T.C.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ACİL TIP AD

KARBON MONOKSİTLE ZEHİRLENME OLGULARININ LENFOSİT HÜCRELERİNDE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ SIKLIĞININ BELİRLENMESİ

Arş.Gör.Dr. Tarık OCAK

Tez Yöneticisi

Doç.Dr. Şahin ASLAN

Uzmanlık Tezi

ERZURUM 2008

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
İÇİNDEKİLER	I
KABUL ve ONAY	III
TEŞEKKÜR	IV
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
SİMGELER DİZİNİ	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. EPİDEMİYOLOJİ	3
2-2. CO KAYNAKLARI	4
2-2-1. Eksojen Kaynaklar	4
2-2-2. Endojen Kaynaklar	4
2-3. PATOFİZYOLOJİ	5
2-4. KLİNİK	7
2-4-1. Nörolojik belirtiler	10
2-4-2. Kardiyovasküler Sistem	10
2-4-3. Solunum Sistemi	11
2-4-4. Gastrointestinal Sistem	11
2-4-5. Genitoüriner Sistem ve fetal toksisite	11
2-4-6. Kan	12
2-4-7. Endokrin ve Metabolizma	12
2-4-8. Deri ve iskelet kasları	12
2-4-9. Göz ve kulaklar	12
2-4-10. Bilişsel (kognitif) ve psikiyatrik belirtiler	12
2-5. TANI	13
2-5-1. Fizik Muayene	13
2-5-2. Laboratuar verileri	13
2-5-3. Görüntüleme yöntemleri	14
2-6. TEDAVİ	15

3. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD)=Sister Chromatid Exchange (SCE) 18
3.1.Kardeş Kromatid Değişimi Mekanizmaları 18
3.2. KKD ve Kromozom Anomalileri Meydana Getiren Ajanlar 20
3-3. KKD ve Kromozom Anomalileri Meydana Getiren Hastalıklar 20
3-4. KKD Yöntemini Etkileyen Faktörler 20
3-5. CO'in KKD Oluşturma Etiopatogenezi 23
4. MATERYAL VE METOD **24**
4.1. MATERYAL 24
4.1.1. Çalışma Grubu 24
4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler 24
4.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar 25
4.1.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 26
4.2. METOD 27
4.2.1. Lenfosit Kültürü 27
4.2.2. Floresan Plus Giemsa Tekniği İle Boyama 28
4.2.3. KKD Analiz 28
5. BULGULAR **30**
6. TARTIŞMA **38**
7. KAYNAKLAR **44**

ONAY

‘Karbon monoksitle zehirlenme Olgularının Lenfosit Hücrelerinde Kardeş Kromatit Değişimi Sıklığının Belirlenmesi’ isimli çalışmamız Acil Tıp Anabilim Dalı’nın 29.09.2006 tarih ve 198 sayılı yazısı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun 16.11.2006 tarih ve ‘75’ sayılı kararı ile Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu’ nun 27.12.2006 tarih ve ‘1866’ sayılı kararı ile Doç. Dr. Şahin ASLAN denetiminde Araş. Gör. Dr. Tarık OCAK tarafından tez olarak çalışılması uygun görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar ki süreçte değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan Sn. Doç. Dr. Şahin ASLAN hocama en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen ve kıymetli fikirlerinden istifade ettiğim Sn. Yrd. Doç. Dr. Zeynep G. ÇAKIR, Sn. Yrd. Doç. Dr. Mustafa UZKESER, Sn. Yrd. Doç Dr. Mücahit EMET, Sn. Prof. Dr. Sıtkı ÖZTAŞ, Sn. Doç. Dr. Mevlit İKBAL, Sn. Yrd. Doç. Dr. Hamit ACEMOĞLU ve Sn. Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hiçbir zaman katkılarını unutmayacağım çalışma arkadaşlarım ve bölümümüz personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelebilmem için maddi manevi hiç bir fedakarlıktan kaçınmayan canım annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca manevi desteğini her zaman yanımda bulduğum sevgili eşim Zeynep OCAK ve oğlum M.Tarık OCAK'a şükranlarımı sunarım.

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo- 1.Çeşitli COHb Konsantrasyonlarına Göre Semptom ve Bulgular 8

Tablo- 2.CO Zehirlenmesinde Sistemik Bulgular ve Komplikasyonlar 9

Tablo- 3. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımları 30

Tablo- 4. HBOT alanların dağılımı 30

Tablo- 5. Hasta ve kontrol grubunun lab. Değerlerinin karşılaştırılması 31

Tablo- 6. Hastaların semptomlarının dağılımı 32

Tablo- 7. Hasta semptomlarının COHb değerleri ile ilişkisi. 33

Tablo- 8. CO zehirlenmesi ile başvuran hastalar ile kontrol grubu kan gazı değerleri. 34

Tablo- 9. Hasta ve kontrol grubunun KKD Değerlerinin karşılaştırılması 35

Tablo- 10. KKD, GKS ile COHb arasındaki korelasyon 35

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil- 1. Endojen CO Kaynağı Olan Hemin Dejenerasyon 5

Şekil- 2. CO Zehirlenmesi ile Gelen Bir Hastada Önerilen Klinik ve Tedavi Yaklaşımı 17

Şekil- 3. KKD'lerin sayılmasında esas alınan kriterler 29

Şekil- 4. CO maruziyeti sonrasında kardeş kromatid değişimini gösteren ve olgularımızdan birine ait olan bir metafaz plağı görülmektedir. Oklar KKD değişim yerlerinin göstermektedir 34

Şekil- 5. Kontrol grubuna ait bir metafaz plağı görülmektedir 37

SİMGELER VE KISALTMALAR

aa	Aminoasit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alanin Amino Transferaz
AST	Aspartat Amino Transferaz
bç	Baz çifti
BrdU	5-Bromo-2 deoxyuridine
C	Sitozin nükleotidi
CK	Kreatin Kinaz
CK-	Kreatin Kinaz
MB	Myokardial Band
°C	Santigrat derece
CO	Karbon monoksit
COHb	Karboksihemoglobin
ddH_2O	Deiyonize su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotit trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
g	Gram
Hb	Hemoglobin
HBOT	Hiperbarik O_2 Tedavisi
HCl	Hidroklorik asit
H_2O_2	Hidrojen peroksit
K^+	Potasyum iyonu
kDa	Kilo dalton
KKD	Kardeş Kromatid Değişimi
LDH	Laktat Dehidrogenaz
M	Molar
Mb	Myoglobin
mg	Miligram
Mg^{++}	Magnezyum iyonu
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
Na^+	Sodyum İyonu
NaCl	Sodyum klorür
NBO	Normobarik O_2
O_2	Oksijen
q	Kromozomun uzun kolu
RBC	Kırmızı kan hücresi
rpm	Dakikada dönüş sayısı
SCE	Sister Chromatid Exchange
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
UV	Ultraviyole
V	Volt

Karbon Monoksitle Zehirlenme Olgularının Lenfosit Hücrelerinde Kardeş Kromatid Değişimi Sıklığının Belirlenmesi

ÖZET

Amaç: CO zehirlenmelerinin birçok ülkede fatal zehirlenmelerin yarısından fazlasının sebebi olduğu rapor edilmiştir. Karbon monoksit kömür, odun, petrol, propan, ve plastik gibi karbon içeren yakıtların tam yanmaması sonucu ortaya çıkan renksiz, kokusuz ve irritan olmayan bir gazdır. CO zehirlenmesi akut veya kronik olarak çeşitli semptomlara neden olabilir. Bu çalışmada, CO zehirlenmesinin kardeş kromatid değişimi bazında genotoksik etkisi ve özgün bağışık sistemimizin en önemli hücresel elamanları olan lenfositlerin (hücre düzeyinde) yaşam süresi üzerine etkilerinin belirlenmesini amaçlamaktayız.

Materyal ve Metod: Çalışmaya 26'sı kadın 12'si erkek toplam 38 vaka dahil edildi. Hastalara ait demografik veriler, vital bulgular, CO gazının kaynağı, risk faktörleri ve sigara alışkanlıkları kaydedildi. Tüm vakalarda Glasgow Koma skoru (GKS), elektrokardiyografi (EKG), arteriyal kan gazı (AKG) analizi, tam kan sayımı, creatinin kinaz (CK), creatinin kinaz MB fraksiyonu (CK-MB), troponin-I, Glukoz, BUN, Kreatinin, Na, K, LDH, AST,ALT ölçümleri yapılarak kaydedildi. İlave olarak genotoksik etkinin kolay tesbit edilebilir bir belirteci olan kardeş kromatid değişimi yöntemi ile araştırma yapıldı.

Sonuçlar: Olguların yaşları 16-54 yıl arasında idi (ortalama yaş: 29.79± 10.92 yıl). Hastaların maruziyet şekilleri 38 olguda (%100) şohben idi. Ortalama karboksihemoglobin (COHb) düzeyi 25.05±7.15 bulundu. Olguların 12 tanesinde (% 31,6) GKS 15'in altında GKS ile COHb düzeyi arasında negatif yönde önemli korelasyon vardı ($r=-0.825$, $p<0.001$). EKG değişikliği olan 16 hastada gözlendi. Hepsinde sinusal taşikardi şeklinde idi. Hastalar genotoksisite açısından incelendiğinde COHb düzeyleri yüksek olan hasta grubunda, COHb düzeyleri fizyolojik düzeylerde olan kontrol grubuna kıyasla KKD etkilenme frekansında anlamlı derecede artış tesbit edildi ($p<0.000$). KKD frekansında artış COHb düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark elde edilmedi ($r=0.16$, $p=0.34$).

Tartışma: Sonuç olarak, CO zehirlenmelerinde CO'in hücre üzerindeki toksik etkileri ve canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimali sebebiyle önemli bir toplum sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Diğer bilinen nöropisikiyatrik ve kardiyovasküler gibi sistemler üzerindeki zararlı etkileri de düşünülecek olursa CO gazının zararlı etkilerinden korunmak amaçlı güvenlik standartlarının artırılması ve insanların bu konu ile ilgili bilinçlendirilmesi sorunun çözümüne katkıda bulunacak en kolay girişimler olacaktır.

Anahtar kelimeler: CO zehirlenmesi, genotoksisite, KKD

Determining The Frequency Of Sister Chromatid Exchange In Lymphocyte Cells Of Carbon Monokside Intoxication Cases

SUMMARY

Aim: Carbon monoxide intoxication is reported to be the reason of more than half of the fatal intoxications in many countries. CO is a colorless, odorless, and non-irritating gas and is produced from the partial combustion of carbon-containing compounds such as coal, wood, petroleum, propane and plastic. CO intoxication may cause acute and chronic symptoms. In this study, we aimed to identify it's genotoxic effect on the basis of SCE, and also studied it's effect on the average life span of lymphocytes which is the most important cellular component of the immune system.

Material and Methods: Thirty eight patients (female:26, male:12) were covered in the study. Patients demographic characteristics, vital findings, source of CO gas, risk factors and smoking habbits were recorded. All the cases following clinical and laboratory measurements were performed: Glasgow Coma Scale (GCS), electrocardiography (ECG), arterial blood gas (ABG), whole blood count, creatine kinase (CK), creatine kinase MB fraction (CK-MB), troponine-I, blood glucose, BUN, creatinin, Na, K, LDH, AST, ALT. Additionally, so as to simply identify the genotoxic effect, sister chromatid exchange method is used.

Results: All 38 patients, ages differ between 16-64 years (mean age:29.79± 10.92 years), source of CO gas were flash heaters (100%). Mean carboxyhemoglobin (COHb) level was 25.05±7.15. For 12 of the patients (31.6%), GCS was under 15 and there was an important negative correlation between GCS and COHb levels ($r=-0.825$, $p<0.001$). Sinus tachycardia was present in 16 of the patients in ECG. Genotoxicity investigation showed that there was a statistically important increase in SCE frequency in patients with high COHb levels when discussed with control group whose COHb levels were in physiologic range ($p<0.0001$). When the increase in SCE frequency was discussed with COHb levels, no correlation was found ($r=0.16$, $p=0.34$).

Discussion: CO intoxication is an important public health problem due to it's toxic effects in celluler basis and due to the probability of causing mutations. As it's neuropsychiatric and cardiovasculer effects are also taken into consideration, the easiest way to protect people against the harmfull effects of CO gas and to find a solution to the problem are to upgrade the security standards and to to make public conscious about the ongoing problem.

Key Wors: CO intoxication, genotoxicity, SCE.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlar günlük yaşamlarında veya çalışma ortamlarında bir çok genotoksik ajanın mutajenik ve karsinojenik etkileri ile karşılaşmaktadırlar. Gelişen teknoloji ile birlikte üretilen yeni ilaçlar, gıda katkı maddeleri, kimyasallar, tarım ilaçları ve çevreye yayılan atıklar canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimalini arttırmaktadır. Bu nedenle mutajenik, karsinojenik ve antimutajenik, antikarsinojenik maddelerin etkilerinin araştırılması önem kazanmıştır. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) gibi biyolojik belirteçler meslek dolayısıyla kalınan maruziyeti tespit etme ve çevresel olarak etkilenen popülasyonun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (1-3).

KKD, kardeş kromatidlerin karşılıklı olarak yer değiştirmesidir. KKD, timin nükleotidi analoğu olan 5-Bromo-2 deoxyuridine (BrdU) varlığında DNA eşlemesi ilkesine dayanan kromozomal düzeyde mutajen ve klastojen etmenlerin DNA replikasyonu sırasında kromozomlardaki kardeş kromatidlerde yanlış yer değişim oranlarını belirlemede kullanılan bir yöntemdir (3,4). KKD, hücre bölünmesinin normal bir özelliği olarak oluşabilmekle birlikte kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmamaktadır. Ancak hücre DNA'sı genotoksik ajanlar tarafından zarar gördüğünde oranı artmaktadır. KKD frekansında bir artış varsa, o maddenin mutajen olduğu ve bu nedenle karsinojenik bir özellik gösterebileceği düşünülebilmektedir (3-7). Karbon monoksit (CO) zehirlenmesi veya anemide olduğu gibi kanın oksijen (O_2) taşıma gücünün kaybı (O_2 taşınmasını bloke eden stabil CO oluşumu) ile oluşan hipoksi son derece önemli ve genel bir hücre zedelenme veya ölüm nedenidir. Hipoksi ile oluşan O_2 radikallerinin timinle reaksiyonunda DNA tek zincirler halinde kırılarak, hem hücre ölümü ve hem de hücrenin malign transformasyonuna yol açan DNA hasarı oluşturduğu bildirilmiştir.

Ülkemizin sosyal ve ekonomik nedenlere bağlı olarak önemli sorunlarından biri de havalandırması yetersiz olan küçük alanlarda kullanılan mangal, soba, kömür kazanı ve şofben gibi araçlardan sızabilen CO gazı ile olan zehirlenmelerdir (8). CO, genel olarak atmosferik gazın % 0.001'den daha azını oluşturmakta olup, büyük ölçüde hidrokarbonun tam olarak yanmaması sonucu oluşan renksiz, kokusuz, tatsız ve irritan olmayan bir gazdır. CO zehirlenmelerinin birçok ülkede fatal zehirlenmelerin yarısından fazlasının sebebi olduğu rapor edilmiştir. Akut zehirlenme veya meslek nedeniyle kronik olarak oluşan CO maruziyetinden kişinin zarar görmemesi için Avrupa Toplulukları Komitesinin tavsiyesi 25-50 parts per million (30-60 mg/m^3)/8 saattir.

Standartların üzerinde alınan potansiyel maruziyet total vücut yükünü arttırarak toplum hayatını önemli ölçüde etkiler (9-11).

Endüstriyel alanlarda, tarım alanları ve ticari kuruluşlarda CO etkilenimi çok sık görülür. İtfaiyeciler, ağır vasıta operatörleri, trafik polisleri, kömür madeni işçileri, mutfak çalışanları, maden işçileri gibi bir çok meslek grubunda kronik CO maruziyeti mevcuttur. Mesleksel nedenli ölümler çok yaygın değildir ancak O_2 düzeyi düşük ortamlar ve toksik gazların bulunduğu ortamların sayısı halihazırda rapor edilenlerden daha fazladır (11).

CO zehirlenmesi akut veya kronik olarak çeşitli semptomlara neden olabilir. O_2'e kıyasla CO'in hemoglobin (Hb) afinitesi 200-250 kez daha fazla olduğundan zehirlenmedeki morbidite ve mortalitenin doku hipoksisi zemininde geliştiği bilinmektedir. Bununla birlikte CO'in hücre üzerinde toksik etkilerinin olması canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimali sebebiyle önemli bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır (12,13).

