

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

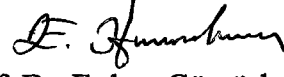
**UÇUCU ORGANİK BİLEŞİKLERE MARUZ KALAN İŞÇİLERDE
SERBEST RADİKAL VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİ**

Sibel BAYIL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
165005**

ŞUBAT-2005

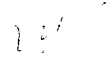
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğünün Onayı



Prof. Dr. Erdem Gümüşburun

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

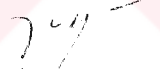
Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.



Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Yüksek Lisans” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

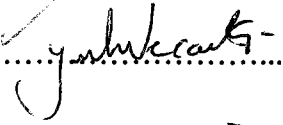


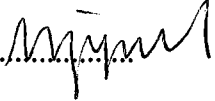
Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

Danışman

Tez Jürisi:

Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

Doç. Dr. Necat Yılmaz

Doç. Dr. A. Binnur Erbağcı.....

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
SEMBOLLER LİSTESİ VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. OKSİJEN VE CANLILAR	4
2.2.SERBEST RADİKALLER.....	5
2.2.1.KOVALENT BAĞLARIN HOMOLİTİK KIRILMASI İLE.....	5
2.2.2. NORMAL BİR MOLEKÜLÜN ELEKTRON KAYBETMESİ İLE.....	5
2.2.3. NORMAL BİR MOLEKÜLE ELEKTRON TRANSFERİ İLE.....	6
2.3. SERBEST RADİKAL TÜRLERİ.....	6
2.3.1. OKSİJEN VE OKSİJEN RADİKALLERİ.....	6
2.3.1.1. SPİN KISITLAMASI NASIL ANLAŞILIR.....	7
2.3.1.2. SÜPEROKSİT RADİKALI (O_2^-).....	8
2.3.1.3. HİDROJEN PEROKSİT.....	9
2.3.1.4. HİDROKSİL RADİKALI.....	10
2.3.1.5. ROO. (PEROKSİL RADİKALI)VE LİPİD PEROKSİDASYON OLUŞUMU.....	12
2.3.1.5.1. YAĞ ASİDİ OKSİDASYONUN MEKANİZMASI.....	12
2.3.1.6.LİPİD KARBOKSİLASYONU.....	18
2.3.1.7.SİNGLET OKSİJEN.....	19
2.3.1.8. RCOO $\cdot$ (ORGANİK PEROKSİT RADİKALI).....	20
2.3.1.9. $2HO_2^-$ (PERHİDROKSİL RADİKALI).....	20
2.3.1.10. RO $\cdot$ (ALKOKSİL RADİKALI).....	21
2.3.2. OKSİJEN TÜREVİ OLMAYAN SERBEST RADİKALLER.....	21
2.3.2.1.TİYOL BİLEŞİKLERİ (R-SH).....	21
2.3.2.2. KARBON MERKEZLİ RADİKALLER.....	21
2.3.2.3. HİDROJEN MERKEZLİ OLANLAR.....	21
2.3.2.4. DEMİR MERKEZLİ OLANLAR.....	22
2.3.2.5. AZOT MERKEZLİ RADİKALLER.....	22
2.3.2.5.1. NİTRİK OKSİT.....	22
2.3.3. RADİKAL OLMAYAN TOKSİK METABOLİTLER.....	24
2.3.3.1. HOCL (HİPOKLORÖZ ASİT).....	24
2.4. HÜCRE HASARI VE NEDENLERİ.....	24
2.4.1. HÜCRE HASARI İLE İLGİLİ GENEL BİYOKİMYASAL MEKANİZMALAR.....	24
2.4.2 HÜCRE HASARI FORMLARI.....	26

2.4.2.1. İSKEMİK HASAR.....	26
2.4.2.1.1. TERSİNİR HÜCRE ZEDELENMESİ.....	27
2.4.2.1.2. TERSİNMEZ HÜCRE ZEDELENMESİ.....	28
2.4.2.2. SERBEST RADİKALLERİN OLUŞTURDUĞU HÜCRE HASARI.....	28
2.4.2.3. TOKSİK VEYA KİMYASALLARIN OLUŞTURDUĞU HASAR.....	30
2.4.3. AKUT HÜCRE ZEDELENMESİNİN NEDENLERİ.....	32
2.5. SERBEST RADİKALLERE KARŞI ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ.....	33
2.5.1. ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR.....	34
2.5.1.1. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD).....	34
2.5.1.2. KATALAZ.....	36
2.5.1.3. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH – Px).....	36
2.5.1.4. GLUTATYON – S – TRANSFERAZ (GST).....	37
2.5.2. ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR.....	38
2.5.2.1. VİTAMİN C (ASKORBİK ASİT).....	38
2.5.2.2. VİTAMİN E (TOKOFEROL).....	39
2.5.2.3. VİTAMİN A (β-KAROTEN).....	40
2.5.2.4. MELATONİN.....	40
2.5.2.5. ÜRİK ASİT	41
2.5.2.6. ALBUMİN.....	41
2.5.2.7. SİSTEİN.....	41
2.5.2.8. BİLİRUBİN	41
2.5.2.9. SERULOPLAZMİN	42
2.5.2.10.FERRİTİN.....	42
2.5.2.11.TRANSFERRİN VE LAKTOFERRİN	42
2.5.2.12. HAPTOGLOBİN VE HEMOPEKSİN	42
2.5.2.13. MANNİTOL	42
2.5.2.14. OKSİPURİNOL	42
2.5.2.15. PROBUKOL	42
2.5.2.16.DEFORAKSAMİN (DFO)	42
2.5.2.17. LİPOİK ASİT	42
2.5.2.18. GLUTATYON.....	43
2.6. OKSİDATİF STRES	43
2.6.1. DNA OKSİDASYONU	45
2.6.2. PROTEİN OKSİDASYONU.....	46
2.6.3. KARBOHİDRAT OKSİDASYONU.....	46
2.7. KİMYASAL MADDE VE TOKSİSİTE PROBLEMLERİ.....	47
2.7.1. BOYA KİMYASALLARI VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ	48
2.7.2. UÇUCU ORGANİK BİLEŞİKLER (UOB).....	52
2.7.2.1. AMONYAK (NH ₃).....	53
2.7.2.2. FOSGEN(COCl ₂).....	53
2.7.2.3. KADMİYUM.....	54
2.7.2.4. BENZEN.....	54
2.7.2.5. KSİLEN.....	56
2.7.2.6. TRİKLORETİLEN.....	56

2.7.2.6. TOLUEN.....	57
3. MATERYAL VE METOD.....	59
3.1. ÇALIŞMA GRUBU.....	59
3.2. KONTROL GRUBU.....	59
3.3. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE HAZIRLANMASI.....	59
3.4. GEREÇLER.....	60
3.5. KULLANILAN KİMYASALLAR.....	60
3.6. LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ.....	61
3.7. SOD TAYİNİ.....	63
3.8. TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN ÖLÇÜMÜ.....	67
3.9. TESTİN PRENSİBİ.....	67
3.10. ÖRNEK TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI.....	68
3.11. ÖRNEK VE STANDART HAZIRLANMASI.....	68
3.13. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	70
4. BULGULAR.....	71
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	81
6. KAYNAKLAR.....	89
7. EKLER.....	100
7.1. EK I.....	100

Yüksek Lisans Tezi

UÇUCU ORGANİK BİLEŞİKLERE MARUZ KALAN İŞÇİLERDE SERBEST RADİKAL VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİ

BAYIL SİBEL

GAZİANTEP Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Ana Bilim Dalı

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

Şubat-2005, Sayfa 100

ÖZET

Uçucu organik bileşiklerin (UOB) sanayiide yaygın olarak kullanımından dolayı organik bileşiklere maruz kalmanın biyolojik etkileri son zamanlarda önemli bir hale gelmiştir. Bu çalışmanın amacı, uçucu organik çözücülerin çok kullanıldığı boya ve tekstil sanayiinde çalışan işçilerde lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim sistemlerinin nasıl etkilendiğini tespit etmektir. Çalışmaya 40 işçi dahil edildi. 20 kişi boya imalatında çalışan işçiler diğer 20'si tekstil fabrikasında çalışanlardı. Kontrol grubu 20 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Kan örnekleri alınmadan önce, bütün olguların 10-12 saat aç kalması sağlandı. MDA (Malondialdehid), TAK(Total Antioksidan Kapasite) ve ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat aminotransferaz) düzeyleri serumda çalışıldı. Eritrositlerde SOD aktivitesi çalışıldı. Hematolojik parametreler tam kan cihazı ile ölçüldü. Veriler SPSS 10,0 istatistik programında değerlendirildi. ANOVA ve Kruskall Wallis analiz testleri kullanıldı.

Boya grubunun serum MDA seviyesi tekstil ve kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan yüksek bulundu ($p<0,01$). Tekstil grubunun MDA düzeyi kontrol grubuna oranla daha yüksek bulundu ($p<0,01$). Eritrosit SOD aktivitesi, boya grubunda, tekstil ve kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$). Tekstil grubunun SOD aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0,01$).

Serum TAK seviyeleri, boya grubunda tekstil ve kontrol grublarına kıyasla daha düşük bulundu ($p<0,01$). Tekstil ve kontrol grubu TAK seviyeleri arasında istatistiksel açıdan fark bulunamadı ($p>0,05$). Boya grubunun Hb konsantrasyonu kontrol ve tekstil grubuna göre düşük bulundu ($p<0,01$). Tekstil grubunun Hb değeri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p<0,01$). Serum ALT ve AST düzeylerinde her üç grup arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Sonuç olarak, boya ve tekstil grubundaki artmış MDA seviyeleri lipid peroksidasyonunun arttığını işaret etmektedir. Ayrıca boya grubunun tekstil grubuna oranla artmış MDA seviyesi maruziyetin koşullara göre değişebileceğini göstermektedir. Buna karşın boya ve tekstil grubunun kontrol grubuna kıyasla artmış SOD aktivitesi lipid peroksidasyona karşı antioksidan sistemlerin çalıştığını göstermektedir. Bunun yanı sıra boya grubunda azalmış olan TAK diğer antioksidan sistemlerin kullanıldığına işaret olabilir.

Anahtar kelimeler : UOB, MDA, TAK, SOD, ALT, AST.

Masters Thesis

FREE RADICAL AND ANTIOXIDANT ENZYME LEVELS AT EXPOSURE OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN WORKERS.

BAYIL SİBEL

Gaziantep University Graduate School of Health Sciences
Department of Biochemistry

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

February-2005, 100 pages

Various effects of exposure to volatile organic compounds (VOCs) are recently became an important issue because of widespread use of VOCs in industry. The aim of this study was to determine volatile organic solvent-associated effects commonly used both in textile and paint industry on free radical level and antioxidant enzyme systems in workers who work in these factory. Forty workers were included in this study. Twenty workers were employed at manufacture in a paint factory and the other twenty were employed in a textile factory. Control group was constructed of twenty healthy people. Blood samples were drawn after an overnight fast of 10-12 hours. MDA (Malondialdehyde), TAC (Total antioxidant capacity) and ALT, AST levels were studied at serum. SOD activity was studied at erythrocyte. Haematologic parameters were measured by an automatic complete blood counter. Data were analysed with SPPSS 10.00 program. Stastical analysis was performed using ANNOVA and Kruskall- Wallis analysis tests.

MDA level was found to be elevated at the paint group than the textile group and the control group ($p<0,01$). Textile group's MDA level was found to be elevated than the control group ($p<0,01$). Erythrocyte SOD activity was significantly increased in the paint group compared to control and the textile group. Textile group's SOD activity was higher than control group ($p<0,01$). Serum TAC level was lower in the paint group compared to control and textile group ($p<0,01$). Whereas no stastical difference was observed in TAC levels between textile and control group ($p<0,01$).

Hemoglobin mean concentration in the paint group was found to be lower than the textile and the control group ($p < 0,01$). Hemoglobin concentration was lower in the textile group than the control group ($p < 0,01$). Serum ALT, AST levels were not significantly difference between among three groups ($p > 0,05$).

As a result, elevated MDA levels in the paint and the textile group may indicate that increased lipid peroxidation at exposure of long-term organic solvents. Beside this, increased MDA level in the paint group compared to the textile is shown that exposure can change due to the conditions. Whereas elevated SOD activity in the paint and the textile group compared to control exposes that antioxidant system is activated against to lipid peroxidation. However, decreased TAC level in the paint may indicate that other antioxidant system is used.

Key Words: VOC, MDA, TAC, SOD, ALT, AST

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca her türlü desteğini benden esirgemeyen, yardımlarını, sabrını ve iyi niyetini unutamayacağım danışmanım ve saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu'na, anlayışları ve bilimsel katkılarından dolayı biyokimya anabilim dalı hocalarım sayın Doç Dr. Necat Yılmaz, Doç. Dr. Binnur Erbağcı ve Yrd. Doç. Dr. İclal Geyikli'ye ve değerli abim biyokimya anabilim dalı Arş. Gör. Dr. Ahmet Çelik'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımnda beni motive eden ve desteklerini hep hissettiğim Farmokoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A.Tuncay Demiryürek ve Şehniz Demiryürek'e gönülden teşekkürler.

Tüm biyokimya çalışanlarına, hep yanımda hissettiğim aileme, gösterdikleri samimiyet ve ilgiden dolayı teşekkür ederim.



TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 Reaktif oksijen türevleri.....	7
Tablo 2.2 Başlıca reaktif oksijen türlerinin yarılanma süreleri.....	20
Tablo 2.3 Enzimatik antioksidanlar.....	34
Tablo 2.4 Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	38
Tablo 2.5. Organik çözücülerin yaygın olarak kullanıldığı yerler.....	50
Tablo 3.1 Çözeltilerin tüplere yerleştirilmesi.....	62
Tablo 3.2 SOD tayininde kullanılan çözelti miktarları ve tüplere yerleştirilmesi....	65
Tablo 3.3 SOD çözeltilerinin tüplere konulması.....	65
Tablo 3.4 Ksantin oksidaz miktarları.....	65
Tablo 3.5 SOD tayininde kullanılan çözeltilerin tüplere yerleştirilmesi.....	66
Tablo 3.6 Ksantin oksidaz paylaşılması.....	66
Tablo 3.7 Pipetleme programı.....	69
Tablo 4.1 Çalışmaya dahil edilen bireylerin genel verileri.....	71
Tablo 4.2 Boya ve tekstil grubunun arasındaki istatistiksel değerler.....	72
Tablo 4.3 Boya ve Kontrol grubunun arasındaki istatistiki bulgular.....	73
Tablo 4.4 Tekstil ve kontrol grupları arasındaki bulunan değerler.....	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. MDA'nın molekül yapısı.....	16
Şekil 2. Nitrik oksit sentezi.....	23
Şekil 3. Hücre hasarının oluşumu.....	29
Şekil 4. CCl ₄ 'ün toksik etkisi.....	31
Şekil 5. SOD'un in vitro koşullarda kimyasal ajana etkisi.....	39
Şekil 6. Glutasyon peroksidazın redoks reaksiyonu.....	37
Şekil 7. C vitamininin molekül yapısı	38
Şekil 8. Vitamin E 'nin molekül yapısı	40
Şekil 9. Glutasyon molekülünün yapısı	43
Şekil 10. Oksidatif denge.....	44
Şekil 11. Oksidatif stres	44
Şekil 12. Boya içerisindeki bileşenlerin hacimleri.....	49
Şekil 13. Benzenin DNA ile birleşimi.....	55
Şekil 14. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu MDA seviyelerini göstermektedir.....	75
Şekil 15. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu SOD seviyelerini göstermektedir.....	76
Şekil 16. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu TAK seviyelerini göstermektedir.....	77
Şekil 17. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu ALT seviyelerini göstermektedir.....	78
Şekil 18. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu AST seviyelerini göstermektedir.....	79
Şekil 19. 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu Hb seviyelerini göstermektedir.....	80

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

BHT	Bütanilli hidroksitoluen
BO	Benzen oksid
CAPS	3 – (sikloheksilamino) – propan sülfonik asit
ELISA	Enzim linked immunosorbent assay
GSH	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Glutasyon oksidaz
HpETE	12-L- Hidroperoksil 5,8,10,14 eikozatetraenoik asit
HETE	12-L- Hidroksil 5,8,10,14 eikozatetraenoik asit
DiHpETE	12-L- Dihidroperoksil 5,8,10,14 eikozatetraenoik asit
L [•]	Yağ asidi radikali
LO [•]	Lipit alkoksil radikali
LOO [•]	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipithidroperoksit
LPO	Lipooksijenaz
MDA	Malondialdehit
NIOSH	Mesleki sağlık ve güven için uluslararası enstitü (National Institute for Occupational Safety and Health)
PCO	Protein Karbonil
PHS	Prostaglandin hidrojen sentaz
PUFA	Poliansatüre yağ asidi
ROM	Reaktif oksijen metabolitleri
SBP	Çözücü-bazlı boya (Solvent-based paint)
SOD	Süperoksit dismutaz
TAK	Toplam Antioksidan Kapasite (Total antioxidant level)
TBARS	Tiyobarbütirik asitle reaksiyon veren maddeler
UOB	Uçucu organik bileşik
WBP	Su-bazlı boya (Water-based paint)
SBP	Çözücü-bazlı boya (Solvent-based paint)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde vücudumuz bir çok potansiyel olarak zararlı dış etkenlere maruz kalmaktadır. İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen metabolitleri (ROM) insan vücudunda meydana gelen biyokimyasal tepkimeler sırasında sürekli olarak oluşmaktadır ve bu oluşumları sigara kullanımı, karsinogenik metaller (krom, demir ve kurşun gibi) asbest ve metal içerikli partiküller gibi kimyasallarla karşı karşıya kalmak tetiklemektedir (1) .

Hücrelerin bazı kimyasal maddelerle karşı karşıya kalması harabiyete sebep olur. Kimyasal maddeler genel olarak iki mekanizma ile hasar oluştururlar:

1. Kimyasal maddelerin bir kısmı bazı kritik moleküler yolla hasar oluşturur veya hücresel organelle bağlanarak direkt olarak etkili olurlar. Bu durumlarda genellikle kimyasalları kullanan, absorbe eden, salgılayan ve konsantre eden hücrelerde daha çok hasar meydana gelir. Örneğin; civa klorürle etkileşimde gastrointestinal sistemde ve böbrekte bu etki gözlenir.

2. Kimyasal maddelerin birçoğu biyolojik olarak aktif değildir, etkili olabilmeleri için reaktif toksik metabolitlere çevrilmelidir. Aktif hale geldikten sonra hedef hücrede rol oynayabilirler. Örneğin; karbon tetraklorür kuru temizleme endüstrisinde sıklıkla kullanılır. CCl_4 'ün toksik etkisi serbest radikal olan $\cdot CCl_3$ 'e dönüşümü sonrasında ortaya çıkar (2).

Uçucu organik bileşiklerin yaygın kullanımından dolayı organik bileşiklere maruz kalmanın çeşitli etkileri ile ilgili çok farklı araştırmalar yapılmaktadır. Düşük konsantrasyonda uçucu organik bileşikler (UOB), öfori, baş ağrısı ve baş dönmesi gibi semptomlara yol açabildiği gibi yüksek konsantrasyonları anestezi ve solunum sisteminde hasara sebep olmaktadır (3).

Epidemiolojik çalışmalarda, uzun süreli çözücüye maruz kalan mesleklerde sinir sistemi, solunum sistemi ve davranışlar üzerinde yan etkilerin oluşabileceğini belirlemektedir (4). Bu mesleklerden bir tanesi de boya imalatında ve tekstil boyamada çalışanlardır.

Boyalar içerdikleri kimyasal maddelere göre 2 gruba ayrılırlar :

1. Su bazlı (water-based paint) (WBP)
2. Çözücü bazlı (solvent-based paint) (SBP) şeklinde yapılır.

SBP'ler WBP'lere oranla biyosid , glikol eter gibi yüksek molekül ağırlıklı daha reaktif uçucu organik bileşikler içermektedir. Dolayısıyla SBP 'de uçucu organik bileşiklerin emisyonundan kaynaklanan daha şiddetli bir maruziyet söz konusudur (5).

Bu tip boyaların içerdikleri bazı uçucu organik bileşikler : Propan, Klormetan, 2-metilpropan, Kloreten, 1,3 Bütadien, Bütan, Pentan, Ksilen, 1,2 diklorbenzen, Toluen, Benzen, Hekzan, Triklormetan, Isopropan, 1,1 Dikloreten (6).

Boya içerisinde bulunan bu uçucu organik bileşikler sitokrom P-450 enzimleri tarafından aşamalı olarak oksitlenir ve dolayısıyla serbest radikal ürünleri oluşur (7).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz; direkt boya imalatında çalışan ve tekstil ipliğinin boyanmasında görev alan (dolaylı yoldan boyadan etkilenen) işçi grupları, fabrika çalışma prosedürüne ve kullanım alanlarındaki farklılıklar nedeniyle, hem SBP hem de WBP türü boyaları kullanmaktadırlar. Su bazlı ya da solvent bazlı boyaların kullanımı maruz kalmanın koşullarını değiştirse de bu işçiler potansiyel risk grubuna girmektedir (8). Ayrıca boyanın tipi ne olursa olsun birçok mesleki sağlık çalışmaları, boyacılar, nörolojik değişimlerde harabiyet, mesane ve akciğer kanseri gibi sağlık problemleri olduğunu göstermiştir (9).

Çalışmamızda özellikle uçucu organik bileşiklerin çok kullanıldığı boya ve tekstil sanayisinde çalışanlarda, uzun süre organik bileşiklerle karşı karşıya kalmanın çalışanları nasıl etkilediklerini tespit etmeyi amaçladık. Serbest radikal oluşumunu ve bu oluşuma karşı vücudun nasıl etkilendiğini tespit etmek istedik. Bu amaçla lipid peroksidasyon son ürünlerinden malondialdehid (MDA) ve Total Antioksidan Kapasiteyi (TAK) serumda, süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeyini de eritrositlerde ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. OKSİJEN VE CANLILAR

Atmosferde fotosentetik canlıların faaliyeti sonucu oluşan oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup; hidrojen, karbon, azot ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur. Bunun yanı sıra, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle, oksijen hayati bir öneme sahiptir.

Bilinen bütün canlı türleri, organik moleküllerin içindeki şekli ile oksijene gereksinim duysalar da, serbest formdaki moleküler oksijen her canlı türü için aynı anlamı ifade etmez. Aerobik canlılar yaşamları için mutlaka moleküler oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlılar büyüme ve çoğalmaları için oksijene bağımlı değildirler. Anaerobik canlılarda oksijenin toksik etkisinin nedeni, oksijenden kaynaklanan bazı reaktif türlerin biyolojik molekülleri oksitlemeleri ve bu reaktif türlere karşı anaerobik canlılarda savunma sisteminin bulunmamasıdır. Oksijen sadece anaerobik türlerde değil, yaşamları için mutlaka moleküler oksijene bağımlı olan canlılarda da toksik etkili olabilir (10,11).

Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşir:

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Örneğin, nitrojen fiksasyonunu katalizleyen nitrojenaz enzimleri ve CO₂ fiksasyonunu katalizleyen ribüloz bifosfat karboksilaz oksijen tarafından kompetitif olarak inhibe edilirler. Hayvanlarda oksijen ile indüklenen konvülziyon ile beyinde GABA düzeyleri arasında bir ilişki vardır. Oksijen, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde GABA (Gama aminobutirik asit) düzeyini düşürmektedir.
2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. İlk kez 1954 yılında, oksijenin biyolojik sistemlerde görülen toksik etkilerinin, oksijenin bazı reaktif türlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Bugün, oksijenin canlılardaki toksik etkisinin “**oksijen radikalleri**” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir (12).

2.2. SERBEST RADİKALLER

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşur. Elektronlar hem partikül, hem de dalga özelliğine sahip olup, çekirdek etrafında ışık hızı ile hareket ederler. Bu nedenle elektronların çekirdek etrafındaki yeri tam olarak tarif edilemez, yalnızca bulunma olasılığının en yüksek olduğu yerden bahsedilebilir. Belirli elektronların bulunma olasılığının en yüksek olduğu yer “orbital” olarak adlandırılır. Radikaller, dış orbitallerinde eşleşmemiş elektron içeren kimyasal türlerdir. Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde eşleşmemiş elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir (12,13).

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir.

Radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşur:

2.2.1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de eşleşmemiş elektron meydana gelir.

2.2.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde eşleşmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücresel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

2.2.3. Normal bir moleküle elektron transferi ile: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde eşleşmemiş elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan superoksidin oluşumuna neden olur. Superoksit radikalının yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için tetik fonksiyonu görür (10,14).

2.3. SERBEST RADİKAL TÜRLERİ

Serbest radikal türleri üç grupta değerlendirilir :

1. Oksijen ve oksijen radikalleri
2. Oksijen merkezli olmayan serbest radikaller
3. Radikal olmayan metabolitler

2.3.1. OKSİJEN VE OKSİJEN RADİKALLERİ

Moleküler oksijen dış orbitallerinde eşleşmemiş iki elektron içerir. Bu elektronlar, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen “diradikal” yapıya sahip bir moleküldür. Oysa oksijenin reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Diradikal bir yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekül ile tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıya (farklı orbitallerde spinlerin aynı yönde elektron içermesi) sahip olması gerekir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler ya da eşleşmemiş elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu olarak oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama “**spin kısıtlaması**” olarak adlandırılır.

Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar bazı metal iyonlarından (Fe, Cu, Mn, Zn) yararlanırlar.

2.3.1.1.Sipin kısıtlaması nasıl aşılır ?

1. **Oksijene elektron transferi ile:** Proteinlere bağlı metal iyonları aracılığıyla oksijene bir veya iki elektron aktarımı katalizlenebilir. Oksijene tek elektron transferi ile süperoksit radikali oluşur. Spin kısıtlaması kalktığı için süperoksit oksijene oranla çok daha reaktiftir.
2. **Enerji absorpsiyonu ile:** Bu mekanizma ile oksijenin iki uyarılmış formu oluşur. Singlet oksijen diye adlandırılan oksijenin bu formlarında dış orbital eşleşmemiş elektronlarından birisinin spini değişmiştir. Zıt spinli elektronlar aynı orbitalde (delta formu) veya ayrı ayrı orbitallerde (sigma formu) bulunabilirler (11,12,16).

