

ÖNSÖZ

Sigara dumanı, akciğerlere alınan organik nitelikli yanmış kimyasal maddelerin başlıcasıdır. Sigara içimi ile serbest oksijen radikalleri ve oksidanlar ortaya çıkmakta ve bunlar ciddi doku hasarı, kanser, kalp ve damar hastalıkları, akciğer hastalıkları, romatoid artirit, katarakt ve sinir dokusu hastalıkları gibi birçok hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Bu çalışmada uzun süre sigara içiminin oksidatif stres ve bazı iz element düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Elde edilen bulgular, uzun süreli sigara içiminin antioksidan sistem ve bu sistemle ilişkili serum mineral madde düzeylerinde değişikliklere neden olduğunu göstermiş ve sigara içenlerin diyetlerinin askorbik asit ve aynı zamanda antioksidan enzimlerin kofaktörleri de olan iz elementler yönünden takviye edilmesinin yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

Araştırma, “Sigara kullanımının oksidatif stres ve serum mineral madde düzeyleri üzerine etkisi” isimli ve VTF- 06013 kodlu proje olarak, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	1
1.2. Rakamsal Bulgular	2
1.3. Sigara İçeriğindeki Zararlı Maddeler	3
1.3.1. Karbonmonoksit (CO)	4
1.3.2. Nikotin (Tar)	4
1.3.3. Kanserojen Maddeler	6
1.3.4. Diğer Zehirli Maddeler	7
1.4. Serbest Radikaller	8
1.4.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Kaynaklar	9
1.4.1.1. Endojen Kaynaklar	9
1.4.1.2. Ekzojen Kaynaklar	11
1.4.2. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve Reaktif Oksijen Türleri	11
1.4.2.1. Süperoksit Radikali	11
1.4.2.2. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	12
1.4.2.3. Hidroksil Radikali	13
1.4.2.4. Singlet Oksijen	13
1.5. Serbest Radikallerin Etkileri	14
1.6. Malondialdehit (MDA) Oluşumu	17
1.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	18
1.7.1. Enzimatik Antioksidanlar	18
1.7.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	18
1.7.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	19
1.7.1.3. Katalaz	20

1.7.2. Moleküler Antioksidanlar	21
1.7.2.1.Vitaminler.....	21
1.7.2.1.1. Vitamin E	21
1.7.2.1.2. Vitamin A	22
1.7.2.1.3. Askorbik Asit (C Vitamini)	23
1.7.2.2. Glutasyon (GSH)	25
1.7.2.4 Bakır (Cu) ve Çinko (Zn)	25
1.7.2.5 Demir (Fe) ve Magnezyum (Mg)	26
1.7.2.6. Diğer Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	27
2.GEREÇ VE YÖNTEM	29
2.1. Gereç	29
2.1.1. Çalışma Grubu	29
2.1.2. Kan Örneklerinin Alınması	29
2.1.3. Analizde Kullanılan Cihazlar	30
2.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
2.2. Yöntem	31
2.2.1. Eritrositlerin Analize Hazırlanması	31
2.2.2. Eritrosit Hemolizatında Hemoglobin Düzeyi Ölçümü	31
2.2.3. Plazma Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü	32
2.2.4. Eritrosit Hemolizatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Düzeyi Ölçümü	34
2.2.5. Plazma Askorbik Asit (Vit C) Düzeyi Ölçümü	36
2.2.6. Serum Bakır (Cu) ve Çinko (Zn) Düzeyi Ölçümü	37
2.2.7. Serum Demir (Fe) ve Magnezyum (Mg) Düzeyi Ölçümü	38
2.3. İstatistiksel Analizler	38
3.BULGULAR	39
4. TARTIŞMA	44
5. SONUÇ	53
ÖZET	54
SUMMARY	56
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ	74
TEŞEKKÜR	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
SR	Serbest Radikal
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
ATP	Adenozin Trifosfat
AST	Aspartat amino transferaz
ALT	Amino alanin transferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
·OH	Hidroksil Radikali
R·	Karbon Merkezli Radikaller Peroksi Radikali
RO·	Alkoksi Radikali
RS·	Thiyl Radikali
PBS	Salin Fosfat Tampon Çözeltisi
SOD	Süperoksit Dismutaz
O ₂ ^{-·}	Süperoksit radikal anyonu
SOR	Serbest Oksijen Radikali
NBT	Nitroblue Tetrazolium
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
TBA	Tiyobarbütirik Asit
TBARS	Tiyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler
MDA	Malondialdehit
TCA	Triklorasetik Asit
TBA	Tiyobarbütirik Asit
PO ₂	Kısmi Oksijen Basıncı
RES	Retiküloendotelial Sistem
PUFA	Poliansatüre Yağ Asitleri
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
Tf	Transferin

