

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA KARBON MONOKSİT
ZEHİRLENMESİNDE KAFEİK ASİT
FENİL ESTER' İN ANTİOKSİDAN
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alev Karaca

SAMSUN – 2011

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA KARBON MONOKSİT
ZEHİRLENMESİNDE KAFEİK ASİT
FENİL ESTER' İN ANTİOKSİDAN
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alev Karaca

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Türker YARDAN

SAMSUN – 2011

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince ve tez çalışmalarımda büyük ilgi ve desteğini gördüğüm tez hocam Yrd.Doç.Dr. Türker Yardan'a içtenlikle teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde büyük emeği geçen değerli hocalarım Doç.Dr. Ahmet Baydın'a, Doç.Dr. Yücel Yavuz'a, Yrd.Doç.Dr. Latif Duran'a ve Yrd.Doç.Dr Celal Katı'ya, tezimin hazırlanmasında ki katkılarından dolayı Fizyoloji A.D'dan Doç.Dr. Ayhan Bozkurt'a, Farmakoloji A.D.'dan Yrd.Doç.Dr. Sırrı Bilge'ye, Biyokimya A.D.'dan Prof.Dr. Abdulkerim Bedir'e ve Halk Sağlığı A.D.'dan Doç.Dr. Tevfik Sünter'e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma ve her konuda yanımda olduklarını hissettiren çok değerli aileme de sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum. Bu proje "Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir (PYO.TIP.1904.09.041)."

Dr. Alev Karaca

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2-28
2.1. Karbon monoksit zehirlenmesi	2
2.2. Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri	15
2.3. Enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemler	20
2.4. Propolis ve Kafeik asit fenil ester	24
3. MATERYAL VE METOD	28
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇLAR	43
7. KAYNAKLAR	44

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Karboksihemoglobin seviyesine göre belirti ve bulgular	6
Tablo 2. Karbon monoksit zehirlenmesinde etkilenen sistemlerdeki belirti ve bulgular	10
Tablo 3. Plazmada ölçülen MDA ve glutatyon düzeyleri	33
Tablo 4. Beyin dokusunda ölçülen MDA ve glutatyon düzeyleri	34
Tablo 5. Kalp dokusunda ölçülen MDA ve glutatyon düzeyleri	35
Tablo 6. Grupların pasif sakınma test sonuçlarının karşılaştırılması	35
Tablo 7. Grupların lokomotor aktivite sonuçları	36

ŞEKİL LİSTESİ

	SayfaNo
Şekil 1. Glutasyonun okside ve redükte formları arasında dönüşümü	22
Şekil 2. Kafeik asit fenil esterin moleküler yapısı	25
Şekil 3. Pasif sakınma cihazı	30
Şekil 4. Lokomotor aktivite cihazı	31
Şekil 5. Plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması	33
Şekil 6. Beyin dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması	34
Şekil 7. Pasif sakınma testlerinin karşılaştırılması	36

ÖZET

Amaç: Karbon monoksit (CO) zehirlenmesi farklı dokularda hipoksi ve oksidatif hasara yol açar. Kafeik asit fenil esterinin (CAPE) antioksidan özelliğe sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda oluşturulan CO zehirlenmesinde CAPE'nin antioksidan etkinliğini incelemektir.

Materyal ve Metod: Çalışmaya 40 adet Sprague – Dawley cinsi erkek sıçan alındı. Her grupta 8 sıçan olacak şekilde sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Bu gruplar kontrol, CO, CAPE 5, CAPE 10 ve CAPE 20 idi. Sıçanlara kontrol grubu hariç, 3000 ppm CO ve hava karışımı 30 dakika uygulandı. Kontrol grubu ve CO grubuna 5 gün boyunca 2ml serum fizyolojik, diğer gruplara sırasıyla 5, 10 ve 20 µmol/kg dozunda CAPE intraperitoneal olarak verildi. Deneyin 5. günü pasif sakınma testi ve lökomotor aktivite testi uygulandıktan sonra sıçanların yaşamlarına son verildi. Plazma, beyin ve kalp dokularından malondialdehit (MDA) ve glutatyon düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Sıçanların plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; CAPE 10 ve CAPE 20 gruplarında CO grubundan daha düşüktü ($p<0.01$). CO grubunun beyin MDA seviyeleri kontrol ve diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti ($p<0.01$). Gruplar arasında; plazma, beyin ve kalp dokusu glutatyon düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.01$). Pasif sakınma testi sonuçları CO grubunda kontrol grubundan daha düşük iken ($p<0.01$), CAPE 5 ve CAPE 10 gruplarında CO grubundan daha yüksekti ($p<0.01$). Gruplar arasında lökomotor aktivite test sonuçları açısından anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.01$).

Sonuç: CAPE tedavisi CO zehirlenmesinde gelişen lipid peroksidasyon aktivite artışını engellemektedir. Ayrıca CAPE, CO zehirlenmesinde gelişen öğrenme ve hafıza bozukluğu üzerine olumlu etkilere sahiptir.

Anahtar kelimeler: Karbon monoksit, zehirlenme, kafeik asit fenil ester, antioksidan aktivite

ABSTRACT

Objective: Carbon monoxide (CO) intoxication leads hypoxia and oxidative damage in various tissues. There are many studies asserted that caffeic acid phenethyl ester (CAPE) has antioxidant effects. The aim of the study is to evaluate the antioxidant effect of CAPE in carbon monoxide poisoning in rats.

Material and Metod: Fourty Sprague-Dawley male rats were included in the study. The rats were divided into 5 groups, existing 8 rats in each group. These groups were control, CO, CAPE 5, CAPE 10 and CAPE 20. The rats, excluding control group, were exposed to a mixture of 3000 parts per million (ppm) CO in airs for 30 minutes. The 2 ml serum physiologic has been administered intraperitoneally (i.p.) to control and CO group. In addition, 5, 10, 20 $\mu\text{mol /kg}$ CAPE was given i.p. to the other groups respectively for 5 days. Rats were sacrificed after performing of passive avoidance and locomotor activity tests in fifth day of the experiment. Malondialdehit (MDA) and glutathione levels were measured in plasma, brain and heart tissues.

Results: Comparing the plasma MDA levels in rats; it was lower in CAPE 10 and CAPE 20 groups than CO group ($p<0.01$). The brain MDA levels of CO group were significantly higher than the control and other groups ($p<0.01$). There was no significant difference between the groups in respect to glutathione levels in plasma, brain and heart tissues ($p>0.01$). While results of passive avoidance test were lower in CO group than control group, it was higher in CAPE 5 and CAPE 10 groups than CO group ($p>0.01$). The locomotor activity test results showed no significant difference between the groups ($p>0.01$).

Conclusion: CAPE treatment prevents the increases of lipid peroxidation activity in CO poisoning. Additionally, CAPE has positive effects on learning and memory impairment developed after CO intoxication.

Key words: Carbon monoxide, poisoning, caffeic acid phenethyl ester, antioxidant activity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karbon monoksit (CO) kokusuz, renksiz, tatsız, iritan özelliği olmayan bir gazdır. CO zehirlenmesi günlük hayatta en sık karşılaşılan zehirlenmelerden biri olup, ölümle sonuçlanan zehirlenmeler içerisinde ilk sıralarda yer almaktadır (1). Ülkemizde ölüme neden olan zehirlenmeler içerisinde insektisitlerden sonra ikinci sırada CO zehirlenmeleri gelmektedir (2).

Karbon monoksit toksik etkilerini birçok mekanizma ile gösterebilir. Bunlardan en önemlisi oluşturduğu doku hipoksisidir (3). Bu etkiyi hemoglobin, myoglobin gibi solunum pigmentleri ve oksidatif işlemlerde yer alan enzimlerle bağ oluşturarak yapar. CO hemoglobine bağlanarak karboksihemoglobin (COHb) kompleksini oluşturur. Bu kompleks birçok organ sisteminde hipoksiye neden olarak zehirlenmenin derecesine göre nonspesifik bulgulardan komaya kadar değişen klinik sonuçlara neden olur (4). CO zehirlenmesinde en fazla etkilenen sistemler santral sinir sistemi (SSS) ve kardiovasküler sistemdir. Mortalite büyük oranda bu iki sistemin etkilenmesi ile ilişkilidir. CO zehirlenmesinde hipoksiye eşlik eden inflamasyon ve oksidasyon da diğer zehirlenme mekanizmalarındandır (5,6).

Kafeik asit fenil ester (CAPE), bal arısının ürettiği yapıcı flavinodilere benzeyen immunomodülatör ve ümmünostimulatör etkisi olan propolis maddesinin aktif bir bileşenidir. CAPE, mikromolar konsantrasyonlarda linoloik asit ve araşidonik asitin 5-lipoksijenaz tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder (7). İnvitro koşullarda, 10 µmol/L konsantrasyonda nötrofiller veya ksantin/ksantinoksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen bloke etmektedir. CAPE' nin antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immunomodülatör, nöroprotektif ve sitostatik özellikleri mevcuttur (8).

Literatürde farklı çalışmalarda CAPE'nin antioksidan aktivitesi gösterilmiştir. Ancak CO zehirlenmesinde CAPE'nin antioksidan etkinliğini inceleyen çalışma mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı; sıçanlarda CO zehirlenmesinde CAPE'nin antioksidan etkinliğinin yanı sıra, hafıza ve öğrenme üzerine olan olası etkilerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

Karbon monoksit, hidrokarbon içeren yakıtların tam yanmamasından kaynaklanan kokusuz, renksiz bir gazdır. Bu özelliği nedeniyle dünyada “sessiz ölüm”, “görünmez katil”, “sessiz katil” gibi isimlerle anılmaktadır. CO’nun atmosferdeki yoğunluğu yok sayılacak derecede düşüktür. Canlı organizmada biokimyasal süreçlerin bir parçası olarak düşük miktarlarda (%1-3) CO üretilmektedir. Sigara içenlerde bu oran %15’ e kadar çıkabilir. Ayrıca başta sobalar, mangallar olmak üzere araba egzozları CO üretimine neden olmaktadır (9-11).

2.1.KARBON MONOKSİT ZEHİRLENMESİ

2.1.1.TARİHÇE

İlk kez 1857 yılında Claude Bernard, CO’ya bağlı doku hipoksisinin toksik etkilerini tanımlamıştır. 1865 yılında Klebs, CO’e maruz kalan sıçanlarda klinik ve patolojik bulguları tanımlamıştır. 1895 yılında Haldane CO toksisitesinin mekanizmasını ortaya koymuştur (12). Pineas tarafından 1924 yılında globus pallidusda klasik bilateral lezyonlar ve diffuz subkortikal demiyelinizasyon tanımlanmıştır ve Grinker tarafından 1925 yılında parkinsonizm ile ilişkilendirilmiştir. 1976 yılında Goldbaum ve arkadaşları Haldane’nin toksisite-hipoksi teorisini destekler şekilde, köpekler üzerinde yaptıkları bir deneyle CO toksisitesinin hücresel düzeyde olduğunu saptamışlardır (12).

2.1.2. EPİDEMİYOLOJİ

Karbon monoksit zehirlenmesi, tüm dünyada ölüme ve hasara neden olan başlıca zehirlenme nedenlerinden biri olarak sayılmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yılda yaklaşık olarak 40.000 kişi CO zehirlenmesi nedeniyle acil servislere başvurmakta ve her yıl 5000-6000 kişi bu nedenle yaşamını kaybetmektedir. CO zehirlenmeleri tüm dünyadaki ölümcül zehirlenmelerin yarısından fazlasından sorumlu tutulmaktadır (5). CO zehirlenmelerinin mortalite oranı %1-31 olarak rapor edilmekle birlikte gerçek insidansı tam olarak bilinmemektedir. Bu zehirlenmeye bağlı olarak %11 oranında hastada kalıcı nörolojik defisit ve % 3 oranında hafıza kaybı, davranış değişikliği gibi nöropsikiyatrik durumlar gelişmektedir (13).

Karbon monoksit zehirlenmeleri özellikle soğuk iklimlerde, kış aylarında, 65 yaşın üzerindeki erkek hastalarda ve beraberinde etanol alımı olan kişilerde daha sık

görülmektedir. Bu zehirlenmelerde koroner kalp hastalığı olanlar, anemik kişiler, hamileler, yeni doğanlar ve fetüs etkilenme açısından daha fazla risk taşımaktadır (14).

2.1.3. KARBON MONOKSİT KAYNAKLARI

Karbon monoksit zehirlenmelerine neden olan farklı CO kaynakları mevcuttur. Bu kaynakların zehirlenmelere neden olma oranı ülkelere göre farklılık gösterebilir. ABD ' de egzoz dumanı en sık nedenlerden biridir.

Sık görülen CO kaynakları şunlardır (9,11):

1. Araçların egzoz dumanları: genellikle yoğun trafikte, uzun ve trafik akışının yavaş olduğu tünellerde veya kapalı garajlarda uzun süre otomobil çalıştırılmasına bağlı akut zehirlenme görülmektedir.
2. Soba ve fırınlar: sobalar ülkemizde CO zehirlenmelerinin en sık nedenlerindendir.
3. Şofbenler: sobalarla birlikte sık nedenlerden birisidir.
4. Metilen klorür içeren boya çıkarıcılar.
5. Havuz veya hamam ısıtıcıları.
6. Yangınlar: özellikle yangın bölgesinde bulunanlar ve itfaiyeciler CO'ya maruz kalırlar.
7. Tam yanmamış yakıtlar
8. Sigara dumanı

2.1.4. PATOFİZYOLOJİ

Karbon monoksit zehirlenmesinin toksik etkilerinin temelini; CO' nun hemoglobin, miyoglobin gibi solunum pigmentleri ve sitokrom oksidaz, nitrik oksit sentaz gibi enzimler ile bağ yapması oluşturur (3,15). CO solunduktan sonra alveolo-kapiller membranı diffüzyonla geçer ve oksijene göre 230- 270 kat afinite ile hemoglobine bağlanır. CO'nun, hemoglobin üzerindeki demir molekülü ile yaptığı bu bağ geri dönüşümlüdür.

Karbon monoksit, oksijen molekülünün hemoglobine bağlanmasını engellemesinin yanı sıra, bağlı olan oksijen moleküllerinin periferik dolaşımda hemoglobinden ayrılıp dokulara geçişini de güçleştirir. Böylece oksihemoglobin disosiasyon eğrisi sola kayar ve metabolik olarak aktif olan dokulara oksijen bırakılması

zorlaşır. Azalmış oksijen seviyesi santral sinir sistemi tarafından algılanır ve daha fazla ventilasyon yapılır. Bu durum daha fazla CO alımı ve respiratuar alkalozu yol açar (6,16). Maruziyet sürerse doku düzeyinde hipoksi ve buna bağlı olarak da hücrel hasar gelişir. Hem azalmış oksijen taşınması hem de oksijenin bırakılamaması nedeni ile hastada ani bir ‘kimyasal anemi’ ortaya çıkar (3,15,17). CO’ nun absorbe olduktan sonra yaklaşık %10-15’i ekstrasvasküler proteinlere bağlanır ve bu yolla direkt hücrel toksisite oluşturur. Toksik etkilerini özellikle miyoglobine, sitokromlara ve guanilat siklaza bağlanarak gösterir. Miyoglobin, oksijeni kapillerlerden kırmızı kaslardaki mitokondriye taşır. CO’nun miyoglobine bağlanma affinitesi oksijene göre yaklaşık 40 kat daha fazladır. CO aynı zamanda kardiyak miyoglobine, iskelet kası miyoglobininin 3 kat fazla bağlanır. Karboksimiyoglobin (COMb) kompleksinin oluşması da sola kaymış bir oksijen disosiyasyonuna neden olmaktadır (16). Bunun sonucunda kaslarda oksijen kullanımı bozulur. Kalp gibi yüksek miktarda oksijen kullanan kaslarda CO’ nun belirgin bir şekilde miyoglobine bağlanması, aerobik metabolizma için gerekli olan oksijeni dolayısıyla miyokardiyal kontraktileti ve kardiyak debiyi azaltır. Bu durum hipoksi nedeniyle kardiyak disfonksiyona, iskemiye, aritmiye ve hipotansiyona neden olur. Ayrıca direkt iskelet kası toksisitesi ve rabdomiyoliz gelişebilir (5).