Tablo 2.1. REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİ

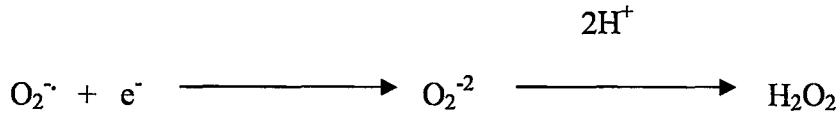
1. Süper oksit radikali	$O_2^{\cdot -}$
2. Hidrojen peroksit	H_2O_2
3.Hidroksil radikali	$HO^{\cdot}$
4.Singlet oksijen	1O_2
5.Peroksil radikali	$ROO^{\cdot}$
6.Organik peroksit radikali	$RCOO^{\cdot}$
7.Perhidroksil radikali	$HO_2^{\cdot}$
8.Alkoksil radikali	$RO^{\cdot}$

2.3.1.2. SÜPEROKSİT RADİKALI (O₂⁻)

Moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan O₂⁻ radikali oluşur. Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit, başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir:

- 1) İndirgeyici özellikteki biyomoleküler oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, indirgenmiş nükleotidler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar.
- 2) Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.
- 3) Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH-dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır.
- 4) Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve bulundukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücrel fonksiyonlar için gerekli de olabilir.

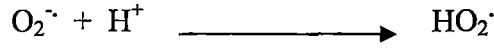
Hücrel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir.



Bu tepkime biyolojik moleküllerin oksidasyonuna neden olduğundan tercih edilmez. Aerobik canlılarda süperoksitlerin H₂O₂'e çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz tarafından katalizlenir.

Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olur. Kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar ve metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır.

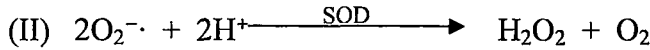
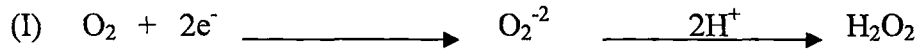
Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da indirgenmiş nükleotidlerin, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri oksitler. Süperoksit, hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar yapısında yer alan fosfolipidler nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini ($\text{HO}_2^\cdot$) oluşturur.



Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve antioksidanları oksitleyebilir (17,18).

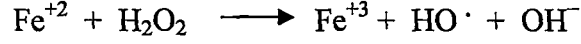
2.3.1.3. HİDROJEN PEROKSİT

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi (I) ya da süperoksitlerin enzimatik ve non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri (II) sonucu oluşur (13).

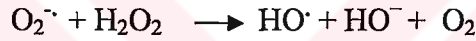
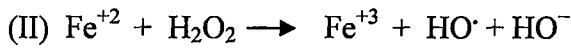
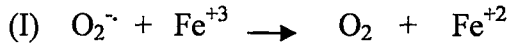


Yapısında eşleşmemiş elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır. Haber-Weiss tepkimesi ya da fenton tepkimesi olarak adlandırılan bu tepkime ile $\text{HO}^\cdot$ oluşacağı vücutta üretilen H_2O_2 derişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlıdır.

Fenton reaksiyonunda demir iyonunun yükseltgenmesi ile hidrojen peroksit oldukça reaktif hidroksil radikaline dönüşür.



Haber Weiss reaksiyonu, süperoksit radikallerinin demir iyonunu indirgemesi ile oluşan ferro demirin hidrojen peroksitle reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturmasıdır.

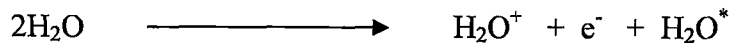


Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle, biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirir (13,16).

2.3.1.4. HİDROKSİL RADİKALI

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali ($\text{HO}\cdot$) canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir .

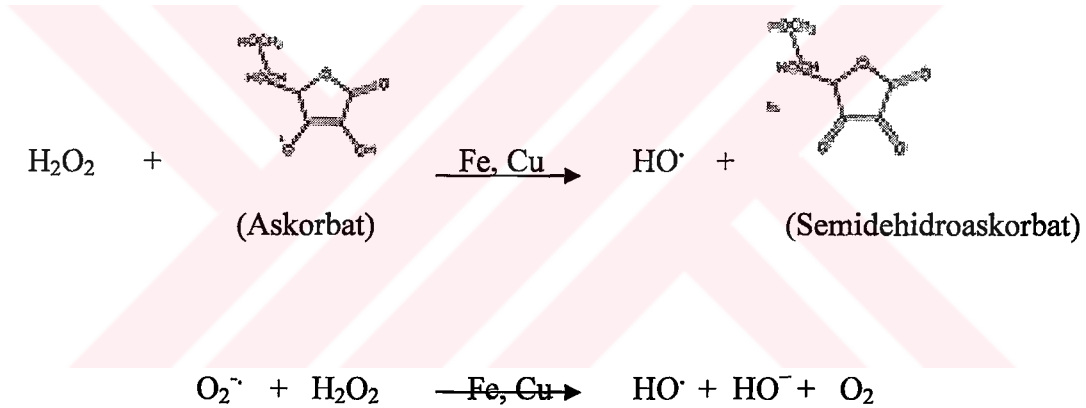
- 1) İyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması gerçekleşir.



Uyarılmış su molekülü (H_2O^*) homolitik yıkım ile; H_2O^+ ise bir su molekülü ile tepkimeye girerek hidroksil radikali oluştururlar. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen $HO^\bullet$, radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu başlıca kimyasal türdür.

2) Hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile $HO^\bullet$ yapımı, vücutta bu radikalin en önemli kaynağıdır. H_2O_2 'nin iki elektron ile indirgenmesi ile su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi $HO^\bullet$ yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir.

Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu tekrar indirgendiğinden H_2O_2 'den $HO^\bullet$ yapımı sürekli bir duruma gelir.



Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan $HO^\bullet$, su dahil ortamda rastladığı her biyomolekül ile tepkimeye girer.

Hidroksil radikalinin tepkimeleri başlıca:

- Elektron transfer tepkimeleri
- Hidrojen çıkarma tepkimeleri
- Katılma tepkimeleri

Bütün bu tepkimeler, $HO^\bullet$ 'ın eşleşmemiş elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır. Katılma tepkimeleri, özellikle elektronca zengin moleküllerle (pürin ve primidin bazları, aromatik amino asitler gibi) gerçekleşir.

En iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (10,13,18).

2.3.1.5. ROO. (Peroksil radikali) ve Lipid peroksidasyonu oluşumu

2.3.1.5.1. Yağ asidi oksidasyonunun mekanizması

Farklı mekanizmalar lipid peroksidasyonunu indükleyebilir. Bunları 3 başlık altında toplayabiliriz.

1. Otooksidasyon
2. Fotooksidasyon
3. Enzim aktivasyonu

1. Otooksidasyon

Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini oluştururlar. Bu peroksil radikali (ROO[•]) hücre zarında lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup çok uzun ömürlüdür. Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum, vs.) membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır.

Hücre hasarı meydana gelirken lipid-serbest radikaller ve lipid peroksitlerde oluşmaktadır. Bu tip reaksiyonlar “serbest radikal otooksidasyonu” olarak adlandırılır ve zincirleme reaksiyonun başlatılabilmesi için bir tetikleyici (başlatıcı) faktör gereklidir (19).

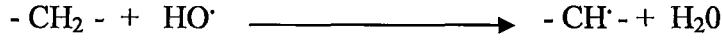
Lipid peroksidasyonu , poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve dört aşamada oluşur:

a) Başlama safhası :

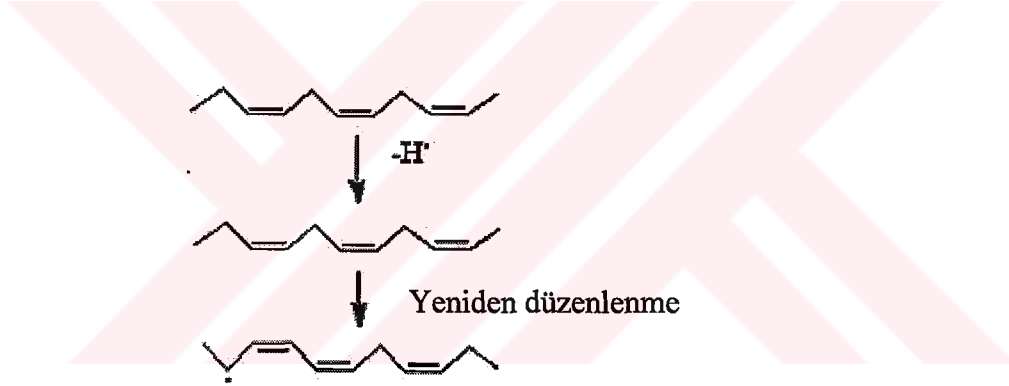
Hız kısıtlayıcı olup yeterli reaktivitedeki oksijen kaynaklı bir radikalın bir metilen (-CH₂-) grubundaki divinil (allilik) hidrojen atomunu koparması ile gerçekleşmektedir. Yağ asidinde çift bağ varlığı C-H bağını zayıflatarak H⁺ atomunun kopartılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle membran lipidlerinin doymamış yağ asitleri yan zincirleri, peroksidasyona özellikle duyarlıdır.

İlk hidrojen atomunu kopartacak reaktivitedeki radikaller, hidroksil (HO[•]), alkoksil (RO[•]), peroksil (ROO[•]) ve hidroperoksil (HO₂[•]) radikalleri olup, süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit bu reaksiyonu başlatamamaktadır. Hidrojen atomu tek bir elektron içerdiği için, başlangıç reaksiyonu sonunda geride karbon üzerinde eşlenmemiş bir elektron kalmaktadır (-CH[•]-).

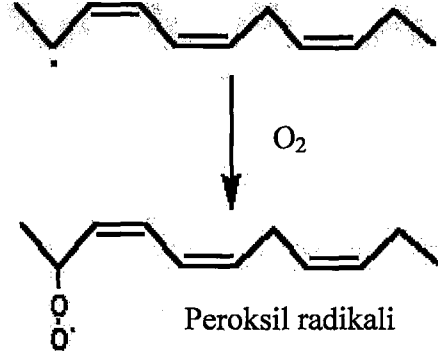
HO[•] radikali, bir yağ asidinin (LH) metilen kısmından bir hidrojen atomu (H⁺) kopararak bir lipid radikali oluşturur.



Oluşan bu lipid alkil radikali (izole çift bağ formu) ile konjuge dien (lipid alkol radikali) formuna yeniden düzenlenerek stabil kalma eğilimindedir.



Aeorobik koşullar altında konjuge dienler O₂ ile birleşerek peroksil radikali verebilirler. Ara bileşik olarak oluşan dien konjugatlarıyla lipid hidroperoksitlerinin ve son ürünlerden pentan ve etan gibi gazların ölçümü de son yıllarda, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (15,19,20).

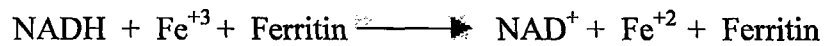


b) İlerleme safhası :

Karbon merkezli radikal, moleküler bir düzenleme ile izole çift bağ formundan, konjuge dien formuna geçer. Oluşan lipid alkil radikali oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali ise, bir başka yağ asidinden hidrojen atomunu kopararak lipid hidroperoksidi ve yeni bir lipid alkil radikalini oluşturarak yeni bir zincir reaksiyonu başlatabilmektedir (21).



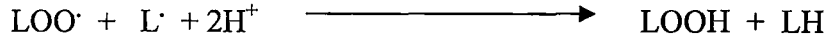
Lipid hidroperoksidleri, fizyolojik koşullarda nispeten kararlı moleküller olmakla birlikte, geçiş metalleri veya metal komplekslerinin katalizörlüğünde parçalanabilmektedirler. Beyin, ferrik demir (Fe^{+3}) açısından zengin bir organdır. Bu demirin büyük bir kısmı hemoglobin, myoglobin, aktif bölgesinde demir içeren enzimlerde veya ferritin gibi depo proteinleri ile, transferrin gibi transport proteinlerine bağlı olarak bulunmaktadır. Bu şekli ile demir katalizör görevini yapamaz. Serbest demirin en önemli kaynağı ferrodur. NADH ve O_2 , ferritindeki ferrik demirin indirgenmesi ve ferroz demir (Fe^{+2}) olarak salınmasını kolaylaştırmaktadır.



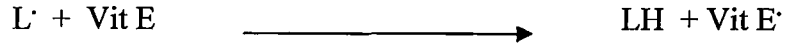
Her iki radikal de başka yağ asitlerinden hidrojen atomlarını kopartarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sürdürürler (15,21).

c) Sonlanma safhası :

Zincir reaksiyonu antioksidanlar tarafından sonlandırılabilir.

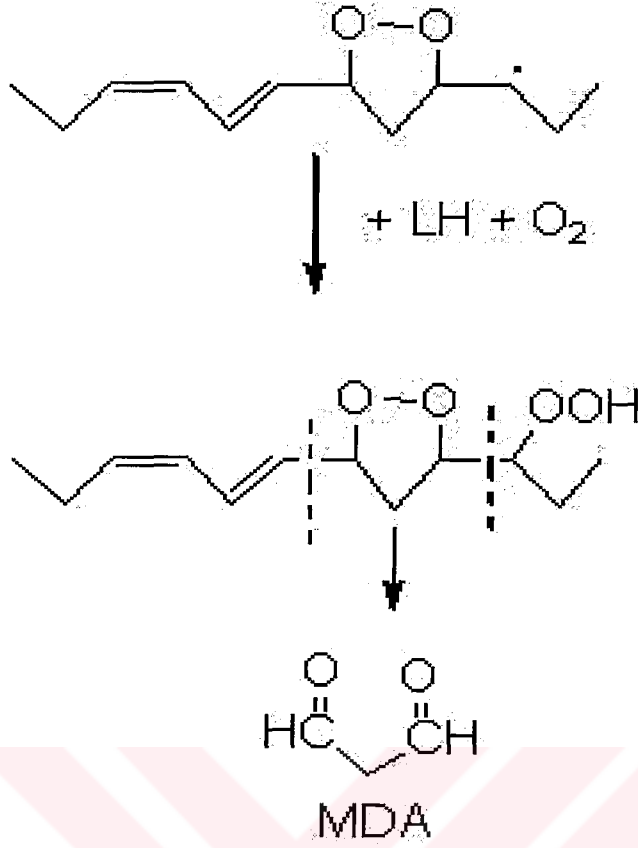


Örneğin ; Vitamin E gibi



Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısında yıkılım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler, malondialdehid (MDA) gibi alkaneller, 4 hidroksinonenal gibi hidroksialkenallerdir (20,22).

MDA, çözünürdür, kan ve idrarda saptanabilir.



Şekil 1 : MDA'nın molekül yapısı

Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan ve fonksiyonel hasara neden olan temel yapısal değişiklik; membran yağ asitlerinin interior alkil zincirlerine hidrofilik bir grubun girmesi ve yağ asitlerinin aköz faza doğru dönmeleridir (15,23).

Bunun sonucunda oluşan fonksiyonel hasarlar şunlardır:

1. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerde (Örn: Na⁺-K⁺ATPaz) aktivite azalması (24).

2. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin (mitokondrial matriks enzimleri, lizozomal enzimler gibi) hücre içine salınması. Normal koşullarda lizozomlar içinde güvenli bir şekilde tutulan lizozomal proteolitik enzimlerin sitoplazmaya salınmaları ile hücre içi proteolizin hızlanması ve doku hasarının şiddetlenmesi (25).

3. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan K^+ ve Mg^{+2} konsantrasyonlarının değişmesi ve buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonu (21).

4. Lipid peroksidasyonunun yıkılım ürünü olan malondialdehidin, proteinlerin amino grupları ile şift bazı oluşturması ve tiyol grupları ile etkileşim. Bu şekilde oluşturduğu protein fragmentasyonu ve polimerizasyonunun yanı sıra MDA' nın mutajenik etkisi de gösterilmiştir (15,26).

2. Fotooksidasyon

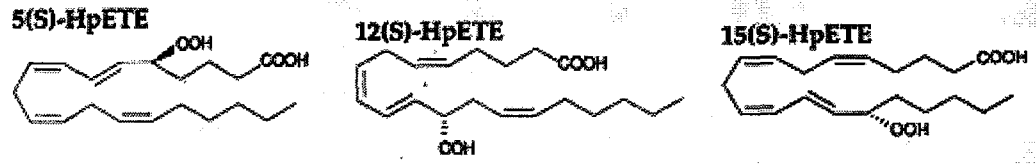
Singlet oksijen (1O_2) oldukça elektrofiliktir ve serbest radikal otooksidasyonundan farklı bir mekanizmayla hızlı bir şekilde doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girebilir. Klorofil, porfirinler, miyogloblin, riboflavin, metilen mavisi gibi tetikleyicilerin varlığında ışığın etkisiyle O_2 'den üretilen singlet oksijen çift bağlarla reaksiyona girer.

Oksijen trans konfigürasyonundaki karbon atomunun çift bağına katılır. Böylece, bir yağ asidinin 12. ve 13. karbonlar arasındaki çift bağlı bir singlet oksijenin reaksiyonu 12. ve 13. konumlarda hidroperokside neden olur.

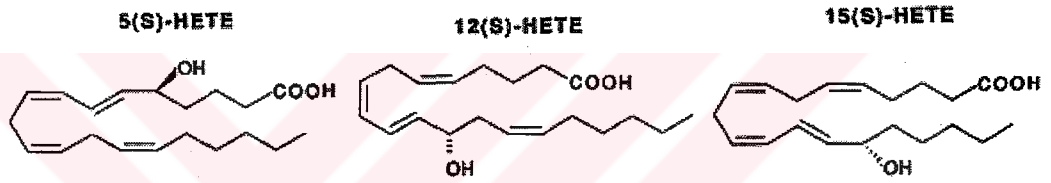
Hidrofobik hücre membranlarında singlet oksijenin yaşam süresi sıvı çözeltilerden daha fazladır. Ayrıca, foto-oksidasyon oto –oksidasyondan daha çabuk meydana gelir. Benzer etki lipozomlarda ve intakt membranlarda da gözlenmektedir (19).

3. Enzimatik peroksidasyon

Bitkilerde ve hayvanlarda bulunan lipooksigenaz enzimler, araşidonik asit gibi PUFA ve O_2 arasındaki reaksiyonları katalizler.



Bu HpETE (hidroperoksitler) dokuların birçoğunda oluşur. Bu reaksiyonlar glutatyon peroksidazlar tarafından indirgenir ve hidroksil ürünlerini oluşturur. HpETE'ler esasen sahip oldukları biyolojik aktiviteleri ile etkinlik gösterirler. Araşidonik asit (20:4 n -6) substrat olduğunda, HpETEs'ler, hidroksil ürünlerine HETEs (hidroksiller) transfer edilebilirler .



Bu HETEs 'ler sitokrom P-450 enzimlerinin indüklediği monooksigenazlara bağlı olarak direk oluşabildiği gibi bazen de siklooksigenaz enzimlerine bağlı oluşabilirler. 6 Hidroperoksit'in (5-, 8-, 9-, 11-, 12-, ve 15-HpETE) hayvan hücrelerindeki arşidonik asitten oluştuğu bilinmektedir.

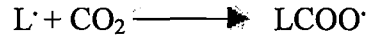
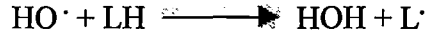
Dihidroperoksi bileşikleri (DiHpETEs) 5- ve 15- lipogenazların aktivasyonuna bağlı olarak da oluşabilir. Bu bileşikler metabolik olarak önemlidir ama esasen biyoaktiftirler.

Siklooksigenaz enzimler , çeşitli doymamış yağ asitlerine moleküler oksijenin eklenmesini katalizler böylece endoperoksitler olarak bilinen biyolojik aktif moleküllere dönüşürler. Bunlar prostaglandinlerin yağ asitlerine dönüşümünde görev alırlar (27).

2.3.1.6. Lipid Karboksilasyonu

Serbest radikallerin etkisi ile oluşan lipid radikali, dokuda artmış bulunan karbondioksit ile reaksiyona girerek lipid karboksil radikalini oluşturmaktadır.

Karboksil radikali, lipid peroksidasyonu kadar yaygın olmasa da membran hasarına katkıda bulunmaktadır (20).



2.3.1.7. SİNGLET OKSİJEN

Oksijenin enerjetik olarak uyarılan bu formunda reaktivite çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip yeniden oksijene dönebilir.

Başlıca şu mekanizmalarla vücutta oluşabilir:

- a) Pigmentlerin (örneğin flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla
- b) Hidroperoksitlerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde
- c) Kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında
- d) Prostaglandin endoperoksit sentaz, sitokrom P-450 tepkimeleri, myelo/kloro/laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri sırasında

Oksijenin bu enerjetik reaksiyonu sonucunda iki tip singlet oksijen üretilir.

1. **Sigma singlet oksijen** : Enerjisi daha fazladır ve çok kısa ömürlüdür.
2. **Delta singlet oksijen** : Daha uzun ömürlüdür ve gözlenen kimyasal reaksiyonlardan esas sorumlu form olduğu kabul edilmektedir (10,16).

Radikal türlerinin reaktivitesi, bu yapıların reaktif karakterinin bilinmesinde ve in vivo radikal ölçüm çalışmalarının önünün şimdilik kapalı olmasında önemli bir etkidir.

Radikalin yarılanma ömrü ne kadar kısa ise, reaktivitesi o oranda yüksektir, bu da radikalin sabit konsantrasyonunu düşürür. Reaktif türlere ve atomlara göre farklılık gösteren yarılanma ömrü radikallerin toksisitesi ile doğru orantılı olduğundan, radikalin potansiyel gücü açısından önemlidir (28).

Tablo 2.2. Başlıca reaktif oksijen türlerinin yarılanma süreleri

Radikal Türleri	Sembol	Yarılanma Ömrü (saniye)
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	1×10^{-6}
Hidroksil radikali	$HO^{\cdot}$	1×10^{-9}
Alkoksil radikali	$RO^{\cdot}$	1×10^{-6}
Peroksil radikali	$ROO^{\cdot}$	1×10^{-2}
Singlet oksijen	1O_2	1×10^{-6}

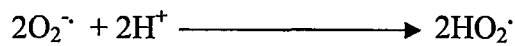
Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalin, oluşturur ve $HO^{\cdot}$ kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (16,28).

2.3.1.8. $RCOO^{\cdot}$ (Organik peroksit radikali)

Lipid yıkımında ortaya çıkan serbest radikaller gibi organik bir peroksit radikalidir (29).

2.3.1.9. $HO_2^{\cdot}$ (Perhidroksil radikali)

Süperoksit radikali düşük pH'da daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan perhidroksil radikalini oluşturur (29).



2.3.1.10. RO[•] (Alkoksil radikali)

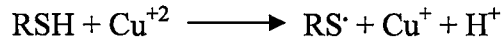
Peroksil radikalinden bir oksijen atomu çıkması sonucu oluşur (29).

2.3.2. OKSİJEN TÜREVİ OLMAYAN SERBEST RADİKALLER

Oksijen radikallerinden başka radikallerde vücutta oluşabilmektedir:

2.3.2.1. Tiyol bileşikleri (R-SH)

R-SH, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin varlığında oksitlenerek RS[•] (til) radikali oluşturur.

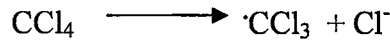


RS[•] radikali oksijenle birleşebilir:

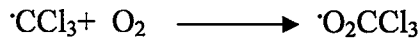


2.3.2.2. Karbon merkezli radikaller

Birçok biyolojik sistemlerde oluşabilmektedir. Örneğin; CCl₄ (Karbon tetra klorür)



Karbon merkezli radikaller çoğunlukla O₂ ile reaksiyona girerek peroksil radikali verirler:



Triklorometilperoksil radikal

Lipid radikalleri (L[•]) ve Alkil radikali (R[•]) bu grupta yer alır (29).

2.3.2.3. Hidrojen merkezli olanlar

Hidrojen atomu (H) bu grubun içerisinde (29).

2.3.2.4. Demir merkezli olanlar

Perferril radikali ($\text{Fe}^{+3} - \text{O}_2 - \text{Fe}^{+2}$) bu grupta değerlendirilir (29).

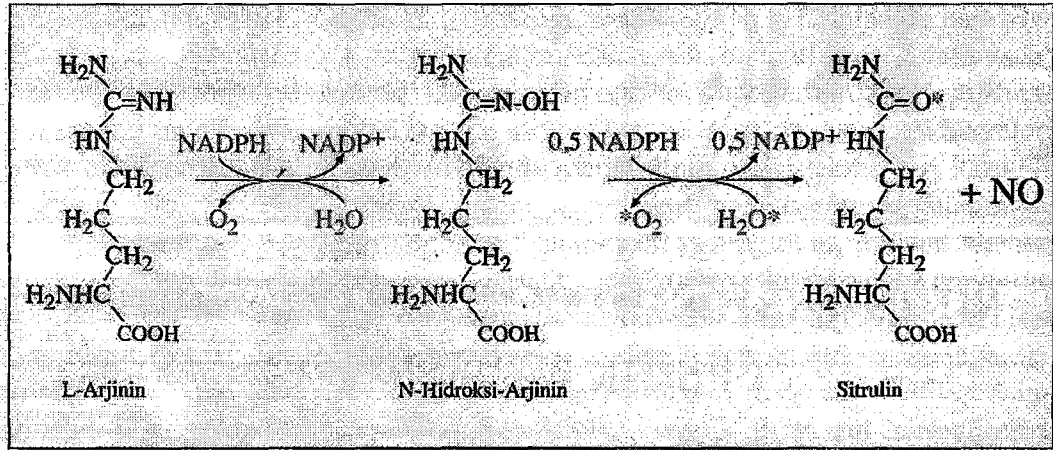
2.3.2.5. AZOT MERKEZLİ RADİKALLER

2.3.2.5.1. Nitrik oksit

Nitrik Oksit ($\text{NO}^\bullet$) renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. Azot merkezli bir radikal olarak bilinen nitrik oksit molekülü, gittikçe artan enerji seviyelerine göre $\sigma 1s^2 \sigma^* 1s^2 \sigma 2s^2 \sigma^* 2s^2 \pi 2p^4 \sigma 2p^2 \pi^* 2p^1$ şeklindeki bir elektronik konfigürasyona sahiptir. $\pi^* 2p$ dış orbitalindeki eşleşmemiş tek elektron, bu moleküle radikal özelliği kazandırır. Diğer radikal türlerin aksine, nitrik oksit radikalinde eşleşmemiş elektron azot atomu üzerinde yerleşik değil; fakat azot ve oksijen atomları üzerinde delokalize bir şekilde bulunur. Nitrik oksit radikalının bu özelliği kendi reaktivitesini baskılar, stabilitesini artırır ve biyolojik koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır. Oysa karbon merkezli radikaller ile oksijen radikallerinde olduğu gibi, eşleşmemiş elektronu tek atom üzerinde lokalize durumda içeren radikal türler son derece reaktiftir, kısa ömürlüdür ve difüzyonları da kısıtlıdır (30).