Tfr	Transferrin Reseptörü
AFR	Askorbat Serbest Radikali
DHA	Dehidroaskorbik Asit
Hb	Hemoglobin
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu
CH ₂	Metilen
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Mg	Magnezyum
Fe	Demir
Fe ⁺²	Ferröz
Fe ⁺³	Ferrik
MgCl ₂	Magnezyum klorür
-SH	Tiyol grubu
BOS	Beyin omurilik sıvısı
K ₃ Fe(CN) ₆	Potasyum ferrisiyanür
KCN	Potasyum siyanür
NaHCO ₃	Sodyum bihidrojen karbonat

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 1	Sigara Dumanındaki Kanserle İlişkili Kimyasal Maddeler	7
Çizelge 2	Sigara Dumanındaki Bazı Maddeler ve Etkileri	8
Çizelge 3	Kontrol ve deneme grubundaki kişilerin MDA ve SOD aktiviteleri ile vitamin C, Fe, Zn, Mg ve Cu miktarları	39

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1	Serbest Radikallerin Normal Koşullardaki Hücrede Oluşum Yerleri	10
Şekil 2	Serbest oksijen radikallerinin oluşumu	14
Şekil 3	Lipid Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu	16
Şekil 4	Askorbik Asidin Antioksidan Etkisi	24
Şekil 5	Plazma MDA düzeyi sonuçları	40
Şekil 6	Eritrosit SOD enzim aktivitesi sonuçları	40
Şekil 7	Plazma vitamin C düzeyi sonuçları	41
Şekil 8	Serum bakır miktarı sonuçları	41
Şekil 9	Serum çinko miktarı sonuçları	42
Şekil 10	Serum demir miktarı sonuçları	42
Şekil 11	Serum magnezyum miktarı sonuçları	43

1. GİRİŞ

1.1. TARİHÇE

Tütün, *Solanacea* (patlıcangiller) familyasında bulunan “*Nicotiana*” cinsine ait tek yıllık bir bitkidir. Bu cinse dahil yaklaşık olarak 65 tür bulunmakta iken bu türlerden sadece *Nicotiana tabaccum* ve *Nicotiana rustica* kültür türlerinin yaprakları sigara ve puro gibi tütün mamüllerinin yapımında kullanılır (Otan ve Apti 1989, Goodman 1995, Karafakoğlu 2004).

Tütün, Amerika kıtasında yerliler tarafından binlerce yıldan beri kullanılıyor olmasına rağmen uygar dünyanın tütünle tanışması Amerika'nın 1492 yılında keşfedilmesiyle olmuş, 1560 yılında nikotine adını veren Jean Nikot tarafından Fransa'da yetiştirilmeye başlanmıştır. Özellikle keyif verici etkisi ve solunum yoluyla kullanılması nedeniyle Avrupa'nın ilgisini çekmiş ve bağımlılık yapıcı etkisi çok hızlı olduğu için de çabucak yayılmıştır (Gür 1986, Yıldırım 2006).

