik bir ajandır (21).

Anestezi indüksiyonunda intravenöz olarak 1–2,5 mg/kg dozunda kullanılır. İntravenöz hızlı tek bir bolus dozu sonrasında iki dağılım fazı gözlenir, hızlı fazın yarı ömrü 1,8–8,3 dakika, yavaş fazın yarı ömrü ise 34–64 dakika arasındadır. Dağılım fazlarında propofolun hareketi çok kanlanan dokulardan az kanlanan

dokulara doğrudur (22). Yağda erirliği yüksek olan propofol etkisini bir kol-beyin dolaşım zamanı içinde gösterir. Propofolün anestezik veya sedatif etkilerinin sonlanması, santral sinir sisteminden diğer dokulara redistribüsyonuna ve hızlı metabolik klirensine bağlıdır. Hipnozün süresi 3–10 dakika arasında değişir. Derlenme hızlı olur. Hasta sakin olarak uyanır ve 4–8 dakika içinde oryante olur.

Propofol, diğer ilaçların santral sinir sistemi depresyonu etkisini artırır. Arteriyel hipotansiyon kardiyovasküler sistem üzerindeki en belirgin etkisidir. Doza ve uygulama hızına bağlı olarak sistolik, diastolik ve ortalama arter basınçlarında %15-25'e varan düşüşler olabilir. Bu azalma opioidlerle premedike edilmiş hastalarda ve hipertansif olgularda daha belirgindir. Bu kişilerde kan basıncında %40 civarında bir azalma meydana gelebilir. Propofol indüksiyon ve anestezi idamesi için kullanıldığında kardiyak debi ve vasküler rezistans %10–20 oranında azalır (23). Arteriyel kan basıncındaki düşmeye rağmen kalp atım hızında genellikle artış görülmez. Bu etki, barorefleks aktivitenin bozulması değil, ilacın sempatolitik etkisidir (24).

Propofolle anestezi sırasında bradikardi görülebilir (25). Kesin mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, cerrahi yönteme bağlı vagal tonusta artmaya ya da narkotik ve kas gevşetici kullanımına bağlı olduğu sanılmaktadır (26).

Propofol genellikle kardiyak ritim bozukluğuna neden olmaz. Güçlü bir opioidle birlikte kullanılması ile güvenli bir uygulama sağlar. Aynı zamanda otonomik sempatik yanıt azalır (21).

Propofol, doz ve enjeksiyon hızına bağlı olarak, tiyopental ve metoheksitale göre daha uzun süreli bir apne meydana getirir. Anestezi indüksiyonu için propofol verilen hastaların %70'inde apne 60 saniyeden uzun sürmektedir. Tiyopental verilen hastalarda ise bu oranın sadece %28,6 olduğu bildirilmektedir (23).

Propofol plazma proteinlerine %97–98 oranında bağlanır (22). Karaciğer tarafından metabolize edilir (23). Hiçbir metabolitinin aktivitesi yoktur ve metabolitleri böbrekler tarafından atılır (21).

2.1.2.4. Midazolam

Klinik uygulamaya en son giren intravenöz benzodiazepindir. Suda eriyebilirliği diazepam ve lorazepamdan daha fazladır. Midazolam intravenöz uygulamadan sonra 2–3 dakika içinde bilinç kaybına neden olur (4).

Benzodiazepinler santral sinir sisteminde spesifik benzodiazepin reseptörlerine bağlanarak etki ederler. Bu reseptörler gamma aminobütirik asit (GABA) reseptörlerine çok yakındır. Santral sinir sisteminde iki tip benzodiazepin reseptörü tanımlanmıştır: Tip I reseptörler postsinaptiktir ve serebellumda bulunur. Tip II reseptörler ise presinaptiktir ve kortekste bulunur. Benzodiazepinler direkt GABA-mimetik etki göstermezler ancak, GABA'nın kendi reseptörlerine afinitesini artırırlar. Barbitüratlardan farklı olarak GABA'nın depolarizan etkisi ile açılan klor iyon kanallarının sayısını artırır, fakat süreyi etkilemezler (27).

Anksiyolitik, sedatif ve antikonvülzan etkileri vardır, santral yolla kas gevşemesi ve anterograd amnezi yaparlar. Genelde bu ajanlar normal kişilerde kardiyovasküler sistem üzerinde çok az etki gösterirler. Yüksek dozlarda minimal bir solunum depresyonuna neden olurlar. Nöromusküler iletimde klinikte önemli bir depresyona neden olmazlar. Süksinilkolini etkilemez, nondepolarizanların etkisini uzatırlar (4).

Midazolam karaciğerde metabolize edilir. Hepatik enzimler yolu ile önce okside edilir, daha sonra metabolitleri konjüge edilerek idrarla atılır (4)

2.1.2.5. Fentanil

Fenilpiperidinin sentetik bir derivativesi olan fentanil'in kimyasal ismi N-(1-fentanil–4-piperidil) propionanilid'dir. Morfinden 100–300 kez daha güçlüdür ve yan etkileri daha azdır (28).

Etkisi 30–60 saniye içinde başlar ve 30 dakika sürer. Maksimum analjezik etki düzeyi 3–6 dakika içinde sağlanır. Solunum depresyonu en fazla 5–15 dakika arasında görülür. Tekrarlayan uygulamalarda ise eliminasyon yarı ömrü uzayacağından derlenme süresi gecikir (29).

Yağda çözünürlüğü oldukça yüksektir. Fentanil, kan-beyin bariyerini morfinden 156 kat daha hızlı geçebilir. Etki başlama süresi kısadır, fakat adipoz dokuda ve iskelet kası gibi inaktif dokularda büyük miktarlarda birikmesi yavaş salınım etkisi yapar. Fentanil'in eliminasyon yarı ömrü 2–4 saat olduğu bildirilmektedir (23).

Fentanil, serebral kan akımı ve serebral metabolizmayı azaltır. Bu nedenle intrakraniyal basıncı yüksek olan hastalarda kafa içi basıncını düşürmek için uygun bir ajandır. Fentanil analjezik ve anestezi dozlarında, zayıf sol ventrikül fonksiyonu olan hastalarda bile hipotansiyona nadiren neden olur ve genellikle vagal stimülasyona bağlı bradikardi sonucu oluşur. Miyokard kontraktilesinde çok az ya da hiç değişiklik oluşturmaz (29).

Fentanil eşit dozdaki dolantin ve morfinden çok daha hızlı ve daha kısa süreli bir solunum depresyonu oluşturur. Yaşlı hastalar solunum depresyonu etkilerine daha hassastır. Morfinin histamin salıcı etkisi, bulantı-kusma yapıcı etkisi, bronkokonstriksiyon ve solunum yolu salgılarında artış etkisi fentanilden daha fazladır. Bu nedenle fentanil astmatik veya bronkospastik hastada en iyi opioid analjezik ve anestezi olarak önerilmektedir (30).

Fentanil düşük dozda (1–2 µg/kg) analjezi sağlamak için, 2–10 µg/kg dozda entübasyon sırasında veya cerrahi uyaranlara karşı oluşan hemodinamik yanıtı önlemek için volatil anesteziyle birlikte, 50–100 µg/kg gibi yüksek dozda ise tek başına genel anestezi sağlamak için kullanılabilir (28).

Plazma proteinlerine %80 oranında bağlanır ve akciğerlerden ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Albumine, alfa ve beta globulinlere bağlanır. Karaciğerde N-dealkilasyon ve hidroksilasyona uğrayarak metabolize olur. Norfentanil primer metabolitidir (31).

2.1.3. Vekuronyum

Vekuronyum, nondepolarizan nöromusküler bloğa neden olan bir kas gevşeticidir. Vekuronyumun entübasyon dozu 0.08–0.12 mg/kg'dır. 15–20 dakikada bir 0.01 mg/kg'lık ilave dozların uygulanması veya 1–3 µg/kg/dakika'lık infüzyon ile intraoperatif gevşeme sağlanır. Yüksek dozlarda dahi önemli kardiyovasküler

etkilere yol açmaz. Primer olarak safra yoluyla, ikincil olarak da (%25) böbreklerden atılır. Çok az bir kısmı da karaciğerde metabolize edilir (4).

2.2. Metiltetrahidrofolat Redüktaz

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi, 656 aminoasitten oluşan flavoprotein olup folik asit metabolizmasında görevli önemli bir enzimdir. Sitoplazmik bir protein olup, iki altbirimden oluşan homodimer yapıdadır. 70 kDa'luk küçük alt birimlere sahip izoform karaciğerden, 77 kDa'luk büyük alt birimlere sahip izoform ise diğer dokulardan purifiye edilmiştir. Memeli enzimi kendisine nonkovalent olarak bağlı Flavin Adenin Dinükleotid (FAD) koenzimi içerir, Nikotin Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH)'ın metilentetrahidrofolata transferini bu koenzim sağlar (32-37).

2.2.1. Klinik Etkileri

Metiltetrahidrofolat redüktaz enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde görev yapar. MTHFR enzimi, 5–10 MTHF'ı geri dönüşümsüz olarak 5 MTHF'ye dönüştürür. 5 MTHF, DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bunun için 5 MTHF, metil grubunu vererek homosisteinin dönüşümünde rol oynar. 5–10 MTHF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'ye okside olmaktadır. Metiltetrahidrofolat redüktaz geninde meydana gelen mutasyon oluşması enzim aktivitesini azaltmaktadır (33).

Metiltetrahidrofolat redüktaz enzim aktivitesinin azalması sonucunda 5 MTHF düzeyi de azalmakta, 5–10 MTHF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır. Metiltetrahidrofolat redüktaz enziminin eksikliğinde klinik semptomlar geniş bir dağılım göstermektedir (32-37).

Hiperhomosisteinemi ve homosistinürinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, inme, tromboz gibi klinik özellikler görülür (32,36,37).

2.2.2. Gen Mutasyonları

Folat kobalamin metabolizmasındaki en sık görülen doğuştan kalıtsal bir bozukluklar MTHFR defektleridir. Bu enzimdeki aktivite eksikliği “hiperhomosisteinemi” ve “homosistinüri” ’ye sebep olmaktadır. Enzimi kodlayan genin 677 pozisyonunda yer alan tek nokta baz değişimi (C>T) ve 1298 pozisyonunda yer alan tek nokta baz değişimi (A>C) glutamat alanine dönüşümüne neden olarak MTHFR aktivitesini azaltmaktadır. C677T ve A1298C mutasyonları birlikte nöral tüp defektlerinin önemli bir risk faktörü ve plazmada homosistein seviyesinin artmasına ve buna bağlı olarak trombozise sebep olabilmektedir. İnsan MTHFR geni kromozom 1’de (1p36.3) lokalizedir ve bu genin N-terminal ucunun yapısı tamamen açıklanamamıştır (32-34,36,37).

2.2.2.1. C677T Mutasyonu

Homosistein düzeylerinin artışına yol açan MTHFR’nin termolabil formunun senteziyle sonuçlanan, enzimin katalitik bölgesinde alanin-valin değişiminden sorumlu, MTHFR genindeki 677. nükleotidde C-T polimorfizmini içeren MTHFR 677 C-T mutasyonu oldukça sıktır. Beyaz ırkın %60’ı MTHFR allelini taşır ve bunun %5-15’i homozigottur (34).