Nitrik oksitin vücutta haberci bir molekül olarak fonksiyon gördüğü ilk kez 1998 yılında merkezi sinir sisteminde gösterilmiştir. Bir yıl sonra nitrik oksit sentezleyen enzimin varlığı gösterilmiştir. Nitrik oksitin sentezi için kullanılan öncül biyomolekül arjinin amino asididir.

Nitrik oksitin arjininden sentezi, nitrik oksit sentaz enzimi üzerinde iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamagında arjininin guanido azotu ($\text{N}^\oplus$) hidroksillenerek $\text{N}^\oplus$ -Hidroksi arjinin ($\text{N-OH} - \text{Arjinin}$) oluşur. Bu aran ürün oldukça stabildir ve istenirse tepkime ortamından izole edilebilir. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün ikinci aşamada sitrulin ve nitrik oksite çevrilir. Nitrik oksit sentaz enzimi tarafından bir mol arjininden bir mol NO sentezi için 2 mol oksijen ve 1.5 mol NADPH kullanılır. Nitrik oksit yapısındaki oksijen atomunun kaynağı, ilk monoksijenaz aktivitesi ile arjinine katılan atomdur. Sitrulindeki oksijen atomunun kaynağı ise ikinci monooksijenaz tepkimesi sırasında kullanılan oksijendir (Şekil 2).



Şekil 2 : Nitrik oksit sentezi

Nitrik oksit sentez enziminin temel iki izoformu vardır :

- a) Konstitütif (cNOS)
- b) İndüklenebilir (iNOS)

Nitrik oksit bir kez sentezlendikten sonra hızla hedef dokulara yayılır ve hücre içinde guanilat siklaz enzimini aktive ederek düz kas kasılmasını sağlayan (cGMP) miktarını artırır. Oluşan bu biyokimyasal olaylar düz kas kasılması, vasküler tonüs ve kan akışının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Süperoksit anyonları (O_2^-) ile birleşerek peroksinitrite (ONOO^-) dönüşür. Vücutta metal-oksijen kompleksi içeren başlıca proteinler hemoglobin ile myoglobindir.

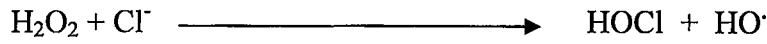
Oksihemoglobin veya oksimiyoglobin nitrik oksidi nitrate oksitlerlerken, kendileri de Methemoglobin ve Metmyoglobin formlarına dönüşür (30). Reaktif özelliği nedeniyle, üretildiği andan itibaren NO'nin tepkimeleri ve difüzyonu eş zamanlı olarak gerçekleşir. Üretilen NO hedef moleküllere örneğin metalloproteinlere bağlanabilir veya oksijen ve süperoksit ile tepkimeye girerek reaktif nitrojen oksit türevlerini (NO_x) oluşturabilir. Vücutta üretilen NO'ı ortamdaki uzaklaştırmak için herhangi bir özel enzimatik koruma mekanizması yoktur. Bu durum, NO'nin kalıcı ya da uzun ömürlü bir bileşik olduğu anlamına gelmez. Tam aksine, NO reaktif özelliği nedeniyle protein yapıdaki ya da diğer çok çeşitli bileşiklerle tepkimeye girdiğinden, saniyelerle ifade edilebilecek bir ömüre sahiptir (31,32).

2.3.3. RADİKAL OLMAYAN TOKSİK METABOLİTLER

2.3.1. HOCl (Hipokloröz Asit) :

Hipokloröz asit radikal olmadığı halde reaktif oksijen metabolitleri arasında yer alır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monosit, makrofaj ve eozinofiller O_2^- üretirler.

Özellikle nötrofiller içerdikleri miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla O_2^- dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'ye dönüştürür (16).



2.4. HÜCRE HASARI VE NEDENLERİ

Organ hasarının tüm şekilleri hücrede moleküler ve yapısal değişiklikler olması ile başlar. Normal bir hücrenin fonksiyon ve yapısı, metabolizma, farklılaşma, özelleşmedeki genetik programlar, komşu hücre ile ilişkiler ve metabolik maddelerin uygunluğu gibi faktörler nedeniyle oldukça dar bir alanda sınırlıdır.

Bazen çok aşırı fizyolojik bir stres veya bazı patolojik uyarılar, fizyolojik ve morfolojik hücresel adaptasyonlara neden olabilirler. Bu sırada uyaran faktöre yanıt olarak hücre yaşamını devam ettirir ve fonksiyonunu düzenleyerek değişmiş olan duruma uyum sağlar.

Şayet adaptasyon sınırlarını aşan bir uyarı olur veya adaptasyon söz konusu olmazsa hücre zedelenmesi olarak adlandırılan olaylar zinciri gelişir. Hücre zedelenmesi belli bir noktaya kadar geri dönebilir, uyaran yeteri kadar şiddetli ise geri dönüşümsüz zedelenme oluşur ve hücre ölür. Bu, akut hücre zedelenmesidir (2).

2.4.1. Hücre Hasarı ile ilgili genel biyokimyasal mekanizmalar

Zarar verici etken ne olursa olsun, hücre hasarı ve nekroz ile hücre ölümünde önemli genel biyokimyasal mekanizmalar vardır.

·**ATP tükenmesi:** ATP formundaki yüksek enerjili fosfat, hücrenin pek çok yapım ve yıkım reaksiyonları için gereklidir. Bunlar membran tranportu, protein sentezi, lipogenez, fosfolipid döngüsü için gerekli deaçilasyon ve reaçilasyon reaksiyonlarıdır. ATP iki yolla üretilir. Memeli hücrelerinde önemli olanı oksidatif fosforilasyondur.

İkinci yol glikolitik yoldur, glikoz kullanılır. ATP eksikliği ve azalmış ATP sentezi, iskemik ve toksik hasarın yaygın sonucudur.

·**Oksijen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller:** Hücreler enerji oluştururken az miktarda da olsa zararlı yan ürünler oluştururlar. Bunlar lipidler, proteinler, nükleik asitlerle birleşip hücreyi hasarlayabilir.

·**Hücre içi kalsiyum ve kalsiyum dengesinin bozulması:** Hücre içinde kalsiyumun artması (Ca^{+2}) hücreye potansiyel zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimi aktif hale geçirir. Kalsiyumun aktive ettiği enzimler fosfolipazlar (membran hasarına yol açar), proteazlar (membran ve sitoskeletal proteinleri parçalar), ATP'azlar (ATP tüketilmesini hızlandırır), endonükleazlardır (kromatin parçalanması). Hücre hasarına neden olurlar.

·**Membran geçirgenlik kusurları:** Membran geçirgenliğinin kaybı, hücre hasarının tüm formlarında görülen bir bulgudur. Bu ATP tüketilmesi, fosfolipazların kalsiyum aracılıklı aktivasyonunun sonucunda veya direkt olabilir. Bu tip hasar mitokondri, plazma membranı ve diğer hücresel membranları etkileyebilir.

·**Geri dönüşümsüz mitokondrial hasar:** Memeli hücreleri glikolitik yeteneklerine rağmen uzun süreli yaşam için oksidatif metabolizmaya zorunlu olarak bağımlıdır. Bu nedenle mitokondrinin tamir edilemez hasarı, sonunda hücreyi öldürür. Direkt veya indirekt olarak hipoksi, toksinlerde dahil olmak üzere zedeleyici uyarıların tümünde mitokondriler önemli hedeftir. Mitokondriler sitozolik kalsiyumun artması, oksidatif stres, fosfolipidlerin parçalanması, lipid yıkım ürünleri ile de hasarlanabilir. Mitokondrial hasar sitozol içine sitokrom c kaçıışı ile birliktelik gösterebilir, bu apoptotik ölüm yolunu tetikleyebilir (35,36).

2.4.2. Hücre hasarı formları

Hücre hasarının sık görülen üç biçimi:

- A. İskemik hasar
- B. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar
- C. Toksik veya kimyasalların oluşturduğu hasar

2.4.2.1. İskemik hasar :

- a. Tersinir Hücre Zedelenmesi
- b. Tersinmez hücre Zedelenmesi

İskemi/reperfüzyon hasarı

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanmasının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir (34). Belli durumlar altında önceden iskemik duruma getirilmiş fakat ölmemiş hücredeki kan akımı düzeltildiğinde zedelenme paradoksal olarak artar ve hızlanmış olarak ilerler.

Sonuç olarak dokular iskemik hasar sonucunda tersinmez olarak zedelenmiş hücreler olarak kaybolmaya devam eder. Bu iskemi-reperfüzyon zedelenmesi özellikle önemlidir. Hücre yapısal olarak korunmuş ve nekroz henüz oluşmamıştır. Fakat biyokimyasal olarak etkilenmiştir ve reperfüzyon sırasında bütünlüğünü kaybeder.

Glikolitik enerji üretiminin devam edebildiği hipoksiye zıt olarak iskemi, glikoliz için gerekli maddelerin ulaşımında içine alır. İskemik dokularda glikolitik maddeler tükendikten veya metabolitlerin taşınamaması sonucunda glikolitik aktivite inhibe olduktan sonra, anaerobik enerji üretimi durur. İskemik hasar hücre hasarının en sık görülen klinik tipidir. Belli noktaya kadar farklı hücre tiplerinde değişken olmak üzere zedelenme tamir edilebilir ve kan akımının düzeltilmesi ile oksijen ve metabolik maddeler tekrar uygun hale gelirse hücre iyileşebilir.

İskemi süresinin daha da uzaması ile hücre hasarı geri dönüşümsüz hale gelir. Enerji mekanizması ve/veya genom ve membranlardaki hasarda hücre ölümüne neden olur (2,35).

2.4.2.1.1. Tersinir Hücre Zedelenmesi

Hipoksinin ilk atak noktası hücrenin aerobik solunumudur. Hücre içinde oksijen azaldığında oksidatif fosforilasyon düşer ve ATP üretimi azalır. ATP tüketilmesi hücredeki pek çok sistemde yaygın etkilere sahiptir.

·Plazma membranındaki enerji bağımlı sodyum pompasının aktivitesi azalır. Sodyum hücre içinde birikir ve potasyum hücre dışına sızar. İzosmatik suyun alınması ile hücre şişer. Hücre şişmesinin diğer nedeni katabolitlerin birikmesidir.

·Hücresel enerji metabolizması değişir. Oksijen seviyesi düştüğünde oksidatif fosforilasyon sona erer ve hücrede enerji üretimi glikolize dayanır. Sonuçta glikojen depoları hızla azalır. Glikoliz laktik asit ve inorganik fosfatların artımı ile sonuçlanır, hücre içi pH'ı düşer.

·Sonraki olay protein sentez aparatının yapısal parçalanmasında görülür, protein sentezi azalır.

Tersinir hücre zedelenmesinde fonksiyonel belirtiler görülebilir. Kalp kasının koroner tıkanmasından sonraki 60 saniye içinde kasılması biter. Halbuki kasılmama hücre ölümü anlamına gelmez (35,36).

2.4.2.1.2. Tersinmez Hücre Zedelenmesi

İskemi sürerse geri dönüşümsüz hasar meydana gelir. Tersinmez zedelenme morfolojik olarak mitokondriler de şiddetli şişme, plazma membranının da aşırı hasar ve lizozom da şişme ile karakterlidir. Mitokondrial matrikste büyük, kümeleşmiş amorf dansiteler gelişir. Membranlardan protein, enzim, koenzim ve ribonükleik asitlerin kaybı vardır. ATP'nin oluşumu için gerekli metabolitlerde sızdırılır, yüksek enerjili fosfatların daha ileri kaybı olur. Bu dönemde lizozomal membranlarda hasar gözlenir. Enzimler sitoplazmaya geçer, bunların aktivasyonu hücrenin komponentlerinin enzimatik sindirilmesine yol açar.

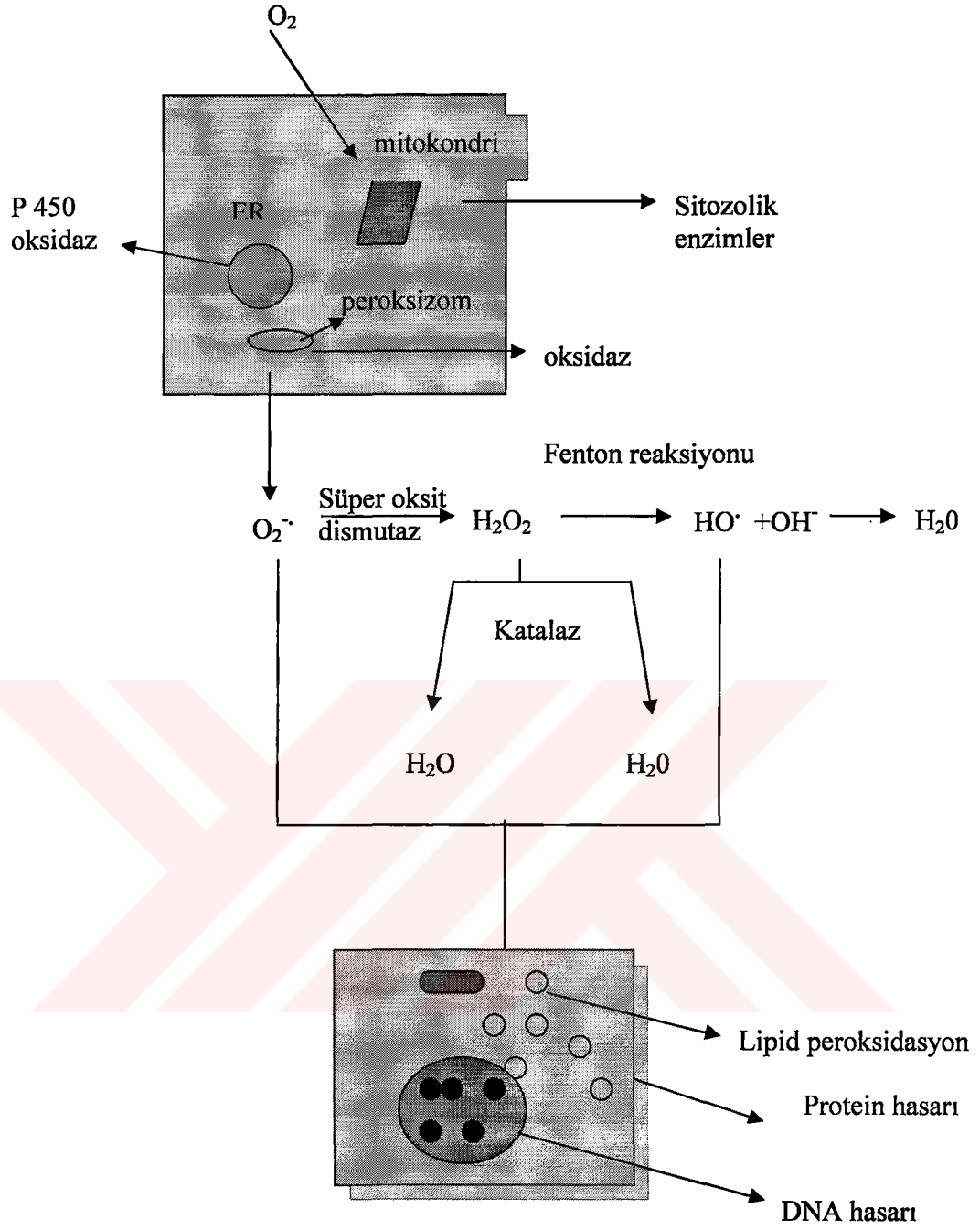
Ölümden sonra hücre komponentleri ilerleyici olarak parçalanır, diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitleri kalıntılarının kalsifikasyonu ile kalsiyum sabunları oluşumu görülebilir. Bu arada intrasellüler enzimlerin ve proteinlerin plazmaya geçmesi klinik olarak önem taşır. Organa spesifik bu moleküllerin artmış serum düzeyleri organ hasarını saptamada önem taşır (2,36,40).

2.4.2.2. Serbest radikallerin oluşturduğu hücre zedelenmesi

Membran hasarında önemli mekanizmalardan biri serbest radikallerin özellikle aktive oksijen türevlerinin oluşturduğu zedelenmedir. Kimyasal ve radyoaktif zedelenme, oksijen ve diğer gazların toksisitesi, hücresel yaşlanma, fagositik hücrelerin mikropları öldürmesi, inflamatuvar hasar, makrofajlarla tümör yıkımı ve diğer olaylarda görülür.

Bu serbest reaktif ürünlerin etkileri oldukça geniştir. Fakat 3 reaksiyon özellikle hücre hasarı ile ilişkilidir.

- 1) Membranların lipid peroksidasyonu.: Lipid serbest radikal birleşimi ile kendileri reaktif olan peroksitler oluşur. Bunlar yaygın membran organel ve hücre hasarına neden olan oto-katalitik reaksiyona neden olur.
- 2) Proteinlerin oksidatif modifikasyonu: Protein parçalanması ile sonuçlanır
- 3) DNA da lezyonlar : DNA'da tek zincirde kırılmalar oluşturur, hücre yaşlanmasını ve kanser oluşumunu artırır (Şekil 4) (2,35,36).



HÜCRE HASARI

Şekil 3: Hücre hasarının oluşumu (37).

2.4.2.3. Toksik veya Kimyasalların oluşturduğu hasar

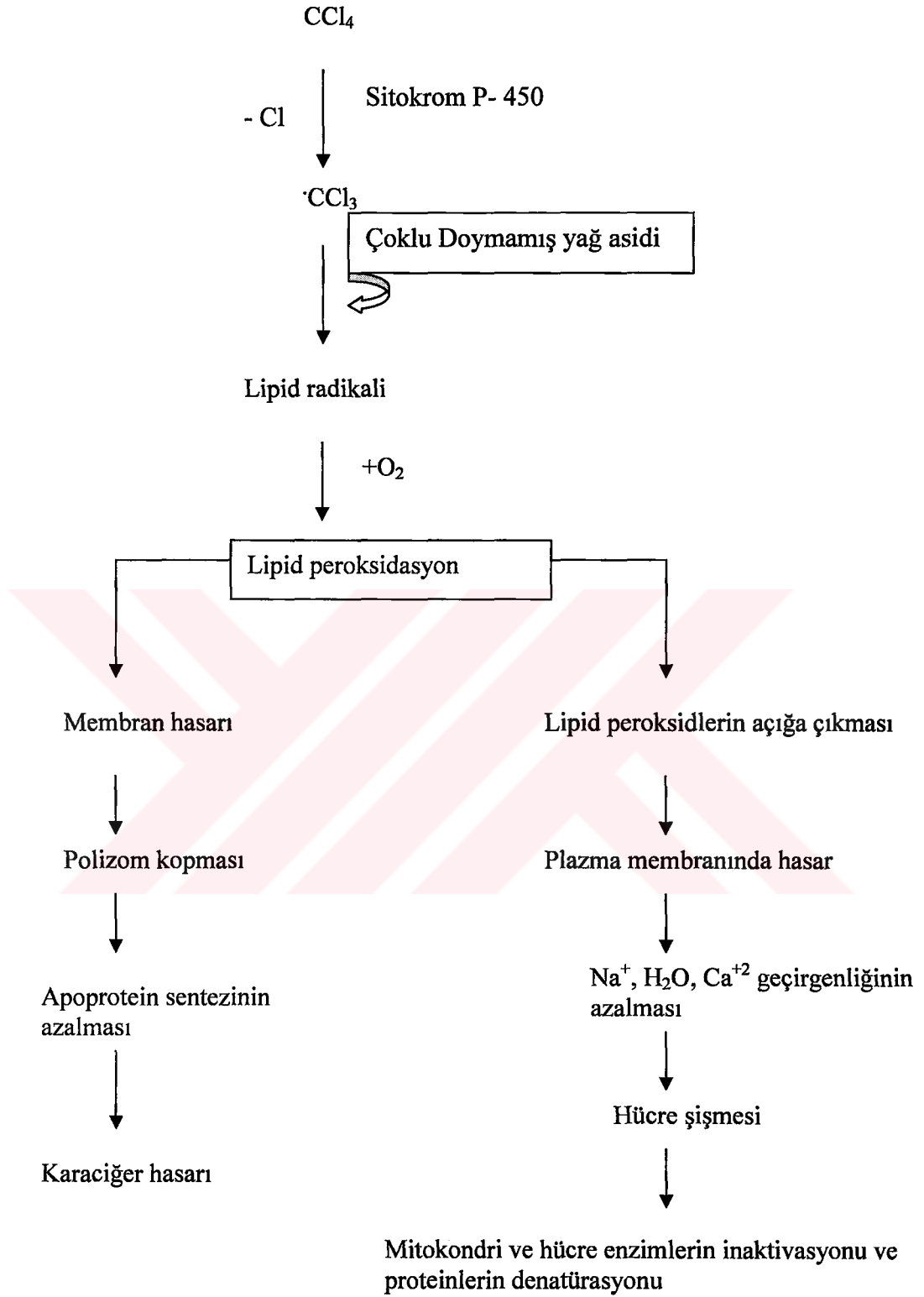
Kimyasallar iki mekanizmadan biri ile hasar oluşturur.

a) Direkt Etki: Kimyasalların bir kısmı kritik moleküllere veya hedef organlara bağlanarak direk etkili olurlar. Bazı durumlarda kimyasalları kullanan, emen, salgılayan ve konsantre eden hücrelerde daha fazla hasar meydana gelir. Örneğin; asidler ve alkaliler membranları hidroliz edebilir, civa gibi zehirli bileşikler sülfidril grublarına direk bağlanabilirler. Formalin\Formaldehit protein ve nükleik asitlerdeki amino grublarına çapraz bağlanırlar ve hücre hasarına neden olurlar.

b) Dolaylı Etki: Birçok kimyasal madde de biyolojik olarak aktif değildir, organizmadaki metabolizmalar sonucu toksik özellik kazanırlar. Daha sonrasında hedef hücrelerde rol oynarlar. Örneğin: CCl_4 'ün toksik etkisi serbest radikal olan $\cdot CCl_3$ 'e dönüşümü sonrasında olur (Şekil 5) (2,36).

Kimyasal ajanlar hücre içine girdiklerinde endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P 450 enzimleri tarafından metabolize edilirler. Bir kısmı toksik etkisini kaybeder ve tekrar hücre dışına salınır fakat diğer bölümü hala orta derecede reaktiftir. Bu reaktif moleküller DNA'ya bağlanıp hasara yol açabilirler (38).

Etanol, fenil hidrazin ve parakuat gibi toksinlere maruz kalan hayvanlardan izole edilen dokularda, bu bileşiklerin lipid peroksidasyonunu artırdığı gözlenmiştir (39).



Şekil 4 : CCl₄ 'ün toksik etkisi (37)

2.4.3. Akut hücre zedelenmesinin nedenleri:

Oksijen yetersizliği: Hipoksi, hücre hasarı ve hücre ölümünün en önemli ve en sık gözlenen nedenlerindendir. Hipoksi nedenlerinden birisi kardiovasküler yetmezlik nedeniyle kanın oksijenlenmesindeki yetersizliktir. Daha az sıklıkla karşılaşılan oksijen eksikliğidir, kanın oksijen taşıma kapasitesinde yetersizlikte söz konusu olabilir.

Fiziksel ajanlar: Mekanik travma, aşırı ısı fazlalığı veya azlığı (yanık ve donma) gibi ısı değişiklikleri, atmosfer basıncında ani değişiklikler, radyasyon ve elektrik şoku sayılabilir.

Kimyasal ajanlar veya ilaçlar: Glikoz veya tuz gibi basit kimyasalların hipertonic konsantrasyonları, yüksek konsantrasyonlarda oksijen, arsenik, siyanid, civa tuzları gibi zehirler, çevre ve hava kirliliği, insektisitler ve bitki ilaçları, endüstriyel ve mesleki tehlikeli maddeler (karbonmonoksit ve asbest), alkol veya narkotik maddeler gibi sosyal uyarıcılar ve tedavide kullanılan değişik ilaçlar.

İnfeksiyöz ajanlar: Bu etmenler sub-mikroskopik virüslerden büyük barsak parazitlerine kadar değişir.

İmmunolojik reaksiyonlar: İmmun sistem biyolojik ajanlara karşı organizmayı korumaya hizmet etse de hücre hasarına da neden olabilir. Otoimmün hastalıklarda kendi antijenlerimize reaksiyonlar sorumludur.

Genetik bozukluklar:Down sendromu veya orak hücre anemisi

Beslenme bozuklukları: Günümüzde dengesiz beslenme hücre hasarının önemli nedenlerinden olmaya devam etmektedir. Gelişmemiş ülkelerde protein kalori eksiklikleri, değişik yerlerde spesifik vitamin yetmezlikleri bulunur. Beslenme problemleri tek yönlü beslenme, az beslenme veya beslenme aşırılığı da olabilir. Diyet içeriği de önemlidir (33).

2.5. SERBEST RADİKALLERE KARŞI ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Normal fizyolojik koşullarda, hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı korunur. Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyerek entkinsizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemleri bulunmaktadır Bu savunma sistemleri antioksidanlar olarak adlandırılır (40).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi

- Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonu azaltıcı etki
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

- Toplayıcı etki ; Reaktif oksijen metabolitlerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme.
- Bastırıcı etki; ROM'lar ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma.
- Onarıcı etki
- Zincir kırıcı etki; ROM'larını ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (29).

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki kısımda incelenir.