Sigaranın 1800'lü yıllarda makinelerde sarılmaya başlaması ile sigara endüstrisi doğmuş ve böylece sigara bir sanayi ürünü olmuştur. Saatte binlerce sigara üretebilen makinelerin yapılmasıyla sigara üretiminde ve dolayısıyla tüketiminde de artış meydana gelmiştir (Yıldırım 2006).

1930'larda, kanser-sigara ilişkisi üzerine bilimsel çalışmalar yapılmaya başlanmış ve bu çalışmalar sonunda 1960' larda Amerika'da sigaranın sağlığa zararlı olduğu, kanser, hipotiroidi, kronik akciğer hastalığı ve kalp damar hastalıklarına yol açtığı resmen kabul edilmiştir (Harats ve ark 1989, Zhu ve ark 1996, Gazioğlu 1997, Ergün 1998, Fitzpatrick ve Blair 2000, Gülcü ve ark 2003).

Diğer yandan başta ABD olmak üzere gelişmiş devletler, sigaranın topluma maliyetinin çok ciddi boyutta olduğunun anlaşılmasıyla sigara endüstrisine karşı yasal düzenlemeler, sigara yasakları ve reklam kısıtlamalarına başlamış, yapılan araştırmalar ile sigaraya kişinin ödediği her 1 dolara karşın, sigaranın yol açtığı hastalıklar, iş gücü kayıpları, yangın ve kazalar, çevre kirliliği gibi nedenlerle topluma ve devlete 2 dolar ek maliyet yüklediği ortaya konmuştur (Yıldırım 2006).

1950 yılından sonraki 20 yıllık dönemde ABD' de 50 milyon kişinin sigarayı bıraktığı, sigara kullanımının % 45' ten % 25' lere düştüğü bilinmektedir. Çok uluslu sigara firmaları, gelişmiş ülkelerde ciddi boyutta pazar ve prestij kaybına uğramaya başladıktan sonra ülkemizin de içinde bulunduğu azgelişmiş ülkelere yönelmiştir. Ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafya, dünya tütün tüketiminde birinci sırayı almaktadır. Dünyada yaşı 15'in üzerinde olan 1.2 milyar kişi (her üç eriştikten birisi) tütün bağımlısı olup bunların % 80'ni geliştirmekte olan ülkelerdedir (Kaufman ve Yach 2000, Yıldırım 2006).

1.2. RAKAMSAL BULGULAR

Önlenebilir risk faktörleri arasında en başta gelen sigara, tüm dünyada en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Piyasa araştırmaları yapan bir şirket olan PİAR tarafından 1988 yılında yapılan ve tüm ülkeyi kapsayan bir araştırmaya göre, Türkiye'de 15 yaş üzeri erkeklerin % 62,8' i ve kadınların % 24,3' ü olmak üzere ortalama sigara içme oranı % 43,6' dır. Bu oran Avrupa ülkelerinde % 20, ABD'de ise % 19' dur (PİAR 1988, Altın ve ark 2004).

Gelişmekte olan ülkelerde sigaraya başlama yaşı 12-16'dır. Her gün dünyada 80-100 bin gencin tütün bağımlısı olduğu bildirilmektedir (World Bank 1999). 1999 yılında yapılan bir çalışmada, gelişmiş ülkelerde 13-15 yaşları arasındaki gençlerde sigara içme oranının % 10-33 arasında değişmekte olduğu gösterilmiştir (Warren ve ark 2000).