Metiltetrahidrofolat redüktaz geni 677 mutasyonunda, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (33,34,36).

Metiltetrahidrofolat redüktaz geni 677 mutasyonunda, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein düzeyi önemli oranda yükselir. Metiltetrahidrofolat redüktaz eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bir bozukluk, organizmayı metiyonin (ve S-adenozilmetiyonin) azalmasına ve homosistein birikiminden doğan toksik etkilere maruz bırakır. Hollandalı, periferik, koroner veya serebral vasküler hastalığı olan 190 hastada yapılan araştırmada, 677

CT ya da 677 TT genotipinde 677 CC genotipli bireylere göre MTHFR aktivitesi önemli oranda düşmüş, homosistein seviyeleri yükselmiştir (33,34,36,37).

Jee ve ark.'nın (36) bir çalışmasında Japonya'da kardiyovasküler hastalıkların artışı ile 677 CT polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur. Yine Morita ve ark.(37) inme öyküsü bulunan 256 hasta ve bu öyküsü bulunmayan 325 hasta ile yaptıkları çalışmada, TT genotipi ile inme arasında önemli derecede ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada plazma total homosistein seviyelerinin, CC veya CT genotipli hastalara göre, TT genotipli hastalarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (37).

2.2.2.2. A1298C Mutasyonu

Metiltetrahidrofolat redüktaz geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A (Adenin)'in C (Sitozin)'e değişimi sonucu, MTHFR proteinindeki Glutamin'in Alanin'e değişimine neden olan nokta mutasyondur ve enzimin C-uç regülatör bölgesinde etkilidir (34,37).

Diğer mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR'nin aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin, plazma total homosistein konsantrasyonundaki artışı MTHFR C677T mutasyonu kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu mutasyonun önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır (32,33,36).

2.2.2.3. A1298C ve C677T Kombinasyonu

Metiltetrahidrofolat redüktaz geninde A1298C ve C677T mutasyon sıklığı popülasyonlara göre ve yaşla birlikte önemli farklılık göstermektedir (33).

A1298C ve C677T mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, C677T mutasyonunun heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür (32-34,36).

Metiltetrahidrofolat redüktaz geninde 677T/1298C heterozigot durumunun birlikte bulunduğu bireylerde, nöral tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür (32,33).

A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmesi sebebiyle A1298C mutasyonlu bireylerde MTHFR enzim aktivitesindeki azalma C677T mutasyonlu bireylerin enzim aktivitesinden daha az olmaktadır (36, 36,38,38).

677CC/1298CC genotipine sahip bireylerde 677CC/1298AA genotipli bireylere göre plazma total homosisteininde azalma olduğu açıklanmıştır. Tek başına 677 homozigot mutasyonlu (TT) genotipine sahip bireylerde de plazma homosisteini önemli düzeyde artmaktadır (32,34).

Van Der Put ve ark., (39) yaptıkları bir çalışmada, her iki mutasyon bakımından çift heterozigot olan (A1298C/C677T) bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirtmişlerdir.

Ülkemizde Dikmen ve ark., (40), 203 iskemik inmeli hasta ve 55 sağlıklı kontrol üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, inme oluşumunda MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının direkt etkisinin olmadığını, ancak C677T mutasyonunun inme oluşumunda bir risk faktörü olan homosistein artışı üzerine A1298C mutasyonuna göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

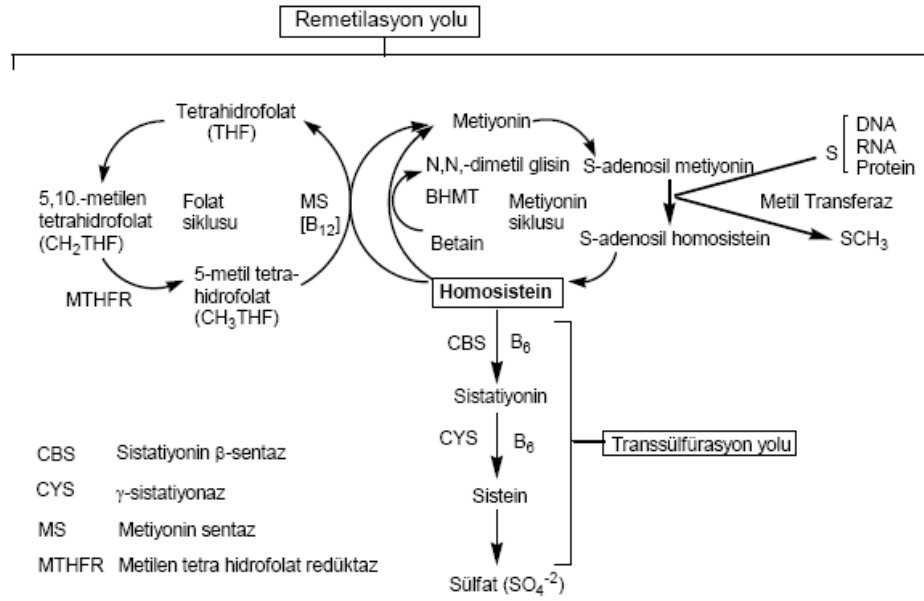
Metiltetrahidrofolat redüktaz aktiviteleri 677CC/1298AC ve 677CC/1298CC genotiplerindeki hastalar ile 677CC/1298AA genotipine sahip hastalar enzim aktivitesi açısından karşılaştırıldığında sırasıyla %60–92 ve %52–66 olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. (32,33).

2.3. Homosistein

Homosistein metiyonin metabolizmasının bir ürünüdür. Sülfür içeren bir aminoasittir. Homosistein, diyetle alınan ve endojen proteinlerden sentezlenen esansiyel bir aminoasit olan metioninin metil gurubu alınmış bir türevidir. Metiyoninden metabolize olan tiyollü esansiyel bir aminoasittir (41). Homosistein remetilasyon veya transsülfürasyon yoluyla olmak üzere iki şekilde metabolize olmaktadır (42,43). Homosisteinin yaklaşık %50 'si normal hücre için iki remetilasyon yoluyla tekrar metil gurubu alarak metiyonine çevrilir (44). Remetilasyon yolu satüre olduğunda veya sistemin yetersiz olduğu durumlarda

homosistein, sistasyon β -sentaz (CBS) tarafından sistatyona çevrilmektedir. Sistein sülfat formuna metabolize olabilir ve idrarla ekstrete edilebilmektedir (42,45).

Homosistein insan plazmasında birkaç formda olur. Proteinlere disülfid bağları ile bağlıdır ve yaklaşık %70-80'i temel olarak albumindir. Geri kalan homosistein oksidlenerek dimerler (homosistin) veya sisteinle birleşerek mikst disülfidler oluşturur. Bağlı olmayan homosistein türleri ise başlıca homosistein-sistin ve homosistein-homosistein disülfidleri şeklinde bulunur (41).



Şekil 1. Homosistein metabolizması (46)

2.3.1. Klinik Etkileri

Plazma total açlık homosistein (tHcy) düzeyi sağlıklı popülasyonda 5-15 μ mol/L arasında bildirilmiştir. Genetik ve edinsel birçok faktörden etkilenmektedir.

Erkeklerde daha yüksek plazma tHcy'ye sahip olup, yaşla birlikte plazma tHcy düzeyi artmaktadır. Bu durum kısmen vitamin düzeylerine bağlı olmasına karşın cinsiyet hormonlarının etkisi ile de oluşabilmektedir. Kadınlarda ise plazma tHcy seviyeleri, menopozdan sonra artmaktadır (47).

Postmenopozal dönemde kadınlarda saptanan yüksek tHcy seviyeleri menopoz sonrası görülen istenmeyen kardiyovasküler olayların sıklığındaki artışı

açıklayabilir. Sağlıklı premenopozal ve postmenopozal kadınlarda tek başına progesteron veya östrojen progesteron kombine hormon replasman tedavisi, plazma tHcy seviyelerini düşürür. Bu da risklerin azaltılmasına yardımcı olabilir (44).

Plazma total homosistein seviyeleri kardiyovasküler hastalığı olan ve olmayan yaşlı popülasyonda artmaktadır. Yaşlı olgulardaki artmış tHcy düzeyinin patogeneğinde folik asit, vitamin B6 ve vitamin B12 anormalliklerinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. İstenmeyen kardiyovasküler olaylar ve yüksek plazma total homosistein seviyeleri arasındaki ilişki yaşlı kişilerde önem kazanmaktadır. 65 yaş ve üzerindeki koroner arter hastalığı olan kişiler aynı yaş grubundaki sağlıklı kişilere göre daha yüksek tHcy seviyesine sahiptir. Koroner arter hastalığı olan yaşlı erkeklerin %43'ünde yüksek plazma tHcy seviyeleri (17µmol/L) görülmesine karşın koroner arter hastalığı olmayanlarda bu oran %15'tir. Ciddi karotid arter darlığı olmayan hastalarda bu oran %20 olarak bulunmuştur (48,49).

Total homosistein seviyesinin güçlü bir göstergesi renal fonksiyondur. Renal fonksiyonlardaki fizyolojik azalma kısmen yaşın etkisini de açıklayabilir (50).

Plazma total homosistein (tHcy) ile diyetle alınan vitamin B6, vitamin B12 ve folik asit düzeyi ters orantılıdır. Fizyolojik aktivite ile tHcy seviyesi düşerken aşırı sigara, alkol ve kafeinli kahve içen kişilerde tHcy seviyesi yükselir. Kronik alkoliklerde, etanolün vitamin durumunu etkilemesi sonucu tHcy seviyesi artarken orta derecede etanol tüketenlerde tHcy seviyesi düşmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada sigara tüketimi yükselmiş homosistein düzeyleri ile ilişkili çıkmıştır (51).

Sistasyon beta sentaz eksikliği gibi transsülfürasyon bozuklukları, vitamin B12 transport bozukluğu, vitamin B12 koenzim sentez bozukluğu, 5 -10 MTHF eksikliği veya bozukluğu gibi remetilasyon bozuklukları kalıtsal bozukluklar hiperhomosisteminin nedenleridir (44).

Metilen tetrahidrofolat redüktaz 677C→T mutasyonu gibi genetik faktörler termolabilite, aktivite azalması ve özellikle düşük folik asitli diyet sonunda açlık hiperhomosisteinemesine neden olur (52).

Metiltetrahidrofolat redüktaz geni açısından homozigot olanlar genetik bakımdan koroner arter hastalığı (KAH) için bir risk grubu olarak kabul etmektedir (53). Metiltetrahidrofolat redüktaz geninin T677T genotipi KAH için bağımsız bir risk faktörü kabul edilmemekle birlikte, koroner aterosklerozun yaygınlığı ve

plazma total homosistein düzeyleri, özellikle de plazma folik asit düzeyi toplum ortalamasının altında ise önemli bir gösterge olabileceği bildirilmektedir (54).

2.3.2. Plazma Homosisteininin Normal Değerleri

İnsan plazmasındaki total homosisteinin genellikle %98–99'unu homosisteinin okside formları oluşturur (55).