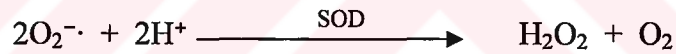
2.5.1. Enzimatik antioksidanlar

Tablo 2.3. Enzimatik antioksidanlar

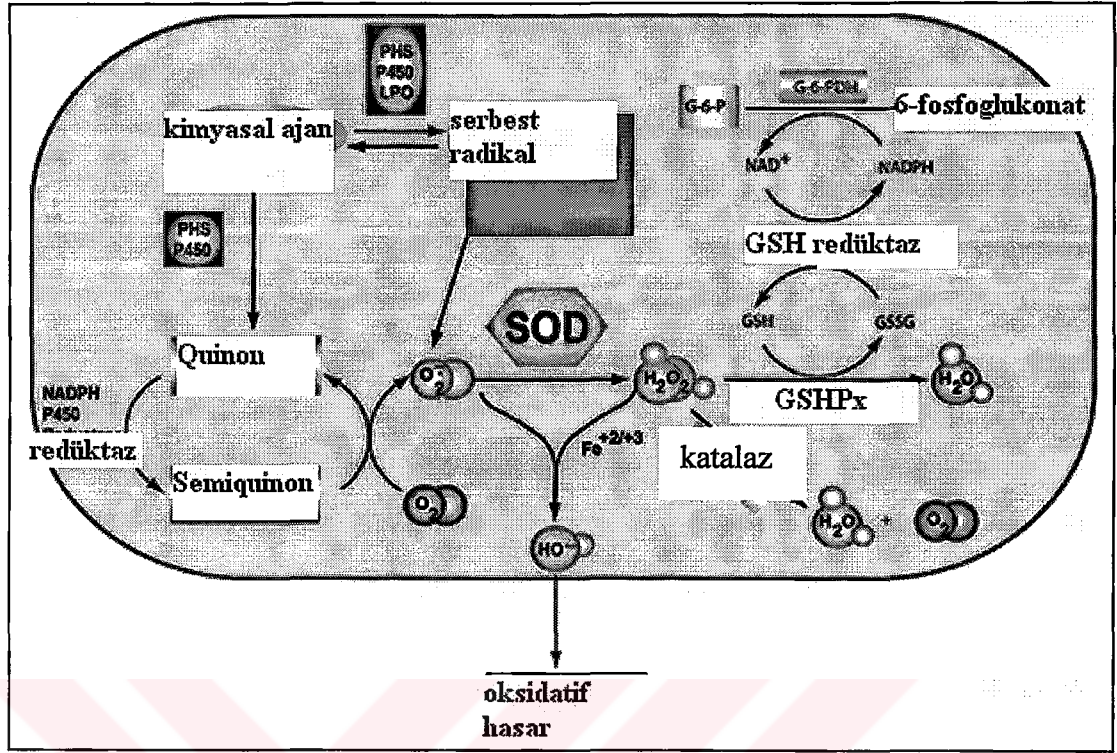
Birincil (primer)	İkincil (seconder)
Süperoksit dismutaz	NADPH – kinon oksidoredüktaz
Katalaz	Epoksit hidrolaz
Glutasyon peroksidaz	UDP – glukronil transferaz
Glutasyon – S – transferaz	Sulfonil transferaz
Glutasyon redüktaz	Glukoz – 6 – fosfat dehidrogenaz

2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1.) metalloenzim ailesine dahil bir enzimdir. Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizler.



Hücrel bölmelelerdeki süper oksit düzeylerini kontrol etmede önemli rol oynar (41). SOD, süper oksit anyonunun dismutasyonunu 10^4 kat hızlandırır. Enzimin hız sabitesi 2×10^9 M/sn, spontan dismutasyona oranı ise pH 7 'de yaklaşık 5×10^5 M/sn 'dir (42).



LPO : Lipooksigenaz

PHS P-450 : Prostaglandin hidrojen sentaz

Şekil 5 : SOD'un in vitro koşullarda kimyasal ajana etkisi (43).

SOD 'un iki farklı izoenzimi mevcuttur :

1. Sitozolik SOD ve vasküler endotele bağlı bulunan ekstraselüler SOD'ın kofaktörleri çinko ve bakırdır. (CuZn – SOD). Bu enzimlerin aktivitelerinden bakır, stabilitelelerinden çinko sorumludur.

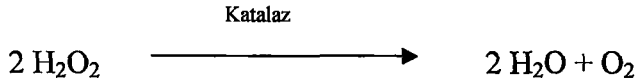
2. Mitokondrial SOD'ın kofaktörü ise mangandır. (Mn – SOD).

Hücrede en bol bulunan izomer sitozolik CuZn – SOD'dur. Her iki SOD'ın katalizlediği reaksiyon aynıdır (44).

Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süper oksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

2.5.1.2. Katalaz

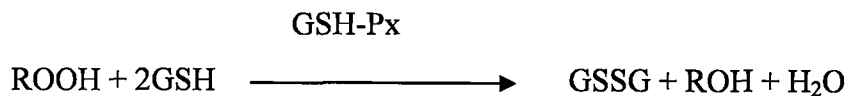
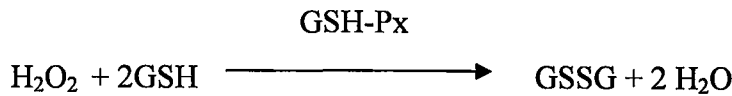
Katalaz (EC 1.11.1.6) 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 225.000 Dalton'dur. Katalaz esas olarak peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 "hem" grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir (45). SOD aracılığıyla oluşmuş olan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif ROM olan HO[•] Radikalinin öncüsüdür. Bu nedenle birçok ROM'inden daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar (46).



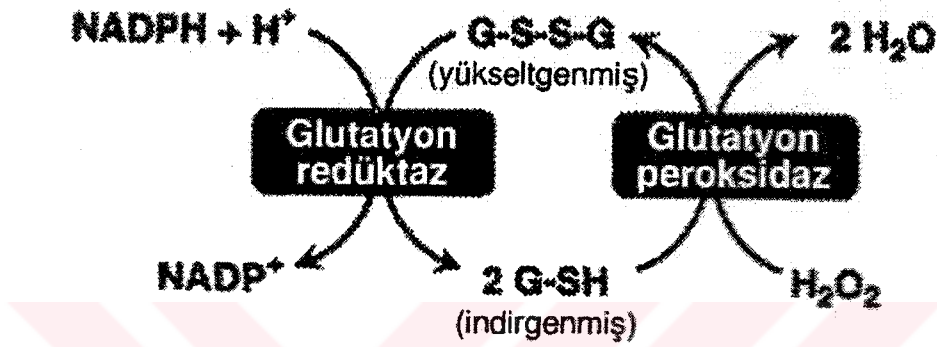
2.5.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH – Px)

GSH-Px (EC 1.11.1.9), molekül ağırlığı 84.000 Da kadar olup birçok dokuda bulunan tetramerik 4 Se atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Enzimin prostetik grubu protohem'dir (47). GSH-Px, tamamlayıcı bir komponenti olan selenyumla birlikte E vitamininden sonra ikinci bir savunma hattı olarak peroksitleri, zarar vermeden yok eder. GSH-Px, çoğu hücrede sitozolde bulunur. Aşırı hidrojen peroksit varlığında glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) oksidasyonunu kataliz eder: bu arada H₂O₂ 'de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur. En yüksek aktivite karaciğerde sırası ile kalp, akciğer ve kasta bulunur.

GSH-Px'in katalizlediği reaksiyonlar :



Hidroperoksitlerin indirgenmesi ile artık koruyucu özelliği olmayan okside glutatyon (GSSG) meydana gelir. Hücre, indirgeyici elektronların kaynağı olarak NADPH'ı kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla indirgenmiş glutatyonu (GSH) tekrar oluşturur.

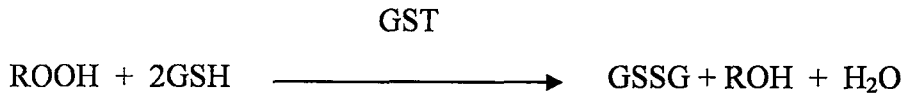


Şekil 6 : Glutatyon peroksidazın kataliz ettiği reaksiyon

Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px işlevselliğindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (46).

2.5.1.4. Glutatyon – S – Transferaz (GST)

GST'ler iki protein alt biriminden oluşan bir enzim ailesidir. Genel olarak 3 sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar.



Antioksidan aktivitelerine ilaveten çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup hem, bilirubin ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddeleri dönüşümlü olarak bağlayarak bunların hücre içi transportunda yer alırlar (48).

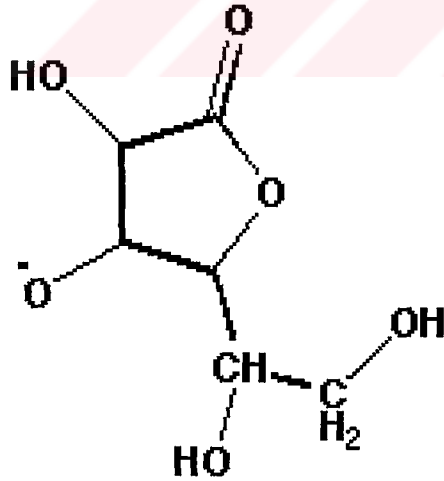
2.5.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Tablo 2.4. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Vitamin C	Seruloplazmin
Vitamin E	Transferin ve Laktoferrin
Vitamin A	Ferritin
Flavinoidler	Oksipurinol
Melatonin	Ubikinon
Ürik asit	Bilirubin
Albumin	Mannitol
Haptoglobulin	Lipoik asit
Sistein	Hemopeksin
Glutasyon	

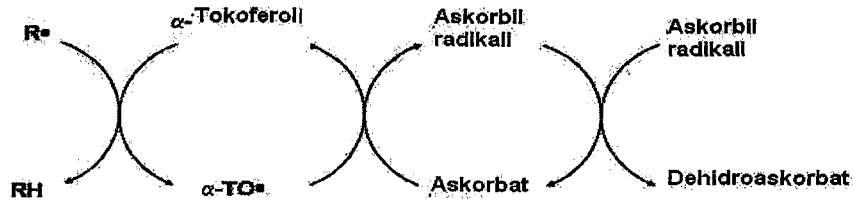
2.5.2.1. Vitamin C (Askorbik Asit)

Vitamin C bir ketolaktondur. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan vitamin C süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler.

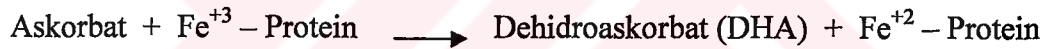


Şekil 7 : C vitamininin molekül yapısı

Genel olarak askorbat iyi bir indirgeyici ajandır. Serbest radikal ilişkili oksidatif proseslerde bir d n r antioksidan olarak görev yapar. Bunun yanı sıra, indirgeyici bir ajan olark bakır ve demir gibi metalleri indirgeyebilir. Böylece askorbat hem prooksidan hem de antioksidan özelliğe sahiptir. Genelde, düşük konsantrasyonlarda askorbat prooksidan, yüksek konsantrasyonlarda antioksidan olarak görev yapar. Tokoferroksil radikalinin tokoferole indirgenmesini de sağlar.



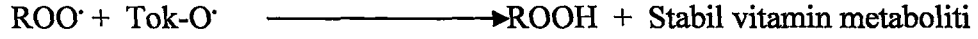
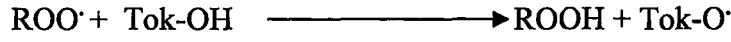
Vitamin C (askorbat/askorbik asit) ferrik demiri (Fe^{+3}) ferro demire (Fe^{+2}) indirgeyen süperoksit dışındaki tek hücresel ajandır (49).



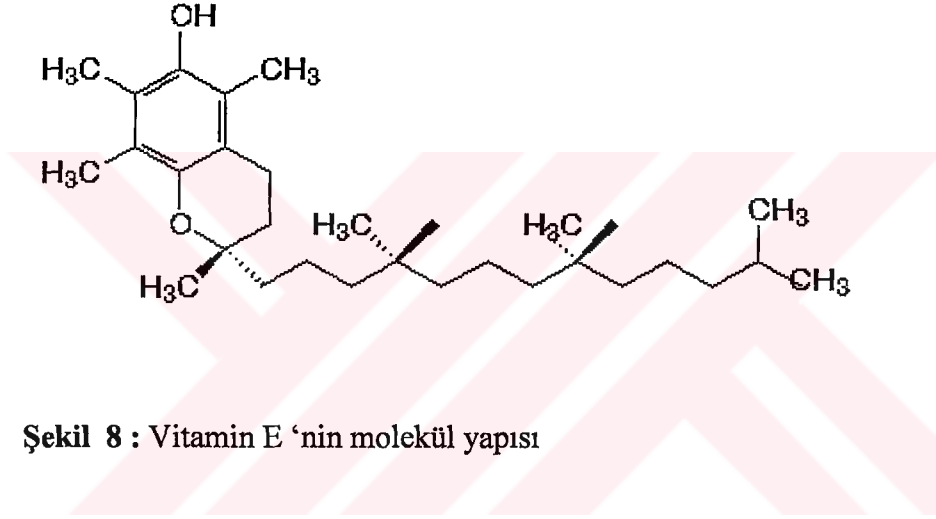
2.5.2.2. Vitamin E (Tokoferol)

E vitamini, tokoferol ve tokotrienoller için genel bir deyimdir, biyolojik olarak en aktif ve doğal formu α -tokoferoldür. Vücudumuzda yaygın olarak bulunur. E vitamininin en önemli rolü membran lipidlerinin doymamış yağ a ıl kısımları için birantioksidanolmasıdır.Yapısında bulunan fenolik hidroksil grublu aromatik halka vitamin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu k sm ndan kaynaklanır. En yüksek vitamin E konsantrasyonu mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır.

E vitamini (Tok-OH), peroksidler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline ($ROO\cdot$) transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde iki basamakta yapar:



Birinci basamakta oluşan tokoferoksi radikali yeni bir serbest peroksil radikali ile reaksiyona girer. Sonuçta α -tokoferol serbest olmayan radikal ürününe okside olur. Bu oksidasyon ürünü, glukronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır (50).



Şekil 8 : Vitamin E 'nin molekül yapısı

2.5.2.3. Vitamin A (β -Karoten)

Yağda çözünen vitaminlerden ilk bulunanıdır. A vitaminin metabolik ön maddesi olan β -Karoten son derece güçlü singlet oksijen temizleyicisi olup ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyon verip lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu önleyebilir (49).

2.5.2.4. Melatonin :

Melatonin , $\text{HO}^\bullet$ radikalini temizleyen çok güçlü bir antioksidandır. $\text{HO}^\bullet$ ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikalini dönüştür. Bu da ortamdaki $\text{O}_2^\bullet$ radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir.

Diğer antioksidanlara göre çok güçlü bir antioksidan olmasının nedenleri:

1. Lipofilik olması nedeniyle hücrenin hemen tüm organellerine, birçok dokuya rahatça girerek geniş bir alanda aktivite gösterir.
2. Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı oksidatif hasara karşı korur.
3. Çok yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanımında bile toksik bir etkisi yoktur.
4. Pro-oksidan aktiviteye sahip değildir (51).

2.5.2.5. Ürik Asit :

Pürin metabolizmasının son ürünü olan ürik asit normal plazma konsantrasyonlarında lipid radikalleri dışında tüm serbest radikalleri temizler. Ayrıca C vitamini oksidasyonunu önleyici etkisi de vardır (29).

2.5.2.6. Albumin

Albumin yapısında bulunan çok sayıdaki sülfidril grubu aracılığıyla bakır iyonlarını sıkı olarak bağlar ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu ile HO[•] oluşumunu inhibe eder. Albumine bağlı bakır bazı oksidan oluşumlarda bulunabilirse de oluşan radikaller biyolojik olarak önemsizdirler. Albumin aynı zamanda etkin bir HOCl temizleyicisidir, kanda serbest yağ asitlerini taşır ve bilirubine bağlar. Bu bağlı bilirubinin antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (29).

2.5.2.7. Sistein

O₂⁻ ve HO[•] radikallerinin temizleyicisidir (29).

2.5.2.8. Bilirubin

“Hem” katabolizmasının sonucunda oluşan safra pigmenti bilirubinin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve HO[•] ve H₂O₂ radikallerinin temizleyicisi olduğu bilinmektedir (29).

2.5.2.9. Seruloplazmin

Plazmada major bakır içeren proteindir. Seruloplazmin ferro-oksidadz aktivitesi göstererek Fe⁺²'i Fe⁺³'e okside eder. Böylece fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonunu önleyici etki gösterir. Aynı zamanda bir akut faz reaktanıdır ve inflamatuvar durumlarda kan düzeyi artar (29).

2.5.2.10. Ferritin

Dokulardaki demiri bağlayarak serbest radikal reaksiyonlarında yer almasını engeller (29).

2.5.2.11. Transferrin ve Laktoferrin

Transferin dolaşımdaki, laktoferrin lökositlerdeki demiri bağlar ve serbest radikal oluşumunu engeller (29).

2.5.2.12. Haptoglobin ve Hemopeksin

Hemoglobin, gerek dekompozisyonla ortama demir vererek gerekse doğrudan peroksitlerle etkileşerek lipid peroksidasyonunu uyarabilir. Haptoglobin hemoglobini, hemopeksin “hem”i bağlayarak bu demir bileşiklerinin lipid peroksidasyonunu uyarmasını engeller (29).

2.5.2.13. Mannitol

HO[•] radikalini temizleyici etki gösterir (29).

2.5.2.14. Oksipurinol

Allopurinol metaboliti olup doğrudan HO[•] ve HOCl radikallerini azaltıcı etki gösterir (29).

2.5.2.15. Probukol

Kan kolesterolünü düşürmede kullanılan bir ilaç olup güçlü antioksidan özelliği vardır. Lipid peroksidasyon zincirini kırıcı özellik gösterir (29).

2.5.2.16. Deferoksamin (DFO)

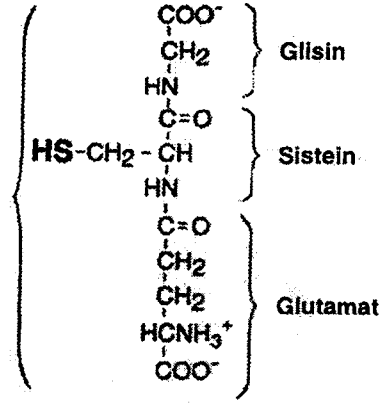
DFO, Fe⁺³i bağlar ve oluşan bu kompleksteki demirin indirgenmesi son derece zordur. Bu sayede serbest radikal oluşumuna katılamaz.

2.5.2.17. Lipoik asit

Lipid peroksidasyonunu önler. HO[•] ve singlet oksijen toplayıcısıdır. H₂O₂ ‘i indirger. Vitamin E tüketimine karşı koruyucudur (29).

2.5.2.18. Glutatyon (GSH) :

Önemli bir intrasellüler antioksidandır ve ekstrasellüler sıvıda çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiş bir tripeptiddir (şekil 10) .



Şekil 9 : Glutatyon molekülünün yapısı

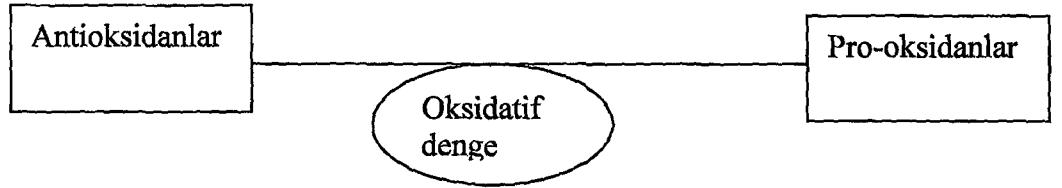
GSH'a antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutatyon, HO[•] ve singlet oksijenin gibi ROM'lerinin temizleyicisidir. Aynı zamanda proteinlerdeki –SH gruplarını redükte durumda tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Demirin Fe⁺² (ferro) halde tutulmasını sağlar. Böylece, protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller, hatta rejenere olmalarını sağlar (46,52).

2.6. OKSİDATİF STRES

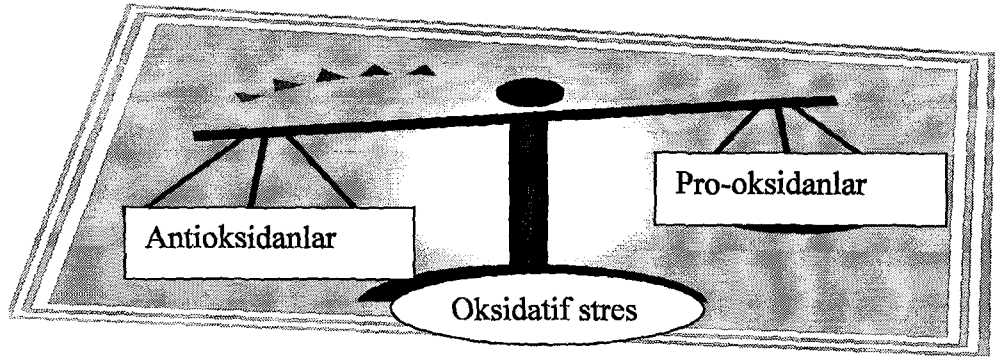
Biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller gözlenen toksik etkilerden sorumludurlar. Çevresel faktörler (Örneğin: iyonlaştırıcı radyasyon,UV, sigara gibi), vücuda alınan çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku travmaları gibi patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olurlar.

Kimyasal bileşikler ile potansiyel toksik oksit türleri üretme yeteneği olan tepkimeler pro-oksidanlar olarak bilinir. Bu türleri ortadan kaldıran, oluşumlarını bastıran veya etkilerine karşı çıkan bileşik ve tepkimelere antioksidanlar denir. Özellikle SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz serbest radikal birikimini ortadan kaldıran belli başlı enzimlerdir.

Normal bir hücrede, uygun bir pro-oksidan –antioksidan dengesi bulunur (şekil 11). Organizmada serbest radikal oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı yani oksidatif denge sağlandığı sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Savunma azalır ve zararlı bileşikler dominant hale geçer veya bu bileşiklerin oluşum hızı savunma gücünü aşarsa bu denge bozulur ve oksidatif stres meydana gelir (şekil 12) (52,53).



Şekil 10 : Oksidatif denge



Şekil 11 : Oksidatif stres

Aerobik metabolizma reaktif oksijen türevlerinin oluşumu ve bunların benzer hızla antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılmasıyla karakterizedir. Reaktif türevler ile makromoleküller arasındaki etkileşimler dönüşümlü veya dönüşümsüz oksidatif modifikasyonlara neden olabilir (53).

Bunları dört başlık altında toplayabiliriz :

1. DNA/RNA üzerine etki
2. Proteinlere etki
3. Poliansütere yağ asitlerine etki
4. Karbohidratlara etki

2.6.1. DNA oksidasyonu

Serbest radikaller, DNA'nın şeker ve baz kısmını etkileyerek birçok ürün oluşumuna sebep olurlar. Serbest radikallerin DNA'da tek veya çift bağ kırıklarına yol açarak mutasyona ve hücre ölümüne neden oldukları gösterilmiştir. In vitro şartlarda DNA'da oluşturulan hasarın çoğunun difüzyonla geçen hidroksil radikale bağlı olduğu gösterilmiştir. Hidrojen peroksit, DNA'daki demir ve bakır ile etkileşerek hidroksil radikali oluşturur ve doku hasarına neden olur.

Bunun yanı sıra oksidatif stres, hücre içinde demirin serbest kalmasına yol açabilir. Serbest demir DNA'ya bağlandıktan sonra bu bölgede ortaya çıkabilecek HO[•] radikallerinin saldırısına açık hale gelebilir. Örneğin mitokondriye serbest Ca⁺² girdikten sonra mitokondri hücre içine Fe⁺² salabilir. Eğer DNA'ya bağlı Fe⁺² ve Cu⁺² varsa nükleusa H₂O₂ ulaştığı anda HO[•] radikali aracılığı ile meydana gelen DNA fragmentasyonunun sonucunda poli (ADP-riboz) sentetaz enzimi aktive etmeye çalışır.

Eğer, DNA zinciri üzerinde çok sayıda hasar meydana gelmişse çok fazla miktarda NAD⁺ bitince hücre fonksiyonları da durur ve hücre ölür. DNA tamir edici sistemlerin belli bir kapasitesinin olması bir amaca yöneliktir. Çünkü DNA tamiri çok uzarsa hücrede mutasyonların meydana gelme eğilimi de artar (53,54).

2.6.2. Protein Oksidasyonu

Oksidatif protein hasarı, protein karbonil (PCO) düzeylerindeki artış (55) ve protein tiol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir. Proteinlerdeki aromatik amino asitler, sistein ve disülfid bağları serbest radikaller tarafından etkilenir. Reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asid kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda PCO ürünleri meydana gelir.

PCO düzeylerinin saptanmasının oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmektedir. Protein hasarı direkt serbest radikal saldırısına da bağlı olabilir. Diğer taraftan serbest radikaller proteinlerdeki tiol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur. Özellikle hidroksil radikali, proteinlerin birçok aminoasit kalıntısı ve tiol grupları ile reaksiyona girebilir. Protein tiolleri (PSH) antioksidan fonksiyonlarını peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarak gösterir. Böylelikle vitamin E ve/veya lipidler oksidatif ataktan korunur.

Birçok protein, demir ve bakır bağlamakta bu nedenle de ortamda H_2O_2 oluştuğunda $HO\cdot$ radikalinin saldırısına açık bir hale gelmektedir. Bununla birlikte plazmada demir ve bakır bağlayan transferrin ve seruloplazmin bu reaksiyonun meydana gelmesine izin vermemektedirler. Bunun aksine plazma albumine bağlanan bakır, H_2O_2 ile reaksiyona girerek $HO\cdot$ oluşmakta, bu da albumine hasar vermektedir. Albumin karaciğer tarafından hemen sentezlenerek yerine konmaktadır. Serbest radikal saldırısı sonucu açığa çıkan antijenik maddelere karşı antikorlar oluşmakta ve sekonder reaksiyonlara yol açmaktadır. Reaktif azot türlerinin (NO_2 , $ONOO\cdot$) tirozin ile birleşmesi sonucu oluşan 3-nitrotirozin ölçülerek protein hasarı değerlendirilir (56,57).

2.6.3. Karbohidrat Oksidasyonu

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki ederler. Böylece kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler (58).

2.7. KİMYASAL MADDELER VE BAZI TOKSİK ETKİLERİ

Kimyasal madde,doğal halde bulunan veya üretilen, herhangi bir işlem sırasında atık olarak ortaya çıkan veya kazara oluşan her türlü element, bileşik ya da karışımlardır.Endüstriyel olarak ileri toplumlarda istenmeyen olaylardan biri toksisite potansiyeline sahip kimyasal maddelerle olan temastır. Bugün birçok farklı iş kolunda sayısız toksin olduğu vurgulanmaktadır.

