

N-Asetilsisteinin Anestezistlerde Nötrofil ve Lenfosit Apoptosisine Etkileri

THE EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEINE ON NEUTROPHIL AND LYMPHOCYTE APOPTOSIS IN ANAESTHETISTS' BLOOD

Dr. Şennur UZUN,^a Dr. Varol ÇELİK, ^a Dr. Hamza OKUR,^b Dr. Elif BAŞGÜL,^a Dr. Ülkü AYPAR^a

^aAnesteziyoloji ve Reanimasyon AD, ^bPediyatrik Hematoloji AD, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

Özet

Amaç: Apoptozis; morfolojik ve biyokimyasal olaylarla ilişkili fizyolojik hücre ölümüdür. Apoptozisin bozulması ile neoplazi, viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, AIDS gibi patolojik sonuçlar ortaya çıkabilir. Apoptozisin başlamasında genetik kontrol dışında hücre dışı faktörler de (hormonlar, sitokinler, kimyasal, fiziksel ve viral ajanlar) rol almaktadır. Bu hücre dışı faktörlerden birisi de, volatil ve intravenöz anestetiklerdir. Bundan yola çıkarak, ameliyathane ortamındaki atık anestetik gazlara kronik maruz kalan anestezistlerin periferik kanlarındaki nötrofil ve lenfosit apoptozis hızlarının ve N-asetilsistein (NAS)'in bu hız üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Hacettepe Üniversitesi Etik Komite izni alındıktan sonra, randomize seçilen 20 anestezistten ve acil serviste çalışan 10 gönüllüden alınan kan örneklerinde apoptozis hızı incelendi. İncelemede Annexin-V FITC yöntemi kullanıldı. Canlı hücreler ayrıldı. Nötrofiller NAS pozitif ve NAS negatif olmak üzere 2 gruba ayrıldı. NAS pozitif gruba final konsantrasyonu 10^{-3} M olacak şekilde NAS eklenerek 2 grup %5 CO₂ ve %95 nem içeren 37°C'lik etüvde 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Boyama işleminden sonra hücreler flow sitometri ile analiz edildi.

Bulgular: Anestezistlerde apoptozis hızının yavaşladığı ve NAS'ın bunu tersine çevirdiği bulundu. Kontrol grubunda anlamlı oranda, canlı hücre sayıları elde edildi (lenfosit %19.53 ve nötrofil %72.19). Anestezi grubunda bu oranlar sırasıyla %9.19 ve %33.53 şeklindeydi. Anestezi grubunda NAS verildikten sonra canlı hücre oranı istatistiksel anlamda fazla bulundu (lenfosit %14.73 ve nötrofil %55.74).

Sonuç: Atık anestetik gazlara kronik maruz kalan anestezistlerde artmış kanser ve teratojenite insidanslarındaki artıştan apoptozisin bozulmuş olmasının sorumlu olabileceği kanısına varıldı. Maruziyetin etkilerinden korunmak için, N-asetilsistein bir seçenek olarak kullanılabilirliği gibi, en etkili yöntem bu maruziyetin minimum seviyelere indirilmesidir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, N-asetilsistein, atık anestetik gazlar

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:817-823

Abstract

Objective: Apoptosis has been defined as physiologic cell death associated with morphological and biochemical processes. Neoplasms, viral infections, autoimmune diseases and AIDS can occur in the shield of defective apoptosis. Extracellular factors such as hormones, cytokines and chemicals including volatile and intravenous anesthetics, physical and viral agents as well as genetic factors play a role in the onset of apoptosis. The aim of this study was to detect the rate of neutrophil and lymphocyte apoptosis in peripheral blood samples of anaesthetists who were chronically exposed to waste anaesthetic gasses in the operating theatre and the effect of N-acetylcysteine (NAC) on this process.

Material and Methods: Following the approval of Hacettepe University Ethics Committee, apoptosis rate was studied in blood samples of 20 randomly chosen anaesthetists and 10 doctors working in the emergency ward. Annexin V-FITC method was used. Living cells were separated. Neutrophils were divided into two groups as NAC (+) and NAC (-). 10^{-3} M NAC was added to the NAC (+) group and incubated at 37°C with 5% CO₂ and 95% humidity for 24 hours. After dual staining, cells were analyzed by flow cytometry.