Karbon monoksitin sitokrom oksidaz, guanilat siklaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimlerin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (15). Oksidatif metabolizmada görev alan bu proteinlerin işlevleri, oksihemoglobin disosiasyonunun zorlaşması ile yavaşlar. Böylece CO zehirlenmesinin ilk birkaç saatinde elektron transport zincirinin fonksiyonu da azalır ve oksidatif fosforilasyon yapılamayıp mitokondride serbest oksijen radikalleri oluşmaya başlar (15,17).

CO zehirlenmesinin temelindeki diğer bir mekanizma da CO’ nun plateletlerden serbest radikaller ve nitrik oksit (NO) salınmasına neden olması ile ortaya çıkan mitokondriyal disfonksiyondur. NO ve peroksinitrit gibi NO derivelerinin hem grubu içeren proteinlere yüksek afinitesi vardır. Peroksinitrit, mitokondriyal enzimleri inaktif hale getirir ve elektron transportunu engeller (3,15,17).

Karbon monoksit, guanilat siklazı aktive ederek cAMP artışına neden olur. Bu şekilde vasküler düz kaslarda relaksasyon meydana getirir ve plateletlerdeki NO’yu aktive eder. Sonuç olarak da vazodilatasyon ve hipotansiyon ortaya çıkar. Ayrıca

yüksek konsantrasyonda CO' ya maruz kalma sonucunda gelişen bradikardi ve kalp debisindeki düşme sistemik hipotansiyona neden olur. Sonuç olarak serebral kan akımı azalır ve hipoperfüzyona bağlı olarak nörolojik sekeller ortaya çıkar (15).

Karbon monoksitin oluşturduğu iskemik hasar ile birlikte hipoperfüzyon da meydana gelir. Lökositler reperfüzyon gerçekleşinceye kadar endotel yüzeyine yapışırlar. Reperfüzyon gerçekleştiğinde ise bu lökositlerden salınan serbest oksijen radikalleri, hücre zarında lipid peroksidasyonuna neden olarak reperfüzyon hasarı oluşturur. Hipoksik stres ve çok daha fazla hücrenin içine CO' in girmesi sonucu nekrotik ve apoptotik tipte hücre ölümü gerçekleşir (3,5). Karbon monoksit nedeniyle meydana gelen süperoksit oluşumu lipid peroksidasyonuna ve nörolojik hasara neden olur. CO zehirlenmesinin neden olduğu nörolojik bulguların beyin lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (18).

Karbon monoksit toksisitesinin bir diğer mekanizması ise glutamat ile ilişkili nöronal hasar oluşumu (eksitotoksosite), aterogenezin artması ve apoptozdur (17). Eksitator bir aminoasit olan glutamat, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini bloke eder. Glutamatın yarattığı nörotoksitenin mekanizması, hücre içine aşırı kalsiyum alımı, kalsiyum- kalmodulin bağımlı sitozolik NO sentetaz aktivasyonu ve lipid peroksidasyonunu içerir. Glutamat ayrıca NMDA reseptörü içermeyen hücrelerde sisteinle yarışıp glutatyon sentezini inhibe ederek hasara neden olabilmektedir (19).

2.1.5. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Yüksek metabolik hızlarından ötürü beyin ve kalp gibi yüksek oksijene gereksinim duyan organlar, CO zehirlenmesine daha duyarlıdır. Klinik belirti ve bulgular genellikle nonspesifik olup birçok hastalığı taklit edebilir. Zehirlenme belirtileri grip benzeri semptomlardan koma ve ölüme kadar değişkenlik gösterir. Yorgunluk, sıkıntı, halsizlik, bulantı, düşünme zorluğu, baş dönmesi, ruhsal labilite, parestezi, güçsüzlük, kusma, letarji, somnolans, stroke, koma, nöbet, respiratuar arrest gibi bulgular görülebilir (20). Hastalar genellikle sellüler hipoksiyi kompanse etmeye çalışan takipne ve taşikardi ile karşımıza çıkmaktadırlar. Bu durum, hastalığın nonspesifik viral hastalık veya viral gastroenterit ya da besin zehirlenmesi ile karıştırılmasına neden olmaktadır (21).

Aynı maruziyet koşulları olmasına rağmen bireyler CO zehirlenmesinin farklı semptomları ile karşımıza çıkabilirler. %10'un altında COHb düzeyinde çoğu hasta asemptomatiktir. COHb konsantrasyonu %20'nin altında ise genellikle bulantı, baş ağrısı ve hafif dispneye yol açarken, %20–40 arası değerlerde kusma, değerlendirme güçlüğü ve görme bozukluğu görülmektedir. %40'ın üzerindeki değerlerde ise ataksi, konfüzyon, senkop, koma ve takipne ortaya çıkmaktadır. COHb düzeyleri prognostik olmayıp, oldukça düşük CO düzeylerinde bile ölümler bildirilmiştir (20).

Tablo 1. Karboksihemoglobin seviyesine göre belirti ve bulgular (22)

COHb düzeyi	Belirti ve Bulgular
% 0-10	Yok
% 10-20	Hafif baş ağrısı, cilt damarlarında genişleme
% 20-30	Baş ağrısı, şakakta zonklayıcı ağrı
% 30-40	Şiddetli baş ağrısı, güçsüzlük, bulantı, kusma, bulanık görme, baş dönmesi, kollaps, kırmızı vişne rengi deri ve dudaklar
% 40-50	Diğerlerine ek olarak nabız ve solunum artışı
% 50-60	Taşikardi, takipne, Cheyne-Stokes solunumu, koma, konvülsiyon
% 60-70	Koma, konvülsiyon, kardiyak ve solunum depresyonu, muhtemel ölüm
% 70-80	Zayıf nabız, deprese solunum, solunum yetmezliği ve ölüm

Kardiyovasküler Sistem Etkileri

Akut CO maruziyetinden sonra sistemik hipoksi ve kardiyak disfonksiyona kompanseuar cevap olarak taşikardi sık görülür. Ancak bazen bradikardi de görülebilir. Myokardiyal iskemi ve nekrozun sonucu olan göğüs ağrısı, koroner arter hastalığı olan ve olmayan her iki hasta grubunda da tarif edilmiştir. Düşük seviyelerdeki COHb düzeyleri, koroner arter hastalarında egzersizle myokardiyal iskemiye arttırmaktadır. Ayrıca nefes darlığı ve hipotansiyon görülebilir. Dispne ve göğüs ağrısı EKG değişikliği ile sıklıkla ilişkilidir (23).

Bu zehirlenmede oksijen dokulara daha az sunulduğu için myokardiyal hipoksiye neden olabilir. Ancak myokardiyal mitokondri üzerindeki direk toksik etki

daha önemli bir sonuçtur (24). CO, kalp kasındaki miyoglobine bağlandığı zaman mitokondrideki oksijen transportuna ve sonuç olarak respiratuar fonksiyona zarar verir ve en önemlisi myokardiyal disfonksiyona neden olur (25).

Myokard, aerobik metabolizmaya sahip olan ve oksijensizliğe yüksek derecede hassas bir dokudur. Myokarda kan sunumu ile miyokardın oksijen ihtiyacı arasında bir dengesizlik olduğunda myokardiyal iskemi oluşur. İskemi önemli derecede ciddi ve uzun süreli olduğunda myokardiyal nekroz gelişebilir. Myokardiyal iskemi anjina pectoris şeklinde gelişebileceği gibi EKG’de ST segment değişiklikleri şeklinde ağrısız olarak sessiz iskemi şeklinde de olabilir (26). CO zehirlenmesinde koroner arter hastalığı olanlarda anjina pectoris ve miyokart enfarktüsü tetiklenebilir. Geçici sağ ve/veya sol ventrikül duvar hareket bozuklukları mevcut olabilir (24). Myokardiyal depresyon veya vazodilatasyona ikincil olarak hipotansiyonda gözlenebilir (26). Ciddi vakalarda akut myokard enfarktüsü, pulmoner ödem ve kardiyojenik şok gibi yaşamı tehdit eden sendromlar tarif edilmiştir. Ayrıca ölümcül vakalarda papiller kasları içeren perikardium ve endokardiyum içerisine uzanan diffüz ve noktasal hemorajiler tanımlanmıştır (23).

Santral Sinir Sistemi Etkileri

Karbon monoksit zehirlenmelerinde yaygın olarak görülen akut nörolojik belirti ve bulgular arasında baş ağrısı, baş dönmesi, ataksi, dezoryantasyon, düşünce bulanıklığı, senkop, konfüzyon, epileptik nöbet ve koma sayılabilir (18).

Beyinde serebral korteks (pramidal CA1 hücreleri), beyaz cevher, basal ganglionlar ve serebellumun purkinje hücreleri hipoksiye duyarlı olan alanlardır (13). Bu bölgelerin etkilenmesine bağlı olarak değişen derecelerde bilateral nekroz, beyaz cevherde fokal nekrotik bölgeler, demyelinizasyon alanları, dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu gelişebilmektedir. Ayrıca hipoksi, serebral ödeme yol açarak kafa içi basıncını arttırabilmektedir. Bunun sonucu olarak da yaygın baş ağrısı, nöbet ve koma tablosu gelişebilmektedir (27). Bazal ganglioların tutulması sonucu kısa adım yürümesi, maske yüz, parkinsonizm, korea, atetoz, ballizm, distoni ve tremor görülebilir. Kortikal lezyonlar oluşmuşsa görme alanı defektleri gelişebilir. Bu defektler genellikle hasta komadan uyandıktan sonra fark edilir (28).

Solunum Sistemi Etkileri

Hipoksi, direkt toksik etki, sol ventrikül yetmezliği veya beyin hasarına bağlı olarak akciğer hasarı gelişebilir (28,29). Hafif olgularda kompensasyon için takipne ve respiratuvar alkaloz görülebilir. CO'ya uzun süre maruz kalındığı takdirde hipoksiye sekonder artan laktik asite bağlı metabolik asidoz gelişebilir (3,5). Solunum sisteminde en sık rastlanan klinik olay pnömonidir. Pulmoner ödem ikinci sırada yer alır. Nadiren de olsa Adult Respiratory Distress Sendromu (ARDS)' da gelişebilmektedir (28,29).

Genitoüriner Sistem Etkileri

Karbonmonoksit zehirlenmesinde gelişen böbrek yetmezliği; hipoksi, hipotansiyon veya rabdomiyolize sekonder miyoglobinüri ile ilişkili bir komplikasyondur. Ayrıca glikozüri, proteinüri, hematüri ve miyoglobinüri de görülebilir (5). Bu zehirlenmede ayrıca testislerin ağırlığında ve spermelerin sayısında azalma, gonadotropik hormonların sekresyonunda artma, dismenore, amenore, menoraji, noktüri, dizüri, pollaküri, idrar inkontinansı ve libido azalması görülebilmektedir (28).

Gastrointestinal Sistem Etkileri

Karbon monoksit maruziyeti sonrası gastrointestinal motilitenin bozulması nedeniyle sindirim bozukluğu ve bulantı sık görülür. Kanama ve gastrik ülser çok nadiren gelişir. Vakaların yarısında serum Aspartat Aminotransferaz (AST) ve Alanin Aminotransferaz (ALT) düzeyleri artmakta ve nadirde olsa hepatomegali görülebilmektedir (28).

Hematopoetik Sistem Etkileri

Zehirlenmeden sonra ki ilk günlerde hipoksiye bağlı olarak nötrofil hâkimiyetinin fazla olduğu bir lökositoz görülür. Trombosit düzeyleri ilk günlerde artarken daha sonra normal seviyelerine inebilmektedir (28,29). Ayrıca CO ' e maruz kalan erkeklerde polistemi ve hemolitik anemi gelişebilir (30).

Muskulokutanöz Sistem Üzerine Etkileri

Vazodilatasyona bağlı olarak deri kiraz rengini alır (27). Ancak kiraz kırmızısı dudak, siyanoz ve retinal hemoraji triadı, klasik bilgi olmasının dışında sık rastlanan bulgular değildir (21).

Etkilenen iskelet kasları ağırlıdır. Özellikle alt ekstremitelerde meydana gelen iskelet kası nekrozu böbreklerde akut tübüler nekroza yol açabilir. Direkt hücresel yıkım ile konvülziyon veya ajitasyona bağlı rabdomiyoliz ortaya çıkabilir. Kas hücre yıkımı ile kalsiyum ve hücre komponentleri (kreatin kinaz, miyogloblin, potasyum) kana karışır. Bu maddelerin serum seviyeleri artar (5). Buna ek olarak CO zehirlenmesi sonrasında Volkmann's kontraktürü ve osteomyelit de kas nekrozunun komplikasyonu olarak gelişebilmektedir (28).

Fetüs Üzerine Etkileri

Fetusun CO zehirlenmesi, anneninkinden daha farklıdır. Plesanta fetal zehirlenmeyi geciktirdiği gibi detoksifikasyonunda geciktirmektedir. Fetal hemoglobin, CO' e karşı yetişkin hemoglobininin daha yüksek affinite gösterir. Bu nedenle fetusda CO disosiasyonu azalmakta ve gelişen hipoksi anne dokusundan daha derin olmaktadır. Belirgin maruziyet sonrasında tahmin edilen fetal mortalite %36-67 civarındadır (21).

Ciddi derecede zehirlenme semptomlarına sahip annelerin çocuklarında; serebral palsi, ekstremitte bozuklukları, kranial deformiteler ve değişik derecede mental bozukluklar gözlenmiştir (3,28).

Gecikmiş Etkiler:

Karbon monoksit zehirlenmesini takip eden sürelerde geç nörolojik sekeller gelişebilir. Hastaların % 5-40' ında maruziyetten haftalar veya aylar sonra geç nöropsikiatrik hasar veya geç nörolojik sendrom gelişmesi, zayıf konsantrasyon, bilinçsel bozulma, hafıza kaybı gibi bozukluklar görülebilir. Hastaların %40'ında hafıza bozukluğu ve kişilik bozulması izlenmesine rağmen gecikmiş nörolojik sekellerin nedenleri tam olarak bilinmemektedir (12).

Gecikmiş CO ensefalopatisi özellikle orta veya daha ileri yaşlarda görülür. Gençler ise daha az etkilenmektedir. Genellikle genç erişkinlerde özellikle alt ekstremitelerde, CO zehirlenmesini takiben periferik nöropati görülebilmektedir. Kas nekrozuna bağlı lokal güç kaybı görülebilir (28).

Kronik CO Maruziyeti

Kronik CO maruziyetinin asıl olarak kardiyovasküler ve pulmoner sistemi etkilediği bilinmektedir. Bu belirtilerin silik olması tanıyı zorlaştırmaktadır. Baş ağrısı, halsizlik, anoreksi, apati, insomnia ve kişilik değişiklikleri görülebilir. Kronik CO

maruziyeti olan kişilerde aterosklerotik hastalıklar artmakta ve pulmoner fonksiyonlar azalmaktadır. Kronik hipoksi nedeni ile zamanla polisitemi ve kardiyomegali gelişmektedir (31).