Literatürde CO zehirlenmesinde KKD çalışması ile ilgili yeterli düzeyde çalışmaya rastlanılmamıştır. Bölgemizde meydana gelen CO zehirlenmelerinin sıklığı göz önüne alınarak yapılan bu çalışmada, CO zehirlenmesinin KKD bazında genotoksik etkisi ve özgün bağışık sistemimizin en önemli hücresel elamanları olan lenfositlerin (hücre düzeyinde) yaşam süresi üzerine etkilerinin belirlenmesini amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

Yunan ve Roma imparatorlukları zamanında suçluları idam etmek için kullanılan bir yöntem olan CO gazı, ilk olarak 1776 yılında Fransız kimyager olan Lassone tarafından tanımlanmıştır. CO'in karbon ve O_2'den oluşan moleküler yapısını 1880 yılında William Cruikshank, toksik etkilerini ise 1865 yılında Claude Bernard tanımlamıştır. İkinci dünya savaşı esnasında ısınma ihtiyaçları için yüksek oranda odun kullanıldığından bu dönemde bir çok CO zehirlenme olguları raporlandırılmıştır (15).

CO, karbon içeren maddelerin tam olmayan yanması sonucunda oluşan renksiz, kokusuz, tatsız, irritan olmayan, akciğerlerden kolaylıkla absorbe edilebilen oldukça stabil bir moleküldür. Absorbe olan gazın miktarı ventilasyon/dakika oranına, etkilenim süresine, ortamdaki O_2 ve CO konsantrasyonlarına bağlıdır. Havaya göre dansitesi 0.97 olduğundan atmosferin alt kesimlerinde yaygın olarak bulunur. Molekül ağırlığı 28.01, özgül ağırlığı 0°C'de 1 atm basınçta 1.250 g/L, erime noktası -199°C, sudaki çözünürlüğü 0°C'de 3.54/100 mL, havadaki patlama sınırı %12.5-74.2 arasındadır (14,15). CO zehirlenmesi, akut etkileri ile potansiyel olarak ölümcül olabilen ve gecikmiş yan etkileri ile de önemli kalıcı bozukluklara yol açabilen bir hastalıktır (13).

2.1. EPİDEMİYOLOJİ

CO zehirlenmesi Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kaza ile zehirlenmelerin en sık görülen şeklidir. ABD'de acil servislere yılda yaklaşık 40 000 başvurunun CO zehirlenmesi ile olduğu ve 1979-1988 yılları arasında mortalitenin yaklaşık olarak %55, CO'den olduğu kesinleşen ölümlerin sayısının 56 133 olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde ise yeni ve sağlıklı veriler bulunmamakla birlikte, adli tıp kaynaklarına göre 1977-1981 yılları arasında CO zehirlenmesi sonucu 348 kişinin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir. Hafif olgularda semptomların hızla düzelmesi ve genel olarak bir çok hastalığı taklit etmesi sebebiyle tam bir insidans belirtmek zordur (9,10). Ölümcül olmayan CO zehirlenmesinin belirtileri viral enfeksiyonları andırmaktadır. Hem CO zehirlenmelerinin hem de viral enfeksiyonların kış aylarında pik yapması, tanının akla gelmesini güçleştirmekte ve birtakım CO zehirlenmesi olgularının atlanmasına yol açmaktadır. Kömür, odun veya gaz yanmasına bağlı zehirlenmeler özellikle oda ve mutfaklarda bu yakıtların kullanılması sonucunda, sıklıkla tıkalı bacalara bağlı olarak meydana gelmektedir.

Motorlu araçlardan kaynaklanan CO zehirlenmesi çoğunlukla intihar amaçlı olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde en sık ölümler bu yolla olmaktadır (%50) (9-12,16,17). Sanayileşmiş ülkelerdeki yüksek intihar oranlarının ülkemizde oldukça düşük olduğu buna karşılık şofben ve sobadan sızan CO ile zehirlenmenin yüksek olduğu raporlandırılmıştır (18).

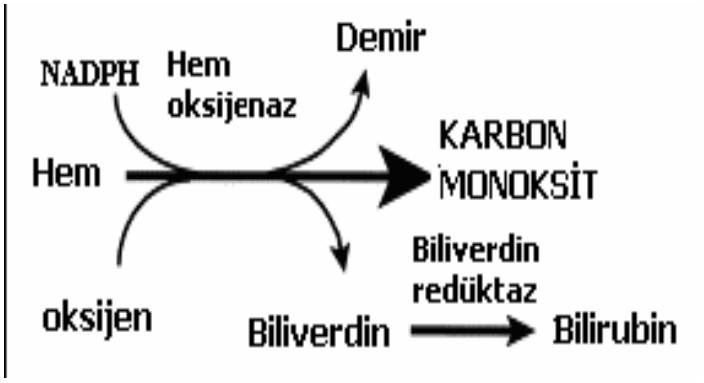
2-2. CO KAYNAKLARI

2-2-1. Eksojen Kaynaklar:

Yıllık CO emisyonunun %50'sini hidrokarbonların oksidasyonu, %40'ını yanma olayları %10'unu ise okyanuslar ve bitki örtüsü gibi diğer kaynaklar oluşturmaktadır. Endüstride kullanılan yakıtların yanı sıra, evlerde kullanılan ısınma araçları, motorlu araçların egzozları, buz temizleme araçları gibi propan ile çalışan aletler, gazla çalışan fırınlar, orman yangınları bol miktarda CO'in açığa çıkmasına neden olur. Diğer bir CO kaynağı ise, boya çıkarıcılarda bulunan bir solvent olan metilen kloriddir (CH_2Cl_2). Metilen klorid buharı solunum yoluyla kana karışır ve karaciğerde CO'e dönüştürülür. Yeterli miktarda inhale edildiğinde maruz kalıştan belli bir süre sonra zehirlenme oluşur (3,9,13). Sigara dumanı da önemli bir CO kaynağıdır. COHb seviyesi sigara içenlerde %10'a kadar yükselebilir. Ağır bir sigara içici %15 gibi yüksek COHb seviyelerine sahip olabilirken, pasif içicilerin COHb seviyelerinin normalden 2 kat (%1) fazla olduğu saptanmıştır (14).

2-2-2. Endojen Kaynaklar:

CO'in yaklaşık %79'u kemik iliğinde eritropoesis sırasında eritrositlerdeki Hb'in katabolizması sonucu endojen olarak oluşmaktadır. Yaşlı eritrositler doku makrofaj sisteminde yıkıldığında, Hb molekülünün globin kısmı ayrılır ve 'hem' katabolizması gerçekleşir. 'Hem' katabolizması sonucunda CO, demir ve biliverdin oluşur. Bu sebeple normal insan kanında %0-5 oranında karboksihemoglobin (COHb) saptanabilir. Reaksiyonda oluşan biliverdin ise bilirubin redüktaz aracılığıyla bilirubine indirgenir (şekil 1) Hemolitik anemilerde COHb seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir (9).



Şekil 1: Endojen CO Kaynağı Olan Hemin Dejenerasyon

Endojen CO'in %2'si ise myoglobin (Mb), sitokrom ve peroksidaz gibi diğer hemoproteinlerin dönüşümü ile elde edilir. CO'in küçük bir kısmı da lipid peroksidasyonu sonucunda oluşur (mikrozomal lipidlerin NADPH bağımlı oksidasyonu). Mikrozomların Fe^{+3}–askorbat katalizli oksidasyonu, membran lipidlerinin karbon tetraklorid kaynaklı degradasyonu bunlara örnektir. Kadınların menstrüel siklusunun progesteron fazında endojen CO oluşumu neredeyse 2 katına çıkar. Ayrıca hamilelerde ve yeni doğmuş bebeklerde de eritrosit yıkımındaki artıştan dolayı endojen CO oluşumu artar (9,20).

2-3. PATOFİZYOLOJİ

CO zehirlenmesinin patofizyolojisi karışıktır. Hb, Mb gibi solunum pigmentleri ve sitokrom oksidaz, nitrik oksit sentaz gibi enzimler ile bağ oluşturması toksik etkilerin temelini oluşturur. Atmosferdeki %1'lik bir CO konsantrasyonu yaklaşık 10 dakika içinde ölüme yol açabilir. Vücuttaki CO'in eliminasyon yarılanma süresi oda havasında yaklaşık 250 dakikadır. Bu süre %100 O_2 ile 60 dakikaya, 3 atmosfer basıncında %100 O_2 ile 23 dakikaya düşmektedir. Ortamdaki CO konsantrasyonunda artma olduğu zaman solunum ile hızla alveoler kapiller memrandan geçer ve primer olarak Hb'le bağlandığı yer olan intravasküler alanda birikir (19-21). CO'in Hb'e olan afinitesi, O_2'nin Hb'e olan afinitesinden 250 kat daha fazladır. Akciğer kapillerlerinde CO gazı, Hb'in "hem" grubundaki demir atomu ile birleşerek COHb'i oluşturur(21). COHb'in disosiasyon hızı oksihemoglobine (O_2Hb) oranla 250 defa daha yavaştır.

COHb'in oluşması, Hb'in O_2'e olan afinitesini arttırarak (Haldane olayı) O_2Hb'in disosiyasyon eğrisinin sola kaymasına yol açar (22,23). Eğrinin sola kayması, O_2Hb'in gereken pO_2 düzeyinde disosiye olamamasına ve dokulara taşınan O_2 miktarının düşmesine yol açar. CO zehirlenmesinin geç dönemde apopitoz ile hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (20). 100 mL kandaki 16 gr Hb'in yarısı COHb'e dönüştüğü zaman ölüm beklenebilir. "CO+Hb→COHb" reaksiyonu geriye dönebilir. Böylece kandaki CO akciğerler tarafından temizlenir. Eliminasyon hızı, absorbsiyona etki eden faktörler ile orantılıdır (20,22-24).

CO'in Mb'e afinitesi Hb'den 40 kat fazladır. COHb gibi COMb oluşması da sola kaymış bir O_2 disosiasyonuna neden olacaktır. CO'in kardiyak Mb'e normal Mb'den 3 kat fazla bağlandığı ve Mb'den geç salınımla ilişkili olarak hipoksik kardiak disfonksiyon ve iskemi oluşturduğu gösterilmiştir (9).

Mitokondrial solunum zincirinde kompleks-I (suksinat–koenzimQ redüktaz) ve kompleks-IV'te (sitokrom-c oksidaz) bulunan sitokromlar "Hem" grubu içerdikleri için CO maruziyetinden etkilenirler (9,16). Hücrelerin aerobik ATP üretimi bozulur ve önlem alınmazsa anaerob solunuma geçiş yaparak hücrede laktik asidoz ve ölüme neden olur. Sitokrom-c oksidaz aktivitesinin COHb düzeylerinden çok daha sonra normale döndüğü rapor edilmiştir. Bu nedenle sitokrom-c oksidazın geç nöronal hasar gibi olaylarda rolü olabileceği bildirilmiştir. CO intoksikasyonunda okside olmuş ürünlerin bir mekanizması da mitokondri içindeki sitokrom a,a_3' e CO'in bağlanmasıdır. Bunun sonucunda mitokondri içinde hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarında artış ile glutatyon miktarında anlamlı bir azalma olduğu ölçülmüştür (16).

Yakın zamanlı yapılan çalışmalar ile CO toksisitesinin diğer mekanizmaları ortaya konulmuştur. Hipotezlerden ilki, CO'e bağlı doku hipoksisi sonrası santral sinir sisteminde reoksijenizasyon hasarı ortaya çıkmasıdır. Hiperoksijenizasyon, parsiyel redükte O_2 radikallerine yol açmakta, bunlar esansiyel protein ve nükleik asitleri okside etmekte ve tipik reperfüzyon hasarını ortaya çıkartmaktadır.

CO zehirlenmesinden sonra bir dokunun yeniden oksijenizasyonu spontan veya enzimatik dismutasyon ile süper oksit anyon ve H_2O_2 üretimine yol açabilir. Bunlar hücresel makromoleküllerin pro-oksidan etkileridir ve bu endojen CO üretimi beyindeki sinyal üreten hücrelere hasar verebilir (31,32). CO'in beyin hücrelerinde lipid peroksidasyonuna, lökositlere bağlı inflamatuar değişikliklere ve geri dönüşümlü demiyelinizasyona neden olduğu gösterilmiştir (8,13,15).

CO toksisitesinin diğer bir potansiyel mekanizması ise glutamat ile ilişkili nöronal hasar oluşumu (eksitotoksisite), aterogenezin artması ve apopitozdur (22,24,25). Eksitatör bir aminoasit (aa) olan glutamat, N-metil-D-aspartat reseptörlerine bağlanır ve intrasellüler kalsiyum miktarında artışa neden olarak gecikmiş hücre ölümü meydana getirir (25).

Serbest radikaller nötralize edilmezlerse nükleer membranı zedeleyerek genetik materyali etkiler ve DNA'yı mutasyonlara açık hale getirirler. Hidroksil radikalleri (OH^-) en reaktif serbest radikaller olup vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlularındandır. OH^- radikalleri birkaç yolla oluşur. Suyun hidroliziyle ya da parçalanmasıyla hidrojen radikalleri ve OH^- radikalleri oluşabilir. Aynı zamanda H_2O_2 ve Fe'in birleşmesi (Fenton reaksiyonu) ve Haber-Weiss reaksiyonu ile oluşabilir. DNA, OH^- radikallerinin oluşturduğu hasarlara karşı oldukça hassastır. Bunlar hem DNA zincirinin kırılmasına hem de bazların hidroksilasyonuna neden olabilir. DNA zincirinin kopması bir DNA bağlayıcı protein olan poli(ADP)polimerazı aktif hale getirir. Bu protein NAD'yi substrat olarak kullanıp nükleer proteinlere bağlı ADP-riboz polimerlerini oluşturur. Bu koşullarda NAD '*turnover*'i azalır ve mitokondriyal sentezi inaktive ederek ATP üretimini etkiler. Ökaryot hücrelerin O_2 duyarlılığı ve gen ekspresyonu mekanizmaları açık değildir. Yüksek organizmalarda gen ekspresyonunda transkripsiyon fonksiyonunun regülasyonunda CO'in direkt bağlantısı ile ilgili hiçbir kanıt bulunamamıştır (26,27).

2-4. KLİNİK

CO zehirlenmesi beyin, kalp, böbrek, iskelet kası gibi hemen hemen bütün organları etkiler. CO zehirlenmesinde klinik bulgular çeşitli sistemik komplikasyonları ve nörolojik sekelleri kapsamaktadır (13). Yüksek CO konsantrasyonuna uzun süreli maruz kalma ve vücut kitle indeksinin düşük olması durumularında semptomlar daha şiddetli seyreder. Genel olarak CO seviyesinin %10-30 arasında olması baş ağrısı, bulantı-kusma ve abdominal ağrıya yol açarken, %30-40 arasında seyretmesi bilinç değişikliklerine veya konfüzyona yol açar. %50-60 seviyeleri ise sıklıkla ölümcül seyreder (13).

Tablo 1: Çeşitli COHb Konsantrasyonlarına göre Semptom ve Bulgular

Atmosferdeki CO	Maruziyet süresi	CO'in kan seviyesi	Semptom ve bulgular
% 0.01'den az	Belirsiz	%0-10	Yok
% 0.01-0.02	Belirsiz	%10-20	Hafif baş ağrısı, cilt damarlarında genişleme
%0.02-0.03	5-6 saat	%20-30	Baş ağrısı, Şakakta zonklayıcı ağrı
%0.04-0.06	4-5 saat	%30-40	Şiddetli baş ağrısı, güçsüzlük, bulantı, kusma, bulanık görme, baş dönmesi, kollaps,kırmızı- vişne rengi deri ve dudaklar
%0.07-010	3-4 saat	%40-50	Diğerlerine ek olarak nabız ve solunum artışı
%0.11-0.15	$1^1/_2$-3 saat	%50-60	Taşikardi, taşipne, Cheyne-Stokes solunumu, koma, konvülziyon
%16-0.30	$1\text{-}1^1/_2$ saat	%60-70	Koma, konvülziyon, kardiyak ve solunum depresyonu, muhtemel ölüm
%0.50-1.0	1-2 dakika	%70-80	Zayıf nabız, deprese olmuş solunum, solunum yetmezliği ve ölüm

COHb seviyesi ile semptomlar arasında her zaman bir korelasyon olmayabilir. Beyin ve kalp gibi yüksek O_2 harcayan organlar çok kolay bir şekilde CO toksisitesinden etkilenirler. Bilinç bulanıklığı, epileptik atak ve kararsız angina gibi tabloları taklit eden akut CO zehirlenmesi nisbeten daha iyi tanımlanmıştır. Düşük konsantrasyonlarda yineleyen CO maruziyeti ise baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk ve bulantı gibi yakınmalarla seyreden grip benzeri bir sendrom gibi kendini gösterebilir. Ayrıca konsantrasyon bozukluğu, paresteziler, göğüs ağrısı, çarpıntı, görmede bulanıklık, diare ve karın ağrısı gibi semptomlarla da kendini gösterebilir (Tablo 2).