Sağlıklı yetişkinlerde total homosistein konsantrasyonu plazmada 5–15 µmol/L, serumda ise 13–18 µmol/L olarak tespit edilmiştir. Pediatrik hastalardaki normal değeri 3,7–10,3 µmol/L 'dir. Bazı çalışmalarda, total homosistein konsantrasyonunun 10–15 µmol/L arasında seyrederken koroner arter hastalık riskinin devam ettiği gösterilmiştir. Bu sebeple, bazı yazarlar normalin üst sınırını 10 µmol/L ya da daha düşük olarak bildirmektedir. Folik asit, vitamin B12 ve vitamin B6 ile optimal beslenmeye rağmen bu istenen seviyeye ulaşmak mümkün olmayabilir. Koroner, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklı bireylerde genellikle 12–25 µmol/L arası hafif bir homosisteinemi gözlenmektedir. Renal fonksiyon bozulursa veya renal hastalığın son safhasındaysa, total homosistein 25–50 µmol/L arası orta seviyedeki konsantrasyonlara erişebilmektedir (56).

Kardiyovasküler hastalıklar için yüksek riskli hastalarda hedef düzey 10 µmol/L'den az olmalıdır (57).

2.3.3. Hiperhomosisteinemi ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar pek çok ülkede mortalitenin önde gelen nedenidir. Homosistinürilerde prematüre tromboembolizm ve aterosklerozun sık görüldüğü gözlendikten sonra ilk kez 1975 yılında Mc Cully tarafından “aterosklerozda homosistein teorisi” öne sürülmüş ve homosisteinin vasküler hastalıklara yol açabileceği hipotezi geliştirilmiştir (58)

Plazma total homosisteininin koroner serebral ve periferik vasküler hastalıklar için bir risk faktörü olarak kolesterol sigara ve şişmanlık gibi diğer majör risk faktörleri arasına son beş yıl içinde girmiştir. Homosistein günümüzde kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklar için doza bağımlı

bir tarzda etkili olan diğerk risk faktörlerinden bağımsız majör bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (59).

Homosistein ile son yıllarda yapılan çalışmalarda hiperhomosisteineminin direkt olarak vasküler endotel hücrelerinde hasara neden olabildiğı, endotelin antikoagülan özelliğini prokoagülana dönüştürebildiğı ve in vitro düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olabildiğı gösterilmiştir (60).

Çok sayıda retrospektif vaka kontrol çalışmasında hafif, orta homosisteineminin KAH, inme ve periferik damar hastalığı için bir risk faktörü olduğı tanımlanmıştır (61,62).

2.3.4. Homosistein ve Vitamin Düzeyi İlişkisi

Folat vücuttaki tüm hücrelerde değışik biçimlerde görevi olan vitamindir. Tetra hidroksi folik asit (FH4) folik asitin biyolojik aktif ko-enzim formudur (63).

Günlük folik asit ihtiyaçları yaşa göre farklılık göstermektedir; 0–6 ay arası bebeklerin günde 40 µg, 7-12 aylık bebeklerin 60 µg, 1-12 yaş arası çocuklar için günde 100 µg ve 13 yaştan büyüklerin ise günde 200–400 µg folik asit almaları önerilmektedir (64).

Günümüzde Avrupa'da ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda kardiyovasküler hastalığı olan ve plazma total homosistein düzeyleri etkili bir şekilde düşürölüp takip edilen kişilerde mortalite ve morbidite oranlarının daha düşük olacağı belirtilmektedir. Bu ülkelerdeki deneyleri etkileyen en önemli faktör, plazma total homosisteinin majör destekleyicisi olan folik asitin besin kaynaklarına eklenmesidir. Bu arada homosistein ile folik asit, vitamin B12 ve vitamin B6 arasındaki ilişki çok önemlidir. Çünkü bu vitaminlerle optimal beslenen kişilerde daha düşük total plazma homosistein konsantrasyonu elde edilmektedir. Genetik problemler veya vitamin yetersizliklerinde yükselmiş homosistein konsantrasyonları ortaya çıkabilir (65-67).

Homosistein diyetle alınan metionin metabolizması sonucu ortaya çıkmaktadır. Metionin metabolizması sırasında değışik enzimler rol alırken, vitamin B12, vitamin B6 ve folik asit gibi vitaminler kofaktör olarak görev almaktadır. Serum homosistein düzeyleri ile bu vitaminler arasında ters ilişki gösterilmiştir (68-

71). Koroner arter hastalığı için risk grubunda olanlara verilecek olan vitamin B12 ve folik asit desteği, tromboembolik olayların azalmasına neden olabilmektedir (71).

Klinik çalışmalara göre folat ve vitamin B12 desteğinin yükselmiş plazma total homosistein düzeylerinde dşse neden olduğu gösterilmiştir. Bu enzim aktivitelerinin eksikliği hiperhomosisteinemi ve homosistinüri ile sonuçlanır. Ayrıca vitamin B12, B6 ve folik asit eksikliği homosistein metabolizmasını etkileyerek, sirküle olan plazma düzeylerini artırır (72).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Temmuz 2008-Temmuz 2009 tarihleri arasında Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Operasyon süresi 1–4 saat süren ve genel anestezi alan, 18–70 yaş arası, 93 erişkin hasta 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' okutulup, yazılım onam alınmasının ardından çalışmaya alındı.

Kalp, böbrek (kreatinin>1,3 mg/dl), karaciğer yetmezliği, vitamin B12 eksikliği (<150 pg/ml), serum folik asit eksikliği (<3 ng/ml) şiddetli anemisi olan hastalar(<8 g/dl), gebe ve, laktasyon döneminde olan hastalar çalışmaya alınmadı. Ayrıca azot protoksit kullanımının kontrendike olduğu pnömotoraks, mekanik barsak tıkanıklığı, orta kulak tıkanıklığı, laparoskopik cerrahi, intrakranial basınç yüksekliği gibi olgular ve operasyon öncesi vitamin B12 veya folik asit kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Tüm hastalara standart olarak ameliyattan bir saat önce 0.07 mg/kg intramuskuler midazolam ile premedikasyon uygulandı.

Tüm hastalara non-dominant el sırtından 18 Gauche intraket ile damar yolu açıldı. Tüm hastalara indüksiyondan önce 5–7 ml/kg ringer laktat ile sıvı replasmanı ve 3 dakika süreyle 10 l/dk %100 oksijen ile preoksijenasyon uygulandı.

Operasyon odasına alınan hastaların monitörizasyonu ADU (Datex-Ohmeda® S/5 Anestezi Monitör, USA) anestezi cihazı ile 5 derivasyonlu yüzey elektrokardiyogram (EKG, DII), periferik oksijen saturasyonu (SpO₂) ve noninvaziv arteriyel kan basıncı ile yapıldı.

Anestezi indüksiyonu 3 mg/kg propofol (Pofol®, Fresenius Kabi AB, Sweden) ve 1 µg/kg fentanil (Fentanyl Citrate® Hospira Inc. USA) ile sağlandı. Kas gevşetici olarak vekuronyum (Norcuron® N.V. Organon, Holland) 0,1 mg/kg dozda verildikten 3 dk sonra entübasyon yapıldı. Entübasyonu takiben taze gaz akımı 10 dakika 4L/dk olarak uygulandı. Ardından anestezi idamesi 1–2 MAC sevofluran (Sevorane Likit® Abbot, USA) ile %40 O₂ %60 N₂O ile 2 lt/dk taze gaz akımı olacak şekilde sağlandı. Ventilasyon tidal volüm (TV) 6–8 ml/kg, I:E oranı 1:2,

solunum frekansı ise Et CO₂, 35–40 mmHg arasında tutulacak şekilde ayarlandı. FiO₂ değeri %30–35 arasında korundu. Operasyon bitmeden son cilt sütürüne başlandığında anestezi kesilerek hasta %100 O₂ ile ventile edildi. Kas gevşetici etkisi 0,05 mg/kg neostigmin (Neostigmin Ampul® Adeka, Türkiye) ve 0,01 mg/kg atropin (Atropin Sülfat® 1 ml amp, Biofarma, Türkiye) ile antagonize edildi. Yeterli tidal volüm ve koruyucu hava yolu refleksleri döndükten sonra olgular ekstübe edildi. Tüm hastaların operasyon sonunda ekstübasyon zamanları kayıt edildi.

Postoperatif ağrı kontrolü, operasyon bitiminden 15 dk önce 1 mg/kg'dan tramadol (Ultramex®, Adeka, Türkiye) kullanılarak sağlandı.

Tüm hastalardan damar yolu açılmasını takiben 2 adet EDTA'lı tüpe, 2'şer ml venöz kan örneği alındı. Ayrıca hastaların plazma total homosistein, serum folik asit, serum vitamin B12 düzeylerinin analizi için gerekli venöz kan örnekleri damar yolu açılmasını takiben, anestezinin 60. dakikasında ve ekstübasyondan 24 saat sonra alındı.

Tüm hastalar MTHFR gen polimorfizmi açısından gruplandırıldı. Gruplar demografik veriler, operasyon süresi, preoperatif BUN, kreatinin, albumin, folik asit, vitamin B12 ve plazma total homosistein seviyeleri açısından karşılaştırıldı. Ayrıca hastalar operasyon süresi 3 saatin altı ve 3 saatin üzeri olmak üzere gruplandırıldı ve plazma total homosistein seviyeleri açısından yeniden karşılaştırıldı.

3.1. Genetik Analiz

3.1.1. Periferik kandan DNA elde edilmesi

Gen polimorfizminin belirlenmesi için EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri dondurularak (-80°C) de DNA eldesi ve genetik analiz yapıncaya dek muhafaza edildi.

Olguların DNA izolasyonu, NucleoSpin® Blood (Kart. no: 740 951.250) DNA İzolasyon Kiti kullanılarak yapıldı. Kit içinde bulunan ve 1,5 ml hacime sahip tüplerin içine konan 250 µl kan üzerine 250 µl Buffer BL, 5 µl RNase A ve 25 µl proteaz enzimi eklendi ve bu karışım 10 saniye vortekslendikten sonra 42°C'ye

ayarlanmış su banyosunda 25 dakika inkübe edildi. Süre bitiminde su banyosundan alınan tüplerin üzerine 260 µl saf alkol eklendi ve HiBind® DNA spin kolona aktarıldı. Dakikada 10.000 devir hız ile 1 dakika santrifüj edildikten sonra, alttaki tüp atılarak yeni tüp kondu ve spin kolondaki içeriğin üzerine 500 µl HB Buffer ilave edildi. Santrifüj aşaması tekrarlandıktan sonra 650 µl Wash Buffer eklendi ve 1 dakika santrifüj edildi. Wash Buffer ile yıkama aşaması tekrarlandıktan ve spinler yeni tüpe yerleştirildikten sonra 70 °C'ye ayarlanmış inkübatörde ısıtılmış 100 µl Elution Buffer eklendi. Dakikada 10.000 devir hız ile 1 dakika yapılan santrifüj sonrası tüpler değiştirilmeden yine 100 µl Elution Buffer konarak son kez 10.000 devir/dak ile 1 dakika santrifüj edildi. Üstteki spin kolon atılarak alttaki tüpte bulunan DNA yeni tüpe aktarıldı ve bu aşamaların sonucunda yaklaşık 40–60 ng/µl konsantrasyonda 200 µl DNA elde edildi. Elde edilen DNA, Dr. Zeydanlı Real-Time MTHFR analiz testi (Kart. No: DZ677/DZ1298), üretici firma protokolüne uyularak C677T ve A1298C mutasyonları açısından araştırıldı.