Tablo2. Karbon monoksit zehirlenmesinde etkilenen sistemlerdeki belirti ve bulgular (22).

Etkilenen sistem	Belirti, bulgu ve komplikasyonlar
Nöropsikiyatrik	Koma, konvülziyon, lökoensefalopati, serebral ödem, Davranış bozuklukları, bilişsel bozukluk, mutizm, fekal ve idrar inkontinansı, ataksi, muskuler rijidite parkinsonizm, periferik nöropati, psikoz
Kardiyovasküler	Anjina, taşikardi, ST segment değişiklikleri, hipotansiyon, aritmi, kalp blokları, miyokard enfarktüsü
Pulmoner	Pulmoner ödem ve hemoraji, unilateral diyafragmatik paralizi
Oftalmolojik	Retinal hemoraji, düşük ışık sensitivitesi, görme bozuklukları kortikal körlük, retrobulber nörit, papil ödemi
Muskuloskeletal	Rabdomiyoliz, miyonekroz, kompartman sendromu
Renal	Miyoglobiniüriye sekonder akut renal yetmezlik, proteinüri
Hematolojik	Dissemine intravasküler koagülasyon, trombositopeni, lökositoz
Dermatolojik	Bül, alopesi, ter bezi nekrozu, kiraz kırmızısı deri rengi, siyanoz, solukluk, eritematöz lekeler, ödem
Gastrointestinal	Kusma, diyare, hepatik nekroz, melena, hematokezya
Vestibüler	Santral işitme kaybı, tinnitus, vertigo, nistagmus
Fetüs ile ilgili	Konvülziyon, spastisite, hiperglisemi, hipokalsemi, serebral atrofi, mikrosefali, psikomotor retardasyon, ölüm
Metabolik	Laktik asidoz, hiperglisemi

2.1.6.TANI

Karbon monoksit zehirlenmesinin kendine özgü tanı koydurucu bulguları yoktur. En önemli tanı aracı hastanın öyküsüdür. Şüpheli olgularda tanı, klinik bulgular ve COHb düzeylerinin ölçülmesi ile desteklenebilir (9,11) COHb seviyesi, spesifik bir kan gazı analizi ile spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Yüksek olması anlamlıyken, düşük değerlerde ölçülmesi zehirlenmeyi dışlamaz. COHb seviyeleri sigara içenlerde, kronik akciğer hastalığı olanlarda ve pasif içicilerde % 10'dan fazla ölçülebilir. Kan gazında PaO₂, PCO₂ genellikle normal seviyelerdedir. Oksijen saturasyonu da normal seviyelerde ölçülür. Fakat bu durum gerçek doku hipoksisini yansıtmamaktadır (32,33). İskemi sonucu meydana gelen laktik asidoza sekonder olarak metabolik asidoz oluşabilir. Yüksek seviyelerdeki COHb genç ve sağlıklı bireylerde bile miyokardi deprese edebilir (33). Sessiz iskemiye gözden kaçırmamak için elektrokardiyogram (EKG), kreatin kinaz, kreatin kinaz MB ve troponin düzeyleri belirlenmelidir. Laktat dehidrogenaz ve miyogloblin kardiyak injüri ve rabdomiyolizde artar (34).

Elektrokardiyografi, miyokardiyal hasarı değerlendirmede önemlidir. En yaygın bulgular T dalgası düzleşmesi, T dalgası negatifliği ile bifazik T dalgalarıdır. Ek olarak bazen sinüs taşikardisi ve atrial fibrilasyon, prematür ventriküler kontraksiyon, intraventriküler blok görülebilir. Şiddetli vakalarda, bradikardi ve atrioventriküler tam blok görülebilir. Ventriküler fibrilasyon gibi kardiyak aritmiler akut maruziyet sırasında hayatı tehdit eden başlıca problemdir (24,26).

Karbon monoksit maruziyetinde orta düzeyde lökositoz görülebilir. Dissemine intravasküler koagülasyon ve trombotik trombositopenik purpura gelişebileceği için total kan sayımı ve bunlara yönelik ileri araştırmalar yapılmalıdır. Ciddi zehirlenmelerde hiperglisemi, hipokalemi ve laktik asidoz meydana gelebilir. Bu nedenle kan elektrolitleri ve glikoz düzeyi belirlenmelidir. Miyoglobline sekonder olarak akut böbrek yetmezliği gelişebileceği için böbrek fonksiyon testlerine bakılmalıdır. Karaciğer fonksiyon testlerinde fulminan hepatit yönünde bir artış olabilir. Kronik zehirlenmede proteinüri ve glukozüri gelişebileceği için idrar tetkiki yapılmalıdır. Methemoglobin düzeyi siyanid zehirlenmesinden ayırıcı tanı için incelenmelidir. Özellikle özkıym girişiminde bulunan hastalarda diğer zehirlenmeleri ekarte etmek için toksikolojik tarama yapmak gereklidir (32-34).

Zehirlenmesi olan hastalarda ve pulmoner şikayetleri olan hastalarda akciğer grafisi endikedir. Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi uygulanan hastalara tedavi sonrası mutlaka tekrar edilmelidir. Genellikle akciğer grafisi normaldir ancak buzlu cam görüntüsü, perihiler dolgunluk, peribronşial manşet bulgusu ya da intraalveolar ödem bulguları nadiren de olsa görülebilir ve kötü prognozu gösterir (22).

Karbon monoksit zehirlenmelerinde kullanılabilen diğer bir tetkik de bilgisayarlı beyin tomografisidir. Ciddi vakalarda beyin ödemi görülebilirken zehirlenmenin en karakteristik beyin tomografisi bulgusu bazal ganglionlarda fokal hipodens lezyonlardır. Özellikle globus palliduslarda simetrik dansite azalması şeklinde fark edilir (35). Beraberinde beyaz cevherde dansite azalması da görülebilir. CO zehirlenmelerinde özellikle mental durum değişikliği olan hastalarda beyin tomografisi gereklidir. Pozitif tomografi bulguları nörolojik komplikasyonları önceden tahmin etmek için faydalıdır (36).

Bu zehirlenmede beyini görüntülemek amaçlı manyetik rezonans görüntüleme (MR) yöntemi de kullanılabilir. Beyin patolojilerini saptanmasında tomografiye göre çok daha üstündür. Beyinde görülebilecek patolojik değişiklikler globus pallidus nekrozu, serebral kortekste süngerimsi nekroz, hipokampusta nekroz ve serebral beyaz cevherde demiyelinizasyondur (37).

Ayrıca Single-photon emission CT (SPECT), elektroansefalografi ve kantitatif MRG, CO zehirlenmeli hastalarda tanıyı desteklemek için kullanılabilir. SPECT özellikle geç nörolojik sekel için diğer nörolojik görüntüleme yöntemlerinden daha iyi netice verebilir (22).

2.1.7. AYIRICI TANI

Karbon monoksit zehirlenmesi; viral hastalıklar, ilaç zehirlenmeleri, gıda ve diğer toksik gaz zehirlenmeleri, psikiyatrik bozukluklar, serebrovasküler hastalıklar, kalp hastalıkları ve bilinç bozukluğu yapan diğer sorunların hepsi ile karışabilir (9-11).

2.1.8. TEDAVİ

Karbon monoksit zehirlenmesinde tedavinin temelini hemodinamik stabilizasyon ve CO eliminasyonu oluşturur. Hemodinamik olarak stabil olgularda öncelikle CO eliminasyonu sağlanması gerekirken, solunum ve kardiyak arresti olan hastalarda ise resüsitasyon öncelik kazanır. Tedavinin temeli olan oksijen (O₂), CO'ı bağlandığı bölgeden yarışmalı olarak çıkarır ve dokulara giden O₂ miktarının normale

dönmesini sağlar (38). En kısa zamanda O₂ uygulamasına başlanılmalı ve aralıklı olarak devam edilmelidir. O₂'nin etkin bir şekilde uygulanabilmesi için mutlaka yüze tam oturan, hazneli maskeler kullanılmalıdır. Nazal kanül veya yüz maskesi ile verilen O₂ miktarı yeterli olmamaktadır. Tedavi acil serviste yapılacak tetkiklerin sonucuna göre yönlendirilmelidir. CO zehirlenmesi olan vakalarda asidoz sık olarak görülmektedir. Asidoz varlığı kötü prognostik faktör olarak bilinmektedir. Asidozun tedavisi bu nedenle çok önemlidir (39).

Hastanın O₂ gereksinimini azaltmak için fiziksel egzersizini minimumda tutmak gerekir. Kandaki CO eliminasyonu ya solunum havasındaki O₂ konsantrasyonu artırılarak ya da atmosfer basıncı artırılarak hızlandırılabilir. HBO tedavisi yüksek basınç altında hastalara % 100 O₂ solutulmasıdır. Yüksek basınç etkisi ile kanda çözünmüş halde taşınan oksijen miktarı 20 kata kadar artar ve parsiel oksijen basıncı 1800-2000 mmHg'ya, dokularda 400 mmHg seviyelerine ulaşır (39). CO'nun yarı ömrü oda havası soluyan bir kişide 250 dakika iken, bu süre deniz seviyesinde % 100 O₂ solurken (NBO) 50 dakika, 2.5 atmosfer basınçta HBO uygulaması ile 22 dakikadır (33).

Karbon monoksit zehirlenmesinden kuşku edilen bir hastada COHb sonuçlarını beklemeden hızla NBO tedavisine başlanmalıdır. Zehirlenmeden sonraki 6 saat içinde 1 atmosfer basıncında NBO veya HBO uygulamasının ölüm oranını % 30'dan % 14'e düşürdüğü ve nörolojik bozukluk gelişmesini azalttığı gösterilmiştir (38).

HBO tedavisinin endikasyonları koma, geçici bilinç kaybı, iskemik EKG değişiklikleri, fokal nörolojik defisit, anormal nöropsikiyatrik testler, konsantrasyon güçlüğü, end organ hasarının olması (pulmoner ödem, kardiyak disfonksiyon vb.), metabolik asidoz, yaştan 50'nin üzerinde olması, gebelik, 4 saatlik NBO tedavisine rağmen semptomların gerilememesi veya kötüleşmesi, uzamış maruziyet, COHb seviyesinin % 25 üzerinde olması durumlarıdır (32,33). Her ne kadar HBO tedavisi endikasyonları arasında karboksihemoglobin değeri olsa da, esas etken hastanın anamnezi ve kliniğidir. Belirgin nörolojik defisit ya da bilinç kaybı varsa COHb değeri önemsenmez ve HBO tedavisi başlanır. Konfüzyon, baş ağrısı, baş dönmesi gibi hafif nörolojik defisit varlığında yüz maskesi ile hasta birkaç saat oksijen solutulmalıdır. Semptomları düzelme göstermeyen hastalar HBO tedavisi adayı olarak değerlendirilmelidir (27).

Karbon monoksit zehirlenmelerinde HBO tedavisinin avantajları ve etki mekanizmaları şu şekilde açıklanabilir: a) HBO tedavisi normobarik oksijene kıyasla daha hızlı şekilde CO moleküllerini hemoglobinden ayırır ve dokuların oksijenlenmesini hızlandırır. b) mitokondrial oksidatif süreçlerin normale dönmesini sağlar. c) beyinde lipid peroksidasyonun azaltır. d) nötrofillerin damar endotelinde birikmesini engeller. e) myelin basic proteine karşı oluşan immün yanıtı baskılar. f) ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü engelleyerek serbest oksijen radikalleri oluşmasını engeller (20).

Genel olarak önerilen HBO tedavisinin ilk 24 saat içinde başlanmasıdır. Yapılan bir çalışmada ilk 24 saat içinde başlanan hiperbarik oksijen tedavisinin nörokognitif sekel gelişimini engellediği ortaya konmuştur (21). HBO tedavisinin ilk seansı sonrası klinik iyileşme olmaması durumunda tedaviye tekrarlayan seanslarla devam edilmelidir. Tedavi sıklığı ilk gün 8 saat aralıklarla üç seans daha sonra günde 1–2 seans şeklinde önerilmektedir (20).

Karbon monoksit zehirlenmesi olan gebe hastalar da anne iyi olsa bile fetüs yüksek risk altındadır. Fetal kandaki birikim anne kanındakinden %10-15 daha fazladır ve parsiyel O₂ basıncı 20-30 mmHg daha düşüktür. Normal oda havasında COHb yarılanma süresi annede 3–4 saat iken, bu süre fetüste 6–7 saattir. Çalışmalarda tek seferlik CO maruziyeti ile intrauterin hipoksi, fetal beyin hasarı ve fetal ölüm oranında artış olduğu gösterilmiştir (22).

Yararlı bir tedavi yöntemi olduğu düşünülmesine rağmen HBO tedavisinin bir takım yan etkileri de mevcuttur. HBO tedavisine bağlı kranial sinüs ve orta kulak barotravmaları, pnömotoraks, oksijene bağlı konvülsiyonlar nadir de olsa görülen yan etkilerdir (27).

Karbon monoksit zehirlenmesi sonrasında 1–3 haftalık fiziksel aktivite kısıtlaması şarttır. Solunumu deprese eden ve alveoller hipoksi yapan ilaç kullanılmamalı ve sigara ve hava kirliliği olan alanlardan uzak durulması önemlidir (22).

2.1.9. KOMPLİKASYONLAR

Karbon monoksit zehirlenmesine bağılı olarak EKG değişiklikleri, aritmiler, miyokard infarktüsü, akciğer ödemi, ARDS, akut böbrek yetmezliği, rabdomiyoliz, kas nekrozu, gastrointestinal sistem kanamaları, kan tablosu bozuklukları, deri döküntüleri ve metabolik bozukluklar görülebilir. CO görme, işitme ve denge fonksiyonlarını etkileyebilir. Kalıcı veya geçici nöropsikiyatrik bozukluklar hafif olgularda bile geç dönemde oluşabilir (28).

Fetal hemoglobinin CO' e duyarlılığı çok fazla olduğu için fetüs toksisiteye daha duyarlıdır. Bu nedenle hafif olgularda bile düşük, teratojenik etki, fiziksel ve nöromusküler anormallikler görülebilir (10).

2.1.10. PROGNOZ

Karbon monoksit zehirlenmesinin seyri hastadan hastaya değişir. Maruz kalınan CO miktarı, ortamdaki oksijen konsantrasyonu, maruz kalınan süre, yaş, cinsiyet, metabolizma, eşlik eden durumlar, hastanın kullandığı ilaçlar gibi pek çok faktör hastanın klinik seyrini etkileyebilmektedir. Ağır olgularda mortalite oldukça yüksektir. Ağır zehirlenme olgularının yaklaşık %30'unun fatal sonuçlandığı ileri sürülmektedir. Kardiyak arrest, koma, metabolik asidoz, yüksek COHb düzeyleri, ileri yaş, komorbid durumun varlığı, nörolojik sekellerin ortaya çıkmış olması mortalite ve morbidite açısından risk oluşturmaktadır. Literatürde gecikmiş nörolojik sekellerin, maruz kalan hastaların %3-47'sinde ortaya çıkabildiği ileri sürülmektedir. Geç nörolojik sekellerin büyük bir çoğunluğu yaklaşık bir yıl içinde iyileşebilmektedir (9).