Tablo 2: CO Zehirlenmesinde Sistemik Bulgular ve Komplikasyonlar

Sistem	Klinik Bulgular
Kardiyovasküler Sistem	**:** EKG değişiklikleri (T dalgası ve ST segmenti), kardiyomegali, anjina pektoris, myokart enfarktüsü, taşikardi, bradikardi, A-V Blok, atrial fibrilasyon, prematür ventriküler kontraksiyon, ventriküler fibrilasyon, şok.
Solunum Sistemi	**:** Pnömoni, pulmoner ödem, 'Adult Respiratuar Distres Sendromu'
Genito-üriner Sistem	**:** Glukozüri, proteinüri, hematüri, miyoglobinüri, akut böbrek yetmezliği, abortus, ölü doğum, menstrüel bozukluklar, testislerin büyüklüğünde ve spermlerin sayısında azalma
Gastrointestinal Sistem	**:** Gİ düzensizlikler, Gİ kanamaları, gastrik ülser hepatomegali
Hematolojik Sistem	**:** Lökositoz, eritrositoz, anemi, pernisiyöz anemi, trombotik trombositopenik purpura
Metobolik ve endokrinolojik Sistem	**:** Hiperglisemi, azalmış T_3 seviyesi, akut hipertroidizim
Dermatolojik Sistem	**:** Bül, eritem, kabarıklıklar, ülser, gangren, alopezi
Kas-iskelet Sistemi	**:** Kas nekrozu, Valkman Kontraktürü, osteomiyelit
Oftalmolajik Sistem	**:** Retinal hemoraji, papilödem, retinopati, optik atrofi, ambliyop skotom, hemianopsi, körlük
Otolojik Sistem	**:** Kohlear ve vestibular sistem bozuklukları

CO zehirlenmesinde klinik semptomatoloji monofazik ya da bifazik diye adlandırılan iki formdan birisi şeklinde karşımıza çıkar. Monofazik formda hayatta kalım günler ya da yıllar sürebilir fakat semptomlara geri dönüş olmaz, bifazik formda ise bir koma peryodunu takip eden bir hafta ile bir ay arasında sürebilen bir normallik (Lusid interval) dönemi mevcuttur. Semptomlar klinik tablonun ağırlığı ile her zaman ilişkili değildir ve tedavi daha çok klinik tabloya göre düzenlenir (13).

2-4-1. Nörolojik belirtiler

CO zehirlenmesi ölüm ya da ağır nörolojik bozukluklar ile sonuçlanabilir. Bu hastalarda davranış sorunları, huzursuzluk, sinirlilik ve isteksizlik sık olarak görülmektedir. CO zehirlenmesi beyin dokusunda değişik yapısal bozukluklara yol açabilir. Gri maddede ve özellikle globus pallidusta sıklıkla bilateral olan iskemik lezyonlar ve nekroz en sık görülen değişikliklerdir. Benzer nekrotik lezyonlar serebellar korteksin purkinje hücrelerinde, dentat nukleusta ve kortekste görülebilmektedir. Tabloya hakim olan psikiyatrik ve nörolojik belirtiler, konuşma bozuklukları, deliryum, epileptik nöbetler, parkinsonizm, agnozi, ataksi, apraksi ve amnestik kusurlardır. Olguların %40 kadarında ise daha ılımlı bellek bozuklukları, kişilik değişiklikleri gibi kalıcı sekellerden söz edilmektedir (13,25).

CO zehirlenmesinde bulgular genellikle bazal gangliyonlar (özellikle globus pallidus), frontal lob ve kortikal periventriküler beyaz cevher etkilenmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Daha nadir olarak CO zehirlenmesine bağlı bifazik bir gidişde tanımlanmıştır. Bu tabloda akut zehirlenme tedavisinin ardından hasta iyileşmekte ve kısa süreli tam düzelme döneminden sonra tekrar nörolojik ve/veya psikiyatrik belirtiler ortaya çıkmaktadır. Hastaların bir kısmında belirtiler kalıcı olurken, bir kısmında da tam iyileşme görülmektedir. Gecikmiş ensefalopati olarak adlandırılan bu tablonun görülme sıklığı %0.06-2.8 arasında değişmektedir. Ancak hastaneye yatırılmış hastalarda bu oran %11.8'e kadar yükselebilmektedir (13,25).

2-4-2. Kardiyovasküler Sistem

Kalp dokusu CO zehirlenmesinden oldukça fazla etkilenir. Mb, O_2 moleküllerinin depo yeridir ve intraselüler transportta rol alır (13). CO ile bağlanan Mb'in O_2 taşıma kapasitesi azalır ve myokard hücrelerine yeterli O_2'nin verilememesine neden olarak myokardiyal disfonksiyona yol açar. EKG, myokardiyal hasarı değerlendirmede önemli bir vasıtadır. EKG'de en yaygın bulgular T dalgası düzleşmesi ve çeşitli derecelerde T dalgası negatifliği ile bifazik T dalgalarıdır. Bunlara ek olarak bazen atrial fibrilasyon, prematür ventriküler kontraksiyon, intraventriküler blok görülebilir.

Ventriküler fibrilasyon gibi kardiyak aritmiler akut maruziyet sırasında hayatı tehdit eden major problemdir (28-30).

2-4-3. Solunum Sistemi

CO zehirlenmesinde görülen akciğer hasarı, alveollerde bulunan CO'in direkt histotoksik etkisinden ziyade kanın O_2 transportunun zayıflaması ve uzamış hipoksi ile ilişkilidir. Bu faktörler kapiller permeabiliteyi etkileyebilmekte ve pulmoner ödeme neden olabilmektedir. Pulmoner lezyonlar ile ilişkili diğer bir faktör ise akut CO zehirlenmesine bağlı olarak gelişebilen ve neticesinde akciğer ödemine neden olabilen myokardiyal hasardır. CO zehirlenmesi sonucu gelişen en sık akciğer sorunu pnömoni, ikinci sırada ise akciğer ödemidir. Nadiren de 'Adult Respiratory Distres Sendromu' gelişebilir (13,28).

2-4-4. Gastrointestinal Sistem

CO zehirlenmesinde bulantı, sindirim güçlükleri gibi rahatsızlıklar sık görülmektedir. Hepatomegali, gastrik ülser ve kanama oldukça nadirdir (13). Serum aspartat amino transferaz (AST) ve alanin amino transferaz (ALT) aktivitelerinin olguların yaklaşık yarısında arttığı gösterilmiştir (13).

2-4-5. Genitoüriner Sistem ve fetal toksisite

Genitoüriner sistem etkileri olarak; mesanede irritabilite, noktüri, dizüri, pollaküri, inkontinans, testislerin ağırlığında ve spermlerin sayısında azalma, dismenore, menoraji, amenore ve kadınlarda libidoda azalma buna karşın gonadotropik hormonların sekresyonunda artış izlenmiştir. CO zehirlenmelerinde kas nekrozuna bağlı olarak görülebilen akut böbrek yetmezliği önemli bir mortalite nedenidir. Glukozüri, proteinüri, hematüri, myoglobinüri de görülebilmektedir (13,31).

Fetal ölüm CO zehirlenmelerinde sık görülmektedir. Plasentadan dolayı fetal CO intoksikasyonları anneden farklı olur. Plasenta fetal intoksikasyonu geciktirir fakat aynı zamanda fetal detoksifikasyonu da geciktirir. Fetal Hb'in CO'e olan afinitesi adult Hb'inden fazladır. Böylece CO disosiyasyonu azalır ve hipoksi maternal doku hipoksisinden daha derin olur. Fetal mortalite %36-67 oranında görülmektedir. Doğumdan sonra bebeklerde görülebilen komplikasyonlar ise; ekstremite malformasyonları, hipotoni, arefleksi, nöbetler, mental ve motor yetersizlikler ve mikrosefalidir (13)

2-4-6. Kan

Hipoksiye bağlı olarak ilk günlerde nötrofil hakimiyetinin fazla olduğu bir lökositoz, plateletlerde artış, polisitemi, anemi, trombotik trombositopenik purpura, kronik CO zehirlenmesine bağlı olarakda pernisiyöz anemi gelişen olgular bildirilmiştir (13).

2-4-7. Endokrin ve Metabolizma

CO zehirlenmesine bağlı olarak birçok endokrin organda spesifik fonksiyon değişiklikleri oluşabildiği gözlemlenmiştir. CO zehirlenmesine bağlı olarak akut hipertroidizm gelişebileceği, CO'in adrenal bezler ve testisler üzerinde de etkileri olduğu rapor edilmiştir (13,32).

2-4-8. Deri ve iskelet kasları

Şiddetli CO zehirlenmesi birçok deri lezyonuna neden olur. Özellikle basınca maruz kalan cilt bölgelerinde ödem, eritem, bül oluşabilir. Cilt ve tırnaklarda entoksikasyon başlangıcında kısa süreli kiraz kırmızısı renk alabilen olgular bildirilmiştir. Scalpta gelişen ödem ve eritemli lezyon alopesi alanlarına neden olabildiği gibi buralarda ülserasyon ve gangren gelişen olgularda bildirilmiştir (13). CO'in Mb'e yüksek afinite ve düşük disosiyasyonu kas dokusunda retansiyona neden olur. CO varlığında Mb'ler efektif işlev göremezler. İskelet kas nekrozu özellikle alt ekstremitelerde geliştiği zaman böbreklerde akut tubuler nekroza neden olabilmektedir. Ayrıca, kas nekrozuna sekonder olarak Volkman'ın iskemik kontraktürü ve osteomiyelit gelişebilir (13).

2-4-9. Göz ve kulaklar

CO zehirlenmesi nedeniyle görme alanı defekti genellikle komadan çıkan hastalarda görülür. Fakat körlük, komaya girmeyen olgularda da gösterilmiştir. Spesifik retina bulguları venöz konjesyonda artış, retinal hemoraji, papil ödemi ve optik atrofiyi kapsar (23). CO'in beyin sapı, vestibüler ve kohlear sistem üzerine toksik etkileri bildirilmiştir. Hastalarda işitme kayıpları ve vestibular değişiklikler görülebilmekle birlikte işitme kaybının tedavide kullanılan Hiperbarik O_2 tedavisinden (HBOT) de kaynaklanabileceği bildirilmiştir (13).

2-4-10. Bilişsel (kognitif) ve psikiyatrik belirtiler

CO zehirlenmeleri depresyon, anksiyete, emosyonel bozukluklar gibi psikiyatrik hastalıklara da neden olabildiği gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda CO zehirlenmelerinde anksiyete ve depresyon sıklığı %33-100 arasında bulunmuştur (33).

2-5. TANI

2-5-1. Fizik Muayene:

Fizik muayenenin CO zehirlenmelerindeki değeri sınırlıdır. CO zehirlenmelerinde vital bulgu ve cilt renk değişiklikleri, hareket bozuklukları, nörolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklar, nonkardiyojenik pulmoner ödem olmak üzere bir çok klinik belirtiler gözlenebilir. Yanıklarda ve inhalasyon injürilerinde CO zehirlenmesi mutlaka akla gelmelidir (34).

2-5-2. Laboratuar verileri:

a. ***Kan gazı analizi:*** COHb seviyesi spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Yüksek olması oldukça anlamlıdır ancak hasta ile klinikte ilk karşılaşıldığı zaman daha önceden yüksek olan CO düzeylerinin, transport sürecine bağlı olarak düşük bulunabileceği unutulmamalıdır (34). Arteriyel kan gazı analizinde PaO_2 ve satürasyon genellikle normal seviyelerdedir fakat bu durum gerçek doku hipoksisini yansıtmamaktadır. Kan gazı analizinde metabolik asidoz saptanabilir. pCO_2 normal yada normalin biraz altında olabilir. Metabolik asidoz iskemiden dolayı meydana gelen laktik asidoza sekonder olarak meydana gelir ve gecikmiş nörolojik sekeller ile ilişkilidir.

b. ***Kreatin Kinaz (CK), kreatin kinaz-myokardial band (CK-MB) ve/veya Troponin-I:*** Myokard infarktüsü sıklıkla CO maruziyeti ile ilişkilidir. Daha önceden koroner hastalığı olan kişilerde COHb seviyesindeki %5-10'luk bir artış bile egzersizde ortaya çıkan anjinayı tetikleyebilir. Çok yüksek seviyelerdeki COHb genç ve sağlıklı bireylerde bile myokardı deprese edebilir (34).

c. ***Laktat dehidrogenaz (LDH) ve Mb;*** kardiyak hasar ve rabdomiyolizde artar (34).

d. ***Total kan sayımı:*** Hafif lökositoz görülebilir. Dissemine intravasküler kuagulasyon (DIC) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) bulguları gözlenebilir (31,34).

e. ***Elektrolit seviyelerinde bozukluklar gözlenebilir.*** Ciddi zehirlenmelerde hiperglisemi, hipokalemi ve laktik asidoz meydana gelebilir. Amilaz aktivitesinde yükseklikler bulunabilir (31,34,35).

f. ***BUN ve Kreatinin:*** Mbüriye sekonder olarak gelişebilecek akut böbrek yetmezliği nedeniyle bakılmalıdır (34).

g. Karaciğer fonksiyon testlerinde fulminan hepatit lehinde bir artış olabilir (34).

h. ***Ürogram:*** Rabdomiyolize bağlı olarak idrarda Mb saptanabilir. Kronik zehirlenmede proteinüri ve glukozüri olabilir (34,35).

i. ***Methemoglobin:*** Seviyesine siyanid zehirlenmesi ile karıştığı için ayırıcı tanı amacıyla bakılmalıdır (31,34).

j. ***Toksikolojik tarama:*** Özellikle intihar edenlerde etanol gibi diğer zehirlenmeleri ekarte etmek için bakılmalıdır (34).

2-5-3. Görüntüleme yöntemleri:

1. **Akciğer grafisi (AG):** Pulmoner semptomu olanlarda endikedir. Ciddi zehirlenmelerde nonkardiyojenik akciğer ödemi bulguları gözlenebilir.
2. **Bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT):** CO zehirlenmelerinde özellikle mental durum değişikliği olan hastalarda BBT gereklidir. Pozitif BBT bulguları nörolojik komplikasyonları önceden söylemede faydalıdır. Karakteristik olarak beyin ödemi, bazal ganglionlarda fokal hipodens lezyonlar, globus palliduslarda ve beyaz cevherde dansite azalması görülebilir (36,37).
3. **Manyetik rezonans görüntüleme (MRG):** CO'den dolayı beyinde ortaya çıkacak anormallikleri ortaya çıkarmada BBT'den çok daha sensitiftir. Bilinç kaybının eşlik ettiği CO zehirlenmelerinde birçok hastada globus pallidus, putamen, nukleus kaudatus, thalamus, hippokampus, serebellum, serebral kortex, periventriküler ve subkortikal alanda farklı nöropatolojik lezyonlar gözlenebilir (36,40). Geç tip ansefalopatide MRG'de görülen en sık bulgu serebral beyaz cevherde genellikle simetrik, ancak asimetrik de olabilen T2 intensite artışı olduğu bildirilmektedir. Tutulum genellikle diffüz olmakla birlikte bazı olgularda frontal loblarda daha belirgin izlenebilmektedir (36-40).
4. **Manyetic rezonans spectroscopy (MRS):** N-acetyl aspartate, kolin ve kreatine gibi beyin metabolitlerini örnekler. Bazal ganglion ve diğer lokalizasyonlardaki CO'in neden olduğu N-acetyl aspartate düşüşünü gösterir.
5. **'Proton Magnetic Resonance Spectroscopy' (^{1}H MRS):** İnvazive olmayan bir metod olarak beynin biyokimyasal yapısı hakkında bilgi sağlar. CO zehirlenmesinin erken döneminde ilerleyici demiyelinizasyonun yol açtığı kolin artışı gözlenmişken subklinik olgularda sonuçlar normal olarak bulunmuştur.

Sonuçlar özellikle post interval olgularının klinik değerlendirilmesinde MRI, EEG ve N-isopropyl–p^{123} idoamphetamine SPECT'e kıyas edildiğinde daha faydalıdır. Yine positron emission tomography (PET) ve single photon emission tomography (SPECT) ek bilgi sağlamada faydalıdır. SPECT özellikle geç nörolojik sekel açısından diğer nörolojik görüntüleme yöntemlerinden daha iyi netice verebilir.

6. Diğer testler:

Elektrokardiyogram (EKG) : Sinus taşikardisi en yaygın EKG bulgusudur. Aritmiler, hipoksiye sekonder olarak myokardiyal iskemi veya enfaktüste görülebilir. COHb seviyesi düşük olsa bile kardiyovasküler hastalığı olanlarda EKG değişiklikleri görülebilir (34).

2-6. TEDAVİ

CO ile zehirlenme tedavisinin temeli hemodinamik stabilizasyonun sağlanarak CO'in elimine edilmesidir. İleri tedaviye karar vermede öncelikli olarak klinik değerlendirme yol göstericidir. Hasta CO kaynağından hızla uzaklaştırılmalıdır. Hemodinamik olarak stabil olgularda öncelikle CO eliminasyonunun sağlanması gerekirken, kardiyopulmoner arresti olan hastalarda resüsitasyon öncelik kazanır. O_2 ihtiyacının artması kollapsa neden olabileceğinden hastanın fiziksel egzersizini minimumda tutmak gerekir. Asıl tedaviyi bağlandığı bölgeden CO'i yarışmalı olarak çıkaran O_2 oluşturur. Hafif semptomlar varsa (bulantı, baş ağrısı, güçsüzlük ve benzeri semptomlar) 4 saatlik periyotlarla %100 normobarik O_2 (NBO) verilir. Majör semptomlar varsa (bilinç kaybı, amnezi, myokard iskemisi gibi) geleneksel olarak HBO başlama endikasyonudur. Bu tedavi ile semptom ve bulgularda genellikle dramatik düzelme görülür (43,44).