Bazılarının hastalık yapıcı etkisi çok az olmasına karşın, bazen ağır hastalık tablosu oluşabilmekte ve hatta ölümle sonlanabilmektedir. Toksik maddelerle karşılaşan kişilerin hızlı bir şekilde tanısı ve tedavisi gerekir. Ancak çoğu kez semptom ve bulgular değişkendir ve toksik maddeye özgün değildir. Tanı, hastalık öyküsünde temel noktaları yakalamak, kişi ile ilgili bilgileri ayrıntılı olarak elde ederek konur. İnhalasyon hasarı basit veya kimyasal asfiksanlar, pulmoner iritanlar veya her üçünün kombinasyonu şeklinde olabilir. Bu kimyasalların bilinmesi solunumsal toksinlere maruz kalan hastaların bakımında önem taşır. Ayrıca, toksinlerin çözünürlüğü, asit veya alkali oluşu gibi fiziksel özelliklerinin bilinmesi hastalığın ortaya çıkışı, süresini ve başlıca etki yerlerini bilmeye olanak sağlar. (59,60).

Değişik toksinlerin spesifik özellikleri hakkında bilgi sahibi olunması hem bu toksine özgü tedavi olanaklarının uygulanmasına olanak sağlar, hem de uzun dönemde gelişebilecek komplikasyon riski varsa takip edilmesini gerekli kılar. Solunumla alınan toksik maddelerin konsantrasyonu, pH'ı, partikül boyutu, çözünürlüğü, kişinin toksik maddeyle karşılaşma süresi ve ortamın açık ya da kapalı olması ortaya çıkacak ilk patolojik yanıtın belirlenmesinde önemlidir. Yaş, sigara alışkanlığı, solunum sistemi veya başka bir organ hastalığının olması, kişinin koruyucu maske gibi cihazları kullanıp kullanmaması hastalığın seyrini belirleyici özelliklerdir.

Solunum havasıyla alınan küçük partiküller kümelenme ve çökme yoluyla solunum yollarında birikirler. Bu özellik partikül büyüklüğü ve hızı ile artar. Sıvı süspansiyonlar buharlaştıklarında gaz olarak absorbe edilebilirler. Gaz molekülleri ise havayollarından doğrudan difüze olabilirler (60).

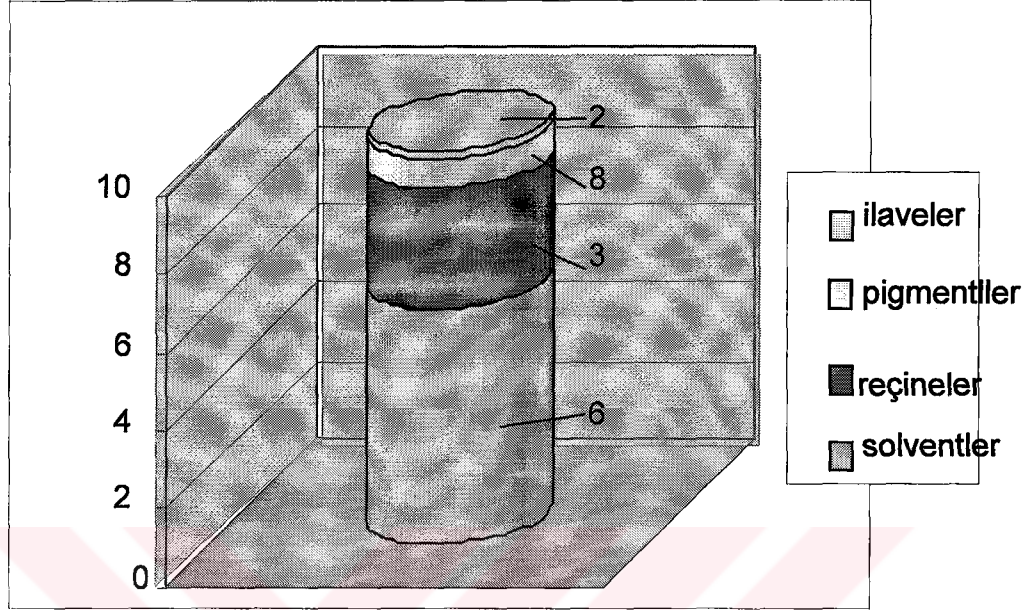
2.7.1. Boya kimyasalları ve sağlık üzerine etkileri

Boya bileşimi başlıca şunları içerir:

- 1- Bağlayıcı maddeler (reçine) : Alkid, reçinesi, akrilik reçine, epoksi reçine
- 2- Boyar maddeler (pigment): Çeşitli organik ve inorganik pigmentler ya da karışımları.
- 3- Dolgu maddeleri: Barit ($BaSO_4$), kalsit ($CaCO_3$), talk gibi.
- 4- İncelticiler (zc): Toluen, ksilen, White Sprite (Beyaz tiner) gibi.
- 5- Kpklenmeyi nleyiciler
- 6- Kaymaklanmayı nleyiciler
- 7- kelmeyi nleyiciler
- 8- Plastikleştiriciler
- 9- UV- absrberleri, stabilizarler
- 10- Uçucu organik bileşikler : Amonyak, fosgen, benzen, trikloetilen vb.

Yüzlerce boya üreticisi farklı farklı boya üretirler. İyi bir boya genelde yüksek oranda bağlayıcı ve pigment içerir. Pigmentler boyaya renk verir. Reçine, pigmentler için destekleyici bir ortam sağlar ve polimerik yapıdadır. Katkı maddeler boyaya kalitesini artırmak, maliyeti düşürmek ve koruyucu amaçlarla ilave edilir. Boya bir yüzeye uygulandığında kururken sert bir film tabakası oluşturur ve pigmentler askıda kalır (61).

Boya üretiminde kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları şekil 13’de gösterildiği gibidir.



Şekil 12 : Boya içerisindeki bileşenlerin hacimleri

Organik çözücüler 19.yy’da kömür-katranı endüstrisinde kullanılmaya başlanmış daha sonra gelişmekte olan ülkelerde kullanım alanı gittikçe yaygınlaşmıştır. 1920’lerde klorlanmış çözücülerin kullanılmaya başlanması ile toksisite ile ilgili raporlarda ortaya çıkmaya başlamıştır. Endüstrideki çalışanlar, bu ajanlarla karşı karşıya kalır ve mesleki maruziyet oluşur. Bunun yanı sıra bu endüstri kuruluşlarının artıklarının su, hava ve yiyeceklere karışımıyla çevresel maruziyet meydana gelir (62).

Patofizyolojisi: Literatürde kısa süreli, yüksek düzeydeki maruziyetle ilgili birçok olgu tanımlanmıştır. Bunlar sentral ve periferik sinir sistemi üzerinde irreversible ve reversible olarak sağlık problemlerine yol açabilir. Yapılan popülasyon çalışmalarında orta ve uzun süreli, düşük dozda maruziyetlerin, merkezi ve periferik sinir sisteminde dönüşümlü ve dönüşümsüz olarak nöropsikolojik, nörofizyolojik bozukluklara yol açtığı bildirilmiştir (63).

Amerika'da 1987 yılında NIOSH (Ulusal Meslek Güvenliği ve Sağlık Enstitüsü) tarafından yapılan çalışmalarda 9.8 milyon işçinin organik çözücülere çalıştıkları ortamlarda maruz kaldıkları bildirilmiştir. mesleki maruziyet çözücü karışımlarından meydana gelmektedir. Bu kimyasalları yaygın olarak boya üreticileri ve boyacılar, mikroelektronik çalışanları, kuru temizleyiciler,halıcılar, tutkal üreticileri, tekstil işçileri, anestezi personelleri, petrol dolum tesisinde çalışanlar, laboratuvar çalışanları kullanmaktadırlar (62,63).

Tablo 2.5. Organik çözücülerin yaygın olarak kullanıldığı yerler

Karbon disülfid Boyada, sprej boyada, vernik yapımında kullanılır.	Metilklorid Pestisid sprejlerde, aerosollerde, balmumunda, boyada, boya çıkarmada, verniklerde kullanılır.
N-heksan Boyada, mürekkepte, gazolinde, vernikte, sprej boyada kullanılır.	Toluen Boyada,solventlerde, tutkal yapımında, verniklerde, sprej boyada, plastik yapımında, kir temizlemede, baskı kağıtlarda, vernik yapımında kullanılır.
Trikloretilen Sprej boyada, boyada, baskı mürekkeplerde, kir temizlemede kullanılır.	Ksilen Boyada, tinerde, gazolinde, bina yapımında kullanılan maddelerde, vernikte, kağıtta, polistiren kaplarda.
Tiner Boyada inceltici olarak, boya karışımlarının hazırlanmasında, petrol sanayisinde kullanılır.	Benzen Boya imalatında çözücü olarak kullanılır özellikle organik bazlı boyaların içeriğinde bulunmaktadır.

Metabolizması : Maruziyet, şiddet ve süre ile ölçülebilir. Şiddet, çözücü konsantrasyonuna ve bazı diğer faktörlere bağlıdır. Ortamdaki hava, sıcaklık, materyalin yüzey alanı, çözücü hacmi, konsantrasyon ve materyalin aplikasyon metodu gibi değişimlere bağlı saptanabilir. Çözücülerin birçoğunun absorpsiyon yolu inhalasyon gibi gözükse de dermal rotalar işyerlerinde yaygındır. Maruziyetin yolları mesleki ve çevresel maruziyetle ilgilidir. Inhalasyonda, alveollerden kana hızlıca difüzyon olur. Çünkü alveoler ventilasyon ve pulmoner perfüzyon, fiziksel çaba veya çalışma ortamının fonksiyonları ve manuel çalışma gibi değişkenlerle absorpsiyonu artırabilir. Bu respirasyonun derinliği ve oranının fonksiyonudur.

Sıvı çözücüler deri ile temas ettiğinde dermal absorpsiyon meydana gelir. Dermal absorpsiyon maruziyetin bir diğer kaynağıdır. Deri yüzey alanı, inceliği, kalınlığı ve fiziksel karakteri, çözücü temasının süreyle uzaması önemli değişkenlerdir.

Çözücülerin dağılımı, organ sistemlerinin lipid içerikleri ve organın kanlanmasına bağlıdır. Kardiyak output organa kanın sağlanmasını kontrol eder. Dokuda çözücünün yarılanma ömrü ve adipoz dokunun hacmi önemli parametrelerdir. Çözücülerin yarılanma süreleri çok değişiklik gösterir. Bu süre benzen için 12 saatten fazla iken toluen için 3 saattir. Bu ajanların kan/hava partisyon katsayısı çözücüler için bir diğer değişkendir.

Yüksek partisyon katsayılı çözücüler için, kanda gazın çözünürlüğü daha iyidir ve bu septomların ataklarının yavaşlaması ile ilgilidir. Merkezi sinir sistemi lipitce zengin dokular içerdiğinden çözücülerin dağılım gösterdiği hedef organdır. Karaciğer bir çok çözücünün metabolizmasının meydana geldiği temel organdır. Karaciğerde bulunan stokrom P-450 monooksijenaz enzim sistemi etnik köken ve yaşa göre bireyler arasında farklılıklar gösterir. Bazı ilaçlar ve birçok çözücü bu enzim sistemini indükler. İndüksiyon sonucunda metabolit sağlığa zararlı bir yanıt oluşturuyor ise daha yüksek toksisiteye neden olabilir. Örneğin; n-hekzan ve metil tersiyer bütül keton, 2,5-hekzan diole metabolize olur ve bu oluşan bileşik periferik nörotoksindir. Stokrom P-450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünler meydana gelebilir. Glutasyon ve askorbik asit gibi hücre hasarını önleyen antioksidanlar tarafından bu ara ürünler inaktive edilmelidir. Bu arametabolitler, proteinlere, lipidlere, DNA ve RNA'ya kovalent bağlanabilir. Hücresel membranlarda hasar oluşturabildiği gibi mutajenik reaksiyonları da başlatabilirler.

Detoksifikasyon yolunun doygunluğu, yüksek dozlu maruziyetle sonuçlanabilir. Toksinler veya ara ürünler birikebilir. Bunlar bazı çözücüler tarafından yıkılabilir. Serbest radikaller gibi reaktif oksijen türleri, organik çözücülerin metabolizması esnasında oluşabilir. Bunlar reaktif metabolitlerin farklı mekanizmaları tarafından hücresel makromoleküllere saldırabilir ve DNA'nın yapısını değiştirebilirler (62,64).

Bu kimyasalların sağlık üzerine etkileri akut ve kronik olarak değerlendirilebilir:

Akut Etkiler (Kısa süreli maruziyetler) : abuk gelişen yanıtlar ve organik çözücülere yüksek seviyede maruziyette, sentral sinir sistemi hasarları görülür. Semptomlar çözücüden-çözücüye değişmekte olup baş dönmesi, dikkatsizlik, rofi ve fel gibi farklı sağlık problemlerine yol açabilir.

Kronik Etkiler (Uzun süreli maruziyetler) : Semptomlar yavaş yavaş ortaya çıkar ve kimyasal maddeye göre değişim gösterir. Baş ağrısı, uyuşukluk, uyku düzensizliği, yorgunluk gibi genel belirtileri söz konusudur (65).

Dünya Sağlık rgtnn (WHO) boya çözücüleri üzerinde yaptığı araştırmalarda bunların karsinojenik olduğu ve boyacıların %40'nın akciğer kanserine, %20'sinin mide, mesane ve gırtlak kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca ocuklarda da lösemi ve beyin tümörlerinin riskinin arttığı kaydedilmiştir (85).

2.7.2. Uçucu organik bileşikler (UOB) :

Bunlar ticari amaç için kullanılan kimyasalların en geniş sınıfıdır. Bu bileşiklerin %37'si motorlu taşıtlarda, %58'i endüstriyel proseslerde ve %5 çözücü tüketiminde kullanılmaktadır. Dolayısıyla insan sağlığında önemli bir yeri söz konusudur. Özellikle II. Dünya savaşı esnasında sıklıkla kullanılmaya başlanmış ve sağlık üzerine olan yan etkileri tanımlanmıştır. 1980 ile 1990 yılları arasında Kanada 'da yapılan çalışmalarda UOB'lerin boya imalatında ve kaplama sanayisinde kullanım sıklığı ve oranı hesaplanmıştır (66,67).

Endüstride kullanım alanları 3 başlık altında toplanmaktadır.

- a- Endüstride Dekoratif boya üretiminde %54
- b- Endüstriyel kaplamalarda %27
- c- Otomotiv kaplamalarında %19

Yaklaşık 70,000 çeşit kimyasal ticari olarak kullanılmaktadır ve yüzlercesi nörotoksik olarak bilinmektedir (66).

UOB'lerin tümü lipitlerde çözünürler. Bundan dolayı vücudun lipidce zengin dokularına afiniteleri yüksektir. Beyin yüksek oranda lipid içerikli olduğundan dolayı UOB'lerin birincil hedefidir. Merkezi sinir sistemini inhibe edebilirler. Akut septomlar arasında baş dönmesi, yorgunluk, konsantrasyon güçlüğü ve zayıf koordinasyon sayılabilir. UOB'ler çok hızlı bir şekilde yayılırlar, solunum sistemi ile vücuda kolaylıkla girerler ve akciğer membranlarında hasara neden olabilirler. Kan ve lenfatik sisteme geçer ve oradan hedef organlara taşınabilirler. Bu esnada sıvılarda çözünebilir ya da serum proteinleri gibi taşıyıcı moleküllere bağlanabilirler (67,68).

UOB'ler genel olarak 3 major katagoride değerlendirilebilir:

- a) Pestisidler
- b) Çözücüler ve diğer uçucu kimyasallar
- c) Formaldehid

UOB'lerin in vitro koşullarda oluşturabileceği hasarın derecesi, kimyasalın dozuna, daha önceki maruziyete ve kişisel metabolizmaya bağlıdır.

2.7.2.1. Amonyak (NH₃)

Amonyak renksiz, suda oldukça iyi çözünen, havadan daha az yoğunluğa sahip, kendine özgü keskin kokusu olan bir gazdır (69). Amonyak boya imalatı sırasında konsantrasyonu çok az olmakla beraber temizleyici madde olarak kullanılmaktadır. Inhalasyon hasarları endüstride konsantrasyonunun yoğun olduğu yerlerde meydana gelir. Amonyak mukoza yüzeyinde su ile reaksiyona girerek güçlü bir alkali olan amonyum hidroksit oluştururken ısı da açığa çıkar. Bu nedenle amonyak, oluşturduğu alkaliye bağlı nekrozun yanında, doğrudan termal hasara da yol açmaktadır. Sudaki çözünürlüğü fazla olduğundan proksimal hava yolları daha fazla etkilenir(70).

2.7.2.2. Fosgen (COCl₂)

Doğal olarak oluşmaz. İzosiyanatların sentezinde ara ürün olarak, pestisid, plastik, boya üretimi sırasında oluşmaktadır. Boya imalatı yapan kişiler, klorlu hidrokarbon içeren maddelerin (örn; çözücüler, boya ayırıcı maddeler) ısıtılması sırasında fosgenle karşılaşmaktadırlar. Akciğerde fosgen yavaş bir şekilde hidrolize olarak karbon dioksit ve hidroklorik asit oluşturur.

Çok yüksek düzeydeki konsantrasyonlarda maruz kalındığında gözlerde yanma, boğaz ağrısı ve öksürük gibi mukoz membran irritasyonu bulguları belirgindir (70,71).

2.7.2.3. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum boya imalatında parlak renk verici pigment olarak kullanılır. Özellikle organik bazlı boyalarda kullanılmaktadır. Kadmiyum boya imalatı esnasında ısıya maruz kaldığında gri toz halinde bir duman açığa çıkar. Kadmiyum dumanı ile uzun süreli karşılaşma sonucu amfizem geliştiği bilinmektedir. Kadmiyum vücutta başlıca karaciğer ve böbrekte birikir.

Kadmiyum toksisitesi diğer ağır metallerinkine benzerdir. 1992 'de NIOSH tarafından kadmiyuma maruz kalan işçiler üzerinde yapılan çalışmada, idrarda kadmiyum ve kreatinin'e bakılmış. Sonuçlar kreatinin'nin her gramında Cd 'un μg olarak açıklanmış. Kadmiyum atılımı $> 3 \mu\text{g Cd/g}$ kreatinin olması kadmiyum maruziyetinin bir göstergesidir. Kadmiyum atılımı $>15 \mu\text{g Cd/g}$ kreatinin olması durumunda maruziyetin şiddetli olduğu düşünülür. Günlük Cd atılımı $3 \mu\text{g/gün}$ daha azdır. Bu sonuca göre kadmiyumun birikimine bağlı olarak kronik maruziyet renal hasara neden olmaktadır.

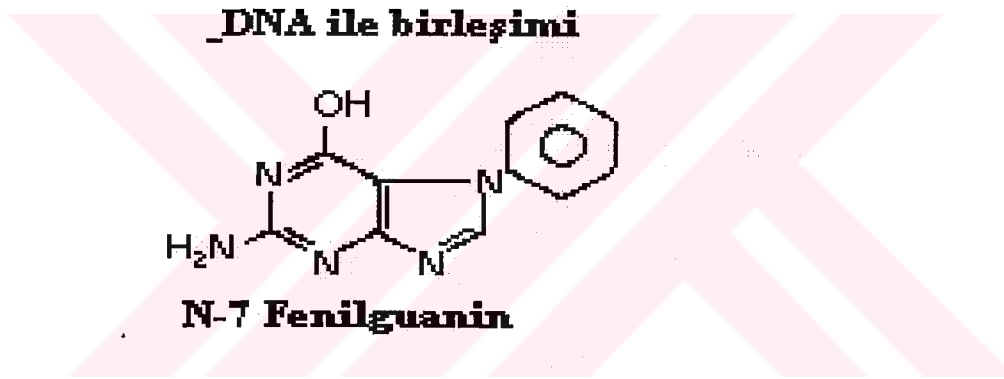
Normal kan kadmiyumu 5 ng/mL 'nin altında olup, genellikle düzeyler $0,5-2 \text{ ng/mL}$ aralıkları arasında değişim göstermektedir. Akut toksisite de kan seviyesi 50 ng/mL aşmaktadır. Kadmiyum toksisitesi protein-Cd birikimiyle birlikte açıklanabilir. Cd, proteinlere bağlanarak konformasyonlarında denatürasyona yol açabilir (72).

2.7.2.4. Benzen

Benzen birçok sanayi iş kolunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Boya imalatında çözücü olarak kullanılır özellikle organik bazlı boyaların içeriğinde bulunmaktadır. Benzenin karsinogenik olduğu uzun süredir bilinmektedir. Benzen maruziyeti olanlarda löseminin sık görüldüğü kesin olarak kanıtlanmıştır. Benzene bağlı olarak gelişen kemik iliği etkilenmesinde benzenin bir metaboliti olan benzen epoksit' in sorumlu olduğu bulunmuştur (73,74).

Benzenin toksisitesi bir veya daha fazla metaboliti tarafından meydana gelmektedir (75). Benzen metabolitleri 2 veya 3 hidroksil grubu içerirler (1,2 hidroksibenzen gibi). Benzen toksisitesi, kemik iliğindeki benzen metabolitleriyle doğru bir ilişki göstermektedir. Benzen metabolizması genel olarak karaciğerdeki stokrom P-450 IIE1 enzim sisteminin aracılık ettiği ve bir dizi stabil olmayan metabolitin meydana geldiği bir mekanizmadır (76). İnsanlarda, benzen major ve minör birçok yolla metabolize olur. Benzen fenol, katekol ve quinol'e dönüşür (77).

Daha sonra bu bileşikler, inorganik sülfatla birleşerek sülfat konjugatları olarak idrarla atılır. Bunun yanı sıra glukronid konjugatları da idrarda saptanmıştır. In vitro şartlarda aktif haldeki okside benzenin, DNA'nın guanin rezidüsüne kovalent bağlanarak hasara neden olduğu da yapılan çalışmalarda bulunmuştur (78).



Şekil 13 : Benzenin DNA ile birleşimi

Benzene kronik maruziyet, genellikle buharının inhalasyonundan kaynaklanır. Buhar emisyonu merkezi sinir sistemini etkiler. Septomlar, baş ağrısı, iştah kaybı, sinirlilik, beniz solgunluğu gibidir.

Kronik olarak benzen buharıyla karşı karşıya kalınma durumlarında da hematopoietik sistem belirtileri ön plandadır. Benzen, kemik iliğindeki ana hücreyi etkileyerek hematopoezdeki üç fonksiyonu da bozar ve pansitopeniye neden olur (79,80).

2.7.2.5. Ksilen

Saf ksilen, berrak, renksiz sıvı halindedir. Hızla yanmaya meyillidir. Sinonimleri dimetil benzen, metiltoluen, violet 3 ve ksiloldür. Petrol katranından elde edilir ve boyalar, yapıştırıcılar gibi ürünlerin imalatında yer aldığı gibi patoloji laboratuvarlarında da kullanılır. Ksilen, hücre membranında bulunan integral proteinlerle reaksiyona girer ve etkisini böyle gösterir (81). Inhalasyon , dermal ve gastrointestinal yolları ile absorbe olur. Karaciğerde sitokrom P-450 enzim ile metabolize olur. Başlıca inhalasyon yolu ile vücuda giren ksilenin az miktarlarda buharını solumak başağrısı, baş dönmesi, bulantı, yorgunluk ve oküler irritasyon yapabilir. Daha ciddi maruziyet sonucu, ksilen, uykululuk hali, düzensiz kalp atımları, bayılma ve hatta ölüme neden olabilmektedir. Deri yolu ile absorpsiyonu sistemik zehirlenme yapmaz. Oral yolla sıvı ksilenin alınması muköz membranların lokal irritasyonuna neden olur. 5000 ppm'in üzerindeki dozlarda anestetik etkilidir. 10000 ppm dozda inhalasyonu ile bilinç kaybı ve ölüm görülür. Ölüm, solunum yetersizliği ve dolaşım bozukluğu sonucu meydana gelir (82).

2.7.2.6. Trikloretilen

Trikloretilen lipidlerde çözünür olduğu için , merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemlerinin yapılarına kolaylıkla girebilir. Demiyelinizasyon ve hücre hasarı gibi irreversible hasara ya da narkozis gibi akut etkilere neden olabilir. Trikloretilenin yıkılım ürünlerinden dikloretilenin nörotoksik olduğu gösterilmiştir. Trikloretilenin asimetrik moleküler konfigürasyonunun serbest radikaller oluşturduğu bildirilmiştir. Trikloretilen epoksid hücresel makromoleküllere irreversible bağlanabilir ve potansiyel toksik bileşik oluşturabilir.

Bunun gibi elektrofilik bileşikler nöronlarda ve DNA fragmanlarında protein transportunda değişikliğe neden olabilir (83,84).

2.7.2.6.Toluen

Boya imalatında ve boya tinerlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılan bir çözücüdür. Toluen buharlaşabilen ve solunulan hava yoluyla vücuda giren toksik etkisi yüksek bir kimyasaldır (119).

Gözleri ve deriyi etkileyebilir. Inhalasyon sonucunda öksürük ve hırıltılı solunumla başlayan akut etkiler burunda ve boğazda hasar meydana getirebilir.

Maruziyet sinir sistemini etkiler, başağrsı, reflekslerde zayıflık, iştah kaybı ve mide bulantısı gibi septomlar oluşabilir (85,86). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda toluenin karsinogenik etkileri ile ilgili deliller yeterli değildir (86). Mattia ve arkadaşları, in vivo ve in vitro çalışmalarında, intraperitoneal olarak uyguladıkları toluen etkisiyle beyin, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında ROM oluşumunun hızlandığını ve lipid peroksidasyonlarının arttığını bildirmişlerdir (87,88).

Aynı araştırmacılar toluen ile birlikte metabolizma ürünleri olan benzil alkol ve benzaldehidin de karaciğer mitokondri fraksiyonlarında ileri düzeyde ROM oluşumunu hızlandığını göstermişlerdir(88).

Toluenin bu etkisini, karışık fonksiyonlu oksidaz ve aldehid dehidrogenaz tarafından katabolizmaya uğratılırken, açığa çıkan süperoksid anyonunun artışına bağlamışlardır (88,89). Ancak solventlerin karışım halinde bulunduklarında çok düşük konsantrasyonlarda bile olsalar, birbirleriyle sinerjik etki gösterdiklerini ve hatta birbirlerinin toksik etkilerini arttırabildiklerini de göz önünde bulundurmalıdır (89).