Results: The rate of apoptosis was low among anaesthetists and the addition of NAC reversed this. The percentage of living cells was higher in the control group, (lymphocytes 19.53%, neutrophils 72.19%) compared to the group of anaesthetists (9.19% and 33.53% respectively). After the addition of NAC the number of living cells increased significantly (lymphocytes 14.73% and neutrophils 55.74%).

Conclusion: Defective apoptosis may be a factor contributing to the increased incidence of cancer and teratogenicity among anaesthetists who are chronically exposed to volatile anaesthetics. Although N-acetylcysteine may be beneficial for protection against the hazardous effects of volatile anaesthetics, the most effective method is to decrease the amount of exposure to the minimum level possible.

Key Words: Apoptosis, acetylcysteine, gasses

Geliş Tarihi/Received: 24.03.2005

Kabul Tarihi/Accepted: 21.06.2005

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Şennur UZUN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD
06100, Sıhhiye, ANKARA
sennuruzun@superonline.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25

Apoptozis terimi, Yunanca APO (ayrı) ve PTOZİS (düşmek) kelimelerinden oluşmuştur. Sonbaharda ağaç yapraklarının tek tek düşmesi ve ağacı terk etmesi anlamındadır. Normal hücre ölümü, programlanmış hücre ölümü,

fizyolojik hücre ölümü ve intihar eden hücre, apoptozis ile eş anlamlı kullanılan diğer terimlerdir.¹

Apoptozis hücrel bir çok gen ve gen ürününün aktivasyonunun ve karşılıklı etkileşimini içeren karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, değişik şekillerde birçok iç ve dış sinyaller tarafından aktive edilebilmektedir. Bu sürecin bozulması ise, organ işlevlerinde bozulma, neoplazi, viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, "Acquired Immun Deficiency Syndrome (AIDS)" gibi patolojik sonuçlar doğurabilir.²

Volatil anestetiklere kronik maruziyetin, apoptozisin temel rol aldığı kanser ve teratojenite insidansını arttırdığı bildirilmiştir.³ Embriyolojik gelişim ve hücre proliferasyonunun normal veya patolojik ilerlemesinde rol alır.^{4,5} Anestetiklere kronik maruziyetin, nötrofillerde apoptozisi yavaşlattığı, maruz kalmayan kişilerle karşılaştırılarak, gösterilmiştir.⁶⁻⁸

Akut inflamatuvar cevabın düzelmesi, immün dengeyi sağlamak ve uygun olmayan doku yıkımını engellemek için, nötrofil apoptozisi esastır. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun patogenezinde, apoptozisin gecikmesi etken olarak ileri sürülmüştür.⁹ Apoptozisin engellendiği durumlarda, nötrofillerin durumları hakkında açıklamalar olmasına rağmen, inflamatuvar cevapta artma veya uzamaya neden olabileceği varsayılmıştır. Bir başka yaklaşım ise, nötrofillerin alternatif hücre ölümü yollarını takip ederek nekroza gitmesidir, bu durumda inflamatuvar cevapta artma ile karşılaşılır.⁷

N-asetilsistein (NAS) antioksidan olarak in vivo ve in vitro yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Detoksifikasyonda rol oynadıkları gibi, oksidatif strese karşı hücreyi ve komponentlerini korurlar. NAS canlı organizmalardan üretildiğinden ve doğal sülfür içeren amino asit türevi olduğundan güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmektedir.¹⁰

Çalışmamızda, ameliyathane ortamında çalışan anesteziistlerde annexin-V FITC metodu ile apoptozis hızının incelenmesi ve in vitro şartlarda NAS'ın etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler

Hacettepe Üniversitesi Tez Etik Komitesi'nden izin ve çalışmaya katılanlardan 'bilgilendirilmiş olur' onayı alındıktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Ameliyathanesi'nde çalışan, randomize seçilen 20 anesteziistten alınan 4 mL'lik kan örneklerinde apoptozis hızı incelendi. Çalışmaya katılanlardan yaş ve apoptozisi etkileyen bir faktör olan sigara içme durumları öğrenildi. Çalışma, Helsinki Deklarasyon Prensipleri'ne uygun olarak yapıldı. Kontrol grubu, anesteziye hiç maruz kalmamış 10 ASA I gönüllüden (Hacettepe Üniversitesi Acil Servisi'nde çalışan 10 hekim ve hemşire) oluşturuldu. Son 3 ay içinde anestezi alanlar, apoptozisi etkilediği bilinen antiromatizmal ve antiinflamatuvar ilaç kullananlar çalışma dışı bırakıldı.¹¹ İncelemede Annexin V-FITC metodu kullanıldı. Bir ileri aşamada antioksidan (N-acetylsistein, Asist^R) in vitro ortamda kan örneklerine eklenerek apoptozis hızı üzerine etkisine bakıldı. Annexin (+) terimi, apoptozis yolu ile ölen hücrelerin varlığını göstermek için kullanıldı.

Anesteziist ve kontrol grubundaki her bir kan örneğinden nötrofil ve lenfositler NAS pozitif ve NAS negatif olmak üzere 2 gruba ayrıldı. NAS pozitif gruba final konsantrasyonu 10⁻³ M olacak şekilde NAS eklenerek 2 grup 24 saatlik inkübasyona bırakıldı.¹² Boyama işleminden sonra hücreler flow sitometri ile analiz edildi.

Ameliyat odalarının hiçbirinde havalandırma sistemi bulunmamaktaydı. Toplam 20 ameliyat odasının hepsinde isofluran ve sevoflurane vaporizatörü bulunmaktayken, 2'sinde halothane vaporizatörü yer almaktaydı. Ameliyathanelerde kullanılan anestezi makinalarında (Dräger Romulus 800) aktif atık gaz uzaklaştırma sistemi yoktu, ancak bazı odalardaki makinaların egzoz kısmına yerleştirilmiş olan uzatma hortumları aracılığıyla atık gazlar, bu odalardaki havalandırma deliklerinden pasif olarak ortam havasından uzaklaştırılmaktaydı.

Periferik kanlar, 300 U/mL koruyucu içermeyen heparinli enjektöre 4 cc aspire edilerek toplandı. Periferik kan, 1/1 oranında "Phosphate Buffered Saline (PBS)" ile karıştırılarak içinde 4 mL 37 °C'lik Ficoll-Histopaque 1077 bulunan 15 mL'lik

steril tüplere pasteur pipeti yardımı ile iki faz olacak şekilde dikkatlice yayıldı. 400 g'de 35 dk. oda sıcaklığında santrifüj edildikten sonra Ficoll-Histopaque 1077 ile plazma arasında tabaka oluşturan mononükleer hücreler pasteur pipeti yardımıyla çok yavaş bir şekilde tüpü titretmeden toplanarak steril bir tüpe alındı.¹² Hücrelerin üzerine 10-12 mL PBS eklenerek 1000 g'de 10'ar dk. süreyle 2 kez yıkandı. Trypan Blue boyası ile hücrelerin canlılıklarına bakılarak çalışmaya hazır hale (%90-95 canlı iseler) getirildiler.

Periferik Kan Hücrelerine NAS Uygulanması

Hazırlanan kan hücreleri, içerisinde %10 FBS, 50 U/mL penisilin ve 50 µg/mL streptomisin bulunan RPMI-1640 ile 2×10^6 hücre/mL olacak şekilde süspansiyon haline getirildi. Hücreler NAS pozitif ve NAS negatif olmak üzere 2 gruba ayrıldı. NAS pozitif gruba, final konsantrasyonu 10^{-3} M olacak şekilde NAS eklenerek her 2 grup %5 CO₂ ve %95 nem içeren 37°C'lik etüvde 24 saatlik inkübasyona bırakıldı.¹³ İnkübasyondan sonra hücreler petrilere toplanarak PBS ile 2 kere yıkandı. Yıkama işleminden sonra hücreler 1×10^6 hücre/mL olacak şekilde süspansiyon edilerek monoklonal antikorlarla boyama işlemine geçildi.