Ülkemizde her yıl sigaranın yol açtığı sağlık sorunlarının 70-100 bin kişinin ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir. Bu rakam trafik kazalarından ölümlerin 15-20 katıdır. Türkiye'de her gün beş otobüs dolusu insan sigara nedeniyle ölmektedir. Yılda ölen 100 bin kişiden 90 bini sigara kullanıcısı iken kalan 10 bini sigara içmediği halde, sigara içimine maruz kaldığı için ölmektedir. Bu sayının yarısını evde sigara içimine maruz kalanlar oluştururken, kalan 5 bin kişi işyerinde sigara içimine bağlı hastalıklardan hayatını kaybetmektedir. Ülkemizde her yıl 30-40 bin kişi akciğer kanserine yakalanmaktadır. Akciğer kanseri saptanan her 20 kişiden 19' unun sigara kullanıcısı olduğu düşünülmektedir (Gazioğlu 1997, Yıldırım 2006).

Her bir içici için akciğer kanseri riski miktara ve süreye bağlıdır. Günde yarım paket sigara içenlerde içmeyenlere göre akciğer kanseri olma riskinin 7 kat fazla olduğu ve bu oranın günde bir paket içenlerde 12 kat, iki paket içenlerde 25 kat artabildiği ayrıca tüm

ölümlerinin % 30'unun, kronik obstrüktif akciğer hastalığından (*KOAH*) ölümlerin % 75' inin, kalp hastalıklarından oluşan ölümlerin ise % 35' inin sigara nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Gazioğlu 1997, Hasan 1996).

Sigara konusunda yapılan araştırmalar fakirlik arttıkça ve eğitim düzeyi düştükçe daha çok sigara içildiğini göstermektedir. Diğer bir deyişle dünyada zenginlik ve eğitim düzeyi arttıkça sigara içme oranı azalmaktadır (Floyd ve ark 1993). Ancak Türkiye'nin de aralarında bulunduğu bazı ülkelerde tam tersi durum olmakta eğitim ve gelir arttıkça sigara içme oranı artmaktadır (Kauffmann ve ark 1989, Hill ve ark 1993, Güreş ve ark 1997, Webb ve ark 1998). Örneğin, bir araştırmaya göre lise mezunlarında sigara içme oranı % 28 iken, bu oran doktorlarda % 44, öğretmenlerde % 51 olarak tespit edilmiştir (Bilgiç 2006, Yıldırım 2006). Ülkemizde üç ilde yapılan çalışmalarda ise erkek öğretmenlerde sigara içme oranı % 51,3 ile % 83,1 arasında iken aynı oran kadınlarda % 16,9 ile % 54,0 arasında olduğu gözlenmiştir (Danacı ve ark 2000, Turgut ve ark 2001, Demirel ve ark 2004). Özkurt ve arkadaşları (2000) ile Salepçi ve arkadaşları (2004) tarafından bu konuda çalışmalar yapılmış ve sonucunda, hastane çalışanlarının sigara içim oranları sırasıyla % 48,0 ve % 36,9 olarak bulunmuştur.

Ayrıca ebeveynin ve yaşlılarının sigara içmesi, kişiler için özendirici rol oynamaktadır. Anne, baba veya kardeşleri tütün ürünleri kullanan bireyler, tütün ürünleri kullanılmayan ortamda yetişenlere oranla daha çok sigara ve benzeri ürünleri kullanmaktadırlar (Hops ve ark 1990, Oci ve Burton 1990, Cloyton 1991, Uğur 1994).

1.3. SİGARA İÇERİĞİNDEKİ ZARARLI MADDELER

Tütün ürünleri olan sigara, puro ve nargile yandığında 4000 kadar kimyasal madde ve partikül ortam havasına yayılmaktadırlar. Bunların 2000 tanesi insan vücudu için zehirli olan maddelerdir. 55 tanesinin ise kanser yapıcı olduğu bilinmektedir (Zhu ve ark 1996, Ergün 1998).

Sigara büyük miktarlarda toksik serbest oksijen radikalleri ($>10^{14}$ / sigara dumanı, ve $>10^{18}$ / mg- katran) içermektedir (Janoff ve ark 1987, Pryor ve Stone 1993).