Uçucu maddelerin kalp-damar sistemi üzerinde ölümcül ritim bozuklukları yaptığı bilinmektedir. Britanya'da 1971 yılından 1981 yılına kadar uçucu madde ile ilişkili 140 ölüm olayı bildirilmiştir. Ölümlerin yarısından fazlası uçucu maddelerin doğrudan kardiyotoksik etkilerine bağlanmış ve bu etkilerin aerosollerde en yüksek iken yapıştırıcı ve tinerde düşük olduğu görülmüştür (90).

Amerika Birleşik Devletleri'nde ise 1960'tan 1970 yılına kadar uçucu madde kullanımı sonucu gelişen 110 vakalılık bir ani ölüm epidemisine rastlanmış, bunların otopsi sonuçlarında ani ölümü açıklayacak herhangi bir anatomik bozukluk saptanamamış ve ölümlerin ventrikül ritm bozukluklarına bağlı olabileceği düşünülmüştür (91).

Birçok uçucu bileşik ve/veya karışımların uzun süreli olarak kullanımının akciğer ve karaciğerde kalıcı hasarlara yol açtığı gösterilmiştir (92,93) Organik çözücülerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen türevlerinin oluşumu yolu ile gösterdikleri de bildirilmiştir (89).

Süperoksid anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonlarını başlattığı bilinmektedir. Geleneksel olarak dokularda ROM'un yaptığı hasar lipid peroksidasyonlarının ölçümü ile belirlenmektedir. Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonlarına yol açan ROS oluşumu membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır.

Bazı organik çözücülerin ve toluenin pulmoner alveoler makrofajlarda ve akciğer mikrozomlarında lipid peroksidasyonlarını başlattığı, karaciğerde ise ileri ROM oluşumunun hızlandığına ait deneysel çalışmalar mevcuttur (94).

Boya imalatında kullanılan etken maddeler çözücü olarak benzen, toluen, trikloretilen ve inceltici olarak tiner gibi aromatik hidrokarbon ve petrol üretiminde yan ürün olarak meydana gelen bileşiklerdir. Bu çalışmada özellikle bu tür uçucu organik bileşiklerin yaygın olarak kullanıldığı boya ve tekstil sanayisinde çalışanların uzun süre bu maddelerle karşı karşıya kalmalarının organizmaya nasıl bir etkisi olduğunu saptamak amacı ile lipid peroksidasyon son ürünlerinden MDA serumda ve serbest radikallere karşı koyan antioksidan enzimlerden SOD eritrositlerde çalışıldı. Aynı zamanda total antioksidan kapasite çalışılarak diğer kan parametreleri ile olan ilişkisi incelendi. Elde edilen değerler kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmaya toplam 40 erkek işçi dahil edildi. Bunlardan 40 işçinin 20'si en az 5 yıldır boya imalatında çalışan boya işçileri; diğer 20'si ise sadece tekstil boyamasında çalışan işçilerdi. Çalışmaya alınan 40 işçinin adı-soyadı, yaşı, boyu, ağırlığı, cinsiyeti, sigara içimi, alkol kullanımı, herhangi bir rahatsızlığı olup olmadığı oluşturulan anket formuna kaydedilmiştir. Alkol kullananlar çalışma dışında tutuldu. İşçilere çalışmayla ilgili bilgi verildi ve yerel etik kurulundan gerekli izinler alındı.

3.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu olarak alınan 20 kişi son altı ay içerisinde herhangi bir şikayeti olmayan, herhangi bir diyet yapmayan, kronik hastalığı olmayan sağlıklı kişilerden oluşturuldu.

3.3. Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması :

Kan örnekleri alınmadan önce, bütün olguların 10-12 saat aç kalmaları sağlandı. Çalışmaya dahil olan işçilerden ve kontrol grubundan toplam 20 ml kan alındı, bunların 10 ml'si antikoagölansız biyokimya tüplerine alındıktan sonra yarım saat oda ısısında bekletildi ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar iki kısma bölündü. Birinci kısım serumdan ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat aminotransferaz) çalışıldı.

Diğer serumlar, malondialdehit ve total antioksidan seviyelerinin çalışılması için - 80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Geri kalan 5 ml kan EDTA'lı tüplere konuldu ve tam kan sayımları yapıldı. Diğer 5 ml'si ise antikoagölün olarak heparin içeren tüplere konuldu. Plazmaları ayrıldıktan sonra eritrosit paketleri hazırlanıp analiz zamanına kadar - 80 °C 'de saklandı.

3.4. Gereçler

Santrifüj : Jouan MR 1822

Benmari : Clifton

Spektrofotometre : Shimadzu UV – 1601

Vortex : Janke – Kunkel VF 2

Tam kan sayım cihazı : Coulter GenS

Biyokimya otoanalizörü : Roche-Hitachi MODULAR Analytics, Tokyo, Japonya.

3.5. Kullanılan kimyasal maddeler

CAPS	3 - (sikloheksilamino) - propan sülfonik asit (Calbiochem)
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit (Carlo Erba)
Ksantin	(AppliChem)
INT	2 - (4 - iyodofenil) - 3 - (4 - nitrofenil) - 5 - feniltetrazoliyum klorid - (p -iyodonitrotetrazoliyum viyoleto) (CalbioChem)
Na ₂ HPO ₄	Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
NaH ₂ PO ₄	Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
NaCl	Sodyum klorür (Carlo-Erba)
BHT	Bütanilli hidroksitoluen (Fluka)
TCA	Trikloroasetik asit (Merck)
TBA	Tiyobarbütirik asit (Sigma)

3.6. LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ

MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olup, lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan bir parametredir. Metot, MDA'nın tiyobarbütürik asitle reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbands vermesi prensibine dayanmaktadır.

Deneyde kullanılan çözeltiler :

1. Fosfat tamponu pH : 7,4

NaCl	8,1 g
Na ₂ HPO ₄	2,302 g
NaH ₂ PO ₄	0,194 g

Distile su ile bir litreye tamamlanır.

2. BHT çözeltisi : 88 mg BHT tartılıp 10 mg absölü etanolde çözdürüldü.
3. EDTA çözeltisi (0,1 M) :

EDTA – Na ₂ H ₂ O	37,224 gr
---	-----------

tartılıp distile su ile bir litreye tamamlanır.

4. TCA çözeltisi (%30'luk) : 30 gr TCA distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
5. TBA çözeltisi (%1'lik) : 1 gr TBA, 100 ml 0,05 N NaOH içerisinde çözdürülür.

Tablo 3.1 : Çözeltilerin tüplere yerleştirilmesi

Her tüpe sırasıyla tabloda gösterilen miktarlarda çözeltiler konulur.

Çözeltiler	Tüpler
Serum örnek (ml)	0,2
BHT (ml)	0,25
TCA (ml)	0,5
Fosfat tamponu (ml)	0,8

Tüpler buz içinde 2 saat bekletildikten sonra 2000 rpm’de + 4 °C ‘de 15 dakika santrifüj edilip oluşan süpernatandan her bir örnek için 1 ml tüplere alınır.

Çözeltiler	Tüpler
EDTA (ml)	0,075
TBA (ml)	0,25

15 dakika kaynar su banyosunda bekletilir. Daha sonra spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda absorbanları okunur.

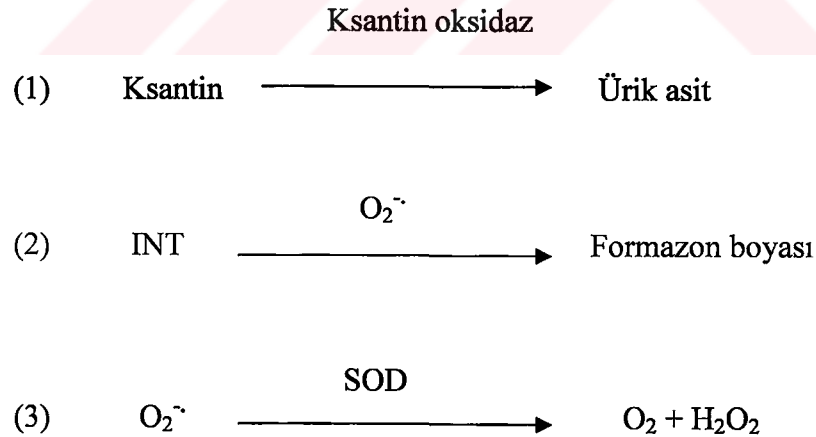
Hesaplama:

Elde edilen absorban değerleri ekstinksiyon katsayısı ile çarpılır. Değerler nmol/mL cinsinden ifade edildi.

3.7. SOD TAYİNİ : Randox marka ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi.

Ksantin oksidaz ile tayini

Prensip: Süperoksit Dismutaz (SOD), oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2 – (4 – iyodofenil) – 3 – (4 – nitrofenil) – 5 – feniltetrazolium klorid (p – iyodonitrotetrazolium viyoleto : INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazon tepkimesini inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır. Bu aradaki farkın belirlenmesiyle SOD aktivitesi ölçülür (15,16).



Heparinli örnekler, 3000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Eritrositlerin 1 mL'si +4 °C'de bulunan soğuk serum fizyolojik ile 4 defa yıkandı. Her yıkamadan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip eritrosit paketleri hazırlandı.

Ayır  lar :

1. Tampon :

CAPS (pH 10,2)	40 mmol/L
EDTA	0,94 mmol/L

2. Stok substrat karışımı

Ksantin	0,05 mmol/L
INT	0,025 mmol/L

3. Karışmış substrat

Stok ana madde karışımından CAPS tamponu ile 1:20 oranında seyreltilir.

4.Ksantin oksidaz (80 Ü/L)

5. 0,01 M Fosfat tamponu (pH : 7,0)

(I). Na_2HPO_4 ' den 14,2 mg tartılıp 1 litreye tamamlandı.

(II). NaH_2PO_4 'den 13,6 mg tartılıp 1 litreye tamamlandı.

Çözelti (I)' den 700 mL,   zelti (II)'den 300 mL alınarak 0,01 M fosfat tamponu hazırlandı.

6. Standart (S6) : 5,4 Ü/mL SOD içeren standarttır.   zeltiiler günlük hazırlanıp çalışma yapılmıştır.

Standart eğrinin çizimi:

Liyofilize olarak hazırlanmış SOD standardı (S6), 10 ml distile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponu ile tablo 3.2 , tablo 3.3 ve tablo 3.4 'de verilmiştir. Elde edilen çözeltilerin absorbansları okunarak standart eğri çizildi.

Tablo 3.2 : SOD tayininde kullanılan çözelti miktarları ve tüplere yerleştirilmesi

No	Kullanılacak standart	0,01 M fosfat tamponu	SOD derişimi (Ü/ mL)
S5	S6 5 mL	5 mL	2,7
S4	S5 5 mL	5 mL	1,35
S3	S4 5 mL	5 mL	0,675
S2	S3 5 mL	5 mL	0,3375

Tablo 3.3 : SOD çözeltilerinin tüplere konulması

Çözeltiler	Kör	Standart
Standart (mL)	-	0,05
Fosfat tamponu (mL)	0,05	-
Karışmış substrat (mL)	1,7	1,7

İyice karıştırılır.

Tablo 3.4. Ksantin oksidaz miktarları

Ksantin oksidaz (mL)	0,25	0,25
------------------------	------	------

Tekrar karıştırıldıktan sonra 30 saniye sonra 37 °C, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbanı (A_1) 0. dakikada okunur. 3 dakika sonra son absorban (A_2) tekrar okunur.

Hesaplama :

Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait değerlerin çalışma körü ile oranlanarak 100'den çıkarılması ile hesaplanır.

Standart hazırlama tablosunda verilen tüm standart derişimleri, ayrı ayrı çalışılarak yüzde inhibisyon değerleri hesaplanır. Daha sonra, X (yatay) eksenine standart SOD derişimlerinin (U/mL) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon dğerleri yerleştirilerek bir standart eğri grafiği çizildi.

Örnek Hazırlanması :

Hazırlanan eritrosit paketinden 100 μL alınıp 2 mL soğuk redistile su ile dilüe edildi. + 4 °C'de 15. dakika bekletildikten sonra 40 μL hemolizattan alınıp 960 μL 0,01 M fosfat tamponu ile dilue edildi.

Tablo 3.5 : SOD tayininde kullanılan çözeltilerin tüplere yerleştirilmesi

Çözeltiler	Çalışma körü	Standart	Hemolizat
Numune (mL)	-	-	0,05
Standart (mL)	-	0,05	-
Fosfat tamponu (mL)	0,05	-	-
Karışmış substrat (mL)	1,7	1,7	1,7

İyice karıştırılır. Ksantin oksidaz ilave edilir.

Tablo 3.6 : Ksantin oksidaz paylaşdırılması.

Ksantin oksidaz (mL)	0,25	0,25	0,25
----------------------	------	------	------

Tekrar karıştırıldıktan sonra 30 saniye sonra 37 °C , 505 nm dalga boyunda suya karşı başlangıç absorpsiyonu (A_1) 0. dakikada okunur. 3 dakika sonra son absorpsiyonu (A_2) tekrar okunur.

Hesaplama:

$$\Delta A / \text{dak}_{\text{örnek}} = \frac{A_2 - A_1}{3 \text{ dak}}$$

$$\% \text{ inhibisyon}_{\text{örnek}} = 100 - \frac{\Delta A / \text{dak}_{\text{örnek}} \times 100}{\Delta A / \text{dak}_{\text{çalışma köru}}}$$

$$\text{SOD aktivitesi } (\text{Ü/g Hb}) = \frac{\text{SOD aktivitesi } (\text{Ü/mL})}{\text{Hemolizatın Hb değeri } (\text{g/mL})}$$

3.8. TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN ÖLÇÜMÜ (TAK)

Serum TAK ölçümleri Immun diagnostik marka kit kullanılarak ELISA (Enzyme linked immunosorbent) yöntemi ile ölçüldü.

3.9. Testin prensibi:

Antioksidan seviyenin saptanması eksojen sağlanan hidrojen peroksit (H_2O_2)'nin bilinen miktarı ile örnekteki antioksidanların reaksiyona girmesi ile saptanır. Örnekteki antioksidanlar hidrojen peroksidin bilinen miktarını elimine eder.

H_2O_2 , TMB (tetrametilbenzidin)'nin renkli ürüne dönüşümünü içeren enzimatik reaksiyonla kolorimetrik olarak saptanır. Reaksiyon durdurucu çözeltinin eklenmesinden sonra, örnekler 450 nm'de ölçülür.

3.10. Örnek toplanması ve hazırlanması

Total antioksidan kapasitenin ölçümü serumda yapıldı. Çalışma serumları ölçüm yapana dek -80 °C 'de saklandı.

3.11. Örnek ve standart hazırlanması

Ölçüm basamakları şu şekildedir:

1. Bütün kitler ve örneklerin sıcaklığının oda ısısına (25 °C) gelmesi beklenir ve daha sonra alt üst edilerek dikkatlice karıştırılır.
2. Mikroplate'te kullanılacak mikrotitrasyon kuyucukları işaretlenir

Serumda antioksidant seviyenin saptanması için izlenen sıra

ELISA reaktifleri kit prosedürüne uygun hazırlandı.

Her biri için 10 µL kalibratör, kontrol ve örnek pipetlendi.

Reaktif 1'den 100 µL eklendi

37 C 'de 10 dakika inkübe edildi.

100 µL Reaktif 2a ve arkasından 100 µL reaktif 2b ilave edilir.

Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.

Her birine reaksiyon durdurucu çözeltisi eklenir.

450 nm'de absorbansları okutuldu.

Tablo 3.7 : Pipetleme programı

	Enzimli		Enzimsiz		Enzimli		Enzimsiz		Enzimli		Enzimsiz	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P1	P1	P1	P1	P9	P9	P9	P9	P14	P14	P14	P14
B	P2	P2	P2	P2	K1	K1	K1	K1	P15	P15	P15	P15
C	P3	P3	P3	P3	P10	P10	P10	P10	P16	P16	P16	P16
D	P4	P4	P4	P4	Kal.	Kal.	Kal.	Kal.	P17	P17	P17	P17
E	P5	P5	P5	P5	P11	P11	P11	P11	P18	P18	P18	P18
F	P6	P6	P6	P6	K2	K2	K2	K2	P19	P19	P19	P19
G	P7	P7	P7	P7	P12	P12	P12	P12	P20	P20	P20	P20
H	P8	P8	P8	P8	P13	P13	P13	P13	P21	P21	P21	P21

Kal: Kalibratör

K2: Kontrol 2

K1 : Kontrol 1

Px : Serum örnek

Hesaplama :

$$\text{Örneğin antioksidan kapasitesi } (\mu\text{mol/L}) = 392 - (392 - C_{\text{kalibratör}}) \times \frac{\Delta\text{OD}_{\text{örnek}}}{\Delta\text{OD}_{\text{kalibratör}}}$$

3.13. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

İstatistiksel analizlerde: Microsof Excel ve SPSS 10.0 programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma şeklinde verildi. Öncelikle verilerin normal dağılıma uygunluğu test edildi (Kolmogrov-Smirnov ve Lilliefors testleri). İncelenen parametreler açısından her üç grubun değerleri normal dağılıma uymadığından; üç grubu karşılaştırmak amacıyla non-parametrik bir test olan Kruskall Wallis Varyans analizi kullanıldı. Grupların kendi aralarındaki ikili karşılaştırmalarında ise Tukey-HSD testi kullanıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde 0.05 'den küçük p değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Bu çalışmaya, boya ve tekstil boya imalatında çalışan yaşları 25-35 arasında değişen erkek işçiler dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak yaşları 25-35 arasında değişen herhangi bir hastalığı olmayan 20 erkek seçilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 60 kişinin yaş, boy, kilo ve sigara alışkanlıklarıyla ilgili ortalama değerler tablo verilmiştir. Boya imalatında çalışan kadın işçi bulunamadığından çalışma erkekler dahil edilerek gerçekleştirildi.

Tablo 4.1 : Çalışmaya dahil edilen bireylerin genel verileri

	Boya imalatı	Tekstil imalatı	Kontrol grubu	p
Yaş (yıl)	31.75 ± 2.51	31.75 ± 2,12	31.35 ± 3.12	>0,05
Boy (m)	1.697 ± 7,44	1,697 ± 6,06	1.77 ± 6,915	>0,05
Ağırlık (kg)	77,9 ± 13.42	69.5 ± 9.95	80.05 ± 11.93	>0,05
Sigara\yıl	13.87 ± 5.051	10 ± 5.97	9.88 ± 6.25	>0,05
Adet\gün(sigara)	22.22 ± 4.40	18.57 ± 3.77	21.87 ± 7.52	>0,05
Çalışma süresi (yıl)	9,42 ± 3,91	8,27 ± 3,87		
Vücut Kitle indeksi (VKİ)	27,403 ± 4,855	24,091 ± 3,00	24,766 ± 3,24	>0,05

Ortalama ± SD

Çalışmaya dahil edilen 60 kişinin MDA, SOD, TAK, ALT, AST ve hematolojik parametreleri belirlendi. Yapılan deneyler sonucunda elde edilen veriler ortalama ve standart sapma değerleri şeklinde verildi.

Tablo 4.2’de gösterildiği gibi boya grubunun MDA değerleri tekstil grubuna göre anlamlı derece de yüksek bulundu ($p<0,01$) . Boya grubunun TAK seviyeleri tekstil grubuna göre önemli derecede düşük bulundu ($p<0,01$). ALT, AST değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Boya grubunun SOD değerleri tekstil grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$). Boya grubunun Hb değerleri de tekstil grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$).

Tablo 4.2 : Boya ve tekstil grubunun arasındaki istatistiksel değerler

	BOYA n = 20 X ± SD	TEKSTİL n = 20 X ± SD	p
MDA nmol/mL	5.13 ± 0.72	4.35 ± 0.46	<0,01
SOD Ü/gHb	1608.648± 48.98	1234.18± 26.39	<0,01
TAK µmol/L	189.340 ± 53,33	280,18 ± 50,84	<0,01
ALT U/L	16.45 ± 9,80	13.80 ± 7,66	>0,05
AST U/L	17.3 ± 4.95	18.25 ± 5.02	>0,05
Hb g/dL	12.46 ± 1.53	14.10 ± 1.26	<0,01
WBC 10 ³ /µL	8,56 ± 2,48	7,58 ± 1,32	>0,05
RBC 10 ⁶ /µL	5,25 ± 0,66	5,16 ± 0,33	>0,05
PLT 10 ³ /µL	254,55 ± 72,65	239,79 ± 51,10	>0,05

Ortalama ± SD

Tablo 4.3'de gösterildiği gibi boya grubunun MDA düzeyi kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,01$). TAK seviyesi boya grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,01$). ALT, AST düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Boya grubunun SOD seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$). Boya grubunun Hb değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark bulundu ($p<0,01$).

Tablo 4.3 : Boya ve Kontrol grupları arasındaki istatistiksel bulgular

	BOYA n = 20 X ± SD	KONTROL n = 20 X ± SD	p
MDA nmol/mL	5.13 ± 0.72	1.52 ± 0.45	<0,01
SOD Ü/gHb	1608.648± 48.98	1045.19 ± 14.75	<0,01
TAK µmol/L	189.340 ± 53,33	244.72 ± 57.11	<0,01
ALT U/L	16.45 ± 9,80	16.15 ± 10.43	>0,05
AST U/L	17.3 ± 4.95	17.90 ± 5.19	>0,05
Hb g/dL	12.46 ± 1.53	15.40 ± 0.95	<0,01
WBC 10 ³ /µL	8,56 ± 2,48	8,044 ± 1,20	>0,05
RBC 10 ⁶ /µL	5,25 ± 0,66	5,21 ± 0,38	>0,05
PLT 10 ³ /µL	254,55 ± 72,65	238,73 ± 40,42	>0,05

Ortalama ± SD

Tablo 4.4'de gösterildiği gibi tekstil grubunun MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$). TAK seviyeleri arasında istatistiksel açıdan bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Tekstil grubunun SOD seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0,01$). Tekstil grubunun Hb değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark bulundu ($p<0,01$). ALT, AST düzeylerinde tekstil ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

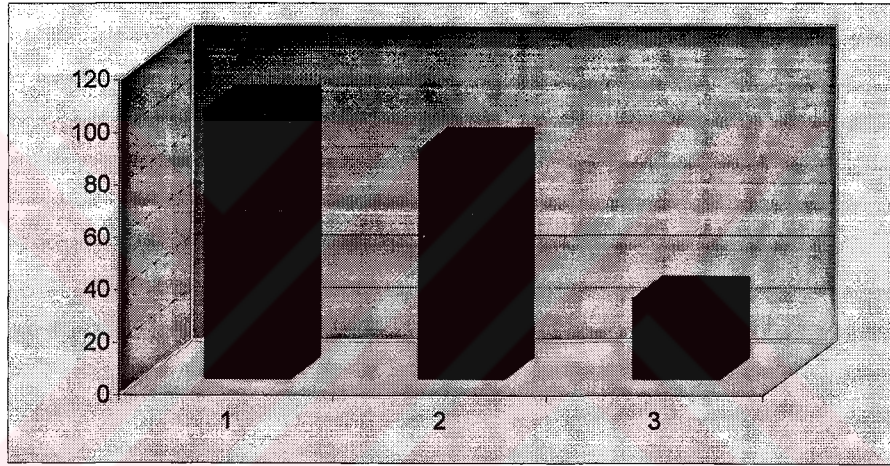
Tablo 4.4 : Tekstil ve kontrol grupları arasındaki bulunan değerler

	TEKSTİL n = 20 X ± SD	KONTROL n = 20 X ± SD	p
MDA nmol/mL	4.35 ± 0.46	1.52 ± 0.45	<0,01
SOD Ü/gHb	1234.18± 26.39	1045.19 ± 14.75	<0,01
TAK µmol/L	280.18 ± 50,84	244.72 ± 57.11	>0,05
ALT U/L	13.80 ± 7,66	16.15 ± 10.43	>0,05
AST U/L	18.25 ± 5.02	17.90 ± 5.19	>0,05
Hb g/dL	14.10 ± 1.26	15.40 ± 0.95	<0,01
WBC 10 ³ /µL	7,58 ± 1,32	8,044 ± 1,20	>0,05
RBC 10 ⁶ /µL	5,16 ± 0,33	5,21 ± 0,38	>0,05
PLT 10 ³ /µL	239,79 ± 51,10	238,73 ± 40,42	>0,05

Ortalama ± SD

Serum MDA düzeyleri : Boya grubunda 5.13 ± 0.72 nmol/ mL, tekstil grubunda 4.35 ± 0.46 nmol/ mL, kontrol grubunda 1.52 ± 0.45 nmol/ mL olarak bulundu (Tablo 4.2). Serum MDA seviyeleri boya grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan daha yüksek bulundu ($p < 0.01$) (Tablo 4.4). Boya grubunun MDA değeri tekstil grubuna oranla daha yüksek bulundu ($p < 0,01$) (Tablo 4.3). Tekstil grubunun MDA değerleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu ($p < 0,01$) (Tablo 4.4).

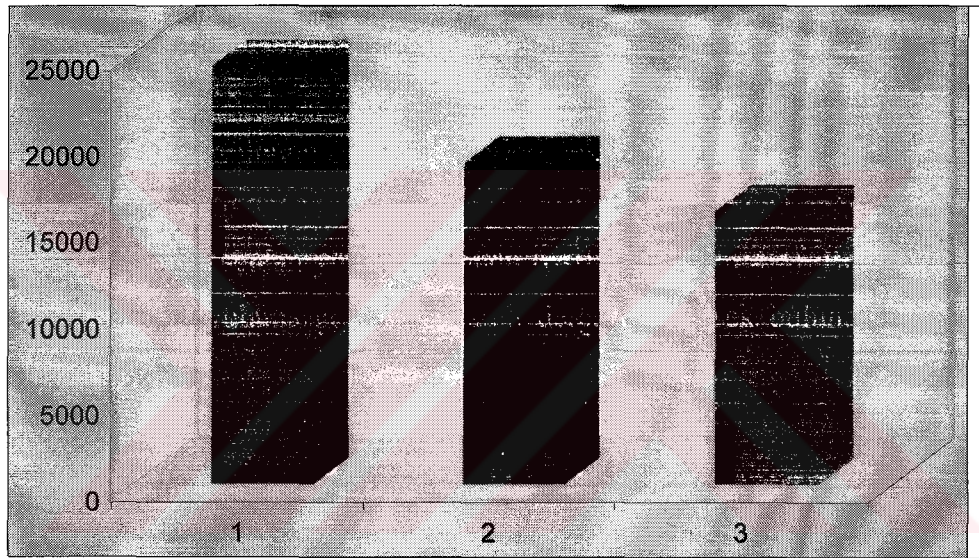
MDA - nmol/mL



Şekil 14 : 1.grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu MDA seviyelerini göstermektedir.