2.2. OKSİDADİF STRES VE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Reaktif oksijen ürünleri (ROS, Reactive Oxygen Species) ve reaktif nitrojen ürünleri (RNS) normal hücrel metabolizmanın ürünleridir. ROS' un canlı sistemlerde faydalı ve zararlı olmak üzere iki ayrı etkinliği vardır (40). Düşük/orta konsantrasyonlarda faydalı etkiler ortaya çıkar ki infeksiyöz ajanlara karşı savunma, hipoksiye karşı hücrel cevap, mitojenik cevabı uyarmak ve birçok hücrel sinyal sistemlerine aracılık fonksiyonu gibi fizyolojik durumlar ROS' un faydalı etkileridir (41).

Oksidatif stres, serbest radikallerin biyolojik hasara neden olan zararlı etkileri için kullanılır. Bu zararlı etkilerin ortaya çıkması için ya ROS' un aşırı üretimi ya da enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemlerin yetmezliği durumu gereklidir. Dolayısıyla oksidatif stres, oksijeni kullanan metabolik reaksiyonlar sonucu oluşur ve canlı organizmada prooksidan/ antioksidan reaksiyonlarında ki dengenin bozulduğunu gösterir. Yoğun ROS üretimi hücrede lipid, protein ve DNA yapısının fonksiyonlarını bozan hasarlar yapar. Yaşlanmada olduğu gibi birçok hastalıkta da oksidatif stres saptanmıştır (42).

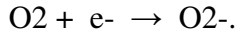
Redoks düzenlemesi, serbest radikallerin faydalı ve zararlı etkileri arasındaki dengedir ve canlı organizmalar için çok önemli bir konudur (41). Redoks düzenlemesi işlemi canlı organizmaları çeşitli oksidatif streslerden korur ve in vivo redoks durumunu kontrol etmek suretiyle redoks hemostazının devamını sağlar (43).

2.2.1. Reaktif oksijen ürünleri

Serbest radikaller, orbitallerinde eşleşmemiş elektron taşıyan ve diğer biyolojik materyallerle reaksiyona girme eğilimi gösteren maddelerdir. Genellikle radikal olmayan bir molekül veya atoma elektronun girmesi çıkması ile meydana gelirler. Aşırı ROS üretimi veya antioksidan sistemin yetersizliği, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açarak oksidatif strese neden olur. Polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) 'in aktivasyonu ile solunum patlaması ortaya çıkar ki bu görevde rol alan NADPH oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), nitrik oksit sentaz (NOS) ve myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimler süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi reaktif ürünler oluştururlar (44). Bu reaktif ürünler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız (reaktif) bir atom haline gelmelerine yol açabilirler. Serbest radikaller lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi hücresel yapı ve bileşiklere etkilidir. Membran yapısında ki fosfolipidler, glikolipidler, gliseritler gibi doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri radikaller için çekici hedeflerdir (45). Oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizmanın maruz kaldığı “oksidatif stres”, hücresel metabolizmanın bozulmasına, moleküler yıkıma ve doku hasarına neden olur. Hasar oluşan dokuda artan radikal metabolitler ve bunların oluşturduğu lipid peroksidasyonu ile protein ve DNA oksidasyonu sonucu hücre membranında kontrol kaybolur, geçirgenlik artışı ve hücresel ölüm gelişir (45).

2.2.2. Serbest Oksijen Radikal Türleri

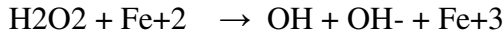
Serbest radikaller ortaklanmamış elektron taşıyan kimyasal yapılardır ve en önemli serbest radikaller oksijen radikalleridir. Aerobik oksidatif fosforilasyon dengesinin etkilendiği iskemi, hemoraji, intoksikasyon, radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerde elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları oluşur. Oksijene bir elektronun eklenmesi ile süperoksit serbest radikal anyonu (süperoksit, O_2^-) oluşmaktadır.



Oksijenin 2 elektronla redüklenmesi ise hidrojen peroksiti (H_2O_2) oluşturur (7).



Hidrojen peroksit, geçiş metal iyonlarının varlığında kolaylıkla parçalanıp oksijen radikallerinden daha reaktif ve biyolojik sistemlerde daha fazla hasar oluşturan hidroksil radikalini (OH^-) oluşturur.



Bu reaksiyon Haber-Weiss (Fenton) reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır (46).

2.2.3. Serbest Oksijen Radikal Kaynakları

Serbest oksijen radikallerinin iki önemli kaynağı vardır (47):

A) Eksojen kaynaklar

- iyonize ve noniyonize radyasyon etkisi
- Bağışıklık yapan maddeler: alkol, uyuşturucu vb.
- Ksenobiyotikler: hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı vb.
- Antineoplastik ajanlar
- Stres; strese katekolamin düzeyi artar, artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi artmaktadır.

B) Endojen kaynaklar

- Mitokondrial elektron transport sistemi
- Oksidatif stres durumları (iskemi, travma, intoksikasyon gibi durumlara bağlı olarak)
- Peroksizomlarda bulunan enzimler
- Enzimler ve proteinler; XO, triptofan dioksijenaz, hemoglobin vs.

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu; tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, antibiyotikler vb.
- Endoplazmik retikulum ve nükleus membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450)
- Makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama
- Plazma membranı enzimleri; NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz, lipid peroksidasyonu vs. Nötrofiller fagositoz esnasında, membran ve sitoplazmalarında bulundukları NADPH oksidaz ve MPO enzimleri ile hem serbest oksijen radikalleri hem de aşırı okside edici HOCl gibi ajanları üreterek karşılaştıkları virus, bakteri, mantar gibi ajan patojenleri yok ederler. Bu işlemler esnasında hem ana hem de ara ürün olarak çok fazla miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşur (47).

2.2.4. Serbest Radikallerin Hücreler Üzerindeki Etkileri

2.2.4.1. Lipidlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler

Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif hasarı lipid peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Serbest radikallerin plazma membranı, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi biyolojik membranlara etki etmesi ile membranların poliansatüre yağ asitleri oksidatif yıkıma uğrar (48). Bu poliansatüre yağ asitleri oksidasyona aşırı derecede hassastırlar. Lipid peroksidasyonu tetiklendiğinde hücrede kendiliğinden devam eden zincirleme reaksiyonlar başlamaktadır ve oksidasyon sonucunda oluşan lipid peroksil radikalleri bir sonraki poliansatüre yağ asidini okside ederek yeni reaksiyonları başlatırlar. Bu reaksiyonlar sonucunda rölatif olarak daha stabil olan ve peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit oluşur (48). Dolayısıyla bir dokuda malondialdehit düzeyinin artması serbest oksijen radikallerinin arttığını gösterir (49). malondialdehitin hücre içinde birçok yapıya zararlı etkileri vardır. Bakteriyel ve memeli hücrelerinde mutajeniktir ve ratlarda karsinojeniktir (41).

2.2.4.2. DNA ve Proteinlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler

Yüksek konsantrasyonlarda SOR hücre yapılarının, nükleik asitlerin ve proteinlerin hasarlanmasına yol açan önemli bir uyarıcı olabilir (40). Hidroksil radikali DNA molekülünün tüm komponentleri ile reaksiyona girerek hem pürin hem de pirimidin bazlarında hasar yapar ayrıca deoksiriboz iskeletine de zarar verir (50). Bu

oksidatif hasarlanma olayları sonucu oluşan kalıcı genetik materyal değişiklikleri mutagenез, karsinogenез ve yaşılanmanın ilk aşamasını oluşturur (41).

Yapılan çalışmalarda iyonize radyasyona maruz bırakılarak aminoasitler, basit peptidler ve proteinlerden hidroksil radikalleri oluşturulmuştur. SOR' un uyardığı protein oksidasyon mekanizmaları bu çalışmalarla açıklanmıştır. Özellikle sistein ve metionin amino asitleri olmak üzere proteinlerin tüm aminoasitlerinin yan zincirleri, SOR nedeniyle oluşan oksidasyona duyarlıdır (51). Sistein kalıntılarının oksidasyonu başta glutatyon olmak üzere düşük moleköl ağırlıklı tiollerle protein tiol grupları arasında reversible miks disülfidlerin oluşumuna yol açar. Pek çok mekanizmalarla üretilen karbonil gruplarının konsantrasyonu ROS ile ilişkili protein oksidasyonunun iyi bir göstergesidir (52).

2.2.5. Karbon monoksit zehirlenmesinde oksidasyon ve etkileri

Vücutta mitokondrial ve vasküler endotelde exojen CO maruziyeti sonucu belirgin hücresel oksidatif stres oluşur. Bu etkilerin hipoksi-reoksijenasyona mı yoksa CO' nun sellüler hem protein fonksiyonu üzerine direkt etkisine mi bağlı olduğu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Düşük düzeyde CO maruziyeti sonrası (100 ppm) oluşan vasküler oksidatif stres saatlerce devam edebilir (53).

Sıçanlarda, CO'nun beyin lipid peroksidasyonunu artırmasının yanısıra ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümüyle de ilişkili olduğu bulunmuştur ancak mekanizma tam olarak bilinmemektedir (54). Ksantin oksidazın inhibisyonu, süperoksit oluşumu ve oksidatif organ hasarı ile sonuçlanır. Ek olarak SOD ve Fe şelatörleri, CO'e bağlı lipid peroksidasyonunu azaltır (55).

Karbon monoksitin yüksek konsantrasyonları beyinde hücre içi H₂O₂ üretimini artırmakla beraber hidroksil radikal oluşumunu artırır ve mitokondride oksitlenmiş glutatyon miktarını azaltır (56). CO ile oksidatif stres oluşumu en azından beyinde basit hipoksiden farklı şekilde meydana gelir (57). Son bulgular göstermektedir ki CO vücutta kendine özgü hücresel oksidan oluşum mekanizması meydana getirir. Bu mekanizmalar; hücre hasarı, onarımı ve proliferasyonunda değişik etkiler meydana getirir (55).

Bir diğer olasılık da oksidatif stres anlarında vücutta lipid peroksidasyonu ile küçük miktarlarda CO oluştuğudur (58,59). Mikrozoal lipidlerin NADPH bağımlı

peroksidasyonu ile CO oluşumu ilk kez 1968 yılında rapor edilmiştir (58). Sonra ki çalışmalar zar fosfolipidlerinin Fe-askorbat ile katalizlenen peroksidasyonu esnasında CO oluştuğunu ortaya koymuşlardır (59). Vücutta karbontetraklorid maruziyeti sonrası artan CO salınımı bu mekanizmanın bir parçası olarak karşımıza çıkar (60).

Sonuç olarak CO'nin biokimyasal etkileri karmaşıktır ve molekülün değişik hem proteinlerine bağlanmasına ve onların fonksiyonlarını inhibe etmesine veya değiştirmesine bağlıdır. Bundan dolayı eksojen ya da endojen CO derivelerinin etki değişkenliği, hem CO' in hemde azalan metallerin konsantrasyonlarına bağlıdır (Fe +2). Bu açıdan CO/O₂ oranı ve hücrenin redox aşamasındaki oksijene bağımlı değişiklikler CO₂ 'in spesifik protein fonksiyonları üzerine etkisinde önemli rol oynar. CO, hem proteini içeren reaksiyonları değişik yollardan etkilediği için hücrede hem prooksidan hemde antioksidan etkiler meydana getirebilir. Bu hem proteinaz ilişkileri CO konsantrasyonun NO'nun fizyolojik ve patolojik etkilerini nasıl değiştirdiğine ve bu iki gazın metalle katalizlenen hücresel oksidatif reaksiyonlara nasıl katıldığına ışık tutar (55).

2.3. ENZİMATİK VE NONENZİMATİK ANTİOKSİDAN SİSTEMLER

2.3.1. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutasyon: Hücrede önemli fonksiyonları (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) olduğu gibi antioksidan özelliği de vardır. Oksidatif stresin ölçümünde kullanılan çok güçlü bir antioksidandır. Karaciğerde, glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptiddir. Redükte glutasyon (GSH)/ okside glutasyon (GSSG) oranı, oksidatif durumlarda azalır. Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (61). Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korur. Eritrosit zarını hidrojen peroksitten, lökositleri fagositozda ki oksidan ajanlardan korur. Glutasyon nonkatalitik olarak da serbest radikallerle direkt reaksiyona girebilir (62)

E Vitamini: Lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır ve dokularda ki en önemli zincir kırıcı antioksidandır (48,63). Hücre membranlarının lipid kısımlarında ve hücre dışı sıvılarda bulunur. Hücre membranlarında süperoksit, hidroksil gibi radikalleri inaktive eder ve lipid peroksit zincirini kırarak lipid peroksidasyonu tepkimelerini engeller (64). E vitamini tokoferol yapısında olan lipid

fazda çözünen bir antioksidandır. Dört tipi vardır. Alfa-tokoferol en fazla bulunan ve antioksidan etkisi en fazla olan formudur. Vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını yapısındaki fenolik hidroksil grubuna ait aromatik halka oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (48, 63).

C vitamini: Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikallerini direkt olarak temizleme yeteneği vardır. Hücre dışı sıvılarda bulunur (64). C vitamini aynı zamanda oksidan maddelerin antiproteazları inaktive etmesini engeller, okside olmuş E vitaminini rejenere eder (62).

Beta Karoten: Vitamin A öncüsü serbest radikal temizleyicisidir ve hücre membranlarında bulunur. Peroksitlere karşı doğrudan etki ederek onları inaktif hale getirir (65).

Seruloplazmin: Demirin +2 değerlikli halden +3 değerlikli hale yükseltgenmesini sağlayarak Fenton reaksiyonunu inhibe eder. Bu sayede serbest radikal oluşmasını engeller (66).

Transferrin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlayıp fenton reaksiyonunu engeller ve antioksidan özellik gösterir (67).

Bilirubin: Hemoprotein katabolizma ürünüdür. Serbest radikal tutucusu, süperoksit ve hidroksil radikal toplayıcısıdır. Bazı dokularda β -karotenlerin aktivitesini artırır (67).

Ürik asit: Plazmada normal konsantrasyonlarda süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini temizler (66).

Albümin: Geçiş metallerini bağlar, lipid LOOH ve HOCl toplayıcısıdır (66).

Piruvat: Güçlü antioksidandır ve H₂O₂ bağlayıcı özelliği vardır (68).

Taurin: Lipid peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek antioksidan etki gösterir. Ksenobiotiklere bağlanır. HOCl ile tepkimeye girerek etkisini azaltır (69).

Melatonin: Hidroksil (OH) radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Pineal bezde triptofandan sentez edilen bir hormondur ve yüksek lipofilik özelliği olup membranları kolaylıkla geçer (70). Suda erime kabiliyeti de oldukça yüksektir. Dolayısıyla hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşır, kan-beyin bariyerini kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi, onun DNA'yı

oksidatif hasardan koruması bakımından, diğer antioksidanlara göre çok üstün bir özelliğidir (62)

Sistein: Süperoksit, hidroksil radikali ve HOCl toplayıcısıdır (48).