3.1.2. Testin Prensipli

Her hasta için patenti alınmış 677 veya 1298 Normal ve 677 veya 1298 Mutant olmak üzere dört mastermiks çalışıldı. Kit patenti alınmış tek nükleotit değişimlerinin (SNP) analizinde kullanılan 5' nükleaz polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için özel olarak hazırlanmış kullanıma hazır kimyasalları sağlamaktadır. Test kiti MTHFR C677T / A1298C sekans spesifik primerler ve prob için hazırlanmıştır.

3.1.3. Testin İçeriği

- 677–1298 Normal PCR mastermiks
- 677–1298 Mutant PCR mastermiks
- Hot Start Taq DNA Polimeraz

3.1.4. Testin Hazırlanması

1. 20,5 µl hacimde kullanıma hazır mutant ve normal mastermiks 0,2 ml thermowell optik PCR tüplerine veya striplerine konuldu.
2. Her normal ve mutant mastermiks tüpüne 0,3 µl Hot Start Taq DNA Polimeraz ve 4,5 µl DNA eklendi.
3. Pipetlenerek tamamen karışması sağlandı.
4. Aşağıdaki program ile çalışıldı.

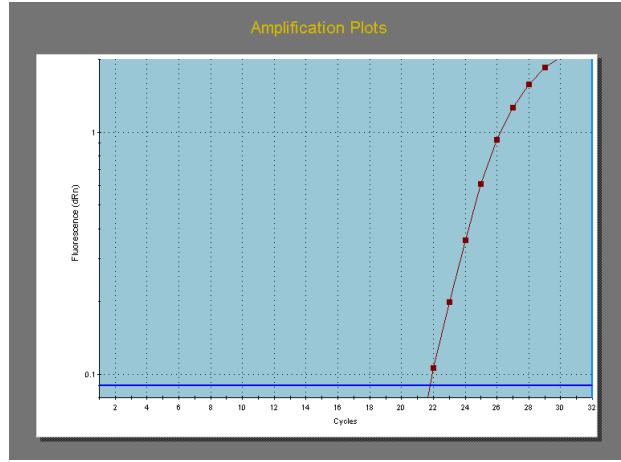
3.1.5. PCR Programı

95°C	5 dk	}	32 döngü
95°C	15 s		
60°C	1 dk		

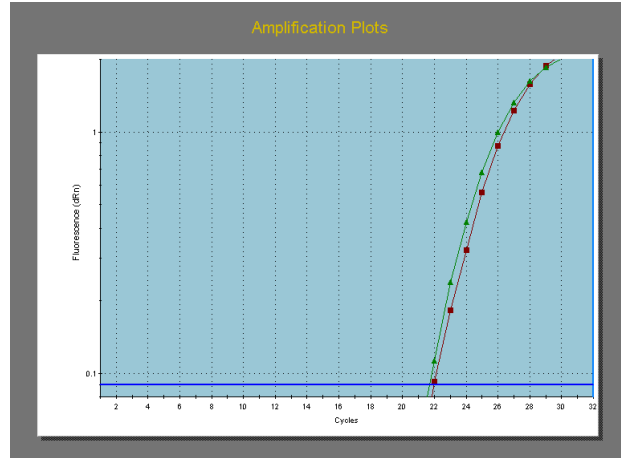
3.1.6. Analiz

Çalışma tamamlandıktan sonra elde edilen veriler ilgili program (STRATAGENE®, MxPro™ QPCR Software Instruction Manual, Mx3000P™ QPCR Systems, Software Version 3.00) kullanılarak analiz edildi.

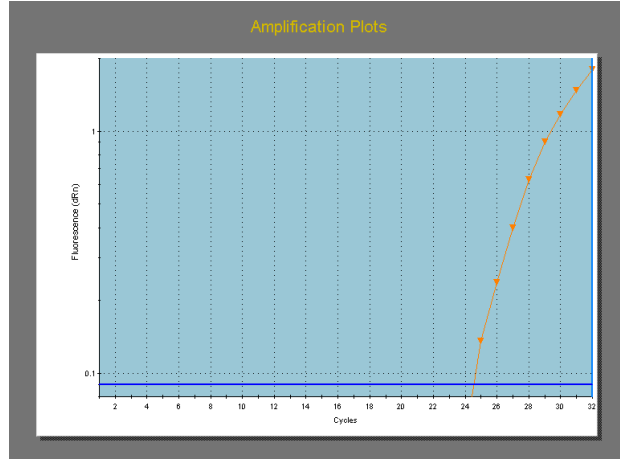
Analiz sonuçları aşağıdaki standart amplifikasyon dağılımlarını içeren örneklerle karşılaştırılıp (Şekil 2-4) değerlendirildi.



Şekil 2. Normal amplifikasyon dağılımı:
Normal mikste pik var, Mutant mikste pik yok



Şekil 3. Heterozigot amplifikasyon dağılımı:
Hem normal mikste hem de mutant mikste pik var



Şekil 4. Homozigot Mutant amplifikasyon dağılımı:
Normal mikste pik yok, Mutant mikste pik var

3.2.Biyokimyasal Analiz:

Serum folik asit ve vitamin B12 ölçümü için jelli biyokimya tüplerine alınan örnekler 5000 devir / dakika da 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Homosistein ölçümü için EDTA'lı hemogram tüplerine alınan örnekler 5000 devir / dakika'da 5 dakika santrifüj edilerek plazmalarına ayrıştırıldı. Tüm örnekler dondurularak çalışma yapılana dek -80°C'de muhafaza edildi. Serum folik asit ve vitamin B12 IMMULITE® 2000 (Siemens, Germany) cihazında kemilüminesans yöntemiyle kompetitiv immünokimyasal prensip ile folik asit için pg/ml, vitamin B12 için ise ng/ml olarak ölçüldü. Plazma total homosistein değerleri ZinMass® Homocysteine LC-MS/MS analiz kiti (ZIVAK, Türkiye) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile izokratik yöntem ile florasan dedektör kullanılarak µmol/L olarak ölçüldü. BUN, kreatinin ve albumin ADVIA 2400 (Siemens, Germany) otoanalizör cihazı kullanılarak mg/dl olarak ölçüldü.

3.3.Postoperatif takip:

Hastalar postoperatif ilk 24 saat tromboembolik olay, myokardial iskeminin semptomları (göğüs ağrısı ve elektrokardiografide yeni Q dalga ve ST segment değişiklikleri) açısından takip edildi.

3.4.İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (versiyon 13.0) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Metiltetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmine göre gruplandırıldığında gruplar arasında yaş, boy, kilo, operasyon süresi, BUN, albümin, kreatinin değerleri açısından farklılığın belirlenmesi amacıyla Kruskal–Wallis testi kullanıldı. Grupların cinsiyet dağılımları Ki-kare testi ile incelendi. Grup içi değerlendirmede vitamin B12, folik asit ve homosistein düzeylerinin preoperatif ve postoperatif değerleri için Wilcoxon testi uygulandı. Tüm grupların vitamin B12, folik asit ve homosistein değerlerinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri gruplar arasındaki farkın belirlenmesi amacıyla tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Hastaları operasyon süresine göre gruplandırıldığında 3 saat altı ve 3 saat üstü için Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 93 hasta dahil edildi. Hastaların 8'i vitamin B12 düzeylerinin 150 pg/ml değerinin altında, 4'ü de folik asit düzeyleri 3 ng/ml değerinin altında olması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen 81 hastanın yaş ortalamaları 41.09 ± 13.59 olarak belirlendi. Hastaların 49 (%60,5)'u kadın, 32 (%39,5)'u erkekti.

MTHFR polimorfizimleri incelendiğinde 12 (%14,8) hastada polimorfizm bulunmadığı belirlendi. Olguların 17 (%21)'sinde 677 CT/1298 AC mutasyonu, 13 (%16)'ünde 677 TT/1298 AA mutasyonu, 14 (%17,3)'ünde 677 CT/1298 AA mutasyonu, 13 (%16)'ünde 677 CC/1298 AC mutasyonu ve 12 (%14,8)'sinde 677 CC/1298 CC mutasyonu tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Olgularda gözlenen MTHFR gen mutasyonlarının dağılımı

MTHFR 677 Genotipi	MTHFR 1298 Genotipi							
	Normal		Heterozigot		Homozigot		Toplam	
	AA		AC		CC		n	%
	N	%	N	%	N	%		
Normal CC	12	14,8	13	16	12	14,8	37	45,6
Heterozigot CT	14	17,3	17	21	0	0	31	38,3
Homozigot TT	13	16	0	0	0	0	13	16
Toplam	39	48,1	30	37	12	14,8	81	100

C677C ; normal, C677T; heterozigot, T677T; homozigot, A1298A; normal, A1298C; heterozigot, C1298C; homozigot

Hastalar MTHFR gen mutasyonlarına göre gruplandırıldı ve gruplar arasında preoperatif serum BUN, kreatinin ve albumin değerlerine göre farklılık bulunmadığı belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplarda preoperatif BUN, kreatinin ve albümin değerleri (ort.±SS)

Mutasyon 677/1298	BUN (mg/dl)	P	Kreatinin (mg/dl)	P	Albümin (mg/dl)	p
CC/AA n=12	32,11±6,72	0,274	0,73±0,20	0,351	4,11±0,44	0,790
CT/AC n=17	30,01±9,71		0,78±0,16			
CT/AA n=14	26,66±11,61		0,76±0,16			
TT/AA n=13	27,18±12,38		0,70±0,13			
CC/AC n=13	32,07±9,34		0,74±0,19			
CC/CC n=12	27,76±9,91		0,69±0,21			

C677C ; normal, C677T; heterozigot, T677T; homozigot, A1298A; normal, A1298C; heterozigot, C1298C; homozigot

Gruplarda yaş, kilo, boy ve operasyon süreleri arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır (Tablo 3).