Eritrosit SOD değerleri boya grubunda 1608.648 ± 48.98 Ü/gHb, tekstil grubunda 1234.18 ± 26.39 Ü/gHb, kontrol grubunda 1045.19 ± 14.75 Ü/gHb bulundu. Boya grubunun SOD değerleri tekstil grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.3). Tekstil grubunun SOD değeri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan yüksek bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.4). Boya grubunun SOD değeri kontrol grubuna göre de anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.4).

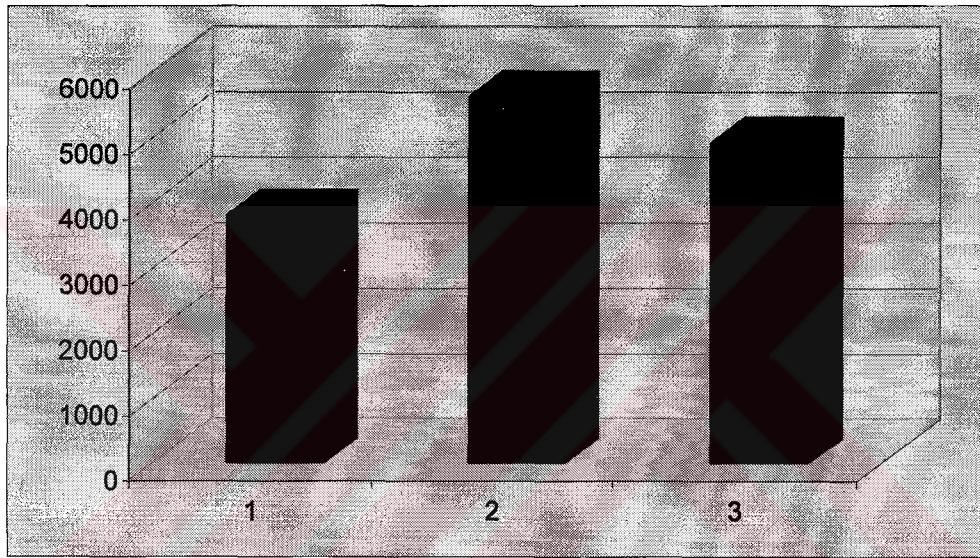
SOD - Ü/gHb



Şekil 15 : 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu SOD seviyelerini göstermektedir.

Serum TAK seviyeleri: Boya grubunda $189.340 \pm 53,33 \mu\text{mol/L}$, tekstil grubunda $280,18 \pm 50,84\mu\text{mol/L}$, kontrol grubunda $244.72 \pm 57,11 \mu\text{mol/L}$ bulundu. Serum TAK seviyeleri boya grubunda istatistiksel açıdan tekstil grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.3). Boya grubunun TAK seviyesi kontrol grubuna göre de istatistiksel açıdan düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.3). Tekstil grubunun TAK seviyesi ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 4.4).

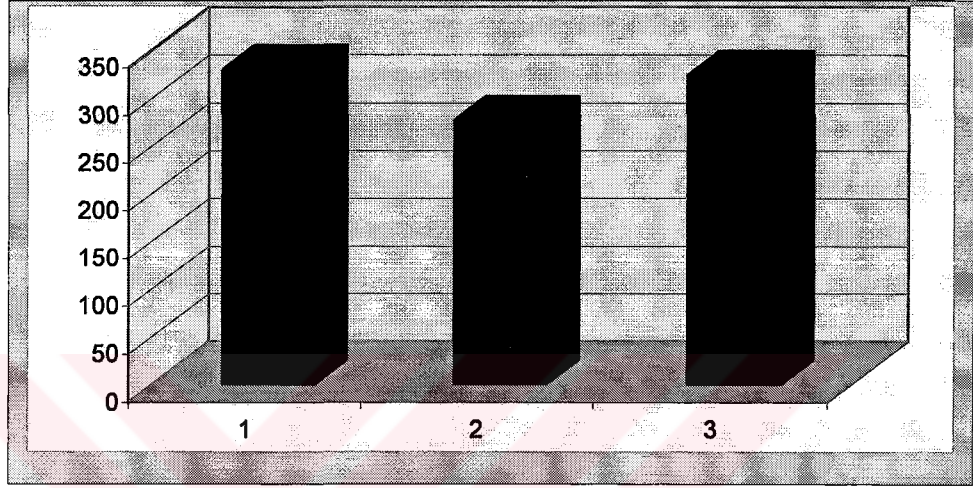
TAK - $\mu\text{mol/L}$



Şekil 16 : 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu TAK seviyelerini göstermektedir.

Serum ALT, düzeyleri, boya grubunda 16.45 ± 9.80 U/L, tekstil grubunda 13.80 ± 7.66 U/L , kontrol grubunda 16.15 ± 10.43 U/L olarak tespit edildi Her üç grup arasında ALT düzeyleri arasında farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

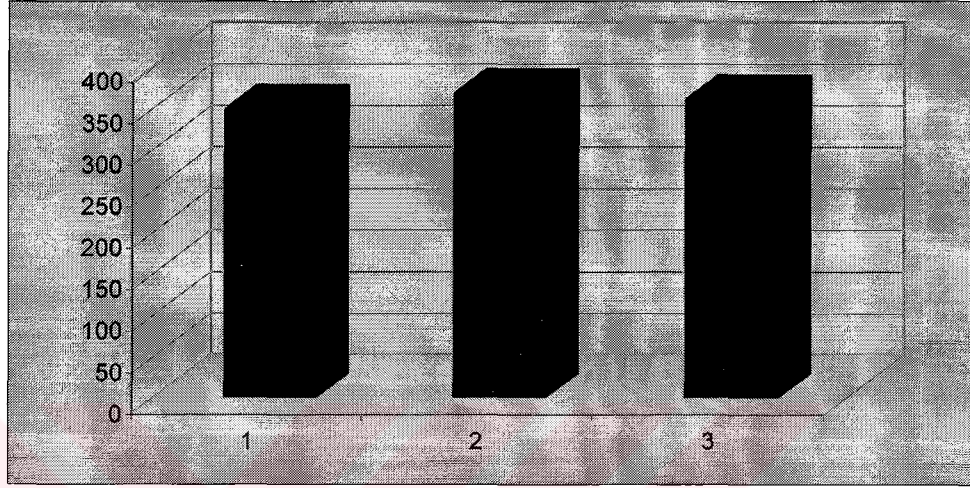
ALT - U/L



Şekil 17 : 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu ALT seviyelerini göstermektedir.

Serum AST düzeyleri: boya grubunda 17.3 ± 4.95 U/L, tekstil grubunda 18.25 ± 5.02 U/L, kontrol grubunda 17.90 ± 5.19 U/L bulundu. Her üç grup arasında AST seviyelerinde farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

AST - U/L

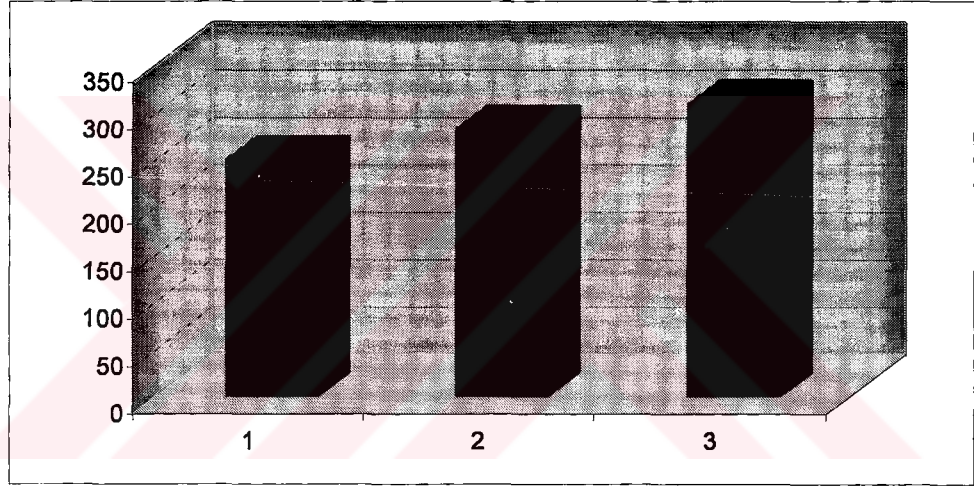


Şekil 18 : 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu AST seviyelerini göstermektedir.

Hemoglobin konsantrasyonları boya grubunda 12.46 ± 1.53 g/dL, tekstil grubunda 14.10 ± 1.26 g/dL, kontrol grubunda 15.40 ± 0.95 g/dL bulundu.

Boya grubunun hemoglobin değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.3). Tekstil grubunun Hb değeri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p<0,01$) (Tablo 4.4). Boya grubunun Hb değeri tekstil grubuna göre de düşük bulundu (Tablo 4.3) ($p<0,01$).

Hb - g/dL



Şekil 19 : 1. grup boya, 2. grup tekstil, 3. grup kontrol grubu Hb seviyelerini göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Reaktif oksijen metabolitlerinin organ, doku hasarında ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü, son yıllarda tıbbın giderek artan ilgi alanını oluşturmaktadır. ROM'lar birincil olarak hastalık nedeni olabildiği gibi bazı hastalıklarda da ikincil olarak ortaya çıkar. Serbest radikaller normal fizyolojik koşullarda moleküler oksijenin, normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır (95). Ayrıca organik maddelerin çürümesi, boyaların kuruması ve plastik maddelerin işlenmesi gibi endüstriyel işlemlerde, oksijenin kısmi redüksiyonu ile de oluşabilmektedir. Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı; hipoksi, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, iskemi, travma, intoksikasyon gibi durumların, radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (96). Normal şartlarda iç ve dış kaynaklı birçok stres faktörü hücresel dengeyi sürekli değiştirmektedir. Bunlara karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği, serbest radikal zincir reaksiyonlarını inhibe eden ve antioksidanlar denilen bazı bileşikler rol oynamaktadır. Normal bir hücrede, uygun bir pro-oksidan antioksidan dengesi bulunur. Normal koşullarda, serbest radikal oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı yani oksidatif denge sağlandığı süreçte organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Savunma azalır ve zararlı bileşikler dominant hale geçer veya bu bileşiklerin oluşum hızı savunma gücünü aşarsa bu denge bozulur ve oksidatif stres meydana gelir. Bu dengenin bozulması serbest radikallerin verdiği hasarla sonuçlanmaktadır.

Endüstride organik çözücüler olarak tanımlanan kimyasallar üretimin birçok safhasında kullanılmaktadır. Bu bileşikler genel olarak karbon ve hidrojenle oluşmuş, lipofilik, düşük molekül ağırlıklı, uçucu ve oda sıcaklığında sıvılaştıran maddelerdir. Kimyasal bileşiklerin binlercesi boya üretiminde pigment, tutkal, çözücü ve katkı maddeleri olarak farklı amaçlar için kullanılmaktadır (97).

Boya malzemeleri genel olarak ticari isimlerle satılmakta ve içerisindeki kimyasal maddelerin açık formülleri malzemenin üzerinde belirtilmemektedir (61). Boyalar çözücü karışımlarından meydana geldiği için maruziyetin sadece birkaç kimyasal maddeye bağlı olmadığı da açıktır.

Organik çözücülerle karşılaşma ve özellikle uzun süreli temas sonucunda organizmada çeşitli patolojik durumlar ortaya çıktığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Boya sanayiinde çalışanlar, zayıf pulmoner toksisite gösteren özellikleri ile çeşitli kimyasal maddelere yüksek konsantrasyonlarda yoğun olarak temas etmektedirler. Boyacılar, özellikle imalat yerlerinde çalışanlar, boya maddelerinin çeşitli karışımlarını ihtiva eden aerosollare, solvent buharlarına, dayanıklı yapışkan maddelere, çeşitli doldurma maddelerine ve kimyasal olarak reaktif monomerlere sürekli olarak maruz kalmaktadırlar (97).

Ksilen ve toluen haricinde kullanılan ve genel olarak uçucu organik bileşikler içeriğinde değerlendirilen kimyasallar maruziyetin başlıca nedenleridir. Örneğin ; boyanın özel bileşimlerinden olan izosiyanatlar ve dimetil etanolamin sanayide, otomobil tamponlarından ve otomobillerin dış boyalarına kadar yoğun şekilde (hekzametilen diizosiyanat olarak) kullanılmaktadır (98). Cockcroft ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izosiyanatın astımı indüklediği bulunmuştur (99). Yapılan diğer çalışmalarda da bu maddelerin akut ve kronik hava yolu obstrüksiyonu meydana getirdiği bilinmektedir (100,101).

Nijerya'daki boya fabrikasında solunum rahatsızlıkları ile ilgili bir çalışma yapılmış. Çalışan işçilerin %50-54 'ünde havayolu septomları, %20 ile %40 arasında nörolojik septomlar ve %10-27 sinde de diğer septomlar gözlenmiştir. Septomlar, maruziyetle ve pulmoner fonksiyon testleri (PFT) doğru bir korelasyon göstermiştir (102).

Benzer bir çalışma uzun süre organik çözücülere maruz kalan İsveç'li işçiler arasında yapılmıştır. Su bazlı boyaların emisyonu organik bazlılara nispeten daha azdır. Çünkü, organik bazlı boyalar biosid, glikol eter ve diğer yüksek moleküler çözücülerini içerirler. Boyaların her iki tipi ile de farklı derecelerde temas halinde olan işçiler arasında hava yolu septomlarının ve kişisel astımın insidansı karşılaştırılmış. Organik bazlı boyalarla çalışanlarda uçucu organik bileşik maruziyetinin solunum septomları ve havayolu iritasyonuna neden olabileceği bulunmuş. Su bazlı boyalarla çalışanlarda ise bu septomlar da herhangi bir artış gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra bazı bireylerde su bazlı boyaların kullanımının havayolu iritasyonu neden olabildiği bulunmuştur (103).

Organik çözücüler birçok toksik maddeler gibi karaciğerde sitokrom P-450 mnooksigenaz bağımlı enzim sistemi ile metabolize edilerek zararsız hale getirilirler. Yapılan çalışmalarda bu moleküllerin karaciğer fonksiyonları üzerine olan etkileri incelenmiş. Bu amaçla yapılan bir çalışmada boya endüstrisinde çalışan özellikle ksilene maruz kalan olgularda karaciğer fonksiyonlarını gösteren enzimlerden ALT, AST ve GGT düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılmış. İki grub arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir. Yine aynı çalışmada çözücü maruziyeti ile bu enzimler arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir (104). Kurppa ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada özellikle toluen ve ksilene maruz kalan boyacılarda karaciğer enzim aktivitelerine bakılmış. Toluene, ksilen ve diğer kimyasalları içeren organik çözücülere maruz kalan araba boyacıları ve sağlıklı bireyler çalışmaya dahil edilmiş. AST, ALT, Ornitin karbomil transferaz ve gama glutamil transferaz enzimlerine bakılmış. Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı gözlenmiştir (105).

Güney Afrika'da boya işçilerinde yapılan çalışmada, karaciğer enzim aktivitelerine bakılmış. İşçilerin %65'inde bu enzimlerin en az bir enzim düzeyinin referans değerlerinin üstünde olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda düşük ve yüksek çözücü maruziyetine göre işçiler grublandırıldığında, en fazla maruz kalan grupta AST ve GGT (Gama glutamil transferaz) değerleri yüksek bulunmuştur. Bu bulguların alkol tüketimi ve vücut kitle indeksi ile bağlantısı incelenmiştir. Çözücü maruziyetinin karaciğer hasarına neden olmadığı fakat alkol tüketiminin böyle bir tahribata yol açabileceği belirtilmiştir (106).

Boyacılar üzerinde yapılan benzer bir çalışmada organik çözücülerin nöropsikolojik sendromlara yol açabileceği belirlenmiştir (107). Bu problemlerin alkolle bağlantılı olabileceği düşünüldüğü için yorumlamak zorlaşmıştır. Bu nedenle biz çalışmamızda alkolün karaciğere olan etkileri göz önüne alındığında çalışma grubumuzu oluştururken alkol kullanmayan olguları çalışma grubumuza dahil ettik. Benzer bir sonuç toluen ve boya çözücülerine maruz kalan işçilerde de gözlenmiştir. Toluene merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir. Boya endüstrisinde çalışan işçilerin davranış performansları üzerinde organik çözücülerin etkilerini incelemek üzere yapılan bir diğer çalışmada; bireylere, anlama hızı, kısa süreli hafıza, basit reaksiyon zamanını içeren testler yapılmış.

Bunun sonucunda 10 yıldan daha fazla çözücüye maruz kalan grupta önemli derecede performans düşüklüğü kaydedilmiştir (108,109).

Bizim çalışmamızda serum ALT ve AST düzeyleri açısından, kontrol ve tekstil grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Boya ve kontrol grupları arasında ve boya ile tekstil grupları arasında da ALT ve AST düzeylerinde anlamlı farklar bulunamadı. Bu sonuçlar bize uzun süreli çözücü maruziyetinin karaciğer fonksiyon testlerini tek başına etkilemediğini göstermektedir. Çalışmamızda alkol tüketenleri gruba dahil etmediğimiz için alkolün etkisi değerlendirilmedi. Elde ettiğimiz sonuçlar literatür sonuçları ile uyumludur (105,106,107,108,109).

Benzenin kimya sanayisinde kullanılışı kapalı sistemler içinde olduğundan çalışanlar açısından önemli risk söz konusu değildir. Ancak solvent olarak kullanılışı daima açık kullanım şeklindedir. Bu nedenle benzenin solvent olarak kullanılması risklidir. Başlıca riskli işler arasında boya üretimi ve boya uygulanması, çeşitli cilaların yapımı ve uygulanması, metallerden boya ve yağ çıkarılması gibi işler sayılabilir. Boyaları inceltmek amacı ile yaygın olarak kullanılan ve tiner (inceltici) olarak adlandırılan bileşiklerin içinde de benzen bulunmaktadır.

Benzen kolay bir şekilde benzen okside (BO) metabolize olur ve hemoglobin, albumin gibi proteinlerin nükleofilik kısımlarına kolayca bağlanabilir. Bunun sonucunda BO-Hb ve BO- Alb gibi bileşikler oluşturabilir. Benzen metabolitlerinden fenol, katekol, hidrokinon ve 1,2,4 – benzentriol, 2 veya 3 hidroksil grubu içerirler (1,2 hidroksibenzen gibi). Bu bileşikler de proteinlerdeki sisteinin tiyol grupları ile reaksiyona girebilirler (110).

Hem metabolik yolu çok çeşitli çevresel etkilere karşı duyarlıdır. Örneğin; heksaklorobenzen, polihalojenli aromatik hidrokarbonlar, vinil klorür ve dioksin gibi kimyasal maddelere maruz kalma hem metabolik yolunu fonksiyonel olarak değiştirebilir. Bu fonksiyonel değişiklik, kimyasal maruz kalma ve meslek hastalıkları için duyarlı bir indeks olarak işlev yapar (111).

Bizim çalışmamızda, hematolojik parametreler incelendiğinde, yalnızca hemoglobin düzeyleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olup, en düşük hemoglobin düzeyleri boya grubunda tespit edildi ($p<0,01$). Diğer hematolojik parametrelerde (WBC, RBC ve PLT) istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Yapılan çeşitli çalışmalarda aromatik hidrokarbonların özellikle benzen ve toluenin kemik iliğindeki ana hücreyi etkileyerek hematopoezdeki üç fonksiyonu da bozduğu ve pansitopeniye neden olduğu gözlenmiştir. Benzen maruziyeti olanlarda löseminin sık görüldüğü kesin olarak kanıtlanmıştır. Benzene bağlı olarak gelişen kemik iliği etkilenmesinde benzenin bir metaboliti olan benzen epoksit' in sorumlu olduğu bulunmuştur. Bu tip kimyasalların kemik iliğine etkileri sonucu anemilerin ortaya çıktığı bilinmektedir (79,80). Yapılan farklı çalışmalarda özellikle bazı hematolojik parametrelerde anormallikler gözlenmiştir (112).

Su bazlı boyaları kullanan işçiler üzerinde İsviçre'de yapılan bir çalışmada da çözücü maruziyetinin kan parametreleri üzerindeki etkileri incelenmiş. Boyadaki organik çözücülerin eritrosit hacimlerinde geçici değişimlere neden olduğu gözlenmiştir. Yine bazı boyaların içinde bulunan içeriği bilinmeyen bileşenlerin kan basıncını düşürücü etki gösterdiği rapor edilmiştir (113). Karagözler ve arkadaşlarının boyacılar üzerinde yaptığı çalışmada boyacıların hemoglobin değerleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (114).

Lipid peroksidasyonunu gösteren birçok parametre vardır. Biz çalışmamızda lipid peroksidasyonun son ürünlerinden MDA düzeylerini ölçtük. Boya grubunun serum MDA seviyesi kontrol ve tekstil grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Tekstil grubunun MDA seviyesi kontrol grubuna kıyasla önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Boya grubunda çalışan işçilerde serum MDA seviyelerinin tekstil grubuna göre yüksek çıkması bu gruptaki çalışanların daha fazla organik çözücülerle temas etmeleri ile açıklanabilir. Ancak lipid peroksidasyonun bu grupta yüksek çıkmasına kişisel alışkanlıklar ve bireysel metabolizmanın da katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Boya ve vernik endüstri işçilerinde lipid peroksidasyonu son ürünlerinden MDA ve 4-hidroksinoneal (4-HNE) seviyeleri sağlıklı bireylerden oluşturulmuş kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulunmuş. İşçilere antioksidan olarak koenzim Q verildikten sonraki değerlendirmede lipid peroksidasyonu parametrelerinde azalma olduğu kaydedilmiştir (115). Boyacılar üzerinde yapılan bir başka çalışmada serum MDA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulunmuştur (122). Boya incelticisi olarak kullanılan tiner; ksilen, toluen ve N-heksan gibi aromatik hidrokarbonları içermektedir.

Maruziyetin önemli bir kısmı toluenden kaynaklanmaktadır. Toluen oksitlenir ve karışık fonksiyonlu mono-oksijenaz enzimleri tarafından benzil alkole dönüşür. Sırasıyla, alkol dehidrogenaz enzimi ile benzil alkol önce benz aldehide yükseltgenir daha sonrada yine aynı enzimin katalizlediği reaksiyonla benzoik aside dönüşür. Benzoik asit glisinle birleşip hippürik asit oluşturup idrarla atılabilir. Ama benzil alkol ve benzoik asit serbest radikallerle reaksiyon verme özelliğine sahiptirler. Benzaldehid ROM oluşumuna sebep olabilir. Halifeoğlu ve arkadaşlarının tinere maruz kalan işçiler üzerinde yaptıkları bir çalışmada serum MDA seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yapıştırıcı ve tiner bağımlısı olan çocuklarda yapılan bir başka çalışmada da eritrosit ve plazma MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur (116). Organik çözücülerin hücre hasarında nasıl rol aldıkları ile ilgili yapılan çalışmada bu maddelerin toksik etkilerini ROM oluşumu yolu ile gösterdikleri bildirilmiştir.

Uçucu organik bileşiklerin etkisiyle, biyolojik membranların yapısında, ilerleyen dejenerasyon ve aktivite kayıplarının meydana geldiği bilinmektedir (93). Organik solventlerin ROM yolu ile doku hasarı patogenezindeki değişikliklerini inceleyen çalışmaların ise sayısı çok fazla değildir. Membranlarda lipid peroksidasyonlarına yol açan ROM oluşması membran fonksiyonlarının bozulması, akışkanlık azalması, membrana bağlı proteinlerin inaktivasyonu, hücre-içi Ca^{+2} düzeyi artışı ve Ca^{+2}/Mg^{+2} ATP-az aktivitesi artışlarına neden olur (117).

Organizmada lipid peroksidasyona karşı savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bu mekanizma antioksidan sistem olarak adlandırılır. Bunlardan süperoksit dismutaz enzimatik antioksidan gruba dahil olup süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler. Dolayısı ile SOD organizmanın önde gelen antioksidan enzimlerinden bir tanesidir.

Bizde çalışmamızda hücre içerisinde görev yapan SOD enzim aktivitesini ölçtük. SOD aktivitesini boya grubunda kontrol ve tekstil grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek bulduk ($p<0,001$). Tekstil grubunun SOD değerlerini kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek bulduk ($p<0,001$).

Uçucu organik bileşiklerin vücuda inhalasyon yolu ile girmesini takiben bunları nötralize edebilmek amacı ile endoplazmik retikulum yüzeylerinde lokalize sitokrom P- 450 enzim sınıfları aktif hale geçerek bu bileşikleri daha az reaktif moleküllere dönüştürebilir (118). Bu kimyasal ajanların indirgenme esnasında son derece reaktif olan süperoksit radikalleri ortamda oluşur.

Dolayısı ile bu radikallerin dismutasyonunda görevli SOD enzimi de vücuda alınan kimyasal maddenin miktarı ile orantılı artabilir. Boya tineri ile çalışan işçiler üzerinde yapılan çalışmada da SOD değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulunmuştur (116). Benzer bir sonuç yapıştırıcı ve tiner bağımlısı kişiler üzerinde yapılan çalışmada da bulunmuştur (119).

Bu bulgular dahilinde uçucu organik bileşiklere kronik olarak maruz kalmanın antioksidan enzim sistemlerinde değişime neden olabileceği kaydedilmiştir. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma olduğu klinik durumlarda SOD işlevselliğinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (95).

Antioksidan sistemin birçok bileşeni vardır. Bu bileşenlerin herhangi birinde serbest radikal hasarı bireyin tüm antioksidan durumlarında azalmaya sebep olabilir. Total antioksidan sistem plazma ve vücut sıvılarında bulunan tüm antioksidan sistemlerin performansının ölçülmesidir. (120). Biz çalışmamızda boya grubunun TAK seviyesini kontrol ve tekstil gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulduk ($p < 0,01$). Kontrol ve tekstil grupları arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). Boya grubunda gözlenen TAK'taki azalmanın, aşırı serbest radikallerin zararlı etkilerinden organizmanın korunması için bu antioksidan enzimlerin veya moleküllerin kullanımına bağlı olabileceğini göstermektedir.