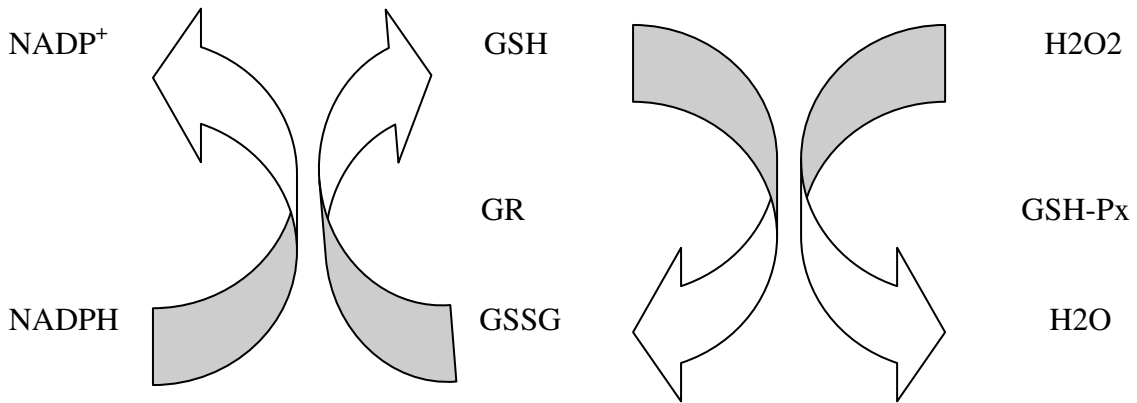
2.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

Başlıca antioksidan enzimler; Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD)'dir (61).

Glutatyon Peroksidaz

Glutatyonperoksidaz yapısında bir metal olan selenyum bulundurduğu için metalloenzim grubunda değerlendirilir. Bu enzim, redükte glutatyon (GSH)' nun okside glutatyon (GSSG)' a çevrildiği reaksiyonda H₂O₂'i yüksek spesifite ile kullanarak onu detoksifiye etmektedir (Şekil 1). GSH'un GSSG haline dönüştüğü reaksiyonda glutatyon peroksidaz enzimi H₂O₂'i suya indirger. Daha sonra glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak okside glutatyon tekrar redükte hale dönüştürülebilir (Şekil 1) (61).

Reaksiyon şu şekildedir: $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$

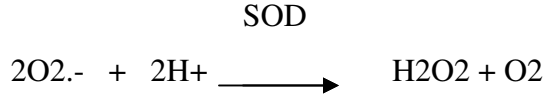


Şekil 1. Glutatyonun okside ve redükte formları arasında dönüşümü (GSH=Redükte glutatyon, GSSG=Okside glutatyon, GSH-Px=Glutatyon peroksidaz, GR=Glutatyon redüktaz, H₂O₂=Hidrojenperoksit) (61).

Süperoksit Dismutaz

Süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir (71).

Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir (71):



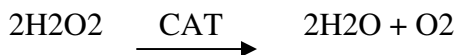
Bu tepkime spontane olarak oluşabilmektedir. SOD enzimi bu tepkimeyi katalize ettiğinde hız normale göre 4 kat artar (71). Organizmayı toksik reaktif oksijen metabolitlerinin etkisinden koruyan savunma mekanizmaları arasında SOD enzimi ilk rolü oynar. SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürünün (H_2O_2) birikimi CAT enzimi tarafından önlenmektedir (72).

Fizyolojik şartlarda metabolik reaksiyonlarda O_2^- radikalinin oluşumu oldukça fazladır. SOD enzimi O_2^- radikalinin hücre içi konsantrasyonunu düşük seviyelerde tutarak kontrol sağlar ve hücreleri O_2^- radikallerinin etkilerinden korur (73).

Katalaz

Katalaz enzimi, yapısında 4 hem grubu bulunan bir hemoproteindir ve peroksizomlarda lokalize olur. Özellikle hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda etkilidir (74). Okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan H_2O_2 ' i direkt olarak suya dönüştürür. Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px gibi) devreye girerek H_2O_2 ' yi ortamdan uzaklaştırırlar. CAT ve GSH-Px enzimleri benzer etkisi olmasına rağmen hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. CAT enzimi peroksizomlarda daha etkili iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride daha etkilidir (75).

Katalaz enziminin katalizlediği reaksiyon şu şekildedir (75):



2.4. PROPOLİS VE KAFEİK ASİT FENİL ESTER

Propolis arı kovanlarının, dış ortamdan izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, çatlak ve hasarlanmış yerlerinin tamirinde, kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin mumlanarak etkisiz hale getirilmesinde kullanılmaktadır (76). Propolisin içeriği arıların bitkilerden topladığı maddelere göre değişmektedir. CAPE, propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir (77). Propolisin kimyasal yapısında polifenoller başta olmak üzere 180'den fazla bileşik saptanmıştır. Polifenoller; flavonoidler, fenolik asitler ve esterler, fenolik aldehitler, ketonlardır. Bileşimin geri kalanının; % 5–10 'nu uçucu yağlar ve aromatik asitler, %30–40 balmumu geri kalanı da reçineler, içerisinde magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko gibi önemli elementlerden zengin polen zerrecikleri oluşturur (78).

Propolisin antimikrobiyal özellikleri pinocembrin, galangin ve pinobanksin adlı flavonoidlere bağlanmaktadır. Propolis preparatları in vitro ortamda antimikrobiyal etki gösteriyor olup Gram pozitif (Stafilokok ve Streptokok türleri) ve Gram negatif bakterilere (E. Coli, K. Pneumoniae, P. Vulgaris ve P. Aeruginosa), Helicobacter pylori, protozoa (T. Cruzi), mantar (Candida albicans) ve virüslere (HIV, Herpes virüs veya influenza virüs) karşı etki gösterirler. Diğer aktif bileşimleri ise “coumaric ester” ve “caffeic acid” lerdir (79).

Propolis, anestezik bir etkiye sahiptir ve bu etki kokainin etkisine benzemektedir. Biyolojik dokularda rejeneratif etki gösterip birçok kanser hücresine karşı da antineoplastik aktivite gösterir (80). Propolisin kan basıncını ve kolesterol seviyesini düşürdüğü, ilaç kesildikten haftalar sonrasına dek kolesterol düşürücü etkisinin devam edebileceği rapor edilmiştir (81).

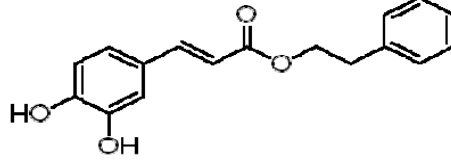
Propolis, düşük dozlarda kullanıldığında güvenli olarak bilinirken, 15g/gün dozundan fazla kullanıldığında yan etkilerin görülmesi mümkündür. En sık yan etkiler alerjik reaksiyonlar, cilt ve müköz membran irritasyonu olarak bildirildiğinden astım hastaları, egzemalı ve ürtikerli hastalar tedavi edilirken dikkatli olunmalıdır (82).

2.4.1. Kafeik Asit Fenil Esterin yapısı ve kimyasal özellikleri

Kafeik asit fenetil ester arıların bitkilerden topladığı özütün içerisinde bulunan immün sistemi düzenleyici ve immünostimülatör etkisi bilinen yapıcı flavonoidlere benzeyen, propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (7).

Molekül Formülü: C₁₇H₁₆O₄

Molekül Ağırlığı: 284.31 gr/mol



Şekil 2. Kafeik asit fenil esterin moleküler yapısı (78)

Kafeik asit fenil esterin hepatotoksisiteden koruyucu, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immünomodülatör, nöroprotektif ve sitostatik etkileri olduğu bilinmektedir (81). Diğer propolis bileşenlerine göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (7). CAPE iki halkasal yapıya sahiptir (83). Bu halkasal yapılardan bir tanesi, fonksiyonel iki OH– grubu taşır ki CAPE molekülünün neredeyse tüm kimyasal özelliklerini gösterir. Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir. Aromatik ve alifatik yapıda çok uzun karbon grupları taşıması nedeni ile lipofilik özelliğe sahiptir. Ornitin karboksilaz, 5- α redüktaz, proteaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, HIV- 1 integras gibi enzimlerin potansiyel inhibitörüdür (8). Nükleer transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa-B'nin aktive olmasını özgül ve güçlü bir şekilde engeller (84).

2.4.2.Kafeik Asit Fenil Esterin Antioksidan Etkisi

Bu molekülün genellikle 10 μ mol/L konsantrasyonda invitro koşullarda nötrofiller veya ksantin dehidrogenaz / ksantin oksidaz sistemi tarafından meydana getirilen reaktif oksijen türlerininin (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve nitrik oksit) hepsini bloke ettiği gösterilmiştir (8). Ayrıca CAPE, linoleik asit ve araşidonik asitin 5'-lipooksijenaz enzimi tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder (7).

Kafeik Asit Fenil Ester, tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermektedir (79). Yapılan çalışmalarla sadece CAPE ve galanin'in propolisin antiinflamatuvar aktivitesinde payı olduğu ve bunlardanda CAPE'nin katkısının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Propolisin ratlarda in vivo olarak CD4/ CD8 T lenfosit oranını arttırdığı

ve in vitro olarak ise makrofajlarda immünostimülatör ve immünomodülatör etki gösterdiği ortaya konmuştur (80).

Kafeik Asit Fenil Ester, propolis içerisinde kemopreventif ve antitümöral etkinliği olan esas aktif bileşimlerden biri olarak saptanmıştır. Bununla birlikte propolis ve aktif komponenti olan CAPE'nin kanser tedavisindeki olumlu etkisinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir ve daha ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır (81).

Kafeik Asit Fenil Esterin ultraviyole radyasyona özellikle de Ultraviyole B ve C radyasyona maruz kalındığında deri hücrelerini koruduğu gösterilmiştir. CAPE'nin aynı zamanda papillomaların sayısını belirgin derecede azalttığı gösterilmiştir. Oral ya da subkutan uygulaması belirgin şekilde karaciğer metastazını azaltır (85).

Kafeik asit fenil esterin dönüşüme uğramış hücrelerde “redox” tepkimesini değiştirerek apoptozisi indüklediği öne sürülmektedir (86). Yine CAPE'nin lipid peroksidasyonunu baskılayarak antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (8).

Oktar ve ark. (87) sıçanlarda isoproteronelle (ISO) indüklenmiş myokard infarktüsünde CAPE'nin oluşan hasarı önlemedeki etkinliğini araştırmışlardır. Ratların kan ve doku örneklerinde MPO, lipid peroksidasyonu, SOD VE CAT aktivitelerini incelemişlerdir. Tek başına ISO uygulaması sonucu; MPO, lipid peroksidasyonu, SOD ve CAT aktiviteleri arttığını bulmuşlardır. Tek başına CAPE uygulaması ise enzim değerlerini kontrole göre değiştirmemiştir, ISO+CAPE verilen grupta ise MPO aktivitesi ve MDA seviyesi düşerken, CAT ve SOD aktivitesinin değişmediği tespit edilmiştir. Yazarlar sonuç olarak CAPE tedavisinin nötrofil MPO aktivitesini inhibe ederek MPO ve lipid peroksidasyonu aracılı myokardial hasarı önlediğini bildirmişlerdir.

Vardı ve ark. (88) sıçanlarda deneysel gentamisin (GM) nefrotoksitesini oluşturarak CAPE'nin bu hasar üzerinde etkinliğini araştırmışlardır. Sıçanların böbrek dokusunda MDA seviyelerini ölçmüş dokularda mikroskopik inceleme yapmışlardır. GM grubunda MDA seviyelerinde anlamlı artış gözlenmiştir. Bu değişiklik GM+ CAPE grubunda normal aralıklarda bulunmuştur. GM' ne maruz tubuler epitel hücrelerinin nekroze ancak GM+CAPE grubunda nekroz olmadığı tespit edilmiştir. Yazarlar GM'ne bağlı nefrotoksitesinin düzeltilmesinde CAPE kullanımının lipid peroksidasyonuna bağlı serbest oksijen radikali üretiminin inhibisyonunda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Ögetürk ve ark. (89) karbontetraklorür (CCl₄) ile ratlarda deneysel akciğer hasarı oluşturarak CAPE'nin bu hasarı önlemede ki etkinliğini araştırmışlardır. CCl₄ ile hasar oluşturulan akciğerlerde mikroskopik incelemeler yapmışlardır. Kontrol grubu sıçanlarda bronş ve bronşiol epitellerinde dökülme, pulmoner intersitisyumda hemoraji, polimorf nüveli lökosit ve makrofaj infiltrasyonun olduğu belirlenmiş, CCl₄ ile beraber CAPE verilen grupta ise küçük hemorajik alanlar dışında bu histopatolojik değişikliklerin kaybolduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar deneysel CCl₄ toksisitesi sonucu akciğer dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin CAPE uygulanması ile önlenemediğini bildirmişlerdir.

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Biyokimya Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra başlanmıştır (2009/49).

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada; 40 adet Sprague–Dawley cinsi, yaşları 5-6 ay, ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışmadaki sıçanların hepsi deney süresince standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve oda ısısı koşullarında (20-22 °C) tutuldu. Rastgele örnekleme metodu ile gruplara ayrılan sıçanlar 8'erli gruplar halinde ayrı kafeslere konarak yeterli miktarda içme suyu ve standart sıçan yemi ile beslendi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar Maddeler

1. Karbonmonoksit (CO) (3000 ppm CO + hava karışımı, Habaş/ İstanbul)
2. Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE) (C8221 SIGMA)
3. Malondialdehid (MDA) (Chromsystem Diagnostics by HPLC intruction manuel for the HPLC analysis of malondialdehyt in plazma / serum order number 67000)
4. Glutasyon (Chromsystem Diagnostics by HPLC intruction manuel for the HPLC analysis of glutathione whole blood order number 66000)

5. Sıvı azot (TİGEM, Samsun)
6. PBS (Fosfat Buffer Salin)

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

1. Otomatik pipet
2. Hassas terazi (CHYO JL-180)
3. Vorteks (Windows VM3)
4. Mikrosantrifüj (Hettich Zentrifugen D- 78532 Tuttlingen micro 120)
5. Derin dondurucu (-40°C, BOSH Automatic)
6. Sıvı azot tankı (International Cryogenics, Inc. IC 20D Storage Dewor)
7. Pasif sakınma cihazı (Ugo Basile, Varese, Italy)
8. Lokomotor aktivite kafesi (Ugo Basile, Varese, Italy)

3.2. Metod

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması

Çalışma için daha önce Farmakoloji laboratuvarında uygulamış olduğumuz CO zehirlenme modeli kullanıldı. Buna göre sıçanlar, kontrol grubu hariç, 3000 ppm CO ve hava karışımına 16 L' lik şeffaf plastik kutu içerisinde 4L /dakika dozunda 30 dakika süresince maruz bırakıldı (90). Kontrol grubundaki sıçanlar aynı kutuya konarak 30 dakika süresince bekletildiler. Uygulama sonrası sıçanlar kafeslerine alındı ve 5 gün boyunca gruplarına uygun uygulamalara tabi tutuldu.

Sıçanlar rastgele 5 gruba ayrıldı.

- 1) **Kontrol grubu (n=8):** Kutuda 30 dakika bekletildikten sonra 5 gün boyunca günde 1 kez 2 ml SF intraperitoneal (i.p.) uygulandı.
- 2) **CO grubu (n=8):** CO maruziyetinden sonra 5 gün boyunca günde 1 kez 2 ml SF i.p. uygulandı.
- 3) **CAPE 5 grubu (n=8):** CO maruziyetinden sonra 5 gün boyunca günde 1 kez 5 µmol/kg CAPE i.p. uygulandı.
- 4) **CAPE 10 grubu (n=8):** CO maruziyetinden sonra 5 gün boyunca günde 1 kez 10 µmol/kg CAPE i.p. uygulandı.
- 5) **CAPE 20 grubu (n=8):** CO maruziyetinden sonra 5 gün boyunca günde 1 kez 20 µmol/kg CAPE i.p. uygulandı.