HBO tedavisi, izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA=atmosfer absolute=760 mmHg) 2-3 kat daha fazla bir basınçta %100 O_2 solutulması ile uygulanan bir tedavi şeklidir (48). Maske, başlık veya endotrakeal tüp ile uygulanan HBO ile arteryel O_2 basıncı 2000 mmHg'ya doku O_2 basıncı 400 mmHg'ya kadar çıkarılabilir. Bu basınçla yapılan O_2 uygulaması biyokimyasal, sellüler ve fizyolojik birçok yarar sağlar (44,45).

HBO tedavisinde kanda Hb ile taşınan O_2 miktarında değişme olmaz. Plazmada çözünmüş O_2 düzeyi artar. Bu CO'in kan ve dokudaki bağlanma bölgesinden ayrılmasını ve akciğerlerden eliminasyonunu kolaylaştırır.

Ayrıca inaktive olmuş sitokrom oksidazı rejenere etme yeteneğiyle mitokondri fonksiyonlarını düzelttiği ve lökosit adezyonunu bloke ettiği bilinmektedir. Standart HBO tedavisinde %100 O_2 2.4-2.8 atm. basıncında 90 dk uygulanmalıdır. Orta şiddetteki semptomlar kısa zamanda tedaviye cevap verirken, persistan semptomlar için 24 saatte bir veya iki tedavi gerekebilir. HBO tedavisinin myopati, katarakt, retinopati, 4 atm üzerinde yapılırsa azot nekrozu gibi komplikasyonları vardır.

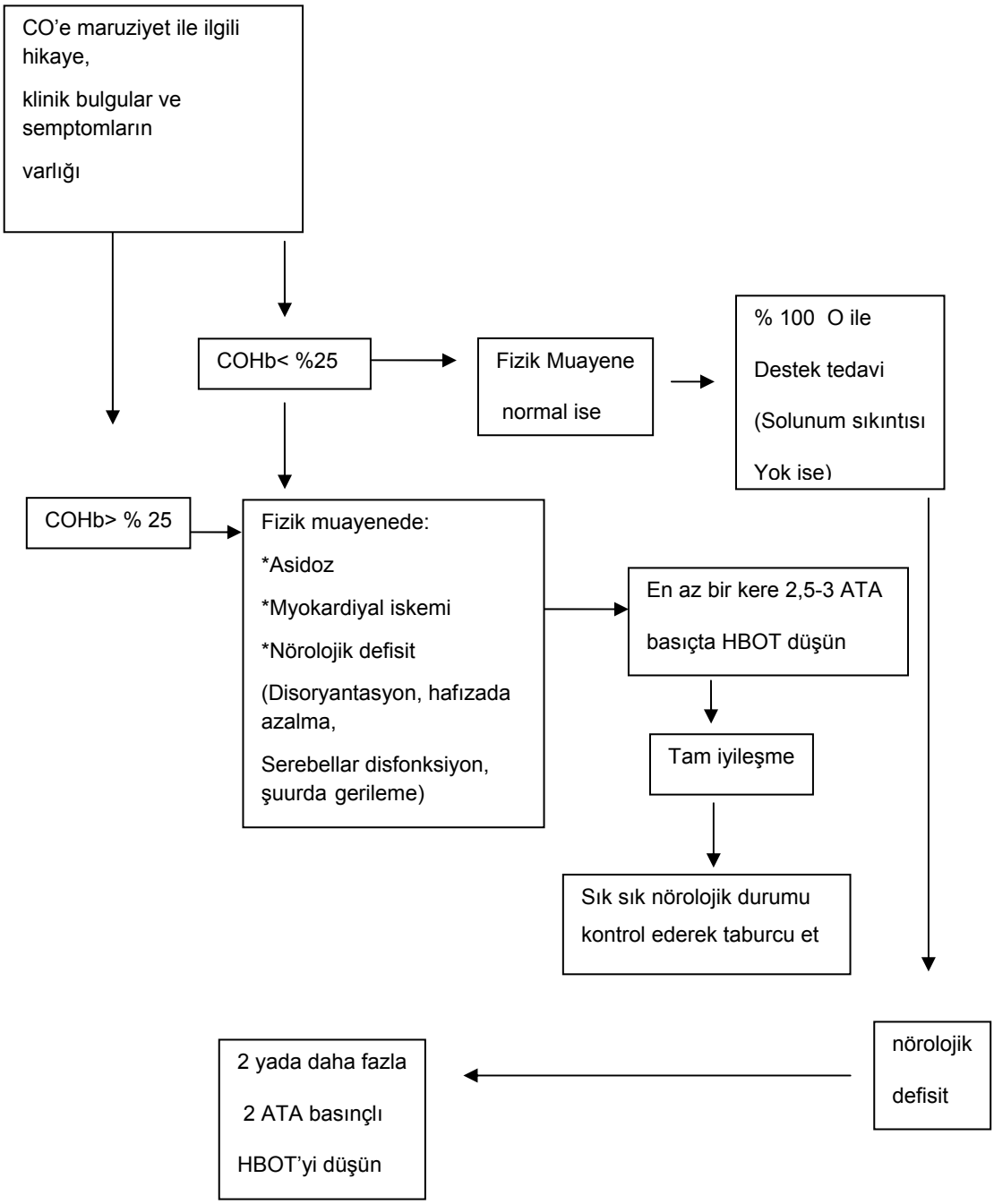
CO alt özofagus sfinkterini gevşeterek kusmaya sebep olur. Doku hipoksisine cevaben taşipne yaygın bir bulgudur. Fakat respiratuar distresin diğer kaynakları ekarte edilmelidir. Bir çok olguda duman inhalasyonuna bağlı olarak üst solunum yollarında mukozal irritasyon ve yanmalar oluşabilir. CO'in nonkardiyojenik pulmoner ödem yaptığı bilinmektedir. Hastaların bir kısmında 'Akut respiratory distress sendromu' veya aspirasyon pnömonisi gelişecektir. CO zehirlenmesi olan hastalarda pulse oksimetre güvenilir değildir. Ancak düşük seyirli olması ciddi problemlerin habercisidir (42-44).

O_2 tedavisi yapılırken vücuttan atılan CO düzeylerini tahmin etmede COHb'in yarılanma ömrü yol göstericidir. COHb yarılanma ömrü oda havasıyla 250 dk, %100 NBO ile 60 dk, %100 HBO (2.8 Atm.basınçta) 23 dk'dır. NBO tedavisine rağmen 4 saatte semptomlar çözülmüyorsa başka açıklayıcı olası bir neden yoksa HBO tedavisi düşünülmelidir (44).

Myokardiyum CO'e yüksek oranda duyarlı olup bütün hastalarda kardiyak monitarizasyon yapılmasını gerektirir. Sinüs taşikardisi ciddi zehirlenmelerde mevcuttur. Diğer ritim anormallikleri olguların %40 kadarında görülebilir. Bunlar atriyal veya ventriküler ektopik atımlardan, öldürücü ritimlere kadar değişebilir. EKG değişiklikleri ST ve T dalga anormalliklerinden myokardiyal enfarktüsün diagnostik belirtilerine kadar değişik şekillerde karşımıza çıkabilir. Seri kardiyak enzim ölçümlerinin yapılması gerekli olabilir.

Hasta intravasküler volüm deplesyonu ve myokardiyal baskılanmanın bir kombinasyonundan dolayı hipotansif olabilir. İntravenöz sıvılar eğer gerekli ise sürekli olarak verilebilir (46). Beyin ödemi varsa %20 mannitol, rabdomyoliz varsa renal yetmezliği engellemek için diüretik, metabolik asidozu derinse bikarbonat verilebilir.

Dikkat edilmesi gereken bir nokta 'interval CO injury'dir. Nörolojik semptomlar 2 günle 1 ay içinde gelişebilir. Bu bozuklukta beyinde lökoansefalopati, basal ganglion ile hipokampusta iskemik hasar vardır. CO zehirlenmesi ile gelen bir hastada klinik ve tedavi yaklaşımı şekil 4'de gösterilmektedir (43-45).



Şekil 2: CO Zehirlenmesi ile Gelen Bir Hastada Önerilen Klinik ve Tedavi Yaklaşımı.

3. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD)=Sister Chromatid Exchange (SCE)

KKD, DNA replikasyonu sırasında kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA'da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. Çeşitli mutajen ve karsinojenlerin hem *in vivo*, hem de *in vitro* koşullar altında neden olduğu DNA hasarını saptamayı sağlayan hızlı, duyarlı ve kantitatif bir ölçüm metodudur. Doku tipine, ajanların doz oranına ya da diğer faktörlere göre farklılık gösteren KKD, DNA'daki çok küçük harabiyetlerin bile hassas göstergesi olarak kabul edilir (49,50).

Kromozom hasarı, instabilitesi ve DNA tamir bozukluğu sendromlarında duyarlı bir parametre olarak kullanılan KKD, çoğalmakta olan hücrelerde spontan olarak da meydana gelebilmektedir. Çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle kromozom DNA'sında meydana gelen ve replikasyon esnasında onarılmayan hatalar KKD'nin ortaya çıkmasını ya da artmasını sağlar. KKD analiz yöntemi ile bir maddenin çok düşük konsantrasyonlarda bile olası mutajenik özelliği kromozom düzeyinde gösterilebilmektedir (51-54).

3-1. KKD Mekanizmaları

DNA hasarına neden olan pek çok ajanın KKD sıklığını arttırdığı ancak her DNA hasarının KKD'ye neden olmadığı bilinmektedir. S fazını etkileyen mitomicin C ve UV ışınları gibi ajanlar KKD'nin en etkili uyarıcılarıdır. Genellikle kabul edilen görüş KKD'nin hasarlı DNA'nın replikasyonunun gerçekleştiği hücre döngüsünün S fazında meydana geldiği şeklindedir. KKD'yi artıran etkenler çoğunlukla DNA ile kovalent bağlar yapan veya DNA tamir mekanizmalarını etkileyen maddelerdir (67). Bu maddeler DNA replikasyonunu dolaylı veya doğrudan etkilerler. Restriksiyon endonükleazlar ve topoizomerazlar dışında, doğrudan DNA'da çift dal kırığına neden olan ajanlar G1 fazında KKD'de zayıf bir artışa neden olurken, S fazında daha etkilidirler. KKD çoğunlukla bu ajanlar tarafından oluşturulan nokta mutasyonu ve sitotoksisite ile korelasyon gösterir (55-57).

KKD, genotoksik olduğu bilinen veya tahmin edilen kimyasal ajanların çalışılmasında etkili bir yöntemdir. Bu yöntem hem laboratuar hayvanlarında hem de insan populasyonlarında çalışılabilir. Hücre DNA'sında farklı etkenlerin meydana getirdiği değişiklikler sonucu gözlenen KKD'nin mekanizmasını açıklayan bir çok model öne sürülmüştür (58).

İlk olarak Taylor 1957 yılında, bitki mitotik kromozomlarında (Vicia faba ve Bellenalia romana) yaptığı otoradyografik çalışmalarda KKD'yi gözlemlemiştir. Gümüş Tane Modeli olarak adlandırılan bu yöntem, duyarlılığın az olması ve otoradyografinin uzun zaman gerektiren bir işlem olması nedeniyle KKD oluşumunu etkileyen ajanları belirlemede ilgi görmemiştir (57,58). Daha sonra 1972 yılında Zakharov ve Egolina isimli araştırıcılar, Çin Hamster hücrelerinde, timidin analoğu olan BrdU kullanarak replike olan kromozomların yapısını incelemişlerdir (58).

KKD oluş mekanizmasını açıklayan bir diğer model olan "Replikasyon Bypass Modeli"nde ise DNA ile çapraz bağlanma yapabilen kimyasal ajanların meydana getirdiği bir mekanizmadan bahsedilmiştir. Ancak çift KKD oluş mekanizması bu modelle açıklanamamaktadır (63). Hücrede DNA parçaları aralarındaki değişimi ve KKD oluş mekanizmasını açıklayan diğer bir yaklaşım "Holiday Modeli" dir. Bu modele göre hücrelerin BrdU varlığında bir mitoz geçirmeleri yeterlidir. Araştırmacılar, BrdU'nun kromozomlardaki esas etkisinin paketlenme esnasında olabileceğini açıklamışlardır (57-59). KKD, kromozomun oluşumu sırasında DNA içeriğinin katlanması ile meydana gelmektedir. Restriksiyon endonükleaz kullanılarak yapılan bir çalışmada KKD'nin meydana geldiği bölgelerdeki DNA içeriğinin orta sıklıktaki tekrarlanan dizilerden oluştuğu gösterilmiştir.

KKD dağılımı kromozom grupları arasında farklı dağılım göstermektedir. A ve B gurubu kromozomlarındaki KKD dağılımı diğer gruplardan daha sıktır. KKD, G grubu kromozomlarda az sayıda gözlenir. 1 numaralı kromozomun sentromerik bölgesinin Adenin-Timin bazları yönünden zengin olması nedeniyle BrdU ile etkileşim daha fazla olacağından KKD daha sık görülür. Ayrıca kromozom uzunluğu arttıkça KKD dağılımınında arttığı gösterilmiştir (62).

KKD oluş mekanizmasını incelemek için tetraploid hücreler kullanılmıştır. Tetraploid hücreler, ilk replikasyonun sonunda kolşisin eklenmesiyle iki DNA replikasyonu arasındaki bölünme durdurularak elde edilir. Bu hücrelerin BrdU ile iki replikasyon zamanını geçirmesi gerekir. S1 evresinde DNA sentezi başlamaktadır. Ortamda bulunan BrdU yeni sentez edilen DNA'da timin yerine geçmektedir. DNA'da kırılma ve kromatidler arasında değişim meydana gelmektedir. Birinci mitozda (M1) yeni sentez edilen kardeş kromatidlerin sadece birinin BrdU içermesi nedeniyle, FPG boyama tekniği ile koyu boyanmaktadır. M1 diploid hücrelere (2n) kolşisin ilave edilerek tetraploid hücreler (4n) elde edilmektedir.

Ortamda bulunan BrdU, yeni sentez edilen DNA'nın yapısına girmektedir (S2 evresi). DNA'da kırılma meydana gelmekte ve kromatidler arasında KKD oluşmaktadır (60-63).

3-2. KKD ve Kromozom Anomalileri Meydana Getiren Ajanlar

Bir çok kimyasal ajan veya mutajenin hücrede KKD değerini arttırdığı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. KKD ve kromozom anomalilerinin daha kolay değerlendirilebilmesi için kimyasal ajanlar ve mutajenler üç gruba ayrılmaktadır (64).

1. KKD ve kromozom kırıkları meydana getiren ajanlar (iki fonksiyonlu kimyasallar): alkilleyici ajanlar, nitroz bileşikleri, sitostatik antibiyotikler ve karsinojenlerdir (65-70).

2. Klastojen (kromozom kırıkları meydana getiren) olmayan ve KKD meydana getiren ajanlar (tek fonksiyonlu kimyasallar): asetaldehit, dekarbomilmitomisin C, asetoksiasetilaminofloren, hidroksiasetilaminofloren, metilkolantren, anilin hidrokloriktir (71-77).

3. Klastojen özelliği gösteren, KKD' yi çok az değerde artıran veya etkilemeyen ajanlar: benzopirensindiyolepoksit, bleomisin, bredinin, sitozin, arabinosit, fluorodeoksiuridin, florourasil, neokarsinostatin, hidroksikunolin sülfat ve kuersetin'dir (78-84).

3-3. KKD ve Kromozom Anomalileri Meydana Getiren Hastalıklar

Kalıtsal kromozom kararsızlığı gözlenen bazı hastalıkların da KKD görülme sıklığını etkilediği bildirilmiştir. Ataksi telanjektazi, Werner sendromu, Nijmegen kırık sendromu, Kseroderma pigmentosum, Fanconi anemisi ve Cockayne sendromunda KKD değerleri yüksek bulunmuştur. Akut lenfoblastik lösemili, kronik myeloid lösemili, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomalı hastalarda KKD sıklığı kontrollere göre daha yüksektir (85-90).