Tablo 3. Gruplarda yaş, boy, kilo ve operasyon süresi değerleri (ort.±SS)

Mutasyon 677/1298	Yaş	P	Kilo	P	Boy	P	Op. Süresi	P
CC/AA n=12	48,91±13,46	0,274	79,50±21,86	0,351	167,25±9,95	0,790	112,50±66,62	0,908
CT/AC n=17	44,11±14,34		68,05±11,22		166,11±6,06		105,88±57,23	
TT/AA n=13	38,84±12,62		71,07±10,63		163,69±6,47		110,76±56,63	
CT/AA n=14	39,14±15,06		74,07±13,37		167,71±8,78		87,85±34,23	
CC/AC n=13	38,00±13,47		66,92±14,86		165,00±6,70		101,53±56,83	
CC/CC n=12	37,08±10,09		74,83±12,38		166,16±6,56		150±35,03	

C677C ; normal, C677T; heterozigot, T677T; homozigot, A1298A; normal, A1298C; heterozigot, C1298C; homozigot

Çalışmaya alınan olgulardan, 677 ve 1298 genlerinden herhangi birinde homozigot mutasyon bulunan hastalar ile 677 ve 1298 genlerinden herhangi birinde heterozigot

mutasyon bulunan veya normal hastalar arasında preoperatif yaş, boy, kilo, vitamin B12, folik asit, homosistein değerleri ve operasyon süreleri açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Tüm homozigot hastalar ve diğer hastaların preoperatif değerleri (ort.±SS)

	Toplam hasta(n=81)	Homozigot hastalar (n=25)	Heterozigot veya normal (n=56)	p
Yaş (yıl)	41,20±13,86	38,00±11,28	42,48±14,38	0,203
Boy (cm)	166±7,36	164,88±6,50	166,50±7,72	0,358
Ağırlık (kg)	72,09±14,46	72,88±11,42	71,75±15,71	0,598
Operasyon süresi (dakika)	103,70±51,53	108± 46,63	101,78±53,87	0,338
BUN (mg/dl)	29,29±10,07	27,46±11,03	30,10±9,60	0,242
Kreatinin (mg/dl)	0,74±0,17	0,69±0,17	0,76±0,17	0,187
Albümin (g/dl)	4,12±0,38	4,16±0,34	4,10±0,40	0,728
B12 (pg/ml)	305,72 ±167,40	285,88±188,24	314,58±158,23	0,166
Folik asit (ng/ml)	9,03±4,28	7,96±2,85	9,51±4,72	0,222
Homosistein (µmol/L)	13,89±5,17	14,98±6,48	13,40±4,45	0,563

Tüm hastaların, preoperatif serum vitamin B12 düzeyinin 305,72±167,40 pg/ml olduğu, postoperatif dönemde serum vitamin B12 düzeyinin 288,59±138 pg/ml değerine düştüğü belirlendi. Olgularda ölçülen serum vitamin B12 düzeyinin preoperatif değeri ile postoperatif değeri arasında anlamlı farklılık mevcuttu (p=0,029). Aynı şekilde 81 olgunun tamamı serum folik asit değişiklikleri açısından karşılaştırıldığında, preoperatif serum folik asit düzeyi 9,03±4,28 ng/ml'den postoperatif dönemde 8,37±3,74 pg/ml değerine düştüğü görüldü. Olgularda ölçülen serum folik asit düzeylerinin preoperatif değeri ile postoperatif değeri arasında anlamlı farklılık mevcuttu (p=0,026). Olgularda ölçülen homosistein düzeyleri değerlendirildiğinde, preoperatif plazma total homosistein değeri ortalaması 13,89±5,17 µmol/l iken, postoperatif dönemde ölçülen plazma total homosistein

değeri ortalaması $15,06 \pm 11,67$ $\mu\text{mol/l}$ olarak bulundu. Postoperatif dönemde plazma total homosistein düzeylerinde artış olmasına rağmen, preoperatif plazma total homosistein düzeyleri ile postoperatif plazma total homosistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı (Tablo 5).

Tablo 5. Tüm hastaların (n=81) preoperatif ve postoperatif serum Vitamin B12, seum folik asit ve plazma total homosistein değerleri (ort. \pm SS)

	Preoperatif	Postoperatif 24. saat.	P
Vitamin B12 (pg/ml)	305,72 \pm 167,40	288,59 \pm 138*	0,029
Folik asit (ng/ml)	9,03 \pm 4,28	8,37 \pm 3,74**	0,026
Homosistein ($\mu\text{mol/l}$)	13,89 \pm 5,17	15,06 \pm 11,67	0,323

* $p < 0,05$ preoperatif vitamin B12 - postoperatif vitamin B12

** $p < 0,05$ preoperatif folik asit - postoperatif folik

MTHRF mutasyonlarına göre ayrılan gruplar arasında preoperatif ve postoperatif vitamin B12, folik asit ve homosistein değerleri açısından anlamlı farklılığa rastlanmadı (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplara göre preoperatif ve postoperatif plazma total homosistein, serum folik asit, serum vitamin B12 değişiklikleri (ort.±SS)

Mutasyon	Homosistein (µmol/L)			Folik asit (ng/dl)			Vitamin B12 (pg/dl)		
	Preoperatif	Postoperatif	P	Preoperatif	Postoperatif	p	Preoperatif	Postoperatif	P
677/1298									
CC/AA n=12	13,08±3,89	13,32±6,98	0,556	10,59±4,09	8,95±4,19	0,084	333,16±153,84	302,83±122,47	0,091
CT/AC n=17	13,25±2,89	12,66±4,47	0,518	8,76±3,02	8,56±2,29	0,670	377,94±223,38	355,41±197,94	0,298
TT/AA n=13	16,53±7,41	19,70±12,43	0,552	7,82±3,45	7,38±5,03	0,221	287,61±145,25	257,46±93,96	0,133
CT/AA n=14	13,30±5,08	14,63±7,28	0,126	8,11±2,16	8,06±2,55	0,937	284,00±232,99	276,50±183,58	0,965
CC/AC n=13	13,24±7,08	11,50±5,67	0,154	9,94±5,93	8,82±3,46	0,345	270,76±102,05	257,46±56,81	0,944
CC/CC n=12	13,30±5,08	14,63±7,28	0,126	8,11±2,16	8,06±2,55	0,937	284,00±232,99	276,50±183,58	0,965
Tüm homozigot n=25	14,98±6,48	17,26±10,40	0,170	7,96±2,85	15,51±37,99	0,270	285,88±188,24	266,60±141,26	0,284
Tüm diğer n=56	13,40±4,45	14,08±12,16	0,673	9,51±4,72	8,66±3,63	0,023	314,58±158,23	298,41±136,80	0,082

*p<0,05 heterozigot veya normal olan hastalarda preoperatif ve postoperatif folik asit düzeyleri

C677C; normal, C677T; heterozigot, T677T; homozigot, A1298A; normal, A1298C; heterozigot, C1298C; homozigot

Operasyon sürelerinin, preoperatif ve postoperatif serum vitamin B12, serum folik asit ve plazma total homosistein düzeylerine etkisi incelendi. Çalışmaya dahil edilen 81 olgu, anestezi uygulama süresine göre 3 saat altı (n=67, %82,7) ve 3 saat üstü (n=14, %17,3) olarak gruplandırıldığında, gruplar arasında yaş, cinsiyet ağırlık, boy açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Anestezi uygulama süresi 3 saatin üzerindeki hastalarda, 3 saatin altındakilere göre postoperatif serum homosistein değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p=0,028) (Tablo 7).

Tablo7. Operasyon süresi ile preoperatif ve postoperatif serum vitamin B12, serum folik asit, plazma total homosistein değişiklikleri (ort.±SS)

	< 3 saat n=67	> 3 saat n=14	p
Preoperatif	314,92±177,50	261,71±99,83	0,385
Vitamin B12 (pg/ml)			
Postoperatif	297,02±144,99	248,21±92,22	0,214
Vitamin B12 (ng/ml)			
Preoperatif	9,28±4,54	7,81±2,43	0,336
Folik asit (ng/ml)			
Postoperatif	8,63±3,89	7,12±2,65	0,277
Folik asit (ng/ml)			
Preoperatif	13,32±4,49	16,58±7,24	0,082
Homosistein (µmol/L)			
İntraoperatif	12,92±5,02	15,98±8,58	0,248
Homosistein (µmol/L)			
Postoperatif	14,18±11,96	19,27±9,44*	0,028
Homosistein (µmol/L)			

*p<0,05= Operasyon süresi 3 saat< olan hastalar

Postoperatif dönemde 24 saat boyunca hastalarımızın hiçbirinde tromboembolik olay veya myokardial iskemi bulgularına rastlanmadı.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, 1–4 saat süreyle azot protoksit içeren genel anestezi uygulaması sonrasında, olgularımızın serum vitamin B12 ve folik asit düzeylerinin, anlamlı olarak düştüğü belirlendi ($p<0,05$). Operasyon süresi 3 saatin üstünde olan olgularımızda, postoperatif plazma total homosistein düzeyinin, operasyon süresi 3 saat altında olan olgularımızla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0,05$) ve MTHFR gen polimorfizminin postoperatif plazma total homosistein düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı belirlendi.

Metiltetrahidrofolat redüktaz eksikliği, nörolojik semptomlar, prematür ateroskleroz, ven ve arter trombozunu içeren otozomal resesif bir hastalıktır. Toplam 29 adet MTHFR mutasyonu bildirilmiştir. Bu mutasyon MTHFR enzim aktivitesinde ciddi yetersizlik ile ilişkili bulunmuştur. Bu mutasyonlarda enzim aktivitesinin, kontrol enzim aktivitesinin %0-30'u arasında bulunduğu bildirilmektedir (3).

Mutasyonlar içinde en önemlisinin C677T olduğu bildirilmektedir. Son zamanlarda ciddi MTHFR yetersizliği görülen durumda cis konfigürasyonunda 677 C→T varyantı ile beraber olduğu gösterilmiştir (73).

İkinci sık görülen polimorfizm, 1298 A>C başkalaşımıdır ve MTHFR'nin regülatör bölgesinde yer alan Glutamat'ın Alanin'e dönüşümü izlenir. Bu başkalaşım enzim aktivitesini azaltır, ama C677T allel değişimi kadar belirgin değildir. In vitro koşullarda A1298C alleli homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi %40 kadar azalmıştır. Ancak plazma total homosistein düzeyleri kontrollere göre yüksek değildir (74,75).

Avrupa, Orta Doğu ve Japonya'da MTHFR geninin heterozigot mutasyonuna %30–40, homozigot mutasyonu ise %10–15 oranında rastlandığı rapor edilmiştir (76). Amerikanlarda MTHFR mutasyonu prevalansının %5'den daha az oranda olduğu bildirilmiştir. Meksika'da MTHRF homozigot mutasyonunun %35 oranında görüldüğü ve homozigot mutasyonun enzim aktivitesinde %50-60 azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (77). Weisberg ve ark. (77) ise, genel popülasyonun %15–20'sinin MTHFR varyantlarının biri açısından heterozigot olduğunu göstermiştir.

Ülkemizde de değişik hastalıklarda MTHFR gen mutasyonu prevalansının

araştırıldığı çalışmalarda farklı prevalans sonuçları elde edilmiştir (54,78,79). Yılmaz ve ark. (54) yaptıkları çalışmalarında koroner arter hastalığı olan 79 hasta ve koroner arter hastalığı olmayan 93 hastayı karşılaştırmışlardır. Kontrol grubunda MTHFR C677T geninde heterozigot mutasyonu 44 (%47,3), homozigot mutasyonu 6 (%6,5) olguda gösterilmiştir. Koroner arter hastalığı olan hastalarda ise MTHFR C677T geninde heterozigot mutasyonu 32 (%40,5) ve homozigot mutasyonu ise 7 (%8,9) olarak rapor edilmiştir (54).

Dölek ve ark., (79) yaptıkları bir çalışmada da tromboz öyküsü bulunan 270 hastadan 170 (%63,2)'inde, tromboz öyküsü bulunmayan 114 kişiden 64 (%56,1)'ünde homozigot veya heterozigot MTHFR A1298C mutasyonu bulunmuştur. C677T mutasyonu ise tromboz öyküsü bulunanlardan 134 (%49,8)'ünde, tromboz öyküsü bulunmayan 114 hastadan 45 (%39,5)'inde homozigot veya heterozigot özellik gösterilmiştir (79).