Deneyin başlangıcında ve 5. günde sıçanların ağırlıkları tartıldı. Tüm grupların enjeksiyonlarına i.p. yoldan CO uygulamasının hemen ardından başlandı ve 5 gün boyunca yapılarak aynı gün sonlandırıldı. Kontrol grubuna ve CO grubuna 2 ml SF i.p. yapıldı. CAPE verilen gruplarda sırasıyla 5 µmol/kg, 10 µmol/kg, 20 µmol/kg CAPE sıçanların ağırlıkları hesaplanarak verildi. Deneyin 4. gününde sıçanlara hafıza değerlendirmesi için kullanılan pasif sakınma testinin birinci seansı yapıldı. Deneyin sonlandırıldığı 5. gün önce pasif sakınma testinin 2. seansı ve ardından lokomotor aktivite testinin uygulanmasını takiben sıçanlar giotin ile sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

Pasif sakınma testi:

Bu test, enstrümental öğrenme ve korku durumuna dayalı öğrenmenin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Sıçanlar, bir aydınlık (25x15x15cm yükseklikte) ve bir karanlık kompartman olmak üzere 2 bölümden oluşan pasif sakınma aparatı kullanılarak değerlendirildiler (Ugo Basile). Testin 1. seansında eğitim sırasında sıçanlar ışıklı kompartmana konuldular. 30 sn sonra giyotin kapı açıldı ve karanlık kompartmana geçmelerine izin verildi. Sıçan, karanlık kompartmana geçtiğinde giyotin kapı kapatıldı ve zeminden hayvana elektrik (0.5 mA, 3 sn) şoku verildi. Daha sonra hayvan yuvasına geri kondu ve 24 saat boyunca kendi kafesinde tutuldu. Testin 2. seansında (ilk seanstan 24 saat sonra) sıçan ışıklı kompartmana tekrar kondu ve karanlık kompartmana geçiş zamanı kaydedildi. 300 sn cut- off değeri olarak kabul edildi.



Şekil 3. Pasif sakınma cihazı

Lokomotor aktivite tayini:

Spontan lokomotor aktivite 39x28x26 cm ölçülerinde ki aktivite kafesinde (Ugo Basile) ölçüldü. Sıçanların adımları sayıldı. Her sıçan için lokomotor aktivite otomatik olarak 5 dakika boyunca kaydedildi.



Şekil 4. Lokomotor aktivite cihazı

3.2.2. Doku Örneklerinin Alınması

Sıçanlar enjeksiyonun 5. gününde hafif eter anestezi altında giyotin ile dekapite edildi ve trunkal kan numuneleri alındıktan hemen sonra beyin ve kalp dokusu örnekleri alındı. Doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar gerçekleştirilene kadar -80 °C’lik derin dondurucuda saklandı. Alınan örneklerden plazma oksidasyon aktivitesinin belirlenmesi amacıyla; MDA ve glutatyon düzeyleri ölçüldü.

3.2.3. Örneklerin Homojenizasyonu ve Deney için hazırlanması

Homojenizasyonda Kullanılan Reaktifler

Kalp ve beyin dokularının homojenizasyonunda pH: 7.4, 10 mm PBS (Fosfat Buffer Salin) tamponu kullanıldı.

Homojenizasyonda yapılan işlemler ve numunelerin hazırlanması

Saklanan dokular (-80°C) çözünmeden yaklaşık beyin dokusu 400 mg, kalp dokusu 500 mg ortalamalarda tartılarak sıvı azot gazı ile pulverize edildi. 1 ml PBS eklenerek sentry microprocessor cihazı ile 1 dakika boyunca homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem 20 bin IPM de yapıldı. Sonra dokular 14 bin IPM de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj edilen süpernatant temiz bir epandorfa aktarıldı.

3.2.4. Dokularda Biyokimyasal Analizler

Biyokimya laboratuvarında HPLC’de floresan yöntemle örneklerin MDA ve Glutatyon seviyeleri ölçüldü. Dokularda protein tayini Thomson Metoduna göre yapıldı. Numuneler Agilent “1100 series” HPLC cihazında chromsystem malondialdeht in plazma/serum kiti ve chromsystem glutathione in plazma/serum kiti kullanılarak çalışıldı.

Cobas Integra 800 (Roche) cihazında total protein ürine/CSF gen 3 metodu kullanılarak protein ölçümü yapıldı. HPLC de bulunan MDA ve glutasyon değerleri, protein değerlerine oranlandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluk testi olarak Shapiro Wilk testi kullanıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için 5 grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi ve takiben ikişerli karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. P anlamlılık düzeyi Kruskal-Wallis varyans analizi için <0.05 , Bonferreni düzeltmeli Mann-Whitney U testi için <0.01 olarak kabul edildi. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak sunuldu.

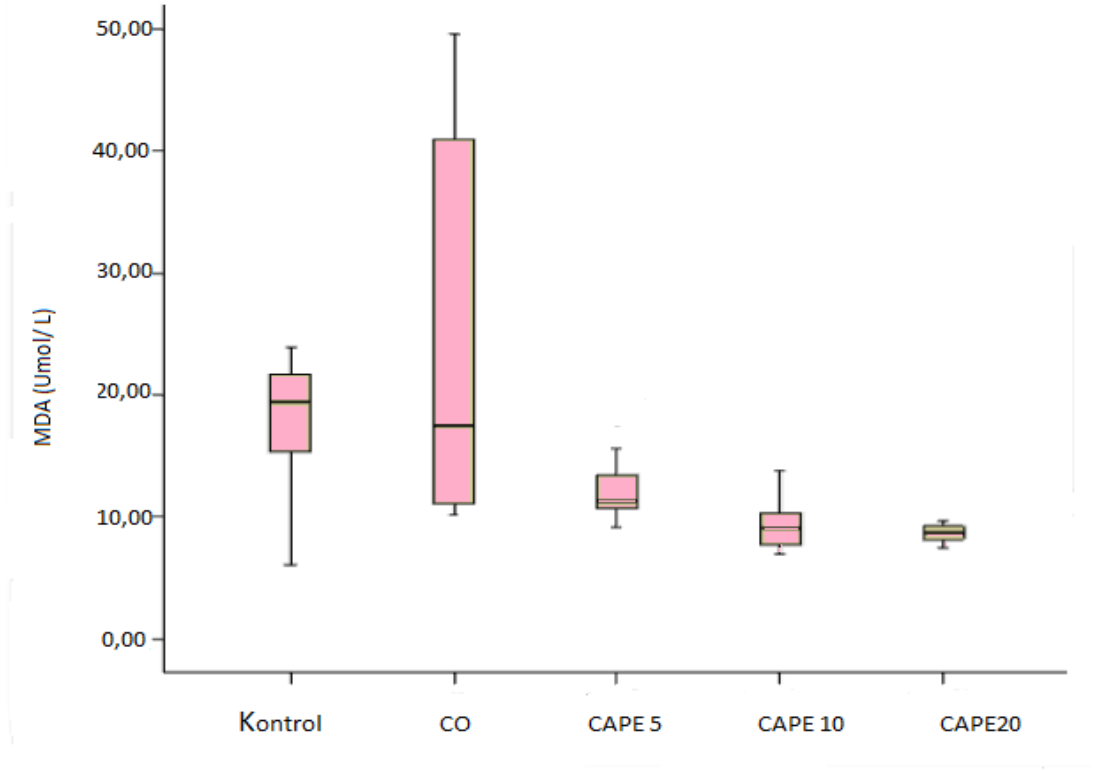
4. BULGULAR

Gruplar arasında plazma ve beyin MDA düzeyi ile pasif sakınma testi sonuçları açısından fark vardı ($p<0.05$). Grupların plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; CO grubu ile CAPE 10 ve CO grubu ile CAPE 20 grupları arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.01$) (Tablo 3. ve Şekil 5.). Gruplar arasında plazma glutatyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 3.).

Tablo 3. Plazmada ölçülen MDA ve glutatyon düzeyleri

Gruplar	MDA (umol/L)	Glutatyon (mg/L)
Kontrol	19.46 (6.05-23.93)	6.27 (1.00-9.34)
CO	17.43 (10.11-49.57)	5.42 (2.36-7.20)
CAPE 5	11.28 (9.20-17.97)	4.12 (2.17-9.60)
CAPE 10	9.04 (6.99-13.75) ^a	2.56 (2.16-13.19)
CAPE 20	8.71 (7.49-9.62) ^b	3.25 (2.16-12.94)

Veriler ortanca (minimum- maksimum) şeklinde verilmiştir. ^a CO grubu-CAPE 10 grubu, $p<0.01$; ^b CO grubu- CAPE 20 grubu, $p<0.01$.



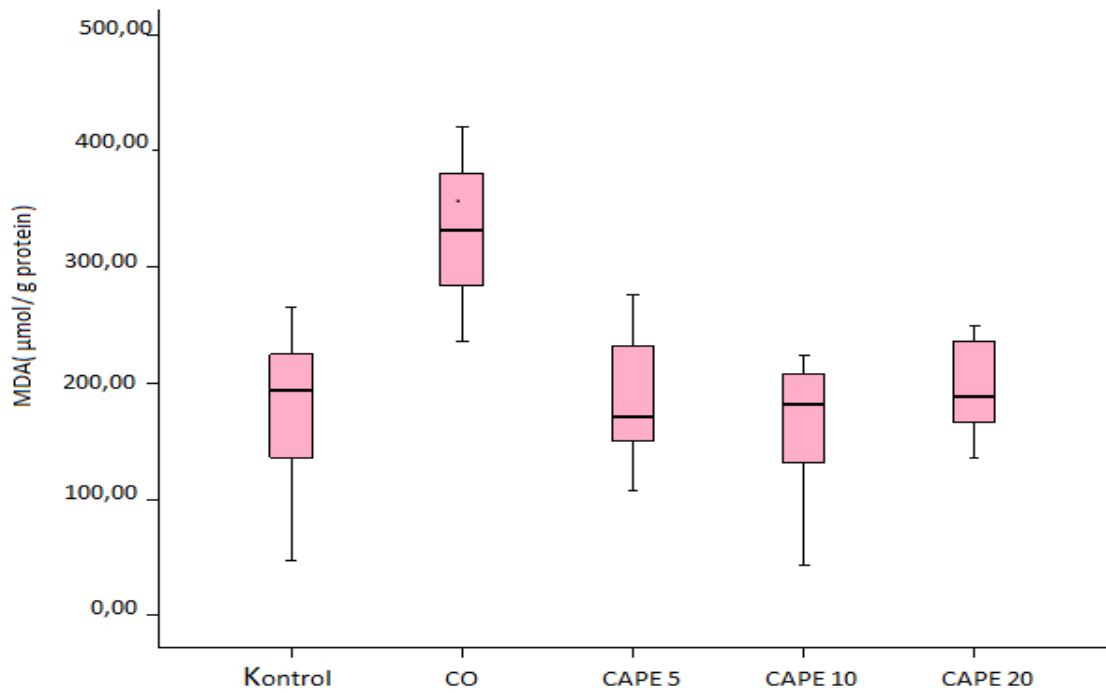
Şekil 5. Plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Grupların beyin dokusundaki MDA ve glutatyon düzeyleri incelendiğinde; beyin MDA düzeylerinde kontrol ile CO grubu, CO ile CAPE 5 grubu, CO ile CAPE 10 grubu ve CO ile CAPE 20 grupları arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.01$) (Tablo 4. ve Şekil 6.). Beyin dokusunda glutatyon düzeyleri incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4).

Tablo 4. Beyin dokusunda ölçülen MDA ve glutatyon düzeyleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/g protein}$)	Glutatyon (mg/gprotein)
Kontrol	194.43 (47.13-265.76)	0.32 (0.19-0.53)
CO	332.07 (235.85-420.82) ^a	0.30 (0.21-0.88)
CAPE 5	170.59 (106.96-276.20) ^b	0.33 (0.23-1.24)
CAPE 10	181.53 (42.88-223.60) ^c	0.50 (0.26-1.04)
CAPE 20	188.03 (136.25-249.04) ^d	0.28 (0.17-0.65)

Veriler ortanca (minimum- maksimum) şeklinde verilmiştir. ^aKontrol-CO grubu, $p<0.01$; ^bCO-CAPE 5 grubu, $p<0.01$; ^cCO-CAPE 10 grubu, $p<0.01$; ^dCO-CAPE 20 grubu, $p<0.01$.



Şekil 6. Beyin dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Kalp dokusundaki MDA ve Glutasyon düzeyleri incelendiğinde; çalışma gruplarının kalp MDA düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ve kalp glutasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.01$) (Tablo 5).

Tablo 5. Kalp dokusunda ölçülen MDA ve glutasyon düzeyleri

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/g protein}$)	Glutasyon (mg/g protein)
Kontrol	10.83 (6.41-27.99)	16.91 (8.36-22.11)
CO	14.06 (10.43-41.28)	13.25 (6.65-24.81)
CAPE 5	14.50 (7.33-20.96)	11.04 (9.52-31.13)
CAPE 10	15.73 (7.84-20.44)	12.42 (8.44-24.40)
CAPE 20	13.78 (5.85-27.81)	11.63 (10.26-28.99)

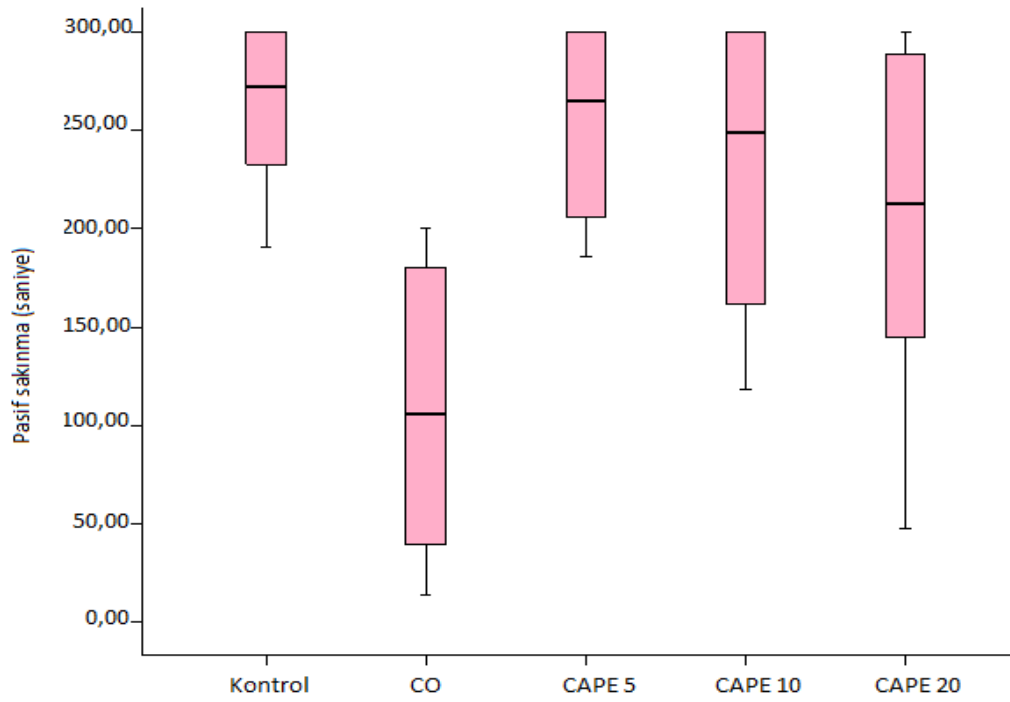
Veriler ortanca (minimum- maksimum) şeklinde verilmiştir.

Grupların pasif sakınma testleri incelendiğinde; kontrol ile CO grubu ve CO ile CAPE 5 ve CO ile CAPE 10 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.01$) (Tablo 6, Şekil 7).