3-4. KKD Yöntemini Etkileyen Faktörler:

1. **Kanın çalışma zamanı:** Alınan kanların 24 saat içerisinde çalışılması önerilmiştir (91).
2. **Biyolojik Faktörler:** Bireylerin genotipleriyle birlikte, genel sağlık durumları veya yaşam tarzı ile ilgilidir. Çalışmanın sonunda istatiksel analizlerde belirtilmelidir (91).

a. *Yaş:* KKD sıklığında yaşın bir etkisi olmadığı şeklinde çalışmalar (82) yanında, çocuklarda KKD sıklığının yetişkinlere göre daha az olduğunu gösteren yayınlarda vardır (91).

b. *Sigara kullanımı:* KKD sıklığını büyük oranda etkiler. Sigara içenlerde KKD sıklığının arttığı kanıtlanmıştır (86,88).

c. *Genetik faktörler:* İnsanlar arasındaki farklılıkların genetik faktörlere bağlı olup olmadığını belirlemek için bir çok araştırmacı monozigotik ve dizigotik ikizlerde lenfosit kültürlerinde KKD düzeylerini araştırmışlardır. Pedersen ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 11 monozigot ve 9 dizigot ikiz bireylerden aldıkları kan örneklerinden KKD çalışmaları ve genetik faktörlerin KKD sıklığı ve kromozomlara dağılımı üzerine önemli rol oynamadığını göstermişlerdir (92).

d. *Diyet:* Kronik alkoliklerde KKD sıklığında artış bildirilmiştir (79).

e. *İlaç kullanımı:* Oral kontraseptifler dahil pek çok ilacın KKD sıklığını tetiklediği bilinmektedir (91).

f. *Hastalık:* Çocuklarda şiddetli protein kalori malnütrüsyonu varlığında KKD sıklığının arttığı gösterilmiştir (91).

g. *Diğer:* Gebeliğin 3. trimestrinde KKD sıklığında belirgin bir artış kaydedilmiştir (91).

3. Kültür koşulları ile ilgili faktörler: *İn vitro* koşullarda lenfositler için yapılan kültür faktörlerini kontrol altına almak mümkündür (91).

a. *Kültür süresi:* İlk mitoz 48. saatte gözlenir. Her 24 saatte bir mitoz dalgası gözlenir. Bu nedenle hasat 72. saatte veya 96. saatte yapılır. Rutin amaçlı, senkronize olmayan kültürlerde önerilen kültür süresi 72 saattir (93).

b. *Kültür ortamının sıcaklığı:* En ideal ısı 37^{o}C olup, 36-38^{o}C aralığında tahammül edilir. 39^{o}C'nin üzerindeki ısılarda kültürdeki hücreler ölür. Sıcaklığın geçici düşmesi hücreleri öldürmez ise de kültürleri duraklatarak yeterli mitotik indeks eldesini önler ve preperatların kalitesini düşürür (91-93).

c. *Besiyeri:* Farklı besiyerlerinde üretilen insan lenfositlerinde farklı KKD sıklığı gözlenmiştir (91).

d. *Serum:* Besiyerine eklenen serumun konsantrasyonu KKD oluşumunu etkiler (91).

e. *Mitoz uyarıcılar:* Mitotik ajanlar kullanılarak *in vitro* koşullarda mitoz arttırılabilir. PHA (Fitohemaglutinin) en çok kullanılan mitotik uyarıcıdır. Kültürde 24 saatlik bir aradan sonra RNA sentezini arttırır. İkinci 24 saat boyunca çekirdek genişlemekte ve DNA sentezi başlamaktadır. İlk mitoz 48. saatte gözlenir (91).

f. *Antibiyotik:* Kültür ortamında antibiyotik bulunmaması KKD oranını azaltır (91).

g. *BrdU Konsantrasyonu:* BrdU, toksik sınırlar dışında yüksek dozda hücre kültürüne eklenirse, mitotik indekste azalmalara ve KKD frekansında umulandan daha fazla artışlara neden olmaktadır. BrdU konsantrasyonu %10 arttırıldığında KKD frekansının %50 kadar arttığı gösterilmiştir (79).

h. *Karanlık ortam:* Hücrelerin kültüre edildiği sürece florasan ışığa maruz kalmaları BrdU içeren DNA'nın fotolizine neden olarak hareketli alkali grupların oluşumuna neden olur. Bu oluşum guanin ile reaksiyona girerek DNA'nın depurine olmasına ve tek sarmalda kırılmalara neden olarak KKD oluşumunun indüklenmesine yol açar. Bu nedenle de KKD analizi için kullanılacak kültürlerin ışıktan korunması gerekmektedir (75).

i. *Kolşisin konsantrasyonu:* Senkronize olmayan kültürlerde 2 metafaz arasında bir blok oluşturmak için mitotik mekik inhibitörlerinin kullanılması gerekir, bunlar mekik liflerinin oluşmasını engeller. Bu mekik liflerinin görevi mitoz bölünmesinden önce sentromerleri aracılığıyla kendilerine bağlanan kromozomların kromatidlerini birbirinden ayırmaktır. Kolşisin mekik inhibitörlerinden bırakma süresi ile metafaz indeksinin sayısı birbiri ile orantılıdır. Fakat uzun süre bırakmalarda kromozom boylarında kısalma gözlenir. Bu nedenle süre iyi ayarlanmalıdır (66).

j. *Hipotonik çözelti:* Hipotonik çözeltilerde tuz yoğunluğu sitoplazmik tuz yoğunluğundan daha düşük olduğundan çözelti içindeki su hücre zarını açıp hücreye girer, hücreyi şişirir ve eritrositlerin çoğunu patlatır. Hipotonik uygulanması kritik bir zamanlama gerektirir. Kolşisinin etkisini sonlandırıp kromozomların dağılmasını sağlar. Hipotonik çözelti olarak %1 sodyum sitrat veya 0.075 M KCI kullanılabilir. Kromozomlarda en az hasar yaptığından en çok kullanılan hipotonik çözelti KCI'dür (66).

k. *Fiksasyon:* Kromozom preperatlarında fiksasyon amacı ile taze hazırlanmış 3:1 oranında alkol ve glasial asetik asit kullanılır. Oranın değişmesi kromozom morfolojisini olumsuz yönde etkiler.

Asetik asitin bu orandan fazla olması erken hücre zarı yırtılmasına neden olur. Bu da kromozom kayıplarına yol açar. Tam kan kültürlerini ilk fiksasyon sırasında sürekli karıştırmak gerekir. İlk fiksasyonla ortamda geriye kalan eritrositler hemoliz olur. Kırmızı renkli Hb koyu kahve renkli hematine döner. Yeterli karıştırma yapılmamışsa, koyu kahve renkli çökeltiler gözlenirken mitotik indeks düşer ve kalitesiz preperatlar elde edilir (66).

3-5. CO'in KKD Oluşturma Etiopatogenezi:

CO zehirlenmesi veya anemide olduğu gibi kanın O_2 taşıma gücünün kaybı (O_2 taşınmasını bloke eden stabil CO oluşumu) ile oluşan hipoksi son derece önemli olup genel bir hücre zedelenme ve ölüm nedenidir. Entoksikasyonlar, radyoaktivite, alerjik durumlar, travma, iskemi ve hemoraji gibi durumlarda da elektron transport sisteminden kaçaklar olur ve oksidan moleküller oluşur. Yine değişik mekanizmalarla hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının arttığı durumlarda oksidan enzimler aktive olur, çok sayıda mediatör ve oksidan madde oluşmaya başlar (98,99). Sigara dumanı, kirli hava, ozon, nitrojen dioksit, benzen, kükürt dioksit, CO ve insektisidler de oksidatif strese neden olur (98). Ayrıca alkol, uyuşturucu madde, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi sitotoksik ilaçlar, enfeksiyon ajanları, hiperoksi, fagositik hücrelerden salınma, yaşlanma ve stres gibi pek çok faktör O_2 radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır.

HBO, H_2O_2 üzerinden serbest radikal oluşturarak lipid peroksidasyonu yapmaktadır. Nötrofiller de hücre zarlarında bulunan NADPH-oksidaz (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidaz) enzimi aracılığıyla moleküler O_2'i redükte ederek süperoksid radikali (O_2^-) oluşturabilirler. Aktive olmuş nötrofiller aynı zamanda myeloperoksidaz (MPO) enzimi salgılayarak, H_2O_2 ve klorür iyonlarından hypoklorik asit (HOCl) oluşmasını katalize ederler. HOCl, güçlü bir oksidan olup sülfidril grubu ya da nitrojen içeren bileşikler ve DNA gibi birçok maddeyle kolayca reaksiyona girebilir (100). Hipoksi ile oluşan O_2 radikallerinin en önemli etkisi, hem mitokondriyal hem de çekirdekteki DNA'nın hasarlanması sonucu meydana gelen mutasyonlardır. Ferröz iyonlarının nonspesifik olarak DNA'ya bağlanması hidroksil (OH^-) radikallerinin saldıracağı bölgeyi belirleyebilir ve sonuçta sarmal kopabilir. Serbest radikallerin 'Timin'le reaksiyonunda DNA tek zincirler halinde kırılarak; hem hücre ölümü ve hem de hücrenin malign transformasyonunda suçlanan DNA hasarı oluşturabilir (98-100).

4. MATERYAL VE METOD

4.1. MATERYAL

4.1.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma Ekim 2006 tarihinden itibaren Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı bünyesinde hizmet veren Acil Servise başvuran CO gazı ile zehirlenmiş toplam 38 olguluk bir hasta grubu ve 38 olguluk sağlıklı kontrol grubu üzerinde prospektif olarak planlanmıştır. Olgularda ilk önce demografik veriler kaydedilmiş, anamnezde özellikle kardiyovasküler hastalıkları olmak üzere sistemik hastalık, sigara ve madde bağımlılığı, yakın geçmişinde radyoterapi ve kemoterapi hikayesi, alkol alışkanlığının var olup olmadığı sorgulanmıştır. Hastanın CO'e maruziyet süresi, toksisitenin akut ya da kronik olup olmadığı; CO'i açığa çıkaran faktörün ne olduğu araştırılarak kaydedildi.

4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Hücre kültürü için;

Hazır hücre kültür medyumu (PB-max, PAA)

KCl (MERCK)

Kolşemide solüsyonu (Biological Industries)

KH_2PO_4 (MERCK)

Na_2HPO_4 (MERCK)

Giemsa boyası (MERCK)

Asetik asit (MERCK)

Methanol (MERCK)

5-Bromo-2-deoksiüridin (BrdU) (Sigma)

4.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Elektronik terazi (Precisa 160 M)

pH metre (Jenway 3010)

Santrifüj (nüve CN180, NF048)

Soğutmalı santrifüj (Harrier 18/80)

Mikroskop (Olympus BX2)

Mikroskop (Olympus BX51)

Kromozom Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Applied Imaging, MacKtype 5.6)

Su banyosu (Nüve BM402)

Isıtmalı manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica)

Thermal cycler (Sanyo DNA Amplifier)

Electrophoretic gel system (Bio-Rad Sub-cell GT)

Derin dondurucu (REGAL PDD 1280)

Jel görüntüleme ve analiz sistemi (Syngene)

Cam erlen mayer

Cam mezür

Cam şale

Plastik pastör pipeti

EKG (Hewlett-Packard France-Evry)

Röntgen Cihazı (Toshiba KXO-50F)

Kan Gazı Cihazı (Nova- Profil CCX)

Tam Kan Sayımı Cihazı (Beckman Coulter HMX)

MR Cihazı (Siemens Magnetom Symphany Maestro)

4.1.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Tespit solüsyonu:

1 kısım asetik asit / 3 kısım methanol

Hipotonik solüsyonu:

0.56 gr KCl / 100 mL distile su

Hoechst 33258 Stok Çözeltisi:

25 mg'lık Hoechst 33258 (sigma) şişesi 5 mL bidistile su ile sulandırıldı.

Karanlık ortamda -20^{o}C de saklandı.

5-Bromo-2-deoksiüridin çözeltisi:

5-Bromo-2-deoksiüridin (BrdU) (Sigma) 0.0026 gr tartıldı ve 5 mL RPMI 1640 ile sulandırıldı. Alüminyum folyo ile sarılarak karanlık ortamda +4^{o}C de saklandı. Kültürde son konsantrasyon 10^{-2} M'dı.

20XSSC:

175.3 gr NaCl

88.2 gr NaSitrat

800 mL distile suda çözülür ve total hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

2XSSC:

100 mL 20XSSC solüsyonuna 850 mL distile su eklenir. pH NaOH ile 7.0'ye ayarlanır. Total volüm distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

PBS:

0.2 gr KCl

0.2 gr KH_2PO_4

8 gr NaCl

1.15 gr (anhidroz) Na_2HPO_4

1 L distile suda çözülür (pH 7.0)

Boya solüsyonu:

9.08 gr/L KH_2PO_4, 14.8 gr/L $Na_2HPO_4.2H_2O$ hazırlanır. $Na_2HPO_42H_2O$ solüsyonundan 20 cc alınır ve üzerine KH_2PO_4 solüsyonu eklenerek pH: 6.8'e ayarlanır.

4.2. METOD

Tüm olguların ayrıntılı anamnezi alındıktan sonra, fizik muayeneleri yapıldı. Tam kan sayımı, periferik arteriyal kan gazı, hemogram, Glukoz, BUN, kreatin, sodyum, potasyum, CK, CK-MB, troponin I gibi rutin biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı. CO'e bağlı oluşabilecek genotoksisiteyi belirleyebilmek için 2 diziem heparinli enjektöre femoral ya da radiyal arterden periferik arterial kan örneği alındı. Alınan örneklerin lenfosit kültürleri sonrasında SCE analizleri yapıldı. Olguların 12 derivasyonlu EKG'leri kaydedildi. Bu işlemlerden hemen sonra vakit kaybetmeksizin hastalara nazal kanül veya yüz maskesi ile standart tedavi olarak %100 O_2 inhalasyonu başlandı.

4.2.1. Lenfosit Kültürü

1. Hastalardan alınan periferik kan örneğinin 1 mL'si 0.5 mL olarak 5 mL'lik iki ayrı hazır hücre kültür medyumunda her bir kültür tüpüne 5 damla 10^{-2} M stok BrdU çözeltisinden eklenerek 72 saat kapalı hücre kültürüne alındı.
2. Kültürün 69. saatinde her kültür tüpüne 5 damla kolşisin solüsyonu eklendi.
3. 72 saat sonra kültüre edilen tüpler 1000 rpm'de 10 dakika santrifüje edilerek süpernatan kısmı atıldı.
4. Daha sonra pellet üzerine hipotonik solüsyonu (0.075 M KCl) eklendi ve tüpler 25 dakika 37^{o}C'lik etüvde bekletildi.
5. Daha sonra 1000 rpm'de 10 dakika santrifüje edilerek süpernatan kısmı atıldı ve pellet üzerine 1:3 oranında soğuk asetik asit:methanol karışımı eklenerek tespit işlemi gerçekleştirildi.
6. Tespit işlemi toplam üç kez tekrarlandı. Tespit işlemi sonunda süpernatanın 1-1.5 mL'lik alt kısmı hariç diğer bölümü atıldı.
7. Dipte kalan pellet çalkalanarak resüspanse edildikten sonra soğuk tespit içinde bekleyen lamların her birine 5-6 damla bu süspansiyondan damlatılarak 5 lam hazırlandı.
8. Hazırlanan preparatlar üç gün oda sıcaklığında bekletilerek yaşlandırıldı.
9. Bu süre sonunda her bir preparat floresan plus giemsa tekniği ile boyandı.

4.2.2. Floresan Plus Giemsa Tekniği İle Boyama

Bu işlem sırası ile şu şekilde tatbik edildi;

1. Hazırlanan preparatlar içinde 100 mL PBS tampon çözeltisi bulunan alüminyum folyoya sarılı temiz bir şalede 5 dakika oda ısısında bekletildi.

2. Süre sonunda şaleden çıkarılan preparatlar 0.5 µgr/mL konsantrasyondaki stok Hoechst 33258 solüsyonundan 1/100 oranında PBS tampon çözeltisi içerisinde hazırlanarak bu solüsyonda 10 dakika karanlık ortamda bekletildi.

3. 1-2 saniye PBS te yıkanan preparatlar bir kaba horizantal olarak dizilip üzerlerine lamel kapatıldı.

4. Hazırlanan preparatlar 13 cm yükseklikte bulunan UV lambasının altında 25 dakika bekletildi.

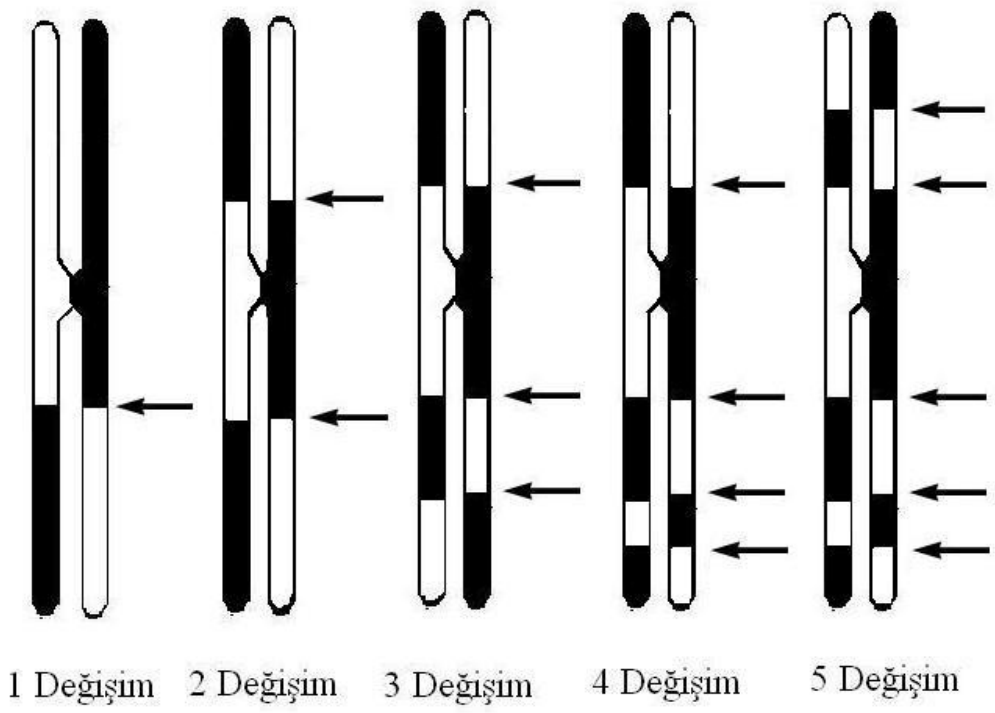
5. Daha sonra preparatlar lamelleri kaldırılarak 65^{o}C'deki 2XSSC solüsyonu içinde 15 dakika bekletildi.