Akar ve ark.'nın (78) 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada derin ven trombozu (DVT) olan 68 hastayı ve DVT öyküsü olmayan 66 hastayı MTHFR ve Faktör V Leiden mutasyonu ile DVT yatkınlığı açısından karşılaştırmışlardır. Derin ven trombozu olan grupta MTHFR C677T geninde heterozigot mutasyon 33 (%48,5), homozigot mutasyon ise 5 (%7,4) vakada gösterilmiştir. Kontrol grubunda ise MTHFR C677T geninde heterozigot mutasyona 19 (%28,8) ve homozigot mutasyona da 7 (%10,6) olguda rastlanmıştır. Metiltetrahidrofolat redüktaz A1298C geninde ise DVT grubunda heterozigot mutasyon 34 (%50), homozigot mutasyon ise 4 (%5,9) vakada göstermişlerdir. Kontrol grubunda ise MTHFR A1298C geninde heterozigot mutasyona 29 (%43,9) ve homozigot mutasyona da 4 (%6,06) olguda rastlandığını rapor etmişlerdir (78).

Yaptığımız literatür çalışmasında, ülkemizde hospitalize cerrahi hastalarında MTHFR gen mutasyon prevalansı ile ilgili veriye rastlanmamıştır.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların MTHFR gen polimorfizimleri incelendiğinde 12 (%14,8) hastada polimorfizm bulunmadığı belirlendi. Olguların 17 (%21)'sinde 677 CT/1298 AC mutasyonu, 13 (%16)'ünde 677 TT/1298 AA mutasyonu, 14 (%17,3)'ünde 677 CT/1298 AA mutasyonu, 13 (%16)'ünde 677 CC/1298 AC mutasyonu ve 12 (%14,8)'sinde 677 CC/1298 CC mutasyonu tespit edildi.

Yapılan çalışmalarda MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının birlikte bulunmasının MTHFR aktivitesinin %40–50 oranında azalmasına, hiperhomosisteinemi gelişimine ve plazma folik asit düzeylerinin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (74,75). Çalışmamızda genetik analizini yaptığımız 81 hastadan 17 (%21)'sinde 677 ve 1298 allellerinde kombine mutasyon görülmüştür

Orlin ve ark., (80) yaptıkları çalışmalarında Kuzey Amerika'da her yıl yaklaşık 45 milyon kişiye genel anestezi uygulandığını, bu olguların yarısında da N₂O'in kullanıldığını bildirmişlerdir. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada ise bir yıllık sürede toplam 4265 hastanın opere olduğu, bu hastaların 3158'ine genel anestezi uygulandığı, genel anestezi uygulanan hastaların 3115'inde ise azot protoksit uygulandığı bildirilmiştir (81).

Metiyoninin aktive formu olan s-adenozilmetiyonin birçok biyokimyasal reaksiyonda metilasyon için substrat olarak kullanılmaktadır. Geçmiş çalışmalarda azot protoksitin, vitamin B12'nin kobalt atomunu geri dönüşümsüz şekilde okside ettiği ve bu inhibisyonun kobalamin bağımlı enzim olan metiyonin sentetaz aktivitesinin inhibe olmasıyla sonuçlandığı bildirilmiştir. (82).

Amos ve ark., (83) minimum 2 saat süren N₂O uygulanan cerrahi prosedürden sonra 50 hastanın 18 inde megaloblastik değişiklikler görüldüğünü bildirmişlerdir. Bununla birlikte ciddi hastalığı olanlardaki megaloblastik değişiklikler ile N₂O'ya maruz kalma arasında büyük bir korelasyon görüldüğünü rapor etmişlerdir (83).

Cohen ve ark., (84) azot protoksit anestezisi sonrasında 2 olguda yürüyüş bozukluğu ve azalmış propriosepsiyon ile ortaya çıkan spinal kord toksisitesi rapor etmişlerdir. Bu iki olgu parenteral hidrosikobalamin verilerek azalmış metiyonin sentetaz aktivitesinin düzelmesi sağlanmıştır (84).

Felmet ve ark. (85) da yaptıkları olgu sunumunda, laparoskopik orşiopeksi operasyonu uygulanan ve izofloran ile azot protoksitin kullanıldığı pediatrik hastada anestezi uygulamasından 6 gün sonra letarji, ateş ve hareket bozukluğu görüldüğünü, hastaya 2 hafta boyunca vitamin B12 tedavisi uygulanması ile klinik ve laboratuvar düzelmeye sağlandığını bildirmişler ve bu olguda azot protoksit maruziyetinin preoperatif dönemde vitamin B12 eksikliği olan infantlarda tehlikeli sonuçlar doğurabileceğini ileri sürmüşlerdir (85).

McNeely ve ark.'da (86) benzer şekilde skafosefali nedeniyle izofloran ve azot protoksit anestezisi ile opere edilmiş 4 aylık bir infantta operasyondan 3 hafta sonra hipotoni, asidoz, dehidratasyon, daha sonra da taşipne ve letarji geliştiğini, ölçülen serum vitamin B12 seviyesinin düşük, plazma total homosistein seviyelerinin ise yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmacılar hastaya vitamin B12 tedavisi başlanması sonrası bulguların gerilediğini belirtmişlerdir. Olguda etiyoloji araştırıldığında, olgunun annesinin sıkı vejeteryan olduğu ve bu tür vakalarda azot protoksitten kaçınılması gerektiğini rapor etmişlerdir (86).

Krajewski ve ark. (87) tarafından yapılan başka bir çalışmada da, N₂O'e maruz kalan 95 ameliyat hemşiresi, N₂O maruziyeti bulunmayan 90 sağlıklı olgu karşılaştırıldığında hematolojik parametreler ve folik asit düzeyi açısından fark bulunmamasına karşın vitamin B12 düzeylerinin düşük ve plazma total homosistein düzeylerinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

El Otmani ve ark. (88) tarafından 65 yaşında bilinen hastalık öyküsü olmayan bir hastada N₂O kullanılan anestezisi yönetimi sonrası postoperatif 16.günde hafıza kaybı ve yürüme bozukluğu görülen bir vaka rapor edilmiştir. Bu hastanın nörolojik muayenesinde omurilik kombine dejenerasyon sendromu ile uyumlu parapleji saptanmış ve zaman içinde bilişsel işlev bozuklukları görülmüştür. Hastada Biermer hastalığına sekonder vitamin B12 eksikliği tespit edilmiştir. İntraoperatif dönemde N₂O maruziyetinin mevcut yetersizliği arttırdığı rapor edilmiştir (88).

Royston ve ark. (89) tarafından yapılan bir çalışmada da N₂O kullanılmasıyla metiyonin sentaz aktivitesinin inhibe olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada oluşan inaktivasyonun yarı zamanın 46 dakika olduğu belirtilmiş ve N₂O verilmeye başlandıktan 200 dakika sonra rezidüel metiyonin sentaz aktivitesinin sıfıra yaklaştığı gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda da N₂O ya maruz kalan fare, rat ve domuzlarda enzim aktivitesinin normal düzeylere gelebilmesi için 4 gün veya daha fazla zaman gerektiği bildirilmiştir (90-93).

Riedel ve ark. (94) kültür hücrelerinde N₂O'nun yaptığı metiyonin sentetaz aktivitesi inhibisyonunun geri dönüşümsüz olduğunu göstermiş ve enzim aktivitesinin iyileşmesi için denovo sentezin gerektiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da azot protoksit uyguladığımız olgularımızda postoperatif 24.

saatte serum vitamin B12 düzeylerinin preoperatif dönemde ölçülen serum vitamin B12 düzeyi ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir ($p<0,05$).

Çeşitli çalışmalarda N_2O 'nun plazma total homosistein seviyesini arttırdığı gösterilmiş (95-97). Mynless ve ark. (98), N_2O anestezisi sonrasında 24. saatte endotelial fonksiyon ve total plazma homosistein seviyelerini ölçmüşlerdir. Çalışmaya 59 hasta dahil edilmiş, 25 hastaya %70 N_2O uygulanmış, 34 hastaya ise N_2O verilmemiştir. Azot protoksit uygulanan grupta postoperatif dönemde endotelial fonksiyonun anlamı olarak bozulduğu ve plazma total homosistein düzeyinin anlamlı olarak arttığı rapor edilmiştir (98).

Azot protoksitin indüklediği plazma total homosistein yükselmesinin mekanizması komplekstir. Vitamin B12 metiyonin sentetaz fonksiyonu için gerekli bir kofaktördür. Azot protoksit, vitamin B12'deki cob (I)'i (kobalt atomu) cob (III) formuna dönüştürür, cob (III)'de hızlıca cob (I) ile birleşerek kobalaminin okside formu olan cob (II)'e dönüşür. Böylece N_2O kobalt atomunu okside ederek vitamin B 12'yi inaktive eder. Azot protoksit direkt olarak geri döndürülebilir şekilde metiyonin sentetazı inhibe ederek homosisteinin metiyonine dönüşümünü engeller ve homosisteinin plazma konsantrasyonu artar (99).

Çalışmamızda grupları demografik verileri ve preoperatif BUN, kreatinin ve albumin değerleri açısından da değerlendirdik. Gruplarda bu değerler açısından Nagele ve ark.'nın (2) çalışmalarına benzer olarak farklılığa rastlanmamıştır.

Olgular operasyon süresi açısından 3 saat altı ve 3 saat üstü operasyonlar olarak gruplandırıldığında, gruplar arasında preoperatif plazma total homosistein düzeyleri arasında fark yok iken, postoperatif homosistein düzeyleri 3 saatin üzerinde operasyon süresi olan hastalarda anlamlı olarak yüksektir. Bu bulgu da bize postoperatif plazma total homosistein artışında azot protoksit maruziyet süresinin önemli olduğunu düşündürmektedir.

Metiltetrahidrofolat redüktaz gen mutasyonu ve enzim eksikliği bulunan hastalarda azot protoksit maruziyetinin etkileri de önemli bir araştırma konusudur. Geçmiş çalışmalarda MTHFR mutasyonu olan hastalarda, N_2O kullanımının folik asit siklus enzimlerinde anormalliklere yol açtığı bildirilmiştir (2,3,5,100-102) Bununla birlikte MTHFR gen mutasyonu, postoperatif plazma total homosistein düzeyleri üzerine etkilerine yönelik çalışmalar sınırlıdır (2).