İmmünfloresan Boyama

Hücre süspansiyonlarından, özgül monoklonal antikorlarla boyanmak üzere 5 mL'lik boyama tüplerine 100 µL kondu. Üzerlerine 10 µL flüoresan izotiyosiyonat (FITC) veya "phycoerythrin (PE)" işaretli özgül antikorlar (CD 95 FITC ve Annexin V FITC) ve negatif kontrol tüplerine de bu antikorların izotipleri eklendi. Örnekler oda ısısında ve karanlıkta, 10 dk. inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüm tüpler iki kere PBS ile

yıkandı. Üzerlerine 500 µL, %4 paraformaldehid eklendikten sonra flow sitometrik analizlerine kadar buzdolabında saklandı.

Flow Sitometrik Çalışma

Bu çalışmada; 15 mW hava soğutmalı argon ion lazeri içeren FACS Calibur flow sitometri cihazı kullanıldı. Yansıma için 488 nm dalga boyu ve FITC için 530 nm, PE ve PI için 585 nm emmision dalga boyları kullanıldı. İki renkli floresan, "Forward angle light scatter (FSC)" ve 90 derece "side scatter (SSC)" diyagramları kullanılarak her örnek için 10.000 hücre sayıldı. Toplanan datalar Model G3 Macintosh bilgisayarındaki CellQuest software'i ile analiz edildi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 10.0 ile değerlendirilmiştir.

Gruplar arası karşılaştırmalar (iki grubun karşılaştırılmasında) her bir değişken için ortalamalar arası fark olup olmadığı "İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi" ile yapılmıştır. Herhangi bir değişkene göre gruplar arası fark Fisher Kesin ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.

Grup içi karşılaştırmalar (NAS verilmeden önceki ve verildikten sonraki LA ve NA değerlerinin karşılaştırılması) "İki Eş Arasındaki Farkın Önemlilik Testi" ile yapılmıştır. Her bir grup için ayrı ayrı bazı değişkenlerin birbirleriyle ilişkili olup olmadıkları Basit Korelasyon Analizi (Pearson Korelasyon Katsayısı) ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

Bulgular

Gruplar arasında yaş ortalaması ve cinsiyete göre dağılım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p = 0.207$, $p = 0.310$) (Tablo 1).

Tablo 1. Grupların demografik verileri.

Özellik	Anestezi grubu (n= 20)	Kontrol grubu (n= 10)	p
Yaş (yıl)	32.8 ± 6.1	29.7 ± 6.3	0.207
Cinsiyet (kadın/erkek)	13/7	6/4	0.310
Maruziyet süresi (yıl)	7.2 ± 6.7	-	-
Sigara içimi	Evet (n= 5)/Hayır (n= 15)	Evet (n= 3)/Hayır (n= 7)	1.000

Tablo 2. Anestezi ve kontrol gruplarında nötrofil annexin pozitif hücre yüzdeleri.

Gruplar	Nötrofil annexin (+) ort.	NAS + grupta nötrofil annexin (+) ort.	p (Grup içi)
Anestezi grubu	33.5 ± 16.2	55.7 ± 22.4 ^ψ	0.000
Kontrol grubu	72.2 ± 8.9*	79.4 ± 7.4*	0.136
p (gruplar arası)	0.000	0.005	

*p < 0.05, anestezi ve kontrol grubu arasında anlamlı fark var

^ψp < 0.05, anestezi grubunda grup içi anlamlı fark var.

Tablo 3. Anestezi ve kontrol gruplarında lenfosit annexin pozitif hücre yüzdeleri.

Gruplar	Lenfosit annexin (+) ort.	NAS + grupta lenfosit annexin (+) ort.	p (Grup içi)
Anestezi grubu	9.2 ± 4.1	14.7 ± 6.9	0.000
Kontrol grubu	19.5 ± 4.3*	19.9 ± 6.5	0.872
p (gruplar arası)	0.000	0.06	

*p < 0.05, anestezi ve kontrol grubu arasında anlamlı fark var

^ψp < 0.05, anestezi grubunda grup içi anlamlı fark var.