6. 2XSSC solüsyonundan çıkartılan preparatlar distile su ile yıkandı.

7. Preparatlar 5 dakika Giemsa boyasında tutularak boyandı ve incelemeye alındı.

4.2.3. KKD analiz

Her bir hasta için en az 20 metafaz mikroskopta (olympus BX50) 100x büyütmede değerlendirilmiştir. Her bir örnek için en az 20 metafaz mikroskopta (Olympus BX50) 100x büyütmede değerlendirildi. Her kromozomda koyu boyalı KKD bölgelerinin bir kromatitten diğerine atladığı bölgeler bir adet değişim olarak değerlendirildi. Her olgunun ortalama KKD sıklığı belirlendi. KKD değişiminde esas alınan kriterler şekil 3'te gösterildi.



Şekil 3: KKD'lerin sayılmasında esas alınan kriterler

İstatistiksel Değerlendirme

Veriler sayı, yüzde ortalama ve standart sapma olarak verildi. Hasta ve kontrol grubunun ortalama laboratuar değerleri ile KKD değerlerinin karşılaştırılmasında "Student's t testi" kullanıldı. Hasta semptomları ile COHb seviyeleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. KKD ve GKS ile COHb düzeyleri arasındaki ilişkinin analizinde Pearson korelasyon testi kullanıldı. $P < 0.05$ olması durumunda aradaki fark istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

5.BULGULAR:

Çalışmamız Ekim 2006 tarihinden itibaren Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı bünyesinde hizmet veren Acil Servise direkt olarak başvuran, CO gazı ile zehirlenmiş 38 olguluk bir hasta grubu ve 38 olguluk sağlıklı kontrol grubu üzerinde prospektif olarak planlandı. Çalışmaya yalnızca şofben zehirlenmesi olan, özellikle kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere sistemik hastalık, sigara ve madde bağımlılığı, yakın geçmişinde radyoterapi ve kemoterapi hikayesi, alkol alışkanlığı bulunmayan bireyler dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş özellikleri Tablo 3'de belirtildi.

Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımları

		Hasta		Kontrol		p
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Kadın	26	60.5	17	39.5	0.03
	Erkek	12	36.4	21	63.6	
Yaş (Ort±SS)		29.79 ± 10.92		21.29 ± 2.21		0.000

Olguların hepsine destekleyici tedavi yanı sıra NBO uygulandı. Olguların klinik durumu, senkop geçirip-geçirmemeleri, COHb düzeyleri baz alınarak gerek duyulan 13 hastaya HBOT verildi. HBOT verilen olguların dağılımı tablo 4'de olduğu gibidir.

Tablo4. HBOT alanların dağılımı

	n	%
Hiç almayan	25	65.8
1 Doz	0	0.0
2 Doz	2	5.3
3 Doz	5	13.2
4 Doz	1	2.6
5 Doz	5	13.2

Bu hastalardan alınan arterial kan örneklerinde COHb düzeyleri %12.3 ile %45.3 arasında olup ortalama %25.05±7.15 idi. Kontrol grubunun ise COHb düzeyleri %0.2 ile %2.30 arasında olup ortalama %0.94±0.58 idi. COHb düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.001$). Diğer kan gazı parametreleri hasta ve kontrol grubunda birbirine benzerdi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında beyaz küre değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edildi ($p<0.001$) (Tablo 5).

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun lab. değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=38)		Kontrol (n=38)		
	Ort	S.S.	Ort	S.S.	p
HGB	14.06	1.58	14.55	0.84	0.09
HCT	41.86	4.51	43.17	2.57	0.35
PLT	268.22	80.52	266.13	74.55	0.91
WBC	9.80	3.88	7.49	1.52	0.001
GLU	107.71	17.62	105.97	12.10	0.92
BUN	11.61	4.38	10.93	3.24	1.00
CREATİN	0.85	0.20	0.78	0.13	0.09
NA	137.39	3.27	137.39	3.27	1.00
K	3.84	0.39	3.84	0.39	1.00
AST	27.95	11.41	26.45	10.59	1.00
ALT	19.29	14.25	19.00	14.38	0.55
LDH	224.18	100.85	200.45	81.80	0.93
TROPONİN-I	0.10	0.00	0.10	0.00	0.26
MYOGLOBİN	20.16	16.69	17.21	13.35	0.40
CK	131.50	74.41	112.08	58.70	0.21
CKMB	19.89	9.59	18.84	9.01	0.62
COHb	25.05	7.15	0.94	0.58	0.000

Ort.:Ortalama S.S=Standart sapma

CO zehirlenmesi ile başvuran hastalarda en sık görülen semptomlar bulantı (n=27, %71.1) ve baş ağrısı (n=26, %68.4) idi. Diğer semptomlar ise sıklık sırasına göre halsizlik (n=19, %50), baş dönmesi (n=17, %44.7), kusma (n=16, %42.1), çarpıntı (n=16, %42.1), bilinç kaybı (n=12, %31.6), taşipne (n=12, %31.6) ve göğüs ağrısı (n=9, %23,7) idi (Tablo 6).

Tablo 6. Hastaların semptomlarının dağılımı

	Var		Yok	
Semptomlar	n	%	n	%
Halsizlik	19	50.0	19	50.0
Baş ağrısı	26	68.4	12	31.6
Bulantı	27	71.1	11	28.9
Kusma	16	42.1	22	57.9
Bilinç kaybı	12	31.6	26	68.4
Taşipne	12	31.6	26	68.4
Göğüs ağrısı	9	23.7	29	76.3
Çarpıntı	16	42.1	22	57.9
Baş dönmesi	17	44.7	21	55.3

COHb düzeyi ile semptomların görülmesi arasındaki ilişki araştırıldığında ise bazı semptomların COHb düzeyinin artması ile daha belirgin hale geldiği bazılarının ise daha az görüldüğü saptandı. Bilinç kaybı, kusma, taşipne, çarpıntı dışındaki semptomlar ile COHb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 7).

Tablo 7. Hasta semptomlarının COHb değerleri ile ilişkisi.

	Var		Yok		
	Ort.	SS	Ort.	SS	p
Halsizlik	23.57	3.99	26.53	9.21	0.50
Baş ağrısı	22.95	5.29	29.61	8.70	0.03
Bulantı	24.49	7.09	26.44	7.48	0.40
Kusma	28.51	7.84	22.54	5.54	0.02
Bilinç kaybı	32.92	6.65	21.42	3.60	0.000
Taşipne	31.83	7.84	21.93	4.07	0.001
Göğüs Ağrısı	27.64	7.11	24.25	7.10	0.20
Çarpıntı	30.40	7.52	21.16	3.51	0.000
Baş Dönmesi	24.63	5.15	25.40	8.56	0.80

Olguların hepsinde akciğer grafileri normal olarak değerlendirildi. Olguların ilk müracaatlarında elde edilen EKG'lerinde toplam 16 olguda patoloji tespit edildi. Tespit edilen patolojilerin hepsi ritim bozukluğu şeklinde idi. 16 olguda (%42.1) sinüs taşikardisi vardı. Sinüs taşikardisinin bulunması ile COHb düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0.001$).

Hastalarda yapılan troponin-I ölçümlerinde hepsi negatif olarak saptandı.

COHb düzeyi ile PO_2, $\%SaO_2$ ve PCO_2 değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0.05$). Hastalarda ve kontrol grubundaki AKG değerleri tablo 8'de gösterildiği gibidir.

Tablo.8 CO zehirlenmesi ile başvuran hastalar ile kontrol grubu kan gazı değerleri.

	Hasta grubu		Kontrol grubu		P
	Ortalama değer	En düşük- en yüksek değer	Ortalama değer	En düşük- en yüksek değer	
SaO_2 (%)	92.1±13.2	44.1-99.5	94.2±3.4	85.3-99.7	AD
PO_2 (mmHg)	107.9±84.1	46.0-299.0	79.8±28.6	41.0-182.1	AD
PCO_2 (mmHg)	35.1±5.96	20.2-44.5	33.3±8.5	15.5-43	AD
COHb (%)	25.05±7.15	12.3-45.3	0.94±0.58	0.2-2.3	<0.001

(AD Anlamlı Değil)

Olguların GKS değerlendirmesinde 26 olguda herhangi bir değişiklik saptanmadı. Ancak olguların 12 tanesinde (%31.6) GKS 15'in altında idi. Bunlardan bir tanesinde (%2.63) GKS:10, dört tanesinde (%10.3) GKS:12, yedi tanesinde (%18.42) GKS: 14idi. GKS ile COHb düzeyi arasında negatif yönde anlamlı korelasyon vardı ($r=-0.825$, $p<0.001$).

Çalışmamıza dahil edilen toplam 76 olguda KKD taraması yapıldı. COHb düzeyleri yüksek olan hasta grubunda, COHb düzeyleri fizyolojik düzeylerde olan kontrol grubuna kıyasla KKD etkilenme frekansında anlamlı derecede artış tesbit edildi ($p<0.001$). KKD frekansında artış COHb düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark elde edilmedi ($r=0.16$, $p=0.34$) (Tablo 9).

Tablo 9. Hasta ve kontrol grubunun KKD Değerlerinin karşılaştırılması

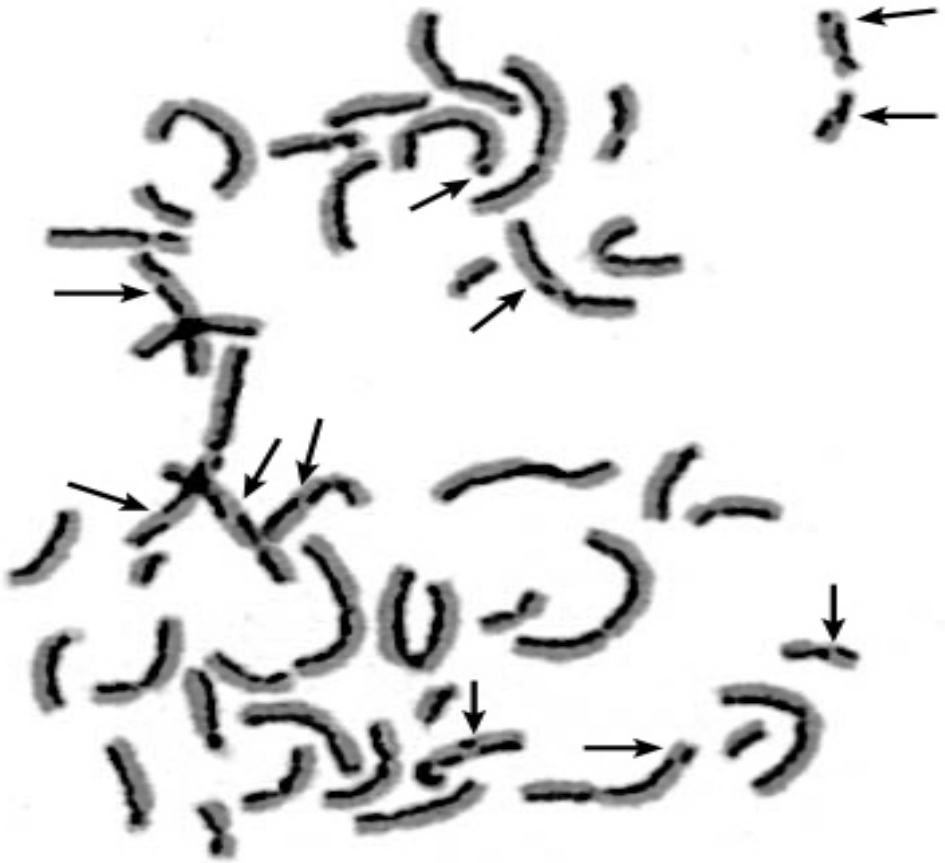
	Hasta		Kontrol		
	Ort	S.S.	Ort	S.S.	p
KKD	10.2987	1.0312	7.2644	0.7532	0.000

KKD:Kardeş Kromatid Değişimi

COHb artışı ile GKS arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu tesbit edildi (Tablo 10).

Tablo 10. KKD, GKS ile COHb arasındaki korelasyon

		SCE	GKS
COHB	r	0.16	-0.8
	p	0.34	0.000
	N	38	38



Şekil 4: CO maruziyeti sonrasında kardeş kromatid değişimini gösteren ve olgularımızdan birine ait olan bir metafaz plağı görülmektedir. Oklar KKD değişim yerlerinin göstermektedir.



Şekil 5: Kontrol grubuna ait bir metafaz plağı görülmektedir

6. TARTIŞMA

CO toksisitesi beyin ve kalp gibi hipoksiye duyarlı olan dokularda kalıcı hasar, ağır nörolojik bozukluklar ya da ölüm ile sonuçlanabilir. Tabloya hakim olan psikiyatrik ve nörolojik belirtiler, halsizlik ve yorgunluktan düşünce bozukluğu, emosyonel bozukluk, parkinsonizm, apraksi, ataksi, parestezi, letarji, nöbet, koma ve solunum durmasına kadar çok geniş bir geniş bir dağılım gösterir. Kardiyovasküler semptom ve bulgular ise myokard iskemisine bağlı göğüs ağrısı, çarpıntı, zayıf kapiller dolum, hipotansiyon, pulmoner ödem ve kardiyak arrest olarak ortaya çıkabilmektedir (8-12). Ayrıca son yıllarda genetik tetkiklerin gelişmesi ile genotoksik etkilerin tesbiti de kolaylaşmıştır. Bu amaçla kullanılan tetkiklerden biriside KKD olup, klinik pratikde takibi kolay olmasından dolayı sıkça tercih edilir (4-7).

CO zehirlenmesinin mekanizması tam olarak anlaşılamamakla birlikte CO'in dokularda O_2 ile yarışarak Hb'ine bağlanması ile dokulardaki oksijenasyonun azalması sonucu toksisite oluşturduğu düşünülmektedir. COHb'in direkt toksik olmamasına rağmen CO'in doku O_2 dağılımından bağımsız olarak önemli bir toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (8,9). CO zehirlenmesinin şiddeti değerlendirilirken COHb düzeylerinin göz önüne alınması çok sağlıklı sonuçlar vermediği bildirilmiştir. Nörolojik sekellerin ve klinik tablonun oluşmasında COHb düzeyi kadar, ileri yaş, maruziyet süresi, iki üç günden daha uzun süren koma ve bilinç bozukluğu gibi faktörler daha belirleyicidir (8-11).

Çalışmamızda olgulardan elde ettiğimiz vital bulgulardan O_2 saturasyonu, arteriyel tansiyon ve ateş (koltuk altı) değerleri genel ortalamalarla uyum göstermekte olup; Ginsberg ve ark.'nın primatlar üzerinde anestezi verilmeden, %0.2 oranında CO verilerek yaptıkları çalışmalarında, 120 dakika süreyle CO verilmesinden sonra, kan basıncında 136/97 mmHg'den 88/44 mmHg'ye düştüğü, 30 dakikalık etkilenimde ortalama kalp hızında dakikada 25-30 atımlık bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (101).

CO zehirlenmesi ile başvuran olguların semptomları incelendiğinde en fazla semptomun %71.1 (n=27) ile bulantı olduğunu görmekteyiz. Bunu sırası ile baş ağrısı (%68.4, n=26), halsizlik (%50, n=19), baş dönmesi (%44.7, n=17), kusma (%42.1, n=16), çarpıntı (%42.1, n=16), bilinç kaybı (%31.6, n=12), taşipne (%31.6, n=12) ve göğüs ağrısı (%23.7, n=9) izlemektedir.