Hunaiti ve arkadaşlarının çalışmasında, çözücü maruziyeti enzimlerin (Katalaz, GSHPx gibi) inhibisyonuna veya glutatyon, glutatyon redüktaz gibi substrat moleküllerinin tüketilmesine böylece de reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonlarında artışa sebep olabilir (121). Azalmış kan GSH konsantrasyonu ve GSHPx aktivitesi araba boyacılarında rapor edilmiştir (114). Yapıştırıcı ve tiner kullanan çocuklarda yapılan çalışmada da eritrosit SOD aktivitesi yüksek bulunurken, eritrosit ve plazma GSHPx seviyeleri düşük bulunmuştur (119).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz işçilerin ve kontrol grubunun kaç yıldır sigara içtiği ve günlük sigara tüketim miktarı verileri ile çalıştığımız parametreler arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). Sigara kullanımının çözücü maruziyeti ve serum parametrelerindeki değişimleri arasında anlamlı bir sonuç gözlenmedi. Pinto ve arkadaşlarının boyacılar üzerinde yaptığı çalışmada sigara ve alkol kullanımı ile sitogenetik hasar arasında doğru bir korelasyon kaydedilmemiştir (122).

Hindistan’da püskürtmeli boya kullanan işçiler üzerinde yapılan sitogenetik çalışmalarda sigara ve alkol kullanımının kromozomal hataların metafazının sıklığı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı bulunmuştur (123).

Sonuç olarak, uçucu organik bileşiklere çalıştıkları ortamda maruz kalan boya ve tekstil grubundaki artmış MDA düzeyleri lipid peroksidasyonunun arttığını gösteren iyi bir belirteçtir. Buna karşın boya ve tekstil grubunun kontrol grubuna kıyasla artmış SOD aktivitesi lipid peroksidasyona karşı antioksidan sistemlerinin çalıştığını fakat TAK’ın boya grubunda anlamlı derecede azalmış olması diğer antioksidan sistemlerin kullanıldığının göstergesi veya diğer antioksidan sistemlerin yetersizliğinin göstergesi olabilir. Bunun için, farklı organik çözücüler kullanılan erkek ve kadınları da içeren daha geniş bir populasyonda diğer oksidan ve antioksidan parametreleri de içeren çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

6. KAYNAKLAR

1. <http://www.mustafayildiz.8m.com\inhalasyonzehirlenmeleri.htm>. Hazırlayan KAVAKCI, C. (25.12.2004).
2. <http://med.ege.edu.tr/~saitzen/ogrenci/hucre.html>. Hazırlayan Şen, S. (17.12.2004).
3. LAINE, A., RIIHIMAKI, V.:Acut solvent intoxication: In: RIIHIMAKI, V., ULFVARSON, U. In safety and health aspects of organic solvents,eds., Alan R. Liss, New York , 23-132, 1986.
4. MIKKELSEN, S.:Epidemiologic update on solvent neurotoxicity. Environ. Res. 73 (1-2) : 101-112, 1997.
5. HANSEN, MK., LARSEN, M., COHR, KH.: Waterborn paints: a review of their chemistry and toxicology and the results of determination during their use. Scand. J. Work Environ. Health.13 (6): 473-485,1987.
6. http://www.mflohc.mb.ca/fact_sheets_folder/solvents-organic.html. MFL Occupational health center, Inc. Organic Solvents.
7. VURAL, M., DAYI, ÜŞ., TARTAN, Z., KAŞIKCIOĞLU, Z., ÖKMEN, E., ÇAM, N.: Tiner Maruziyeti Sonucu Gelişen Miyokard İnfarktüsü Olgusu. Anadolu Kardiyoloji Dergisi 3 (4) : 363-5 , 2003.
8. ARLIEN-SOBORG, P., BRUHN, P., GLYDENSTED, C., MELGAARD, B.:Chronic painters' syndrome. Chronic toxic encephalopatı in house painters. Acta Neurol. Scand. 60 (3): 149-156, 1979.
9. JENSEN, OM., WAHRENDORF, J., KNUDSEN, JB., SORENSEN BL.:The Copenhagen case-referent study on bladder cancer:Risk among drivers,painters and certain other occupations. Scand. J. Work Environ. Health. 13 (2): 129-134. 1987.
10. KILINÇ, K., KILINIÇ, A.: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 33 (2) : 110-118, 2002.
11. HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JMC.: Free radicals in biology and medicine. Oxford Clarendon Press, 1989.
12. CAMMACK, R.:Electron spin resonance. In: The biochemistry of plants, Vol. 13. New York: Academic Pres, 1987, 229-57.

13. HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JMC.: Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press, 1989.
14. ARUOMA, OL., HALLIWELL, B., DIZDAROGLU, M.: Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *J Biol Chem.* 264 (22): 13024-8, 1989.
15. RICE-EVANS, CA.: Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994, 131-53.
16. HALLIWELL, B.: Oxygen radicals : A commonsense look at their nature and medical importance. *Medical biology.* 62 (2) : 71-77, 1984.
17. SIES H., ED.: Oxidative Stress: Oxidants and Anti-oxidants. Academic Press, London, 1991, 563-581.
18. BIELSKI, BHJ., SHIVE GG.: Reaction rates of superoxide radicals with the essential amino acids. In: Oxygen free radicals and tissue damage. CIBA Fdn Symp. Excerpta Medica, Amsterdam, 65 : 43-56, 1979.
19. <http://www.cyberlipid.org/perox/oxid0006.htm#2>. Mechanisms of fatty acid oxidation. (28.12.2004).
20. GUTTERIDGE, JM.: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41 (12): 1819-28, 1995.
21. KRAUSE, GS., JOYCE, KM., NAYINI, RN., ZONIA, CL., GARRITANO, AM.: Cardiac arrest and resuscitation: Brain iron delocalization during reperfusion. *Ann Emerg Med.* 14 (11) :1037-43, 1985.
22. WHITE, BC., GROSSMAN, LI., KRAUSE, GS.. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology.* 43 (9): 1656-65, 1993.
23. JANERO, DR.: Malonaldehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad. Biol. Med.* 9 (6): 515-540, 1990.
24. ESTERBAUER, H., SCHAUR, RJ., ZOLLNER, H.: Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal in in situ perfused rat kidney. *J Lipid Res.* 38 (8) : 1660-5, 1997.

25. İŞLEKEL, H., İŞLEKEL, S., GÜNER, G., ÖZDAMAR, N.: Evaluation of lipid peroxidation cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion. *Brain Res.* 843 (1-2) :18-24. 1999
26. İŞLEKEL, S., İŞLEKEL, H., GÜNER, G., ÖZDAMAR, N.: Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion *Res Exp Med.* 199 (3): 167-76, 1999.
27. <http://www.cyberlipid.org/prost1/pros0002.htm#3>. Lipoygenase products. (29.12.2004).
28. THOMAS MJ.: The role of free radicals and antioxidants : How do we know that they are working. *Crit Rev. Food. Sci. Nutr.* 35 (1-2) : 21-29, 1995.
29. [www.gata.edu.tr/temelbilimler/biyokimya/seminer/oksidatifstres.\(01.1.2004\).](http://www.gata.edu.tr/temelbilimler/biyokimya/seminer/oksidatifstres.(01.1.2004).)
30. KILINÇ, K., KILINÇ, A.: Nitrik Oksit : Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayıncılık , Ankara 2003, 9-29.
31. MONCADA, S., HIGGS, A.: The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med.* 329 (27): 2002-12, 1993.
32. ÖZKAN, M., YÜKSEKOL, İ.: Nitrik Oksit ve Akciğerler. *Toraks Dergisi.* 4 (1) : 088-094, 2003.
33. http://edcenter.med.cornell.edu/CUMC_PathNotes/Cell.Injury/Cell_Injury.html. FIRBO, A. (01.01.2005).
34. KLONER, RA., JENNINGS, RB.: Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation.* 104 (24): 2981-9, 2001.
35. COTRAN RS, KUMAR V, ROBINS SL, COLLINS, T.: "Robbins' Pathological Basis of disease. Sixth Edition., London, WB Saunders 1998, 1862-75.
36. COMPORTI, M.: Three models of free radical-induced cell injury. *Chem Biol Interact.* 72 (1-2): 1-56, 1989.
37. www.medinfo.hacettepe.edu.tr/ders/TR/D2/9/3389_files/slide0052.htm -10k. ÖZER, N. (01.01.2005).
38. MITCHELL DL, MEADOR J, PANIKER L, GASPARUTTO D, JEFFREY WH, CADET J.: Development and application of a novel immunoassay for measuring oxidative DNA damage in the environment. *Photochem Photobiol.*;75 (3):257-65, 2002.

39. BLAKE DR, HALL ND, BACON PA, DIEPPE PA, HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC.: Effect of a specific iron chelating agent on animal models of inflammation. *Ann. Rheum. Dis.* 42 (1): 89-93 , 1983.
40. http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm. GÜMRÜKÇÜOĞLU A. (29.12.2004).
41. FRIDOVICH I.: Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 23 : 239-57, 1983.
42. BEKEREÇİOĞLU M, UĞRAŞ S, DİLEK ON.: Serbest radikaller. *Sendrom.* 10 (3) : 85-94, 1992.
43. http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Life_Science/Cell_Signaling/Scientific_Resources/Pathway_Slides_Charts/Oxidative_Stress.html. (02.03.2005).
44. KROLAK, B, KAMINSKI, K.: Activity of superoxide dismutase (SOD) and its isoenzyme activities in newborn children and adult women and men. *Ginekol Pol.* 63 (8): 404-9, 1992.
45. HERBERT, D., PINSENT, J.: Crystalline bacterial catalase. *Biochem. J.* 43 :193-202, 1948.
46. MURRAY, RK., GRANNER, DK., MAYES, PA., RODWELL, VW.: Harper's Biochemistry. In: MAYES A. Part III Lange Medical Publication, London, 1993, 126-129.
47. THOMSON CD, ROBINSON MF, BUTLER JA, WHANGER PD. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women. *Br J Nutr.* 69 (2): 577-88, 1993.
48. STEVEN, S., COUGHLIN, PH.D., INGRID J. HALL, PH.D., M.P.H. Glutathione S Transferas Polymorphisms and Risk of Ovarian Cancer Genetics in Medicine. 4 (4): 250-57, 2002.
49. CLORKSAN, PM.: Antioxidants and physical performance. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 35 (1-2) : 131-141, 1995.

50. MERAM, İ., KÖYLÜOĞLU, O., TARAKÇIOĞLU, M.: E Vitamini ve Klinik Önemi. İbni Sina Tıp Dergisi. 6, 2001.
51. BENOT S, GOBERNA R, REITER RJ, GARCÍA-MAURINO S, OSUNA C, GUERRERO JM.: J Pineal Res. Physiological levels of melatonin contribute to the antioxidan capacity of human serum 27 (1): 59-64, 1999.
52. MURRAY, RK., GRANNER, DK., MAYES, PA., RODWELL, VW.: Harper's Biochemistry. In : MURRAY RK. Part IV. 784-789. Lange Medical Publication, London ,1993.
53. <http://cropsoil.psu.edu/Courses/AGRO518/Oxygen.htm>. Oxidative stress.
54. IMLAY, JA., LINN, S.: DNA Damage and Oxygen Radical Toxicity. Science. 3;240 (4857):1302-9, 1988.
55. EVANS, P., LYRAS, L., HALLIWEL, B.: Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. Methods Enzymol. 300: 145-156, 1999.
56. RICE-EVANS, CA.: Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Pres. 131-53, 1994.
57. WITKO, SV., FRIEDLANDER, M., CAPELLERE, BC., NGUYEN, KT., NGUYEN AT., ZINGRAFF, J., JUNGERS, P., DESCAMPS, LB.: Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. Kidney Int. 49 (5): 1304-13, 1996.
58. MERAM İ, AKTARAN Ş.: Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri, Arşiv kaynak tarama dergisi, ÇÜ. Tıp fakültesi, 11: 300-304, 2002.
59. POLATLI, M. Toksik Gaz İnhalasyonu. Adnan Menderes Üniversitesi Göğüs Hastalıkları ABD. Solunum. 5 (6) : 244-256, 2003.
60. SCHWARTZ, DA., BLASKI, CA., FISHMAN, AP., ELIAS, JA., FISHMAN, JA., GRIPPI, MA., KAİSER, LR., SENİOR, RM.: Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders, 3rd Ed. New York, Mc Graw-Hill. 925-940, 1998.

61. <http://www.caginpulisi.com.tr/20/60-62.htm>. Boya ve mürekkep Analizi. ÇALI, HH. (15.12.2004).
62. CASSITTO, MG.: Organic solvents and the nervous system. In: De Wolffe, FA: *Handbook of Clinical Neurology. Intoxications of the Nervous System, Part I.* Vol 20. Elsevier Science, 1994.
63. IKEDA, M.: Public health problems of organic solvents . *Toxicol Lett.* 64-65: Spec No:191-201, 1992.
64. BROADWELL, DK., DARCEY, DJ., HUDNELL, HK.: Work-site clinical and neurobehavioral assessment of solvent-exposed microelectronics workers . *Am J Ind Med* 1995 May; 27(5): 677-98.
65. IREGREN, A.: Effects on human performance from acute and chronic exposure to organic solvents: a short review . *Toxicol.* 49(2-3): 349-58, 1998.
66. SZCZUR, M., KRAHE, C.: TOXMAP - An Environmental Health Data Visualization Tool. *Medinfo.* 2004;2004(CD):1875.
67. http://toxtown.nlm.nih.gov/text_version/chemical/volatile.html.
Chemical : Volatile organic compounds.
68. WALLACE, LA., PELLIZZARI, ED., HARTWELL, TD., SPARACINO, C., WHITMORE, R., SHELDON, L., ZELON, H., PERRITT, R.: The TEAM (Total Exposure Assessment Methodology) Study: personal exposures to toxic substances in air, drinking water, and breath of 400 residents of New Jersey, North Carolina, and North Dakota. *Environ Res.* 43 (2): 290-307, 1987.
69. WEISS, SM., LAKSHMINARAYAN, S.: Acute inhalation injuries. *Clin Chest Med.* 15 (1) :103-115, 1994.
70. RORISON, DG., MCPHERSON, SJ.: Acute toxic inhalations. *Emerg Med Clin North Am.* 10 (2) : 409-435, 1992.
71. LEDUC, D., GRIS, P., LHEUREUX, P.: Acute and long-term respiratory damage following inhalation of ammonia. *Thorax.* 47 (4): 755-757, 1992.
72. BURTIS, CA., ASHWOOD, ER.: *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry.* In: PORTER WH, MAYER TP. Fifth edition . Part IV. 1999, 636- 675.

73. BAILER, AJ., HOEL, DG.: Metabolite-based internal doses used in a risk assessment of benzene. *Environ Health Perspect.* 82: 177-184, 1989.
74. ASHBY, J., DE SERRES, FJ., DRAPER, M., ISHIDATE, MJR., MARGOLIN, BH., MATTER, BE., SHELBY, MD. ed. Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the International Programme on Chemical Safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier Science Publishers. 5: 353-357, 1985.
75. GREEN, JD., SNYDER, CA., LOBUE, J., GOLDSTEIN, BD., ALBERT, RE.: Acute and chronic dose/response effects of inhaled benzene on multipotential hematopoietic stem (CFU-S) and granulocyte/macrophage progenitor (GM-CFU- C) cells in CD-1 mice. *ToxicolApplPharmacol* . 58 (3): 492-503, 1981.
76. JOHANSSON, I., INGELMAN-SUNDBERG, M.: Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P-450(IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. *Cancer Res.* 48 (19): 5387-5390, 1988.
77. KALF, GF.: Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene. *Crit Rev Toxicol.* 18 (2): 141-159, 1987.
78. LUTZ, WK.: In vivo covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis. *Mutat Res.* 65 (4): 289-356, 1979.
79. HURLEY, JF., CHERRIE, JW., MACLAREN, W.: Exposure to benzene and mortality from leukaemia: results from coke oven and other coal product workers. *Br J Ind Med.* 48 (7): 502-504, 1991.
80. GOLLMER, L., GRAF, H., ULRICH, V.: Characterization of the benzene monooxygenase system in rabbit bone marrow. *Biochem Pharmacol.* 15 ; 33(22) : 3597-602, 1984.
81. RUIJTEN MW, HOOISMA J, BRONS JT: Neurobehavioral effects of long-term exposure to xylene and mixed organic solvents in shipyard spray painters . *Neurotox.* 15(3): 613-20, 1994.
82. ŞİMŞEK, GG.: Xylene intoxication. *The Turkish Journal of Toxicology.* 2 (3): 37-43, 2004.
83. MOSLEN MT, REYNOLDS ES, SZABO S: Enhancement of the metabolism and hepatotoxicity of trichloroethylene and perchloroethylene . *Biochem Pharmacol.* 1; 26(5): 369-75, 1977.

84. FELDMAN RG, NILES C, PROCTOR SP: Blink reflex measurement of effects of trichloroethylene exposure on the trigeminal nerve. *Muscle Nerve*. 15 (4): 490-5, 1992.
85. <http://www.nycwasteless.com/gov-bus/citysense/edefinitions.html>.
<http://www.whis.nzl.org/snftaas/pt17.html>USEPA;Health Assessment Document: Toluene 1982 EPA-800/8-82-008. (01.12.2004).
86. International Labour Office. Encyclopedia of Occupational Health and Safety. In: Respiratory system. CHAPTER 10 Ulfvarson MP Dahlqvist M, Ryon D. Volumes I and II.: McGraw-Hill Book Co, New York, 1414, 1971.
87. MATTIA, CJ., LEBEL, CP., BONDY SC.: Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol*. 42 (4): 879-882, 1991.
88. MATTIA, CJ., ALI, SF., BONDY, SC.: Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Mol Chem Neuropathol* 1993; 18 (3) : 313- 328, 1993.
89. BONDY, SC., NADERI, S.: Contribution of hepatic cytochrome P-450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol*. 48 (1): 155-159, 1994.
90. ANDERSON, HR., DICK, B., MACNAIR, RS., PALMAR, JC., RAMSAY, JD.: An investigation of 140 deaths associated with volatile substance abuse in the United Kingdom (1971-1981). *Hum Toxicol*. 1 (3) : 207-21, 1982.
91. BASS M. Sudden sniffing death. *JAMA*. 22; 212(12): 2075-9, 1970.
92. MARJOT, R., MCLEOD AA.: Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human Toxicol*. 8 (4): 301-306, 1989.
93. AL-ALOUSI LM.: Pathology of volatile substance abuse: a case report and a literature review. *Med Sci Law*. 29 (3) : 189-208. 1989.
94. STICKNEY JA, ROBERTS AE, SILVERMAN DM, SCHATZ RA. The effect of m-xylene on rat lung benzo [a] pyrene metabolism and microsomal membrane lipids: Comparison with p-xylene. *Toxicol*. 58 (2): 155-165. 1989
95. FREEMANN, BA., CRAPO, JD.: Biology of diseases; free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 47(5): 412-24, 1982.

96. LUNEC, J.: Free radicals, their involvement in disease processes. *Am Clin Biochem.* 27: 173-82, 1990.
97. İŞSEVER H, DOKUZTUĞ F, SABUNCU HH, ECE T. Boya ve metal iş kolunda çalışanlarda solunum fonksiyon test sonuçları. *İst.Tıp Fak.Mecmuası* 61: 4, 1998.
98. TARNLING, G., ALEXANDERSSON, R., HEDENSTIERNA, I., PLATO, N.:Decreased lung function and exposure to diisocyanates (HI and HDI-BT)in car painters: observation on re-examination 6 years after initial study. *Am.J.Ind.Med.* 17(3): 299-310, 1990.
99. COCKCROFT, DW., MINK, JT.: Isocyanate-induced asthma in an automobile spray painter. *Can Med Assoc J.* 8; 121(5):602-4, 1979.
100. PARKER, DL., WALLER, K., HIMRICH, B., MARTINEZ, A., MARTIN, F.:Across sectional study of pulmonary function in autobody repair workers. *Am.J.Public Health.* 81(6): 768-771 , 1991.
101. SCHWEIGERT, M., SAX, S., HOUSE, R., HENDERSON, B.: Investigation of pulmonary function among employees exposed to low levels of monomeric isocyanates and solvents at an automobile finishing plant. *J Occup Environ Med.* 44 (11): 1083-90, 2002.
102. OLERU, UG.: Respiratory and nonrespiratory morbidity in a titanium oxide paint factory in Nigeria. *Am J Ind Med.*12 (2): 173-80, 1987.
103. WIESLANDER, G., NORBACK, D., EDLING, C.: Airway symptoms among house painters in relation to exposure to volatile organic compounds (VOCs)--a longitudinal study. *Ann Occup Hyg.* 41 (2): 155-66, 1997.
104. LUNDBERG, I., HAKANSSON, M.: Normal serum activities of liver enzymes in Swedish paint industry workers with heavy exposure to organic solvents. *Br J Ind Med.* 42 (9): 596-600, 1985.
105. KURPPA, K., VAINIO, H.: Study design, liver disease and house painters' exposure to organic solvents. *Eur J Clin Invest.* 13(2):113-4, 1983.

106. REES, D., SODERLUND, N., CRONJE, R., SONG, E., KIELKOWSKI, D., MYERS, J.: Solvent exposure, alcohol consumption and liver injury in workers manufacturing paint. *Scand J Work Environ Health*. 19 (4): 236-44, 1993.
107. ANGER, KW.: Neurobehavioural tests and systems to assess neurotoxic exposures in the workplace and community. *Occup. Environ. Med.* 60 (7): 531 – 538, 2003.
108. CHERRY, N., HUTCHINS, H., PACE, T., WALDRON, HA.: Neurobehavioural effects of repeated occupational exposure to toluene and paint solvents. *Br J Ind Med*. 42 (5): 291-300, 1985.
109. LINDSTROM, K., WICKSTROM, G.: Psychological function changes among maintenance house painters exposed to low levels of organic solvent mixtures. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 303 : 81-91, 1983.
110. YEOWELL-O'CONNELL, K., ROTHMAN, N., SMITH, TM., HAYES RB, WAIDYANATHA, S., DOSEMECI, M., ZHANG, L., YIN, S., TITENKO-HOLLAND, N. , RAPPAPORT, SM.: Hemoglobin and albumin adducts of benzene oxide among workers exposed to high levels of benzene. *Carcinogenesis*. 19 (9): 1565-71, 1998.
111. BURTIS, CA., ASHWOOD, ER.: *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Fifth Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1999, 592-593.
112. KIM, Y., LEE, N., SAKAI, T., KIM, KS., YANG, JS., PARK, S., LEE, CR., CHEONG, HK., MOON, Y.: Evaluation of exposure to ethylene glycol monoethyl ether acetates and their possible haematological effects on shipyard painters. *Occup Environ Med*. 56 (6): 378-82, 1999.
113. BEVING, H., TORNLING, G., OLSSON, P.: Increased erythrocyte volume in car repair painters and car mechanics. *Br J Ind Med*. 48 (7): 499-501, 1991 122.
114. KARAGÖZLER, AA., MEHMET, N., BATCIOGLU, K.: Effects of long-term solvent exposure on blood cytokine levels and antioxidant enzyme activities in house painters. *J Toxicol Environ Health A*. 13; 65 (17): 1237-46, 2002.

115. DLUGOSZ, A., SAWICKA, E.: The chemoprotective effect of coenzyme Q on lipids in the paint and lacquer industry workers. *Int J Occup Med Environ Health*. 11 (2):153-63, 1998.
116. HALİFEOĞLU, İ., CANATAN, H., ÜSTÜNDAĞ, B., INANÇ, N.: Effect of Thinner Inhalation on lipid peroxidation and some Antioxidant Enzymes of People Working with Paint Thinner. *Cell Biochem Funct*. 18 (4); 263-267, 2000.
117. LEBEL, CP., SCHATZ, RA.: Altered synaptosomal phospholipid metabolism after toluene. Possible relationship with membrane fluidity, Na⁺, K⁺ -adenosine triphosphate and phospholipid methylation. *J Pharmacol Exp Ther*. 253 (3): 1189-1197, 1990.
118. ÖZEROL, E.: Sitokrom P 450 Monooksigenaz Enzim Sistemleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*. 3 (3): 257-275, 1996.
119. DÜNDARÖZ, R., TÜRK BAY, T., AKAY, C., SARICI, Ü., AYDIN, A., DENLİ, M., GÖKÇAY, E.: Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in adolescents with inhalant abuse. *Turkish Journal of Pediatrics*. 45: 43-45, 2003.
120. JACOB, RA.: The Integrated Antioxidant System, *Nutr. Res*. 15 (2): 755-766, 1995.
121. HUNAITI, A., SOUD, M., KHALIL, A.: Lead concentration and the level of glutathione, glutathione S- Transferaz , reductase and peroxidase in the blood of some uoccupational workers from Irbid City. *Jordan. Sci. Total Environ*. 170 (1-2) : 95- 100, 1995.
122. PINTO, D., CEBELLOS, JM., GARCIA, G., GUZMAN, P., DEL RAZO, DM., VERA, E., GOMEZ, H., GARCIA, A., GONSENBATT, ME.: Increased cytogenetic damage in outdoor paints. *Mutat. Res*. 467(2) : 105-111 , 2000.
123. GAJALAKSHMI, P., BALASUNDARAM, A., VENKATESAN, P., SANTHIYA, ST., RAMESH, A.: Cytogenetic studies on spray painters in south India. *Mutat Res*. Feb 15;514(1-2):1-6, 2002.

7. EKLER

7.1. EK I

Adı	
Soyadı	
Cinsiyeti	
Boy	
Kilo	
Yaş	
Kaç yıldır boyahanede çalışıyorsunuz?	
Kaç yıldır tekstil işinde çalışıyorsunuz?	
Sigara kullanıyormusunuz?	
Kaç yıldır?	
Adet\Gün	
Herhangi bir rahatsızlığınız var mı?	
Varsa nedir?	
Alkol kullanıyormusunuz?	
Çalışılan testler	
ALT	
AST	
MDA	
SOD	
TAK	
Hematolojik parametreler	

ÖZGEÇMİŞ

1979' da Gaziantep'de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gaziantep'de tamamladı. 1997 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. 2001 yılında mezun oldu. 2002 yılında Gaziantep Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans programına başladı. Türkiye Kimya Derneği üyesidir.