Annexin (+) terimi, apoptozis yolu ile ölen hücrelerin varlığını göstermek için kullanıldı.

Nötrofillerde annexin (NA), anestezi grubunda %33.5 ve kontrol grubunda %72.2 oranında bulundu, 2 grup arasında istatistiksel anlamlı fark vardı (p = 0.000) (Tablo 2).

NAS verildikten sonraki NA değeri anestezi grubunda %55.7 ve kontrol grubunda %79.4 idi. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu (p = 0.005) (Tablo 2).

Anestezi grubunda lenfosit annexin (LA) %9.2 ve kontrol grubunda %19.5 bulundu ve 2 grup arasında istatistiksel anlamlı fark vardı (p = 0.000) (Tablo 3).

NAS verildikten sonra, anestezi grubunda LA %14.7, kontrol grubunda %19.9 olarak bulundu ve 2 grup arasında LA hızı açısından istatistiksel an-

lamlı fark olmadığı tespit edildi (p = 0.06, p > 0.05) (Tablo 3).

Anestezi grubunda NAS verildikten sonra nötrofil ve lenfositlerdeki annexin değişimi verilmeden önceki değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (NA ve LA'nin her ikisi için de p = 0.000). Kontrol grubunda NAS verildikten sonra ve önceki NA ve LA değerlerindeki değişim istatistiksel anlamlı değildi (p > 0.05) (Tablo 2, Tablo 3).

Gruplar arası sigara içme durumları arası fark önemsizdi (p > 0.05). Anestezi ve kontrol grubunda sigara içip/içmeme durumuna göre NA ve LA değerleri arası fark önemsizdi (p > 0.05). NAS verildikten sonra da NA ve LA değerleri sigara içip içmeme durumundan etkilenmemekteydi (p > 0.05) (Tablo 4, Tablo 5). Grup içi karşılaştırma çalışma-

Tablo 4. Anestezi ve kontrol grubunda sigara içme durumuna göre nötrofil annexin (+) hücre yüzdeleri (p > 0.05).

Gruplar	Sigara içme durumu	Nötrofil annexin (+) ort.	NAS + grupta nötrofil annexin (+) ort.
Anestezi grubu	Evet (n = 5)/Hayır (n = 15)	29.9 ± 18.9/34.7 ± 15.7	53.6 ± 24.6/56.5 ± 22.5
Kontrol grubu	Evet (n = 3)/Hayır (n = 7)	73.1 ± 11.2/71.8 ± 8.8	84.7 ± 4.9/77.2 ± 7.4
p (gruplar arası)	1.000	0.497	0.735

Tablo 5. Anestezi ve kontrol grubunda sigara içme durumuna göre lenfosit annexin (+) hücre yüzdeleri ($p > 0.05$).

Gruplar	Sigara içme durumu	Lenfosit annexin (+) ort.	NAS + grupta lenfosit anne-xin (+) ort.
Anestezi grubu	Evet (n= 5)/Hayır (n= 15)	7.0 ± 1.8/9.9 ± 4.4	11.0 ± 3.2/15.9 ± 7.5
Kontrol grubu	Evet (n= 3)/Hayır (n= 7)	16.7 ± 3.1/20.7 ± 4.4	18.8 ± 6.0/20.4 ± 7.1
p (gruplar arası)	1.000	0.168	0.266

Tablo 6. Anestezi ve kontrol grubunda cinsiyetlere göre nötrofil annexin (+) hücre yüzdeleri ($p > 0.05$).

Gruplar	Cinsiyet	Nötrofil annexin (+) ort.	NAS + grupta nötrofil anne-xin (+) ort.
Anestezi grubu	Kadın (n= 13)/Erkek (n= 7)	32.5 ± 16.3/35.5 ± 17.1	54.3 ± 23.1/58.3 ± 22.7
Kontrol grubu	Kadın (n= 6)/Erkek (n= 4)	71.9 ± 9.9/72.5 ± 8.8	82.2 ± 7.2/75.3 ± 6.3
p (gruplar arası)	0.310	0.936	0.154

Tablo 7. Anestezi ve kontrol grubunda cinsiyetlere göre nötrofil annexin (+) hücre yüzdeleri ($p > 0.05$).