Bölgemizde Aslan tarafından yapılan bir çalışmada en sık görülen semptomlar halsizlik (%95) ve baş ağrısı (%95) olarak bulunmuş, diğer semptomlar ise sıklık sırasına göre bulantı (%87.5), baş dönmesi (%85), çarpıntı (%42.5), göğüs ağrısı (%37.5), bilinç kaybı (%35) ve kusma (%17.5) olarak kaydedilmiştir (7). Sellors'un (2000) yapmış olduğu bir çalışmada 196 olguda akut CO ile etkilenimden sonra semptomlar ve bu semptomların görülme sıklığını baş ağrısı (%91), baş dönmesi (%77), halsizlik (%53), bilinç bulanıklığı ve kaybı (%48), bulantı (%47), görme kaybı (%25), göğüs ağrısı (%9) ve diğer semptomlar olarak bildirmiştir (8). Bizim çalışmamız ile bu çalışmalar da göstermiştir ki CO zehirlenmesi olguları nonspesifik semptomların ön planda olduğu klinikle karşımıza gelmektedir. Çalışmamızda bilinç kaybı tarif eden olguların COHb seviyeleri ile bilinç kaybı tarif etmeyen olguların karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (r=-0.8, p=0.001). Literatürde CO zehirlenmesinin şiddeti değerlendirilirken COHb düzeylerinin beklenildiği ölçüde kliniği yansıtmadığı görülmüştür. Ancak yapılan bazı çalışmalarda akut CO zehirlenmelerinde CO seviyesi ile bilinç kaybının anlamlı bir ilişki içerisinde olduğu gösterilmiştir. Özellikle kronik maruziyetlerde COHb düzeyinin klinik ve bilinç kaybı ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir (8).

Çalışmamızda olguların fizik muayenesinde, başvurdukları zamanda 26 (%68.4) olgu oryante-koopere iken, 12 (%31.6) olgu oryante-koopere değil idi. GKS 15'in altında olan olguların 1 tanesinde (%2.63) GKS:10, dört olguda (%10.3) GKS:12, yedi tanesinde (%18.4) GKS:14 idi. Aslan'ın çalışmasında GKS %25 olguda 15'in altında olmasına rağmen, tüm olgu grubu oryante ve koopere olarak tespit edilmiştir (8). Literatürde CO zehirlenmesiyle başvuran olgularda koma ve eşlik ettiği deliryum tablosu %20 olarak verilmiştir (102). Çalışmamızdaki olguların hiç birinde kalıcı nörolojik sekel gelişmemiştir. Bu haliyle olgu sayısı benzer olan fakat hiç şuuru kapalı olgu bulunmayan Aslan'ın (2003) çalışmasına göre bizim olgularımız benzer kabul edilebilir.

Çalışmanın laboratuar verilerinde hemogramda hafif bir lökositozis gözlenmekteydi. WBC sırasıyla hasta grubunun 9.80±3.88, kontrol grubunun 7.49± 1.52 idi (p<0.001). Diğer hemogram ve biyokimyasal parametrelerinde daha önce yapılmış çalışmalarda olduğu gibi hasta ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark tespit edilemedi (31-34). Kardiyak belirteç olarak bakılan Troponin-I, Myoglobin, CK, CKMB değerleri incelendiğinde hasta ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark tespit edilemedi. Aynı olguların EKG'leri incelendiğinde toplam 16 olguda patoloji tespit edildi.

Tespit edilen patolojilerin hepsi ritim bozukluğu şeklinde idi. 16 olguda (%42.1) sinüs taşikardisi vardı. Sinüs taşikardisinin bulunması ile COHb düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0.0001$).

Aslan çalışmasında olguların %25'inde EKG bulgusu tespit etmiş, bunlardan %22.5'lik olguda sinüzal taşikardi %2.5'lik olguda bigemine ventriküler ekstrasistol tespit etmiştir (8). CO zehirlenmesine bağlı özellikle myokardiyal dokuda olan hipoksik değişiklikler ritm bozukluklarına neden olabilir. Literatürde de tesbit edildiği gibi bizim olgularımızda da gelişen ritm bozukluğu genellikle sinüs taşikardisi şeklinde idi (103).

Son yıllarda moleküler epidemiyolojik çalışmalar sağlık riskini belirlemede sıklıkla kullanılmaktadır. Toksik bileşiklere maruziyet ve biyolojik belirteçler arasındaki ilişkinin analiziyle yapılan değerlendirmeler karsinogenezin erken basamaklarının belirlenmesinde çok yararlıdır. Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Sitogenetik Marker ve Sağlık Çalışma Grubu sitogenetik testlerin kanseri belirleyebilme potansiyellerini değerlendirmek için bir çok epidemiyolojik çalışmalar yapmıştır. Uzun süredir, mutajen ve karsinojenlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla farklı metotlar uygulanmaktadır. Bu metotlar arasında KKD önemli bir yer tutmaktadır. KKD, çeşitli mutajen ve karsinojenlerin neden olduğu DNA hasarını göstermede, *in vivo* ve *in vitro* koşullar altında oluşma kolaylığı ve duyarlılığı nedeni ile sıklıkla kullanılan bir tetkiktir (4-7).

KKD sıklığı, yaş, cinsiyet, bireylerin genetik yapısı, sigara, alkol, radyasyon, bazı kimyasallar ve kültür koşulları gibi bir çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle KKD sıklığı ile çalışırken çok dikkatli olunmalı ve mümkün olduğunca bu faktörler çalışma grupları arasında standardize edilmelidir. Yapılan çalışmalar insanların günlük yaşantılarında meslekleri ile ilgili mutajen ve kanserojen birçok maddeye maruz kaldıklarını göstermiştir. Değişik mesleklerde çalışan bireylerin genotoksik risklerinin saptanması amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. CO maruziyeti akut zehirlenme haricinde trafik polisleri ve kapalı garajlarda çalışan personelde olduğu gibi kronikte olabilmektedir (4,5,107).

Çalışmamız Acil Servise başvuran CO gazı ile zehirlenmiş 38 olguluk bir hasta grubu ve 38 olguluk sağlıklı kontrol grubu üzerinde prospektif olarak yapılmıştır. COHb düzeyleri yüksek olan hasta grubunda, COHb düzeyleri fizyolojik düzeylerde olan kontrol grubuna kıyasla KKD etkilenme frekansında anlamlı derecede artış tespit edildi ($p<0.0001$). KKD sıklığında artış COHb düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark elde edilmedi (Tablo 9).

Öztürk ve arkadaşları, İstanbul Üniversitesi acil dahiliye bölümüne CO entoksikasyonu ile başvuran 20 hastayı KKD sıklığı yönünden değerlendirmişlerdir. Sigara içmeyen sağlıklı kontrol grubuna oranla metafaz başına KKD sıklığının istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını bildirmişlerdir (104).

A. Eken ve arkadaşları çeşitli nedenlerden dolayı HBO tedavisi alan 15 kişilik bir grupda bu tedavinin oksidatif stres ve KKD sıklığı üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada 1, 10, 20. seanslar arasında KKD sıklığında anlamlı bir etkilenme tespit edilmiştir. Ancak eritrositlerdeki süperoksit dismutaz (SOT), selenyum, selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (SeGSH-Px), malandialdehit (MDH) seviyelerinin HBO tedavisi öncesi ve sonrasında anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir (105).

CO ile zehirlenen hasta grubuna tedavi amaçlı verilen HBO KKD sıklığını değiştirdiğinden bu çalışmada tedaviyi takiben KKD geri dönüşüm zamanı ve oranı değerlendirilememiştir. KKD oranlarının bilhassa meslekleri nedeniyle kronik maruziyete sahip bireylerde prospektif olarak takip edilmesi genotoksisiteye maruziyeti ve kanseri erken tespit edebilmek için yol gösterici olabilecektir.

CO maruziyeti ile ilgili başka bir çalışmada Kwak HM ve arkadaşlarının yapmış olduğu 2-4 aylık nulligravida dişi farelerin *in vivo* olarak akut ve kronik CO intoksikasyonuna maruz bırakılması ile yapılan deneysel bir çalışmadır. Bu çalışma sonucunda kontrol grubuna oranla KKD ve mikronükleus frekansının anlamlı derecede arttığı rapor edilmiştir (106).

Soogarun S. Ve arkadaşlarının CO, toluen, benzen gibi uçucu maddelere maruz kalan trafik polislerinde yaptığı bir çalışmada KKD frekansının kontrol grubuna göre yüksek oranda artmış olduğu rapor edilmiştir (107).

Çelik ve Akbaş, petrol istasyonlarındaki 30 çalışan (15'i sigara kullanan) ile kontrol grubu olarak sağlıklı 30 bireyi (15'i sigara kullanan) KKD sıklığı yönünden değerlendirmişlerdir. Çalışan bireylerin lenfositlerinde KKD sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklar elde etmişlerdir (108).

Son yıllarda hava kirliliğine yol açan birçok ajanında genotoksik etkisi KKD yöntemiyle değerlendirilmiştir. Michalska ve ark. yaptığı bir çalışmada hava kirliliğine yol açan kimyasallara maddelere maruz kalan bireylerde KKD sıklığı kromozom aberasyonları değerlendirilmiş ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (95).

Karbamatlar, organofosfatlar ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok kimyasal bileşiğin genotoksik etkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Kronik hastalıklar, İlaç kullanımı kanser ile ilgili olarak KKD tekniği çok değişik amaçlarla uygulanmış ve bu yöntemin uygulanan tedaviyi yönlendirmede gelecek vaat ettiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, spontan KKD oranlarının, kanser erken teşhisinde klinik açısından bir preklinik marker olarak kullanılabildiği görüldüğü yaygındır (6,7,53,54).

Türkiye'de S. Öztaş ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada kist hidatikden opere olan 14 çocukda operasyondan sonra kullanılan albendazol içerikli ilacın genotoksik etkisinin KKD yöntemiyle araştırılması şeklindedir. KKD etkilenme sıklığında artış olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışma albendazolun muhtemel bir mutajen olabileceğini düşündürmüştür. (109).

H. Türkez ve arkadaşlarının bor madeninin olası genotoksik etkisini araştırdığı başka bir çalışmada bu madeninin KKD frekansını olumsuz yönde etkilemediği tespit edilmiştir. Hatta bor madeninin düşük konsantrasyonlarının antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı gözlemlenmiştir (110).

KKD yöntemi kullanılarak yapılan birçok kimyasal bileşik ve CO gazı genotoksisite çalışmalarıyla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da COHb düzeyleri yüksek olan hasta grubunda, COHb düzeyleri fizyolojik düzeylerde olan kontrol grubuna kıyasla KKD etkilenme frekansında anlamlı derecede artış tespit edildi ($p<0.001$). SCE frekansında artış COHb düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark elde edilmedi ($r=0.16$, $p=0.34$) (Tablo 9).

Sonuç olarak; Ülkemizde CO zehirlenmeleri sık görülen zehirlenmelerden olmakla birlikte bununla ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Endüstriyel alanlarda, tarım alanları ve ticari kuruluşlarda CO etkilenimi çok sık görülür. Trafik polisleri, ağır vasıta operatörleri, itfaiyeciler, kömür madeni işçileri, maden işçileri, mutfak çalışanları gibi bir çok meslek grubunda kronik CO maruziyeti mevcuttur. Mesleksel nedenli ölümler çok yaygın değildir ancak O_2 düzeyi düşük ortamlar ve toksik gazların bulunduğu ortamların sayısı halihazırda rapor edilenlerden daha fazladır. Bu nedenle CO maruziyeti sonrasında ciddi mortalite tesbit edilememesine karşın morbidite etkisinin tahmin edilenden çok daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Zehirlenmelerle ilgili yapılacak çalışmalar, olguların klinik ve epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve uygun klinik yaklaşımın yanı sıra, korunmada alınabilecek önlemlerin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

Kaza sonucu görülen, özellikle kış aylarında görülme sıklığı artan, morbidite ve mortalite oranları oldukça yüksek olan bu sorunun önlenmesine yönelik çalışmalar sorunun çözümünde temel noktayı oluşturmaktadır.

CO'in hücre üzerinde toksik etkilerinin olması canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimali sebebiyle önemli bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Bilhassa mesleki maruziyet gibi uzun vadeli etkileşimin yol açabileceği mutajenite göz önüne alınarak halkın eğitiminin sağlanması, risk grubu olarak değerlendirilen bireylerin bulundukları ortamlarda CO dedektörlerinin kullanılması ve soba şofben gibi araçlarda güvenlik standartlarının yükseltilmesi sorunun çözümüne katkıda bulunacak en kolay girişimler olacaktır.

KAYNAKLAR:

1- Schmid O, Speit G. Genotoxic effects induced by formaldehyde in human blood and implications for the interpretation of biomonitoring studies. Mutagenesis 2007; 22:69-74

2- Speit G, Neuss S, Schutz P, Frohler-Keller M, Schmid O. The genotoxic potential of glutaraldehyde in mammalian cells in vitro in comparison with formaldehyde. Mutation Research 2008; 649: 146-154

3- Meschini R, Bastinelli R, Palitti F. The diplochromosome of endoredublicated cells: a new approach to higligth the mechanism of sister chromatid exchange. Chromosoma 1996; 105:50-54

4- Ramírez M, Reyes R, E T Escobedo, C O Nestor, B G Firo. Mechanism of in vivo sister-chromatid exchange induction by 5-azacytidine P. Mutagenesis 2007; 22:177-181

5- Sardar S, Karakaya A E. Clastogenicity test; sister chromatid Exchange. J. Fac. Pharm Gazi, 1990; 7: 91-104

6- Öztaş S, Görgüner M, İkbal M. Akciğer tüberkülozunda kardeş kromatid değişimi sıklığının araştırılması. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 1999; 47: 336-339

7- İkbal M, Ezirmik N, Tos T, Pirim I. Association of sister chromatid Exchange freguencies in patients with ankylosing spondylitis with and without HLA-B27. Ann Rheum Dis. 2003; 62:775-777

8- Aslan Ş. Karbonmonoksid Zehirlenmesi ile Başvuran Hastalarda İskemiye Bağlı Miyokard Hasarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi; Erzurum 2003

9- Gorman D, Drewry A, Huang YL, Sames C. The Clinical Toxicology of Carbon Monoxide Toxicology 2003; 187: 25-38.

10- Tekbaş F, Vaizoğlu SA, Güler Ç. Şohben Zehirlenmelerinden Korunma ve İki Olgu Takdimi. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2003: 2-4.

11- Raub JA, Mathieu-Nolf M, Hampson NB, Thom SR. Carbon Monoxide Poisoning- A Public Health Perspective. Toxicology 2000;145:1-14.

12- Scheinkestel CD, Bailey M, Myles PS, Jones K, Cooper DJ, Millar IL, Tuxen DV. Hyperbaric or Normobaric Oxygen for Acute Carbon Monoxide Poisoning: A Randomised Controlled Clinical Trial. Undersea Hyperb Med 2000; 163-164

13- Choi S. Carbon Monoxide Poisoning: Systemic Manifestations and Complications. J. Korean Med Sci 2001; 16: 153-261.

14- Ernst A, Zibrak J D. Carbon monoxide poisoning. NEJM. 1998; 339: 1603-1608

15- S T Omaye. Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity. Toxicology 2002; 180:139-150

16- Raub JA, Mathieu N M, Hampson NB, Thom SR. Carbon Monoxide Poisoning-A Public Health Perspective. Toxicology 2000; 145: 1-14

17- George L. Sternbach, Joseph Varon. The Resuscitation Greats Claude Bernard: On the origin of carbon monoxide poisoning. Resuscitation 58; 2003: 127-130

18- Dökmeci İ . Karbon Monoksit Zehirler ve Zehirlenmeler. Nobel Tıp Kitabevi, Ankara 2001; 251-55

19- Hardy KR, Thom SR. Pathophysiology and treatment of carbon monoxide poisoning. Journal of Toxicology. Clinical Toxicology 1994; 32: 613-617

20- Piantadosi CA. Carbon Monoxide Poisoning. N Eng J Med 2002; 1054-1055.

21- Keith W, Van Meter. Carbon monoxide Poisoning. In Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS. Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide ,New York: McGraw-Hill, 2000: 1302-1306.

22- Scheinkestel CD, Bailey M, Myles PS, Jones K, Cooper DJ, Millar IL, Tuxen DV. Hyperbaric or Normobaric Oxygen for Acute Carbon Monoxide Poisoning: A Randomised Controlled Clinical Trial. Undersea Hyperb Med 2000; 163-164

23- Hay PJ, Denson LA, Van Hoof M, Blumenfeld N. The Neuropsychiatry of Carbon Monoxide Poisoning in Attempted Suicide: a Prospective Controlled Study.
Journal of Psychosomatic Research 2002; 53: 699-708.

24- World Health Organization (WHO). Carbon Monoxide. Environmental Health Criteria 213. Geneva: World Health Organization, 1999.

25- Stanley T. Omaye, Metabolic Modulation of Carbon Monoxide Toxicity, Toxicology 2002; 180: 139-150.

26- Ryter SW, Otterbein LE. Carbon Monoxide in Biology and Medicine. BioEssays 2004; 26: 270-280.

27- Thom SR, Xu YA, Ischiropoulos H. Vascular Endothelial Cells Generate Peroxynitrite in Response to Carbon Monoxide Exposure. Chem Res Toxicol 1997; 10: 1023-1031.