Yapılan bir olgu sunumunda, Selzer ve ark. (5) 5,10-metiltetrahidrofolate redüktaz eksikliği olan ve mortal sonuçlanan bir vakayı sunmuşlardır. Bu olgu sunumunda induksiyon sonrası %0,75 halotan ve %60 N₂O ile anestezi yönetimi uygulanan ve anesteziden 17 gün sonra apne ve nöbet epizotları gelişmiştir. Hastaya yapılan biyokimyasal analizlerde, plazma homosistein seviyesinin ciddi derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Hastada postmortem dönemde fibroblast kültüründe MTHFR enzim aktivitesi bakılmış ve kontrol değerlere göre yaklaşık %75 oranında azaldığı rapor edilmiştir. MTHFR gen polimorfizmi taramasında, kendisinde, annesinde ve kardeşinde 677C→T ve 1298A→C allelerinin ikisinde heterozigot olduğu belirlenmiştir (5). Selzer ve ark. (5) sundukları bu olguda, MTHFR mutasyonu ve N₂O ile ilişkili metiyonin sentetaz enzim defekti beraberliğinin hastanın ölüm sebebi olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Metiltetrahidrofolat redüktaz enzim eksikliğinin postoperatif plazma total homosistein düzeylerine etkisinin araştırıldığı randomize, prospektif çalışmalar ise sınırlıdır (2). Nagele ve ark.'nın (2) yaptıkları çalışmada 2 saatin üzerinde %66 N₂O ile anestezisi uygulanan 140 hastada iki MTHFR gen mutasyonunun (677 C>T ve 1298 A>T) postoperatif plazma total homosistein, serum vitamin B12 ve folik asit düzeyleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, postoperatif plazma homosistein düzeyinin preoperatif düzeye göre anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada homozigot olarak C677T yada A1298C MTHFR gen mutasyonunu taşıyan olgularda, postoperatif total plazma homosistein konsantrasyonlarının bu mutasyonu homozigot olarak taşımayan olgulardan anlamlı yüksek olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada plazma folik asit düzeyi açısından MTHFR gen mutasyonuna göre gruplanan hastalar arasında fark bulunmamıştır. Çalışmada ayrıca postoperatif dönemde vitamin B12 düzeyinin de homozigot hastalarda daha çok olmakla beraber tüm hastalarda düştüğü gösterilmiştir (2).

Nagele ve ark. (2) çalışmalarında dört saatten daha uzun süre N₂O'ya maruz kalmış 16 hastada plazma total homosistein konsantrasyonlarının 8,1 µmol/L'den 14,6 µmol/L'ya yükseldiği ve bu artışın daha kısa süre azot protoksite maruz kalanlara göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Çalışmacılar uzun süre azot protoksit maruziyetinin, plazma total homosistein düzeyi üzerine etkisinin MTHFR gen mutasyonundan bağımsız bir faktör olduğunu vurgulamışlardır (2).

Çalışmamızda da 1–4 saat azot protoksit anestezisi alan hastalarımızda postoperatif dönemde serum vitamin B12 düzeyinde düşme ve plazma total homosistein düzeyinde yükselme olmasına rağmen, MTHFR C677T ve A1298C gen polimorfizmlerinin postoperatif serum vitamin-B12, folik asit ve total homosistein düzeyleri üzerine anlamlı etkisi olmadığı bulunmuştur. Bununla birlikte Nagele ve ark.'nın (2) da bildirdiği gibi, uzun süre azot protoksit ile anestezi uygulanan hastalarda plazma total homosistein düzeyinde anlamlı artış bulunmaktaydı. Çalışmamızda da azot protoksit maruziyet süresi, plazma total homosistein düzeylerini MTHRF gen mutasyonundan bağımsız olarak etkileyen bir faktör olarak dikkati çekmektedir. Bununla birlikte çalışmamız ile Nagela ve ark., (2) çalışmalarında farklı sonuçların elde edilmesinin, her iki çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama anestezi sürelerinin farklılığı ve çalışmalarda biyokimyasal analiz için örnek alınma zamanlarının farklılığı ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı ise, çalışmamıza alınan olgu sayımızın yapılan testlerin yüksek maliyeti nedeniyle az olmasıdır; ki bunun çalışma sonuçlarını etkileyebilecek faktörler arasında olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

Prospektif, mendeliyen randomize ve çift kör olarak uygulanan çalışmamızda, 1–4 saat arası azot protoksit içeren genel anestezi uygulaması sonrasında:

1. Postoperatif dönemde serum vitamin B12 ve serum folik asit düzeyleri, preoperatif olarak ölçülen değerler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşmüştür.
2. Plazma homosistein düzeylerinde postoperatif dönemde artış gözlenmesine rağmen, preoperatif değerler ile karşılaştırıldığında belirlenen artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.
3. MTHRF gen polimorfizminin postoperatif plazma total homosistein, serum vitamin B12 ve serum folik asit düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.
4. Operasyon süresi 3 saati geçtiğinde postoperatif plazma total homosistein düzeyi anlamlı olarak yükselmektedir.

Sonuç olarak, 3 saatin üzerinde azot protoksit ile genel anestezi uygulanan hastalarda homosistein düzeylerinin yükselebileceği ve bu nedenle postoperatif dönemde kardiyak, nörolojik ve tromboembolik semptomlar açısından dikkatli olunması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Homberger A, Linnebank M, Winter C, Willenbring H, Marquardt T, Harms E, Koch HG. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Hum Genet* 8: 725-729, 2000.
2. Nagele P, Zeugswetter B, Wiener C, Burger H, Hupfl M, Mittlbock M, Fodinger M. Influence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms on homocysteine concentrations after nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology* 109: 36-43, 2008.
3. Shay H, Frumento FR, Bastien A. General anesthesia and methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *J Anesth* 21: 493-496, 2007.
4. Morgan G.E, Mikhail M.S, Klinik Anesteziyoloji, Klinik farmakoloji (Çev.Ed: Tolunay M) s.160-200. Güneş Kitabevi, Ankara, 2004.
5. Selzer RR, Rosenblatt DS, Laxova R, Hogan K. Adverse effect of nitrous oxide in a child with 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *N Engl J Med* 349: 45-50, 2003.
6. Weimann J. Toxicity of nitrous oxide. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 17: 47-61, 2003.
7. Kayhan Z. Klinik Anestezi, Anesteziyolojiye giriş ve tarihsel gelişim s.1-10 Logos Yayıncılık, İstanbul, 2004.
8. Korfalı G. Anesteziye Temel Konular. s. 11-25. Nobel Tıp Kitapevleri, Bursa, 2003.
9. Sprigge J.S. Sir Humphry Davy, his researches in respiratory physiology and his debt to Antoine Lavoisier. *Anaesthesia* 57: 357-364, 2002.
10. James MF. Nitrous oxide: still useful in the year 2000? *Curr Opin Anaesthesiol* 12: 461-466, 1999.
11. Eger E III, Eisenkraft JB, Weiskopf RB. The Pharmacology of Inhaled Anesthetics. ed.3.pp.1-130,2003.
12. Krajewski W, Kucharska M, Pilacik B, Fobker M, Stetkiewicz J, Nofer JR, Nofer WT. Impaired vitamin B12 metabolic status in healthcare workers occupationally exposed to nitrous oxide. *Br J Anaesth* 99: 812-818, 2007.

13. Scheinin B, Lindgren L, Scheinin TM. Peroperative nitrous oxide delays bowel function after colonic surgery. *Br J Anaesth* 64: 154-158, 1990.
14. Stowe DF, Monroe SM, Marijic J, Rooney RT, Bosnjak ZJ, Kampine JP. Effects of nitrous oxide on contractile function and metabolism of the isolated heart. *Anesthesiology* 73: 1220-1226, 1990.
15. Baum J A. Düşük Akımlı Anestezi, s. 269-280, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002
16. Rowland AS, Baird DD, Shore DL, Weinberg CR, Savitz DA, Wilcox AJ. Nitrous oxide and spontaneous abortion in female dental assistants. *Am J Epidemiol* 141: 531-538, 1995.
17. Kanmura Y, Sakai J, Yoshinaka H, Shirao K. Causes of nitrous oxide contamination in operating rooms. *Anesthesiology* 90: 693-696, 1999.
18. Logan M, Farmer JG. Anaesthesia and the ozone layer. *Br J Anaesth* 63: 645-647, 1989.
19. Kharasch ED, Karol MD, Lanni C, Sawchuk R. Clinical sevoflurane metabolism and disposition. I. Sevoflurane and metabolite pharmacokinetics. *Anesthesiology* 82: 1369-1378, 1995.
20. Morgan GE. Inhalation Anesthetics. In: *Clinical Anesthesiology*, p.p 127-151: Appleton-Lange, Los Angeles, 2002.
21. Sebel PS, Lowdon JD. Propofol: a new intravenous anesthetic. *Anesthesiology* 71: 260-277, 1989.
22. White PF. Propofol: its role in changing the practice of anesthesia. *Anesthesiology* 109: 1132-1136, 2008.
23. Collins JV. Intravenous Anesthesia, Non-barbiturates Non-narcotics Agents. In: *Principles of Anesthesiology*, Lea & Febiger, Philadelphia 1993.
24. Cullen PM, Turtle M, Roberts PC, Way WL, Dye J. Effects of propofol anesthesia on baroreflex activity in humans. *Anesth Analg* 66, 1115-1120. 1987.
25. Foex P, Sear JW. Cardiovascular effect of propofol. In: *Focus on infusion, intravenous anesthesia.*, Ed: Prys-Roberts Current Medical Literature, London 1991.
26. Skues MA, Richards MJ, Jarvis AP, Roberts PC. Preinduction atropine or glycopyrrolate and hemodynamic changes associated with induction and maintenance of anesthesia with propofol and alfentanil. *Anesth Analg* 69: 386-390, 1989.

27. Stevanovic P. Midazolam:clinical practice guidelines. *Med Pregl* 59: 89-94, 2006.
28. Stoelting R.K. Opioid Agonist And Antagonist. In: *Pharmacology & Physiology. Anesthetic Practice*, 4th edition, pp.77-111: Lippincot-Raven, Philadelphia, USA 1999.
29. Derbyshire DR., Chimelewski A, Fell D, Vater M, Achola K, Smith G. Plazma catecolamine responses to tracheal intubation. *British Journal of Anesthesia* 55, 855-859. 1993.
30. Erdine S. *Ağrı. 3. Basım*, s.581-605, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2007.
31. Sanders RD, Weimann J, Maze M. Biologic effects of nitrous oxide: a mechanistic and toxicologic review. *Anesthesiology* 109: 707-722, 2008.
32. Choi BO, Kim NK, Kim SH, Kang MS, Lee S, Ahn JY, Kim OJ, Kim S, Oh D. Homozygous C677T mutation in the MTHFR gene as an independent risk factor for multiple small-artery occlusions. *Thromb Res* 111: 39-44, 2003.
33. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den HM, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10: 111-113, 1995.
34. Li Z, Sun L, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, Zhu Z, Zhao J, Ma A, Han Y, Wang Y, Shi Y, Ye J, Hui R. Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke: a Multicenter Case-Control Study in China. *Stroke* 34: 2085-2090, 2003.
35. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Mickielewicz A, Czlonkowska A, Mendel T, Kuczynska-Zardzewialy A, Szelagowska D, Windyga J, Schroder W, Herrmann FH, Jedrzejowska H. Factor V Leiden, prothrombin gene G20210A variant, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. *Clin Appl Thromb Hemost* 7: 346-350, 2001.
36. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 28: 1739-1743, 1997.

37. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Kitamura K, Yazaki Y. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 1465-1469, 1998.
38. Lalouschek W, Aull S, Serles W, Schnider P, Mannhalter C, Pabinger-Fasching I, Deecke L and Zeiler K. C677T MTHFR mutation and factor V Leiden mutation in patients with TIA/minor stroke: a case-control study. *Thromb Res* 93: 61-69, 1999.
39. Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, Van den Heuvel LP, Blom HJ. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 62: 1044-1051, 1998.
40. Dikmen M, Ozbabalik D, Gunes HV, Degirmenci I, Bal C, Ozdemir G and Basaran A. Acute stroke in relation to homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms. *Acta Neurol Scand* 113: 307-314, 2006.
41. Koehler KM, Romero LJ, Stauber PM, Pareo-Tubbeh SL, Liang HC, Baumgartner RN, Garry PJ, Allen RH and Stabler SP. Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr* 15: 364-376, 1996.
42. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease, shortterm risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: The Rotterdam Study. *Arch. Intern. Med.* 159, 38-44. 1999.
43. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 19: 217-246, 1999.
44. Kocabalkan F, Baykal Y, Bozođlu E. Yaşlılarda kardiyovasküler risk faktörü olarak homosistein. *Geriatrici* 3: 69-73, 2000.
45. Audelin MC, Genest J. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 159: 497-511, 2001.
46. Vyhytil A, Fodinger M, Wolfl G, Enzenberger B, Auinger M, Prischl F, Buxbaum M, Wiesholzer M, Mannhalter C, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 53: 1775-1782, 1998.

47. Van der Mooren MJ, Wouters MG, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TK, Rolland R. Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* 24: 733-736, 1994.
48. Aronow WS, Ahn C. Association between plasma homocysteine and coronary artery disease in older persons. *Am J Cardiol* 80: 1216-1218, 1997.
49. Mager A, Lalezari S, Shohat T, Birnbaum Y, Adler Y, Magal N, Shohat M. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and early-onset coronary artery disease. *Circulation* 100: 2406-2410, 1999.
50. Jensen T, Borch-Johnsen K, Kofoed-Enevoldsen A, Deckert T. Coronary heart disease in young type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without diabetic nephropathy: incidence and risk factors. *Diabetologia* 30: 144-148, 1987.
51. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 73: 613-621, 2001.
52. Guinotte CL, Burns MG, Axume JA, Hata H, Urrutia TF, Alamilla A, McCabe D, Singgih A, Cogger EA, Caudill MA. Methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T variant modulates folate status response to controlled folate intakes in young women. *J Nutr* 133: 1272-1280, 2003.
53. Chao CL, Tsai HH, Lee CM, Hsu SM, Kao JT, Chien KL, Sung FC, Lee YT. The graded effect of hyperhomocysteinemia on the severity and extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 147: 379-386, 1999.
54. Yilmaz H, Isbir S, Agachan B, Ergen A, Farsak B, Isbir T. C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in Turkish patients with coronary artery disease. *Cell Biochem Funct* 24: 87-90, 2006.
55. Temel İ, Özerol E. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Ün Tıp Fak Derg* 9, 149-157. 2002.
56. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 274: 1526-1533, 1995.
57. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 16: 434-444, 1993.

58. McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives. *Clin Chem Lab Med* 43: 980-986, 2005.
59. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 131: 363-375, 1999.
60. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 338: 1042-1050, 1998.
61. Refsum H, Ueland PM. Recent data are not in conflict with homocysteine as a cardiovascular risk factor. *Curr Opin Lipidol* 9: 533-539, 1998.
62. Schneider DJ, Sobel BE. Diabetes and Thrombosis, Diabetes and Cardiovascular Disease *N J Humana Press* 149-167, 2001.
63. Aksoy M. Beslenme Biyokimyası, 9.Basım, s.120-150 Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2000,
64. Duffy RL. Amerikan diyetisyenler derneğinin geliştirilmiş besin ve beslenme rehberi. (Çev Ed:Yücecan S, Pekcan G, Besler T, Nursal B) Acar matbaacılık, İstanbul, 2003
65. Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, Davignon J, Latour Y, Genest J, Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, pyridoxal phosphate, and folate. *Am J Cardiol* 75: 1107-1111, 1995.
66. Hauner H. Insulin resistance and the metabolic syndrome-a challenge of the new millennium. *Eur J Clin Nutr* 56 Suppl 1: S25-S29, 2002.
67. Kaplan N.M. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 149: 1514-1520, 1989.
68. Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 73: 673-686, 2001.
69. Koloğlu S. Endokrinoloji. "Temel ve Klinik".1.Basım s387-482 Medikal Network ve Nobel, Ankara, 1996.
70. Sucu, M., Karadere A.A. Homosistein ve kardiyovasküler hastalıklar. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi* 29839, 181-190. 2001.
71. Ünlü A, Özkan M. Koroner arter hastalığında homosistein ve lipid seviyeleri arasındaki ilişki. *Mersin Ün.Tıp Fak Derg* 3, 7-11. 2002.

72. Wollesen F, Brattstrom L, Refsum H, Ueland PM, Berglund L, Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *Kidney Int* 55: 1028-1035, 1999.
73. Goyette P, Rozen R. The thermolabile variant 677C-->T can further reduce activity when expressed in cis with severe mutations for human methylenetetrahydrofolate reductase. *Hum Mutat* 16: 132-138, 2000.
74. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 72: 765-774, 1999.
75. Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet* 67: 986-990, 2000.
76. Refsum H, Nurk E, Smith AD, Ueland PM, Gjesdal CG, Bjelland I, Tverdal A, Tell GS, Nygard O, Vollset SE. The Hordaland Homocysteine Study: a community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *J Nutr* 136: 1731S-1740S, 2006.
77. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 64: 169-172, 1998.
78. Akar N, Akar E, Akcay R, Avcu F, Yalcin A, Cin S. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T, 1298 A-C, and 1317 T-C on factor V 1691 mutation in Turkish deep vein thrombosis patients. *Thromb Res* 97: 163-167, 2000.
79. Dolek B, Eraslan S, Eroglu S, Kesim BE, Ulutin T, Yalciner A, Laleli YR, Gozukirmizi N. Molecular analysis of factor V Leiden, factor V Hong Kong, factor II G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, and A1298C mutations related to Turkish thrombosis patients. *Clin Appl Thromb Hemost* 13: 435-438, 2007.
80. Orlin FK TSJ. Scope of modern anesthetic practice. In: Miller RD, ed. *Anesthesia*, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000.
81. Hancı V, Yurtlu BS, Ayoğlu H, Okyay RD, Erdoğan G, Abduşoğlu MN, Sayın E, Turan IO. Anestezi çalışmalarının düşük akım anestezi uygulamalarına ilişkin bilgi, tutum ve davranışları. *Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi Bildiriler Kitabı*, (Ek Sayı:1) 29 Ekim-01 Kasım (36):s.30, Antalya 2008.

82. Chiang PK, Gordon RK, Tal J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradhi K, McCann PP. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J* 10: 471-480, 1996.
83. Amos RJ, Amess JA, Hinds CJ, Mollin DL. Incidence and pathogenesis of acute megaloblastic bone-marrow change in patients receiving intensive care. *Lancet* 2: 835-838, 1982.
84. Cohen AF, Sedel F, Vicart S, Lyon-Caen O, Fontaine B. Nitric-oxide triggered neurological disorders in subjects with vitamin B12 deficiency. *Rev Neurol Paris* 163: 362-364, 2007.
85. Felmet K, Robins B, Tilford D, Hayflick SJ. Acute neurologic decompensation in an infant with cobalamin deficiency exposed to nitrous oxide. *J Pediatr* 137: 427-428, 2000.
86. McNeely JK, Buczulinski B, Rosner DR. Severe neurological impairment in an infant after nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology* 93: 1549-1550, 2000.
87. Krajewski W, Kucharska M, Pilacik B, Fobker M, Stetkiewicz J, Nofer JR, Wronska-Nofer T. Impaired vitamin B12 metabolic status in healthcare workers occupationally exposed to nitrous oxide. *Br J Anaesth* 99: 812-818, 2007.
88. El Otmania H, El Moutawakil B, Moutaouakil F, Gam I, Rafai MA, Slassi I. Postoperative dementia: toxicity of nitrous oxide. *Encephale* 33: 95-97, 2007.
89. Royston BD, Nunn JF, Weinbren HK, Royston D, Cormack RS. Rate of inactivation of human and rodent hepatic methionine synthase by nitrous oxide. *Anesthesiology* 68: 213-216, 1988.
90. Deacon R, Lumb M, Perry J, Chanarin I, Minty B, Halsey M, Nunn J. Inactivation of methionine synthase by nitrous oxide. *Eur J Biochem* 104: 419-423, 1980.
91. Koblin DD, Watson JE, Deady JE, Stokstad EL, Eger EI. Inactivation of methionine synthetase by nitrous oxide in mice. *Anesthesiology* 54: 318-324, 1981.
92. Kondo H, Osborne ML, Kolhouse JF, Binder MJ, Podell ER, Utley CS, Abrams RS, Allen RH. Nitrous oxide has multiple deleterious effects on cobalamin metabolism and causes decreases in activities of both mammalian cobalamin-dependent enzymes in rats. *J Clin Invest* 67: 1270-1283, 1981.

93. Molloy AM, Orsi B, Kennedy DG, Kennedy S, Weir DG, Scott JM. The relationship between the activity of methionine synthase and the ratio of S-adenosylmethionine to S-adenosylhomocysteine in the brain and other tissues of the pig. *Biochem Pharmacol* 44: 1349-1355, 1992.
94. Riedel B, Fiskerstrand T, Refsum H, Ueland PM. Co-ordinate variations in methylmalonyl-CoA mutase and methionine synthase, and the cobalamin cofactors in human glioma cells during nitrous oxide exposure and the subsequent recovery phase. *Biochem J* 341 (1): 133-138, 1999.
95. Badner NH, Beattie WS, Freeman D, Spence JD. Nitrous oxide-induced increased homocysteine concentrations are associated with increased postoperative myocardial ischemia in patients undergoing carotid endarterectomy. *Anesth Analg* 91: 1073-1079, 2000.
96. Badner NH, Freeman D, Spence JD. Preoperative oral B vitamins prevent nitrous oxide-induced postoperative plasma homocysteine increases. *Anesth Analg* 93: 1507-1510, 2001.
97. Lacassie HJ, Nazar C, Yonish B, Sandoval P, Muir HA, Mellado P. Reversible nitrous oxide myelopathy and a polymorphism in the gene encoding 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Br J Anaesth* 96: 222-225, 2006.
98. Myles PS, Chan MT, Kaye DM, McIlroy DR, Lau CW, Symons JA, Chen S. Effect of nitrous oxide anesthesia on plasma homocysteine and endothelial function. *Anesthesiology* 109: 657-663, 2008.
99. Frasca V, Riazzi BS, Matthews RG. In vitro inactivation of methionine synthase by nitrous oxide. *J Biol Chem* 261: 15823-15826, 1986.
100. Keating HJ, Kundrat M. Patient-controlled analgesia with nitrous oxide in cancer pain. *J Pain Symptom Manage* 11: 126-130, 1996.
101. Krauss B. Continuous-flow nitrous oxide: searching for the ideal procedural anxiolytic for toddlers. *Ann Emerg Med* 37: 61-62, 2001.
102. Luhmann JD, Kennedy RM, Porter FL, Miller JP, Jaffe DM. A randomized clinical trial of continuous-flow nitrous oxide and midazolam for sedation of young children during laceration repair. *Ann Emerg Med* 37: 20-27, 2001.



T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 19.06.2008
TOPLANTI NO : 2008/09

KARARLAR :

6- Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığının "Metiltetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Gen Mutasyonunda Azot Protoksit, B12 Vitamini ve Homosistein Üzerine Etkisi" konulu başvurusunun Etik Kurallara uygun olduğuna,

Oy Birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Emine Y. Sipahi
Doç.Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ
Hastane Etik Kurulu Başkanı