Gruplar	Cinsiyet	Nötrofil annexin (+) ort.	NAS + grupta Nötrofil an-nexin (+) ort.
Anestezi grubu	Kadın (n= 13)/Erkek (n= 7)	8.6 ± 3.3/10.3 ± 5.4	14.7 ± 7.2/14.8 ± 7.1
Kontrol grubu	Kadın (n= 6)/Erkek (n= 4)	18.5 ± 2.8/21.1 ± 6.1	21.5 ± 6.8/17.5 ± 6.1
p (gruplar arası)	0.310	0.380	0.371

ya katılan deneklerin sayılarının az olmasından dolayı, yapılamadı.

Maruziyet süresine göre NA ve LA arasında ilişki bulunamadı (sırayla, $r = -0.100$, $p = 0.675$; $r = -0.329$, $p = 0.156$). NAS verildikten sonra da maruziyet süresi ile NA ve LA arasında ilişki bulunamadı (sırayla, $r = -0.150$, $p = 0.527$; $r = -0.086$, $p = 0.718$).

Cinsiyetler açısından, her 2 grup arasında NA ve LA ile NAS verildikten sonraki NA ve LA değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 6, Tablo 7).

Tartışma

Doku hasarında, örneğin cerrahi uyarıdaki doku hasarında olduğu gibi, inflamatuvar cevabın sonlanmasından nötrofil apoptozisi sorumludur. Apoptozisin engellendiği durumlarda inflamatuvar yanıtın artabileceği veya uzayabileceği varsayılmıştır. Bir başka yaklaşım ise, nötrofillerin alterna-

tif hücre ölümü yolu olan nekroza gitmesidir, bu durumda inflamatuvar yanıtta artış görülür.⁷

Ameliyathane personeli, ortamda bulunan düşük miktarda atık anestetik gaza maruz kalmaktadır. Bu şekilde kronik maruziyet sonunda immün sistemin etkilendiği bilinmektedir. Bu maruziyetin genetik hasara (sister chromatid exchange) yol açtığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir.^{14,15} Volatil anestetiklere kronik maruziyetin, apoptozisin primer etken olduğu, kanser ve teratojenisite insidansını arttırdığı bildirilmektedir.⁵ Anesteziklere kronik maruziyetin, nötrofillerde apoptozisi yavaşlattığı, maruz kalmayan kişilerle karşılaştırılarak gösterilmiştir.⁶

Yirmi anesteziistten alınan kan örneklerindeki annexin (+) canlı lenfosit ve nötrofil sayılarında, kontrol grubuyla karşılaştırılınca anlamlı fark ortaya çıkmıştır. Anestezi grubunda nötrofillerde annexin %33.53 ve lenfositlerde annexin %9.19, kontrol grubunda nötrofillerde annexin %72.19 ve

lenfositlerde annexin %19.53 bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark vardır. Bu da daha önce Tyther ve ark.nın aynı yöntemle (annexin V-FITC) apoptozis hızına baktıkları çalışma sonuçları ile uyumludur.^{7,8} Anestezistlerdeki apoptotik hücre sayısındaki bu düşük oran ortam havasındaki atık gaz konsantrasyonu ile ilgili olabileceği gibi, kronik maruziyet, ameliyathane ortamının yaratmış olduğu stres, artmış fizik aktivite, düzensiz yemek ve çalışma saatleri gibi mesleki faktörlere de bağlı olabileceği göz önünde tutulmalıdır.^{16,17} Bu çalışmada bu faktörlerin bütün anestezistlerde benzer olduğu varsayıldı.

Goto ve ark.nın 2000 yılında anestezistlerde yaptıkları benzer çalışmada, N₂O, isoflurane, sevoflurane gibi atık anestetik gaz maruziyeti sonunda, önerilen gaz konsantrasyonlarının altındaki değerlerde olsa bile, anestezistlerin 24 saat sonundaki sonuçları, maruz kalmayan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük apoptozis yüzdesi göstermiştir (%50.5/%57.3; p= 0.008).⁶ Bizim çalışmamızda da, 24 saat sonundaki apoptozis hızı sonuçları Goto ve ark.nın sonuçları ile uyumludur.