28- R. Motterlini Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): vasodilatory, anti-ischaemic and anti-inflammatory activities Biochem. Soc. Trans 2007; 35, 1142–1146

29- Wittenberg BA, Wittenberg JB. Myoglobin-mediated oxygen delivery to mitochondria of isolated cardiac myocytes. Proc Natl Acad Sci U S A 1987; 84: 7503-7507.

30- Penney DG, Styrker AE, Baylerian MS. Persistent cardiomegaly induced by carbon monoxide and associated tachycardia. J. Appl. Physiol 1984; 56: 1045-1052

31- Hwang SH, Choi IS. Clinical and laboratory analysis in acute carbon monoxide intoxication. J.Korean Med. Assos. 1990; 33: 997-1005

32- Jaeger K, Ruschulte H, Heine J, Piepenbrock S. Carbon monoxide poisoning. Anaesthiol. Reanim 2000; 25: 74-75

33- Porter S.S. Hopkins R.O., Weaver L.K., Bigler E.D., Blatter D.D.Corpus callosum atrophy and neuropsychological outcome following carbon monoxide poisoning. Archives of Clinical Neuropsychology 17 2002; 195-204

34- Shochat G, Lucchesi M, Mc DeBlieux P, Van DeVoort JT, Benitez JG, Halamka J, Roberge RJ. Toxicity, Carbon Monoxide. Available at: http://www.emedicine.com /emerg/topic 817.html. Accessed on May 10, 2005.

35- Varon, J., Marik, P.E., Fromm, R.E., Gueler, A. Carbon monoxide poisoning: review for clinicians. J Emerg Med 1999: (17) 87-93

36- Chang KH, Han MH, Kim HS, Wie BA, Han MC. Delayed Encephalopathy After Acute Carbon Monoxide İntoxication: MR Imaging Features and Distrubution of Cerebral White Matter Lesions. Radiology 1992; 184: 117-122.

37- Silver DAT, Cross M, Fox B, Paxton RM. Computed Tomography of the Brain in Acute Carbon Monoxide Poisoning. Clin Radiol 1996; 51: 480-483.

38- Uchino A, Hasuo K, Shida K, Matsumoto S, Yasumori K, Masuda K. MRI of the Brain in Chronic Carbon Monoxide Poisoning. Neuroradiology 1994; 36: 399-401.

39- Horowitz AL, Kaplan R, Sarpel G. Carbon Monoxide Toxicity: MR Imaging of the Brain. Radiology 1987; 162: 787-788

40- Donnell PO, Buxton PJ, Pitkin A, Jarvis LJ. The Magnetic Resonance Imaging Appearances of the Brain in Acute Carbon Monoxide Poisoning. Clinical Radiology 2000; 55: 273-280

41- Murata T, Kimura H, Kado H, Omori M, Onizuka J, Takahashi T, Itoh H, Wada Y. Neurol Neurosurg Psychiatry. Neuronal damage in the interval form of CO poisoning determined by serial diffusion weighted magnetic resonance imaging plus 1H-magnetic resonance spectroscopy. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2001; 71: 250-253.

42- Tomaszewski CA, Thom SR. Use of hyperbaric oxygen in toxicology. Emergency Medicine Clinics of North America 1994; 12: 437-459

43- Burney RE, Wu SC, Nemiroff MJ, Michigan AA. Mass carbon monoxide poisoning: Clinical effects and results of treatment in 184 victims. Ann Emerg Med 1982; 11: 394- 399.

44- Sloan PE, Murphy GD, Hart R. Comlications and protocol consideration in carbon monoxide - poisoned patients who require hyperbaric oxygen thrapy: Report from a ten year experience. Ann Emerg Med 1989; 18: 629- 634

45- Clomb-Lippa D. Acute carbon monoxide exposure: Diagnosis, evaluation, treatment. JAPPA 2005 :18; 41-46

46- Sellors G. Carbon monoxide poisoning Specialist Registrar Aneasthesia, Birmingham school of aneasthesia, R-R Issue 2000; 35: 405-407.

47- Prockop LD, Chichkova RI. Carbon monoxide intoxication: an updated review. Neurol Sci. 2007 15; 262: 122-130.

48- Murata T, Kimura H, Kado H, Omori M, Onizuka J, Takahashi T, Itoh H, Wada Y. Neurol Neurosurg Psychiatry. Neuronal damage in the interval form of CO poisoning determined by serial diffusion weighted magnetic resonance imaging plus 1H-magnetic resonance spectroscopy. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2001; 71: 250-253.

49- Helleday T. Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells. Review. Mutation Research 2003; 532:103–115.

50- Wolff S. Sister chromatid Exchange. Adv Hum Genet 1980; 10: 183-201.

51- Borroto JIG, Creus A, Marcos R. Genotoxic evaluation of the furylethylene derivative 1-(5-bromofur-2-yl)-2-nitroethene in cultured human lymphocytes. Mutation Research 2002; 519: 179-185.

52- Eisha AA, Marcos R, Creus A. Genotoxicity studies on the antimicrobial drug sulfamethoxazole in cultured human lymphocytes. Mutation Research, 2004; 564: 51-56

53- Çelik A, Ateş NA. The frequency of sister chromatid exchanges in cultured human peripheral blood lymphocyte treated with metronidazole in vitro. Drug and Chemical Toxicology, 2006; 1: 85-94.

54- Soyöz M, Özçelik N. Zirai mücadelede kullanılan pestisidlerin sitogenetik etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2003; 10(1): 6-9

55- Marina Smirnova and Hannah L. Klein Role of the error-free damage bypass postreplication repair pathway in the maintenance of genomic stability Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 2003: 117-135

56- DNA replication meets genetic exchange: Chromosomal damage and its repair by homologous recombination Andrei Kuzminov PNAS Mutat Res. 2003 27; 532: 117-135.

57- Rodriguez-Reyes R, Morales-Remirez P. Sister chromatid Exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of sister chromatid Exchange induction by ENU and the rol of BrdU. Mutagesis 2003; 18(1): 65-72.

58- Taylor JH, Woods PS, Hughes ML. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc Natl Acad Sci 1957; 43: 122.

59- Lei, Y C ; Hwang, S J ; Chang, C C ; Kuo, H W ; Luo, J C ; Chang, M J ; Cheng, T J ; Effects on sister chromatid exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 in smokers. Mutat-Res 2002; 519(1-2): 93-101.

60- Cheng WS, Tarone RF, Andrews AD, Whang-Peng JS, Robbins JH. Ultraviolet light-induced sister chromatid exchanges xeroderma pigmentosum and in Cockayne's Syndrome lympohocyte cell. Lines Cancer Res 1978; 38: 1601-1609.

61- Yu CW, Borgaonkar DS. Normal rate of sister chromatid exchange in Down Syndrome. Clin. Genet 1977; 11: 397-401.

62- Evans HJ, Gooden JR, Mitchell RR; Buckland RA. Location of human satellite DNAs on the Y chromosome. Nature 1974; 251: 346-347.

63- Shafer DA. Rep lication bypass model o f sister chromatid exchanges and implications for Bloom's Syndrome and Fanconi's Anemia. Hum. Genet 1977; 39: 177-190.

64- Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen carcinogens exposure by sister chromatid exchange. Nature 1975; 258: 121-125.

65- Liebeskind D, Bases R, Mendez F, Elequin F. Sister chromatid exchanges in human lympohocytes after exposure to diagnostic ultrasound. Science 1979; 1273-1275.

66- Evans HJ. Cytogenetic methods for detection effects of chemical mutagens. Annals New York Academy of Sciences 1983; 83: 131-140.

67- Shiraishi Y, Sandberg AA. Effects of caffeine induced defective DNA replicatio n on SCE and choromosome aberrations produced by alkylating agents. Mutation Research 1980; 72: 251-256.

68- Ga lloway SM, Wolff S. The relation between chemically induced sister chromatid exchanges and chromatid breaks. Mutation Research 1979; 61: 297-307.

69- Kihlma BA, Sturelid S, Palitti F, Becchetti A. Effects of caffeine, an inhibitor of post-replication repair in mammalian cells on the frequgency of choromosomal aberrations and sister chromatid exchanges induced by mutagenic agents. Mutation Research 1977; 46: 130-31.

70- Popescu NC, Amsbough SC, Di Paolo JA. The relevance of caffeine post-treatment to SCE incidance induced in Chinese hamster. Cells Mutat. Res, 1979; 60: 313-320.

71- Palitti F, Becchetti A. Effect of caffeine on sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations induced by mutagens Chinese hamster. Cells Mutat. Res 1977; 45: 157-159.

72- Ishii Y, Bender MA. Caffeine inhibition of prereplication repair of mitomycin c induced DNA damage in human peripheral lymphocytes. Mutation Research 1978; 51: 419-425.

73- Bynum G, Kram D, Dean R, Hadley E, Monticone R, Bickings C, Scheider EL. Steroid modulation of sister chromatid exchanges inducation by mitomycin c and UV light. Environ Mutag, 1978; 2: 247.

74- Gebhart E, Kapphuf H. Bleomycin and sister chromatid exchange in human lymphocyte choromosomes. Mutation Research 1978; 58: 121-124.

75- Konac E, Ekmekçi A, Barkar V, Yilmaz A, Erbaş D. Effects of diethylstilbestrol in human lymphocytes in vitro: A dose and time-dependent study on genotoxic, cytotoxic and apoptotic effects. Molecular and Cellular Biochemistry, 2005; 276: 45–53.

76- Stephanou G, Andrianoulos C, Tyrakis M, Konti M, Demopoulos NA, Tsambaos D. In vitro antigenotoxic potential of acitretin in human lymphocytes treated with the antineoplastic alkylating agent ASE (NSC-71964). Toxicology in Vitro 2004; 18: 609–616.

77- Siddique YH, Afzal M. Antigenotoxic effect of allicin against SCEs induced by methyl methanesulphonate in cultured mammalian cells. Indian J Exp Biol 2004; 42(4): 437-438.

78- Trenz K, Lugowski S, Jahrsdörfer U, Jainta S, Vogel W, Speit G. Enhanced sensitivity of peripheral blood lymphocytes from women carrying a BRCA1 mutation towards the mutagenic effects of various cytostatics. Mutation Research 2003; 544: 279–88.

79- Krishnaja AP, Sharma NK. Ascorbic acid potentiates mitomycin c-induced micronuclei and sister chromatid exchanges in human peripheral blood lymphocytes in vitro. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis Supplement 2003; 1: 99–112.

80- Palanduz, Sever M, Öztür, Taşcıoğlu C, Karan MA, Sönmez G, Çefle K, Güler K.Genotoxic potential of cyclosporin A in patients with renal transplantation. Cell Biology and Toxicology 1999; 15: 13-17.

81- Cassiman JJ, De Clercq E, Van den Berghe H. Induction of sister-chromatid exchange by 5-substituted 2'-deoxyuridines. Mutation Research 1983; 117: 317-27.

82- Karayianni V, Mioglou E, Iakovidou Z, Mourelatos D, Fousteris M, Koutsourea A, Arsenou E, Nikolaropoulos S. A new approach for evaluating in vivo anti-leukemic activity using the SCE assay An application on three newly synthesised anti-tumour steroidal esters. Mutation Research 2003; 535: 79–86.

83- Silva LM, Takahashi CS, Carrara HH. Study of chromosome damage in patients with breast cancer treated by two antineoplastic treatments. Terato Ca rcinog Mutagen 2002; 22: 257-269.

84- Karaberis E, Mourelatos D. Enhanced cyto genetic and antitumor effects by 9-nitrocamptothecin and antineoplastics. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis 2000; 20: 141-146.

85- Pichierri P, Franchitto A, Piergentili R, Colussi C, Palitti F. Hypersensitivity to camptothecin in MSH2 protein in recomb inational repair.Carcinogenesis, 2001; 22: 1781-1787.

86- Jakab MG, Major J, Tompa A. Follow-up genotoxicological monitoring of nurses handling antineoplastic drugs. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A 2001; 62: 307-318.

87- Abou-Eisha A, Marcos R, Creus A. Genotoxicity studies on the antimicrobial drug sulfamethoxazole in cultured human lymphocytes. Mutation Research 2004; 564: 51-56.

88- Gulten T, Tokyay N, Demiray M, Gulten M, Ercan I, Evke E, Sardas S, Karakaya AE. The role of triple therapy, age, gender and smoking on the genotoxic effects of Helicobacter pylori infection. J Int Med Res 2002; 30: 380-385.

89- Nigro MML, Palermo AM, Mudry MD, Carballo MA. Cytogenetic evaluation of two nitroimidazole derivatives. Toxicology in Vitro 2003; 17: 35-40.

90- Köseoğlu V, Kısmet E, Soysal Y, Ulucan H, Dündaröz R, İ mirzahoğlu N, Gökçay E. Investigation of DNA damage in lymphocytes exposed to benzathine penicillin G.Pediatrics İnternational 2004; 46: 415-418.

91- Barale R, Chelotti L, Davini T, Del Ry S, Andreassi MG, Ballardin M, Bulleri M, He J, Baldacci S, Di Pede F, Gemignani F, Landi S. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. Environ Mol Mutagen 1998; 31: 228-242.

92- Slapsite G, Jankauskiene A, Mierauskiene J, Lazutka JR. Cytogenetic analysis of children under long-term antibacterial therapy with nitroheterocyclic compound furagin. Mutation Research 2000; 491: 25-30.

93- Surrallas J, Xamena N, Creus A, Catalan J, Norppa H, Marcos R. Induction of micronuclei by five pyrethroid insecticides in whole-blood and isolated lymphocyte cultures. Mutation Research 1995; 341: 169-184.

94- Gebhart E. Sister chromatid exchange (SCE) and structural chromosome aberration in mutagenicity testing. Hum. Genet 1981; 58: 235-254

95- Michalska J, Motykiewicz G, Pendzich J, Kalinowska E, Midro A, Chorazy M . Measurement of cytogenetic endpoints in women environmentally exposed to air pollution. Mutation Research 1999 30;445:139-45.

96- Dundaroz R, Ozisik T, Baltaci V, Karapinar K, Aydin HI, Denli M. Sister-chromatid exchange analysis on long-term benzathine penicillin for secondary prophylaxis of rheumatic fev er. Indian J Pediatr 2001; 68: 121-122.

97- Tatar A, Ozkurt Z, Kiki I. Genotoxic effect of ribevarin in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. Jpn.J. İnfect. Dis 2005; 58: 313-315.

98- Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Free Radicalsin Diagnostic Medicine, (Ed) Armstrong, New York, 1st edition. Plenum Press,New York 1994:1-15.

99- Roehm JN, Hadley JG, Menzel DB, Wash R. Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide. Arch. Environ. Health. 1971; 23: 142-148

100- Badwey JA, Karnowsky ML. Active oxygen species and the funcions ofphagocytic leukocytes. Ann. Rev. Biochem. 1980; 49: 695-726

101- Ginsberg MD, Myers RE. Experimental carbon monoxide encephalopaty in primate. 1. Phsysiologic and metabolic aspects. Arch. Neurol 1974; 30: 202-208

102- Gorman DF, Runciman WB. Carbon monoxide poisoning. Anaessth İntencive Care 1999; 19: 506-511.

103- Aslan S, Uzkeser M, Seven S, Gundogdu F, Acemoglu H, Aksakal E, Varoğlu E, The evaluation of myocardial damage in 83 young adults with carbon monoxide poisoning in the East Anatolia region in Turkey. Hum. Exp Toxicol 2006 Aug; 25(8):439-446

104- Öztürk S, Vatansver S, Cefle K, Palanduz S, Guler K, Erten N, Erk O, Karan M.A, Tascioglu C. Acute Wood Or Coal Exposure With Carbonmonoxide İntoxication İnduces Sister Chromatid Exchange. J Toxicol Clin Toxicol 2002: 40, 115 -120

105- Eken A, Aydin A, Sayal A, Ustündağ A, Duydu Y, Dündar K. The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress and SCE frequencies in humans. Clin Biochem. 2005: 1133-1137.

106- Kwak HM, Yang YH, Lee MS. Cytogenetic effects on mouse fetus of acute and chronic transplacental in vivo exposure to carbon monoxide: induction of micronuclei and sister chromatid exchanges. Yonsei Med J.1986; 27: 205-212.

107- Soogarun S, Suwansaksri J, Wiwanitkit V. High sister chromatid exchange among a sample of traffic policemen in Bangkok, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006 37: 578-580.

108- Çelik A, Akbaş Evaluation Of Sister Chromatid Exchange And Chromosomal Aberration Frequencies In Peripheral Blood Lymphocytes Of Gasoline Station Attendants. Ecotoxicol Environ 2005; 60: 106-112.

109- Oztas S, Salman AB, Tatar A, Yigiter M, Yazgi H, Ertek M, Yesilyurt A, Ocak Z, Kursad H. Effect of albendazole in pediatric patients with hepatic hydatid disease. Int J Infect Dis. 2007 ;11: 446-449

110- Türkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş S, Ozkan A. Effects of some boron compounds on peripheral human blood. Z Naturforsch [C] 2007;62: 889-896.