Tablo 6. Grupların pasif sakınma test sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar	Pasif sakınma testi (sn)
Kontrol	272,50 (191-300)
CO	105.50 (13.6-200) ^a
CAPE 5	265.00 (54.10-300) ^b
CAPE 10	249.05 (118.5-300) ^c
CAPE 20	212.75 (47.8-300)

Veriler ortanca (minimum- maksimum) şeklinde verilmiştir. ^aKontrol-CO grubu, $p<0.01$; ^bCO-CAPE 5 grubu, $P<0.01$; ^cCO-CAPE 10 grubu, $P<0.01$.



Şekil 7. Pasif sakınma testlerinin karşılaştırılması

Grupların lokomotor aktivite test sonuçları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.01$) (Tablo 7).

Tablo 7. Grupların lokomotor aktivite sonuçları

Gruplar	Lokomotor aktivite testi hareket sayısı/ 5 dakika
Kontrol	39.5 (20-127)
CO	38 (11-124)
CAPE 5	40.5 (10-150)
CAPE 10	42.5 (10-83)
CAPE 20	28.5 (10-175)

Veriler ortanca (minimum- maksimum) şeklinde verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Karbonmonoksit zehirlenmeleri tüm dünyadaki ölümcül zehirlenmelerin yarısından fazlasından sorumlu tutulmaktadır (5). Yüksek metabolik hızlarından ötürü beyin ve kalp gibi oksijene fazla miktarda ihtiyaç duyan organlar CO zehirlenmesine daha duyarlıdır (19). Klinik semptomlar genellikle nonspesifik olup zehirlenen olguların bir kısmında ölüm veya kalıcı nörolojik hasar gelişebilmektedir (9,11). CO zehirlenmelerinde mortaliteden büyük ölçüde ventriküler disritmiler ve nörolojik sekeller sorumludur (35).

Beyin, CO zehirlenmesine karşı oldukça duyarlıdır. CO zehirlenmesi sonrası beyinde etkilenme süresi ile ilgili olarak değişen derecelerde nekroz, beyaz cevherde peteşial lezyonlar, fokal nekrotik bölgeler, demyelinizasyon alanları ve globus pallidus nekrozu gibi bulgular olabilmektedir. Hastaların %5-40' nda maruziyetten haftalar sonra geç nöropsikiatrik hasar veya geç nörolojik sendrom, zayıf konsantrasyon, bilinçsel bozulma, hafıza kaybı gelişebilmektedir (28).

Kalp gibi yüksek miktarda oksijen kullanan organlarda CO'nin belirgin bir şekilde myoglobine bağlanması ile aerobik metabolizma için gerekli oksijen azalır ve mitokondrial hipoksi ortaya çıkar. Dolayısıyla bu durum kalp kasının kasılmasını ve kardiyak debiyi azaltır. Bunun yanında CO'nun miyokardiyal mitokondri üzerinde direk toksik etkisi de söz konusudur. Miyokardiyal hasarın histolojik özellikleri subendokardiyumda daha belirgin olmak üzere fokal nekrozis alanlarını, fokal perivasküler infiltrasyonları ve noktasal hemorajileri içerir (24).

Karbon monoksit zehirlenmesindeki patofizyolojik temel henüz çok açık değildir. Ancak son zamanlardaki çalışmalar birçok mekanizmanın rol oynadığını düşündürmektedir. Bu mekanizmalardan biri CO'nin sebep olduğu hipoksiyi takiben reoksijenizasyon ile SSS'de ortaya çıkan hasardır. Hiperoksijenizasyon, parsiyel redükte oksijen radikallerine yol açmakta bunlar esansiyel protein ve nükleik asitleri oksidize etmekte ve tipik reperfüzyon hasarını ortaya çıkarmaktadır. Buna ilaveten CO maruziyetinin lipid peroksidasyonuna sebep olduğu da gösterilmiştir. Örneğin doymamış yağ asitlerinin degradasyonu SSS lipidlerinin reversibl demiyelinizasyonuna sebep olur. CO maruziyeti aynı zamanda oksijen radikallerinin üretimi ile hücreler üzerinde substansiyal oksidatif stres yaratmaktadır (21).

Günümüzde kullanılan tedavi yöntemlerinin bazıları hayvan deneyleri sonrası edinilen bilgilere dayanmaktadır. Yardan ve ark. (90) tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlara 3000 ppm CO ve hava karışımı 16 L' lik plastik bir kutuda 4 L/ dakika dozda 30 dakika boyunca uygulanmış ve CO zehirlenmesi oluşturulmuştur. Biz de yaptığımız bu çalışmada sıçanlara aynı doz ve sürede CO uygulayarak CO zehirlenmesi gerçekleştirdik. Braver ve ark. (91) da aynı deney modelini daha uzun süreli CO uygulayarak kullanmışlardır.

CAPE yapıcı flavonoidlere benzeyen propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir ve iki halkasal yapıya sahiptir (83). Bu halkasal yapılardan bir tanesi molekülün tüm kimyasal özelliklerini gösteren fonksiyonel iki OH- grubu taşır. Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp vererek oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir. CAPE'nin hepatotoksiteden koruyucu, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immünomodülatör, nöroprotektif ve sitostatik etkileri olduğu bildirilmiştir (83). Literatürde CAPE'nin antioksidan özelliğini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda sıçanlara 10 µmol/kg dozunda CAPE uygulanmasının antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (87-88).

Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleriyle etkileşmesi sonucu başlar. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir. Oksidatif strese maruz kalan dokularda düzeyinde artış görülür. Başka bir deyişle plazma MDA düzeyi oksidatif stres için potansiyel bir biyomarker olarak kullanılabilir (42). Pari ve ark. (92) çalışmalarında; sıçanlara etanol vererek oksidatif stres oluşturmuş ve plazma MDA düzeylerini incelemişlerdir. Plazma MDA değerlerinin etanol verilen grupta kontrol grubuna göre arttığını tespit etmişlerdir. Oktar ve ark. (87) yaptıkları çalışmada; sıçanları isoproteronolle zehirlemiş ve CAPE'nin hasarı önlemedeki etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada sıçanlardan alınan plazma ve kalp doku örneklerinde MDA düzeyi incelenmiştir. Zehirlenme grubunda MDA düzeyleri artarken, CAPE verilen grupta MDA seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir. Vardı ve ark. (88) sıçanlarda gentamisin toksitesi oluşturduktan sonra CAPE'nin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada MDA düzeylerinin zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre arttığını ve CAPE tedavisi verilen grupta MDA'nın normal sınırlara geri döndüğünü tespit etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada sıçanlara i.p. CO verilerek

zehirlenme oluşturulmuş ve plazma MDA düzeyleri incelenmiştir (93). Bu çalışmada Wang ve ark. plazma MDA düzeylerinin zehirlenme grubunda anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda; plazma MDA düzeyleri, kontrol grubuna göre CO grubunda artma eğiliminde olmasına rağmen, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bununla birlikte plazma MDA düzeyleri CAPE 10 ve CAPE 20 gruplarında, CO grubundan anlamlı olarak düşük saptandı. Ayrıca CAPE 10 ve CAPE 20 gruplarının plazma MDA düzeyleri kontrol grubundan farklı değildi. Bu sonuç CAPE'nin CO'ye bağlı gelişen oksidatif hasara karşı savunma oluşturduğunu ve lipid peroksidasyonunu önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Wang ve ark. (93) CO ile zehirlenen sıçanlarda beyin dokusu MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da CO grubunun beyin dokusunda MDA seviyesi diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti. CAPE verilen diğer 3 grubun MDA düzeyleri kontrol grubundan farklı değildi. CO grubunda MDA seviyesinin yüksek bulunması CO zehirlenmesi ile beyin dokusunda oksidatif stres oluştuğunu göstermektedir. CAPE gruplarında MDA düzeyinin CO grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunması ise CAPE'nin beyin dokusunda oksidatif stres oluşumunu engellediğini düşündürmektedir.

Oktar ve ark. (87) sıçanlarda isoproteronol ile oluşturdukları zehirlenme modelinde kalp dokusunda MDA düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada uygulanan CAPE ile artan MDA düzeylerinin azaldığını raporlamışlardır. Benzer şekilde Özer ve ark. (94) sıçanlarda koroner oklüzyona sekonder myokard iskemisi oluşturmuşlar ve CAPE'nin reperfüzyon hasarı üzerindeki antioksidan etkisini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada iskemi oluşturulan grupta kalp dokusunda MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiş, iskemi ile beraber CAPE verilen grupta ise MDA düzeylerinin artışının engellendiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise CO grubunun kalp dokusunda ki MDA düzeyleri kontrol grubu ve CAPE gruplarında farklı değildi. Bu sonucun kullandığımız CO miktarının kalpte lipid peroksidasyonunu ortaya koyacak düzeyde olmamasıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Glutasyon, enzimatik olmayan antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Redükte glutasyon/okside glutasyon oranı, oksidatif durumlarda azalır (63). Glutasyon beyinde önemli bir antioksidan moleküldür ve oksidasyon redüksiyon

reaksiyonlarında glutatyon peroksidaz için subsrat rolü oynar. Daha önceki çalışmalar glutatyon seviyesinin ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin CO zehirlenmesinde belirgin derecede düştüğünü ve antioksidan kapasitenin etkilendiğini göstermiştir (93). Taşkiran ve ark. (95) yaptıkları çalışmada sıçanlardan elde edilen beyin dokusuna dış ortamda uyguladıkları CO sonrasında, mitokontriyal glutatyon düzeyinin yanısıra sitokrom c oksidaz aktivitesinin de azaldığını bildirmişlerdir. Patel ve ark. (96) sıçanlardan alınan kalp dokusuna CO uygulamışlar ve glutatyon düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca daha sonra verilen bir antioksidanın glutatyondaki azalmayı engellediğini bildirmişlerdir. Ozer ve ark. (94) yaptıkları çalışmada sıçanlarda koroner oklüzyon sonrası oluşan myokard iskemisinde CAPE'nin reperfüzyon hasarı üzerindeki antioksidan etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada iskemi oluşturulan grupta kalp doku glutatyon düzeylerinin düştüğü tespit edilmiş, iskemi ile beraber CAPE verilen grupta ise glutatyon düzeylerinin düşüşünün engellendiği bulunmuştur. Zhang ve Piantadosi (97), yaptıkları çalışmada; CO'ya maruz kalan sıçan beyin dokusunda mitokondrial indirgenmiş glutatyonun oksitlenmiş glutatyona oranının azaldığını, oksidatif stresin 0. ve 120 dakikalarda maksimuma ulaştığını ve daha sonra bu oranın normale geldiğini bildirmişlerdir. Wang ve ark. (93) CO zehirlenmesi oluşturulan sıçanlarda serum ve beyin örneklerinden seri glutatyon düzeylerini incelemişler serum ve beyinde 1. gün artan glutatyon düzeylerinin; serumda daha sonra normal düzeylere gerilediğini, beyin dokusunda ise 1. gün artan glutatyonun ancak 7. günden sonra azaldığını saptamışlardır. Bu sonuçlar CO zehirlenmesinde glutatyon düzeylerinin zamansal değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Biz çalışmamızda beyin ve kalp dokusu ile plazma glutatyon düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulamadık. Çalışmamızda ki örnekler zehirlenmeden sonraki 5. günde alınmıştır. Bu süre içerisinde olası değişen glutatyon düzeyleri tekrar normal düzeylere dönmüş olabilir. CO zehirlenmesinde farklı dozlarda ve seri ölçümler ile glutatyon düzeylerini incelemenin daha yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan gecikmiş nöron hasarı entelektüel fonksiyon kaybı, kısa süreli hafıza kaybı, yürüyüş bozuklukları, nöbet, kortikal körlük, emosyonel bozukluklar ve psikoza neden olabilir. CO zehirlenmesinde ki gecikmiş nöron hasarının ana klinik semptomu hafıza disfonksiyonudur. CO, dezoryantasyona neden olabilir ve CO toksisitesinin iyileşmesinden günler sonra da bilinçte değişiklikler görülebilir. CO

zehirlenmesindeki bilinç kayıplarının 3 gün veya daha fazla sürede de ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (94). Pasif sakınma testi öğrenme ve belleği incelemek için kullanılan bir testtir. Sıçanlar biri aydınlık diğeri karanlık olmak üzere arada bir giotin kapısı ile birbirine bağlı 2 bölmeli bir alet ile test edilirler. Işıklı alana konulan ve daha sonra karanlık alana geçmelerine izin verilen ancak karanlık odada elektrik şokuna maruz bırakılan sıçanların zehirlenme sonrasında bu deneyimi hatırlayıp hatırlamamaları üzerine kurulmuş bir hafıza testidir (98). Wang ve ark. (93) sıçanlarda CO zehirlenmesinden sonra öğrenme ve hafızanın zarar görüp görmediğini test etmek amacı ile pasif sakınma testini uygulamışlardır. Bu çalışmada CO'ya maruz kalan sıçanlarda pasif sakınma testi sonuçlarına göre hafıza fonksiyonu olumsuz olarak etkilenmiştir. Bu çalışmada ilk 3 günde azalan test sonuçları, takip eden 18 gün boyunca düşük seviyelerde kalmış ve CO zehirlenmesine bağlı gelişen öğrenme ve hafıza kaybının beyinde gelişen oksidatif hasar ile ilişkisi olabileceği bildirilmiştir. Biz çalışmamızda CO zehirlenmesi yaptığımız sıçanlarda öğrenme ve hafıza üzerinde CAPE'nin tedavi edici etkisinin olup olmadığını incelemek için pasif sakınma testini uyguladık. CO zehirlenmesi yaptığımız gruptaki sıçanların pasif sakınma test sonuçları CO grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşüktü. Ayrıca CO grubu ile CAPE 5 ve CAPE 10 grupları arasında anlamlı fark vardı. Çalışmamızın sonuçları CAPE'nin CO zehirlenmesinde oluşan öğrenme ve hafıza bozukluğu üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Karbon monoksit zehirlenmesi sonrası etkilenen iskelet kaslarında da hasar gelişebilmektedir. Zehirlenme sonrasında Volkmann's kontraktürü ve osteomyelit de kas nekrozunun komplikasyonu olarak gelişebilir (28). Lokomotor aktivite (LMA) testi; deney hayvanlarının spontan aktivitesinde ki değişiklikleri saptamak için kullanılır. Bu test kullanılarak ilaçların sedatif, kas gevşetici ve psikostimülan etkileri hakkında fikir edinilebilir. Ayrıca deneklerin agresivitesi ve anksiyetesi de lokomotor aktivite ölçümleri ile değerlendirilebilir (98). Özyürek ve ark. (99) prenatal dönemde levetiracetama maruz kalan yavru sıçanlarda motor ve kognitif fonksiyonlarda teratojenik etki oluşup oluşmadığını incelemek için LMA testini kullanmışlar ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit etmemişlerdir. Dolayısıyla levetiracetamın gebelikte epileptik durumlar için umut verici olduğunu ifade etmişlerdir. Reckziegel ve ark. (100) sıçanlarda oluşturdukları akut demir zehirlenmesi modelinde; bir antioksidan olan

Gallik asit'in LMA üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada demirin oksidatif hasar ile motor hasara yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca bu hasarın azalan LMA testi ile tespit edildiği, Gallik asit'in oksidatif stres'i azalttığı ve motor fonksiyonları da kısmen iyileştirdiği bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda sıçanların motor fonksiyonlarını incelemek amacıyla LMA testini uyguladık. Çalışmamızda CO grubu ile diğer gruplar arasında lokomotor aktivite test sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu sonuç kullanılan CO dozunun lokomotor aktivite üzerinde belirgin etki oluşturmaması ile açıklanabilir. Bu sonuç aynı zamanda pasif sakınma testi ile elde edilen sonuçların hafıza ile ilişkili olduğunu, lokomotor yetersizlikten kaynaklanmadığını desteklemektedir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda CO'nun farklı dozlarda ve sürelerde uygulanmasının, LMA ve CO zehirlenmesi arasındaki olası ilişkiyi değerlendirmede faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