Anestetik ajanlara kronik maruziyetin sebep olduğu sağlık sorunları üzerine pekçok çalışma yapılmıştır. Rowland ve ark. bayan diş hekimlerinde sıklıkla karşılaşılan azalmış fertilité oranının, yüksek miktarlarda nitroz okside maruz kalmalarından kaynaklandığını göstermişlerdir.¹⁷ Ontario hastaneleri ameliyathane ve uyanma odaları personeli üzerinde yapılan retrospektif başka bir çalışmada, Guirguis ve ark. anestetik gazlara maruz kalan kadınlarda spontan düşük ve konjenital anomalili çocuk doğurma insidansının anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermişlerdir.³ Vainio ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışmada da yüksek spontan düşük oranı ve bundan nitroz oksidin sorumlu olduğu sonucu çıkmıştır.¹⁸ Bu çalışmalarda ki, azalmış fertilité, spontan düşük ve anomalili çocuk doğurma insidanslarındaki yükseklikten, apoptozisin bozulmasının sorumlu olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Peric ve ark.nın, anestetik gazların kanserojen ve teratojen etkilerini destekleyen çalışmalarında, atık anestetik gazların anestezi çalışanlarında immünolojik bozukluklara neden olduğu gösterilmiştir.

Apoptozis, embriyolojik şekillenme, hematopoez, immün tolerans ve inflamasyonda temel rol olarak bu çalışmalara konu olan durumlara dahil olabilir.^{10,19}

NAS, L- -sisteinin N- asetil türevidir. NAS canlı organizmalardan üretildiğinden ve doğal sülfür içeren amino asit türevidir olduğundan güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. NAS, in vivo ve in vitro antioksidan olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.⁹ NAS, detoksifikasyonda (ağır metaller, asetaminofen içeren ilaçlar, herbisitler, CCl₄ ve ürethane içeren çevresel temizleyiciler, aflatoksin içeren organizmalar), akciğer hastalıklarının tedavisinde mukolitik ve antioksidan özelliğinden dolayı, kanser tedavisinde, AIDS tedavisinde ve kardiyovasküler alanda lipoprotein a düzeyinin azaltılmasında kullanılabilir.²⁰ NAS vücuttaki serbest oksijen radikallerini nötralize ederek ve kuvvetli bir antioksidan olan glutatyon miktarını arttırarak etki gösterir.

Misso ve ark. apoptozise uğrayan nörofillerde, intrasellüler glutatyon konsantrasyonunun azaldığını, eksojen glutatyon veya NAS eklenmesi ile H₂O₂ üretimini arttırarak nötrofil apoptozisinin hızlandığını göstermişlerdir.²¹ Glutatyon, non enzimatik bir antioksidan olup, hücre içinde H₂O₂'nin detoksifikasyonunda esas olarak glutatyon peroksidaz rol oynar. H₂O₂'yi H₂O ve O₂'ye indirger. Glutatyon peroksidaz lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini önleyici özellikte bir enzimdir. Apoptozise dirençli kanser hücrelerinde hücre içi glutatyonun daha fazla olduğu gösterilmiştir.²² Lepri ve ark. yaptıkları çalışmada, NAS'nin intrasellüler redükte glutatyon miktarını arttırdığını ve apoptozisi hızlandırdığını göstermişlerdir.²³ Çalışmada, anestezi grubunda NAS verildikten sonra nötrofil ve lenfositlerdeki annexin değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kontrol grubunda NAS verildikten sonra LA ve NA değerindeki değişim istatistiksel anlamlı değildi. NAS verildikten sonra apoptozis hızları arttı ancak yalnız anestezistlerdeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Anestezistlerdeki sonuç, Lepri ve ark.nın çalışma sonuçlarına benzerdir.

Sonuç olarak, anestetik atık gazlara kronik olarak maruz kalan anestezistlerde, kanser, immün

sistemin ve embriyolojik gelişimin temel anahtarı olan apoptozisin yavaşlamış bulunması, vücudun enfeksiyon ve inflamasyona direncini kırmaktadır. Bu sonuç anestetik gazların, ameliyathane çalışanlarının sağlığına zararlı etkilerini açıklama yolunda bir ön çalışmadır.

NAS eklenmesi ile hızlanan apoptozis hızı, umut vadeci bir korunma modeli olabilir, ancak etkili yöntem atık anestetiklere maruziyetin en düşük seviyelere indirilmesidir ve daha ileri çalışmalara ihtiyacı vardır.

Teşekkür

Çalışmanın istatistiksel analizlerindeki yardımlardan dolayı sayın Dr. İlker Ötügen'e teşekkürlerimizi sunuyoruz.

KAYNAKLAR

- Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995;146:3-15.
- Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1456-62.
- Guirguis SS, Pelmeur PL, Roy ML, Wong L. Health effects associated with exposure to anaesthetic gases in Ontario hospital personnel. *Br J Ind Med* 1990;47:490-7.
- Pratt RM, Martin GR. Epithelial cell death and cyclic AMP increase during palatal development. *Pro Natl Acad Sci USA* 1975;72:874-7.
- Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 1992;356:397-400.
- Goto Y, Gallagher J, Fanning N, et al. Does chronic occupational exposure to volatile anesthetic agents influence the rate of neutrophil apoptosis? *Can J Anaesth* 2000;47:350-3.
- Tyther R, Halligan M, Wang J, Redmond HP, Shorten G. Effects of chronic occupational exposure to anaesthetic gases on the rate of neutrophil apoptosis among anaesthetists. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19:604-8.
- Tyther R, O'Brien J, Wang J, Redmond HP, Shorten G. Effect of sevoflurane on human neutrophil apoptosis. *Eur J Anaesthesiol* 2003;20:111-5.
- Fanning NF, Porter J, Shorten GD, et al. Inhibition of neutrophil apoptosis after elective surgery. *Surgery* 1999;126:527-34.
- Eklund A, Eriksson O, Hakansson L, et al. Oral N-acetylcysteine reduces selected humoral markers of inflammatory cell activity in BAL fluid from healthy smokers: Correlation to effects on cellular variables. *Eur Respir J* 1988;1:832-8.
- Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Int J Tissue React* 1998;20:3-15.
- Jaworska M, Gillissen A, Scharling B, Wickenburg D, Schultze-Werninghaus G. N-acetylcysteine: A functional oxygen radical scavenger in vitro and ex vivo in monocytes and neutrophilic granulocytes of patients with COPD. *Pneumologie* 1995;49:539-45.
- Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1968;97:77-89.
- Hoerauf K, Lierz M, Wiesner G, et al. Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide. *Occup Environ Med* 1999;56:433-7.
- Peric M, Vranes Z, Marusic M. Immunological disturbances in anaesthetic personnel chronically exposed to high occupational concentrations of nitrous oxide and halothane. *Anaesthesia* 1991;46:531-7.
- Fink BR, Cullen BF. Anesthetic pollution: What is happening to us? *Anesthesiology* 1976;45:79-83.
- Rowland AS, Baird DD, Weinberg CR, Shore DL, Shy CM, Wilcox AJ. Reduced fertility among women employed as dental assistants exposed to high levels of nitrous oxide. *N Engl J Med* 1992;327:993-7.
- Vainio H. Inhalation anaesthetics, anticancer drugs and sterilants as chemical hazards in hospitals. *Scand J Work Environ Health* 1982;8:94-107.
- Cohen JJ. Programmed cell death in the immune system. *Adv Immunol* 1991;50:55-85.
- Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev* 1998;3:114-27.
- Misso NL, Peacock CD, Watkins DN, Thompson PJ. Nitrite generation and antioxidant effects during neutrophil apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2000;28:934-43.
- Bukowska B. Glutathione: Its biosynthesis, induction agents and concentrations in selected diseases. *Med Pr* 2004;55:501-9.
- Lepri E, Gambelungho C, Fioravanti A, Pedini M, Micheli A, Rufini S. N-acetylcysteine increases apoptosis induced by H₂O₂ and mo-antiFas triggering in a 3DO hybridoma cell line. *Cell Biochem Funct* 2000;18:201-8.