1. Sıçanlarda CO zehirlenmesinde beyinde lipid peroksidasyonu oluşmaktadır.
2. CAPE tedavisi CO zehirlenmesinde lipid peroksidasyonu oluşumunu önlemektedir.
3. CO zehirlenmesinde öğrenme ve hafıza fonksiyonları olumsuz etkilenmektedir.
4. CAPE CO zehirlenmesinde oluşan öğrenme ve hafıza bozukluğu üzerinde olumlu etkilere sahiptir.
5. CAPE'nin CO zehirlenmesindeki olumlu etkilerinin hem deneysel hem de klinik çalışmalarla desteklenmesi yararlı olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Raub JA, Mathiue-Nolf M, Hampson NB, et al. Carbonmonoxide poisoning-a public healthperspective. *Toxicology*. 2000; 145: 1-14.
2. Elif D, Akgur SA, Ozturk P, et al. Fatal poisonings in the Aegean region of Turkey. *Vet Hum Toxicol*. 2003; 45: 106-8.
3. Van Meter KW. Carbon Monoxide Poisoning. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS (eds), *Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide* (6th ed) McGraw-Hill, New York 2004; 1238-42.
4. Satran D, Henry CR, Adkinson C, et al. Cardiovascular menifestations of moderate to severe carbonmonoxide poisoning. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 45:1513-16.
5. Kao LW, Nanagas KA. Carbon monoxide poisoning. *Emerg Med Clin North Am*. 2004; 22: 985-101.
6. Gorman D, Drewry A, Huang YL, et al. The clinical toxicology of carbonmonoxide. *Toxicology*. 2003; 187: 25-38.
7. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. 2002; 73: 53-63.
8. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, et al. Caffaic acid phenethyl ester as a lipoxxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett*. 1993; 329: 21-24.
9. Varon J, Marik PE. Carbon monoxide poisoning. *The Internet Journal of Emergency and Intensive Care Medicine*. 1997; 1: 2
10. Tomaszewski C. Carbon monoxide poisoning. Early awareness and intervention can save lives. *Postgrad Med*. 1999; 105:43-8.
11. Meredith T, Vale A. Carbon monoxide poisoning. *Br Med J*. 1988; 296: 77-8.
12. Turner M, Hamilton-Farrell MR, Clark RJ. Carbonmonoxide poisoning: an update. *J Accid Emerg Med*. 1999; 16: 92-6
13. Harper A, Croft-Baker J. Carbon monoxide poisoning: undetected by both patients and their doctors. *Age Ageing*. 2004; 33: 105-9.
14. Phin N. Carbon monoxide poisoning (acute). *Clin Evid*. 2005; 13: 1732-43
15. Hardy KR, Thom SR. Pathophysiology and treatment of carbon monoxide poisoning. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. 1994; 32: 613-617
16. Omaye ST. Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity. *Toxicology*. 2002; 180: 139-50.

17. Kao LW, Nanagas KA. Carbon Monoxide Poisoning. *Emerg Med Clin N Am*. 2004; 22: 985-1018.
18. Domachevsky L, Adir Y, Grupper M, et al. Hyperbaric oxygen in the treatment of carbon monoxide poisoning. *Clin Toxicol (Phila)*. 2005; 43: 181-8.
19. Raub JA, Benignus VA. Carbon monoxide and the nervous system. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002; 26: 925-40.
20. Şen H, Özkan S. Karbon monoksit zehirlenmesi. *TAF Prev Med Bull*. 2009; 8: 351-356.
21. Handa PK, Tai DY. Carbon monoxide poisoning: a five year review at Tan Tock Seng Hospital, Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2005; 34: 611-4.
22. Kandiş H, Katırcı Y, Karapolat BS. Karbon monoksit zehirlenmesi. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; 11: 54-60.
23. Gandini C, Castoldi AF, Candura SM, et al. Carbon monoxide cardiotoxicity. *Clin Toxicol*. 2001; 39: 35-44.
24. Çelik T, Kuşaklıoğlu H, İyisoy A ve ark. Karbon monoksit Zehirlenmesi Sonrası Gelişen Akut Miyokard İnfarktüsü Olgusu. *Gülhane Tıp Dergisi*. 2005; 47: 67-69.
25. Aslan Ş, Erol MK, Karcıoğlu Ö ve ark. Karbon monoksit zehirlenmeli hastalarda iskemik miyokardiyal hasarın araştırılması. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2005; 5: 189-193.
26. Yürüktümen A. Karbon monoksit zehirlenmesi. Satar S (editor). *Acilde Klinik Toksikoloji*. 1.Baskı, Adana: Nobel, 2009: 577-580.
27. Prockop LD, Chichkova RI. Carbon monoxide intoxication: an updated review. *J Neurol Sci*. 2007; 262: 122-30.
28. Choi IS. Carbon monoxide poisoning: systemic manifestations and complications. *J Korean Med Sci*. 2001; 16: 253-61.
29. Doherty S. History, pathophysiology, clinical presentation and role of hyperbaric oxygen in acute CO poisoning. *Emerg Med*. 2000; 12: 55-61.
30. Von Burg R. Carbon monoxide. *J Appl Toxicol*. 1999; 19: 379-86.
31. Knobeloch L, Russhawn J. Recognition of chronic carbon monoxide poisoning. *WMJ*. 1999; 98: 26-29.

32. Kandis H, Katırcı Y, Çakır Z ve ark. Acil Servise Karbon Monoksit Entoksikasyonu ile Başvuran Olguların Geriye Dönük Analizi. Akademik Acil Tıp Dergisi. 2007; 5: 21-5.
33. Katırcı Y. Karbon monoksitle zehirlenen hastalarda nöropsikiyatrik bozuklukların sıklığı ve ilişkili etmenler. Uzmanlık Tezi; Erzurum, 2005.
34. Weaver LK. Carbon Monoxide Poisoning N Engl J Med. 2009; 360: 1217-25.
35. Saraçel M, Özen H, Özçelik UT. Karbon monoksit zehirlenmesi. Katkı Pediatri Dergisi. 1990; 11: 327-33.
36. Chang KH, Han MH, Kim HS, et al. Delayed Encephalopathy after Acute Carbon Monoxide Intoxication: MR Imaging Features and Distribution of Cerebral White Matter Lesions. Radiology. 1992; 184: 117-122.
37. Horowitz AL, Kaplan R, Sarpel G. Carbon Monoxide Toxicity: MR Imaging of the Brain. Radiology. 1987; 162: 787-88.
38. Burney RE, Wu SC, Nemiroff MJ, et al. Mass carbon monoxide poisoning: Clinical effects and results of treatment in 184 victims. Ann Emerg Med. 1982; 11: 394- 9.
39. Hampson NB, Mathieu D, Piantadosi CA, et al. Carbon monoxide poisoning: interpretation of randomized clinical trials and unresolved treatment issues. Undersea Hyperb Med. 2001; 28: 157-64.
40. Valko M, Rhodes C J, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol. Interact. 2006; 160: 1-40.
41. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al . Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007; 39: 44-84.
42. Kovacic P, Jacintho J D. Mechanisms of carcinogenesis: Focus on oxidative stress and electron transfer. Curr. Med. Chem. 2001; 8: 773-796.
43. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 2002; 82: 47-95.
44. Thomas MJ: The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? Crit Rev Food Sci Nutr. 1995; 35: 21-39.
45. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982; 47: 412-26.

46. Scheibmeir HD, Christensen K, Whitaker SH, et al. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs.* 2005; 21: 24-28.
47. Özyurt H. Deneysel olarak bleomisin ile sıçan akciğerinde oluşturulan fibroziste serbest radikallerin rolü ve fibrozis oluşturan mekanizmalar üzerine kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) etkisi. Doktora tezi, İnönü Üniversitesi, 2002.
48. Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler. Mimoza Yayınları, Konya. 1995; 1-132.
49. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochemistry.* 1984; 22: 1-15.
50. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press Inc., New York, 1999, p.661.
51. Stadtman ER. Role of oxidant species in aging. *Curr Med Chem.* 2004; 11: 1105–12.
52. Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, et al. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: The contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom. Rev.* 2005; 24: 55–99.
53. Thom SR, Xu YA, Ischiropoulos H. Vascular endothelial cells generate peroxynitrite in response to carbon monoxide exposure. *Chem Res Toxicol* 1997; 10: 1023–1031.
54. Thom SR. Carbon monoxide mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J Appl Physiol.* 1990; 68: 997–1003.
55. Piantadosi CA. Biological chemistry of carbon monoxide. *Antioxid Redox Signal.* 2002;4: 259-70.
56. Piantadosi CA, Tatro L, Zhang J. Hydroxyl radical production in the brain after CO hypoxia in rats. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18: 603–609.
57. Piantadosi CA, Zhang J, Demchenko IT. Production of hydroxyl radical in the hippocampus after CO hypoxia or hypoxic hypoxia in the rat. *Free Radic Biol Med.* 1997; 22: 725–732.
58. Nishibayashi H, Tomura T, Soto R, et al. In: *Structure and Function of Cytochromes*. Baltimore, MD: University Park Press, 1968, p. 658.
59. Oshino N, Sugano T, Oshion R, et al. Mitochondrial function under hypoxic conditions: the steady states of cytochrome a + a₃ and their relation to mitochondrial energy states. *Biochim Biophys Acta.* 1974; 368: 298– 310.

60. Piantadosi CA. Carbon Monoxide, reaktive oxygen signaling and oxidative stres. Free radikal med. 2008; 1: 562-69.
61. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. Toxicol. 2003; 189: 41-54.
62. Daloğlu AG. Deneysel diyabet oluşturulmuş ratlarda E vitamini ve kafeik asit fenetil ester'in (cape) antioksidan etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD. Isparta, 2003.
63. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90: 7915-7922.
64. Miquel J, Ramirez-Bosca A, Ramirez-Bosca JV, et al. Menopause: A review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. Arch Gerontol Geriatr. 2006; 42: 289-306.
65. Drisko JA, Chapman J, Hunter VJ. The use of antioxidant therapies during chemotherapy. Gynecologic Oncol. 2003; 88: 434-439.
66. Misso NL, Brooks-Wildhaber J, Ray S, et al. Plasma concentrations of dietary and nondietary antioxidants are low in severe asthma. Eur Respir J. 2005; 26: 257- 264.
67. Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. Eur J Pediatr. 2005; 164: 775-78.
68. Zhou FQ. Advantages of pyruvate over lactate in peritoneal dialysis solutions. Acta Pharmacol Sin. 2001; 5: 385-92.
69. Cetiner M, Sener G, Sehirli AO, et al. Taurine protects against methotrexate induced toxicity and inhibits leukocyte death. Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 209: 39-50.
70. Mollaoglu H. GSM 900 MHz telefonların oluşturduğu manyetik alanın etkisiyle meydana gelen oksidatif değişiklikler üzerine melatoninin etkisi. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD. Isparta, 2003.
71. Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem. 2004; 266: 37-56.
72. Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. J Mol Med. 1999; 77: 577-592.
73. Gilbert DL, Colton CA, eds. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach. Kluwer Acad./Plenum Pub. New York 1999.

74. Halliwell B. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase: solutions to the problem of lung with oxygen. *New Phyto*. 1974; 73: 1075-1086.
75. Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, et al. Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest*. 1986; 77: 319-21.
76. Orsolić N, Terzić S, Mihaljević Z, et al. Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28: 1928-1933.
77. Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg*. 1999; 34: 1458-1462.
78. Banskota A H, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis *Phytotherapy Research*. 2001; 15: 561–571.
79. Tosi B, Donini A, Romagnoli C. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy Research*. 1996; 10: 335–336.
80. Kimoto T, Arai S, Kohguchi M. Apoptosis and suppression of tumor growth by artemisinin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Prev*. 1998; 22: 506-15.
81. Castaldo S, Capasso F. Propolis an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 2002; 73: 1-6.
82. Black RJ. Vulval eczema associated with propolis sensitization from topical therapies treated successfully with pimecrolimus cream. *Clin Exp Dermatol*. 2005; 30: 91-2.
83. Wang X, Bowman PD, Kervin SM, et al. Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed Chromatogr*. 2007; 21: 343-50.
84. Natarajan K, Singh S, Burke TR, et al. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93: 9090-5.
85. From Wikipedia, the free encyclopedia Caffeic acid 2009 <http://en.wikipedia.org/>. Erişim tarihi: 01.01.2011.
86. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Research*. 1995; 15: 3576-83.

87. Oktar S, Aydın M, Yonden Z, et al. Effects of caffeic acid phenethyl ester on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2010; 10: 298-302.
88. Vardi N, Parlakpınar H, Öztürk F, et al. Gentamicin-induced nephrotoxicity and protective effect of caffeic acid phenethyl ester in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005; 19: 173-7.
89. Ögetürk M, Çolakoğlu N, Kuş MA, et al. Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Deneysel Akciğer Hasarında Kafeik Asit Fenetil Esterin Koruyucu Etkinliği. *F.Ü.Sağ. Bil. Tıp Derg.* 2009; 23: 57-61.
90. Yardan T, Meric M, Bozkurt A, et al. The role of heart-type fatty acid-binding protein in the evaluation of carbon monoxide poisoning in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2011; 30 :124-8.
91. Brvar M, Finderle Z, Suput D, et al. S100B protein in conscious carbon monoxide-poisoned rats treated with normobaric or hyperbaric oxygen. *Crit Care Med.* 2006; 34: 2228-30.
92. Pari L, Karthikesan K. Protective role of caffeic acid against alcohol-induced biochemical changes in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007; 21: 355-61.
93. Wang P, Zeng T, Li Zhang C, et al. Lipid Peroxidation was Involved in the Memory Impairment of Carbon Monoxide-induced Delayed Neuron Damage. *Neurochem Res.* 2009; 34: 1293–98.
94. Ozer MK, Parlakpınar H, Cigremis Y, et al. Ischemia-reperfusion leads to depletion of glutathione content and augmentation of malondialdehyde production in the rat heart from overproduction of oxidants: can caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protect the heart? *Mol Cell Biochem.* 2005; 273: 169-75.
95. Taskiran D, Nesil T, Alkan K. Mitochondrial oxidative stress in female and male rat brain after ex vivo carbon monoxide treatment. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26: 645-51.
96. Patel AP, John Moody A, Handy RD, et al. Carbon monoxide exposure in rat heart: glutathione depletion is prevented by antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 302: 392-6.
97. Zhang J, Piantadosi CA. Mitochondrial oxidative stress after carbon monoxide hypoxia in the rat brain. *J Clin Invest.* 1992; 90: 1193–99.

98. Uzbay T. Psikofarmakolojinin temelleri ve deneysel araştırma teknikleri, 1. Baskı, Ankara, 2004, sayfa 97.
99. Ozyurek H, Bozkurt A, Bilge S, et al. Effect of prenatal levetiracetam exposure on motor and cognitive functions of rat offspring. *Brain Dev.* 2010; 32: 396-403.
100. Reckziegel P, Dias VT, Benvegnú D, et al. Locomotor damage and brain oxidative stress induced by lead exposure are attenuated by gallic acid treatment. *Toxicol Lett.* DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.03.006