Sigara dumanında karbonmonoksit yanında bazı zehirli ve kanserojen kimyasal maddeler de bulunmaktadır. Bunlar arasında kadmiyum (110 ng), çinko (60 ng), benzoik asit (14-28 µg), laktik asit (63-174 µg), anilin (360 ng), 2-toluidin (160 ng), 2-naftilamin (1,7 ng),

kolesterol (22 µg), formik asit (210-490 µg), asetik asit (330-810 µg), metil klorit (150-600 µg), 1,3-bütadien (69,2 µg), nikotin (tar) (1,0-2,5 mg), fenol (60-140 µg), karbonil sülfid (12-42 µg), toluen (100-200 µg), formaldehit (70-100 µg), akrolein (60-100 µg), aseton (100-250 µg), piridin (16-40µg), hidrojen siyanit (400-500µg), metilamin (11,5 – 28,7 µg) sayılabilir (Bilgiç 2006).

1.3.1. Karbonmonoksit (CO)

Karbonmonoksit, mangal ve soba zehirlenmelerinde ortaya çıkan zehirli bir gazdır. Her bir sigarayla 5-20 mg oluşan CO kana hızla difüze olarak hemoglobine (Hb) bağlanır ve Hb' nin oksijen (O₂) taşıma ve O₂' e bağlanma kapasitesini azaltır. Kaslarda miyoglobinle birleşerek yine O₂'nin yerini alır ve kasta anaerobik metabolizmanın kullanımını stimüle eder. Mitokondrilerde adenozin trifosfat (ATP) sentezini bozarak yağ asidi oluşumunu artırır. Özellikle akciğer arterlerinde genişletici etkisi vardır. (Zhu ve ark 1996, Gazioğlu 1997, Ergün 1998).

Kandaki toksik letal değeri % 20 COHb miktarıdır. Sigara içenlerde bu oran % 10 COHb sınırlarına ulaşarak hipoksi belirtilerinin ortaya çıkmasını sağlar. Eritrosit yapımı ve eritropoietin salgılanması bu yolla artar. Sigara içenin yanında bulunanlarda da COHb kanda % 3 kadar artar ki bu CO' in kanda bulunması gereken miktarın 8 katı kadardır (Kayaalp 1986, Ergün 1998).

1.3.2. Nikotin (Tar)

Nikotin 162.23 kDa moleküler ağırlığa sahiptir ve açık kimyasal ismi 3-(1-Metil-2-pirolidinil) piridin'dir. Nikotinin saf formu yüksek derecede zehirleyicidir ve insektisit olarak kullanılmaktadır (Goodman 1995, Hesse 2002)

Renksiz uçucu bir sıvı olan nikotin, sigara içimiyle alveollere ulaşarak hızla (% 60 kadar) absorbe olur. Bir sigara ile kana geçen miktar 1-2,5 mg kadardır. Nikotin, merkezi ve otonom sinir sisteminde asetilkolin reseptörleriyle birleşerek stimülan etki yapar, karaciğerde yakılarak kotin ve nikotin-N-oksit halinde idrarla atılır. Adrenalin ve noradrenalin salınımını artırmakta ayrıca dolaşım sisteminde kalp atışını artırıcı etki göstermektedir. Artan adrenalin

ve noradrenalin, hem sistolik hem de diastolik kan basıncında artışa neden olabilmektedir (Ergün 1998).

Sigara içimi ile alınan nikotin 7 saniyede beyin dokusuna ulaşır ve 15-20 saniyede tüm vücuda dağılır (Goodman 1995).

Nikotin, doku ve serumda kolesterol, fosfolipid, trigliserid ve trigliseritten zengin lipoprotein metabolizmasına etki ederken (Shakumary ve Vijagummal 1997), vitamin C ve vitamin E gibi antioksidanların plazma konsantrasyonlarını değiştirebilmekte, hem eser elementler ve antioksidanlar ile dokular arası ilişkiyi hem de serbest radikal savunma sistemlerinin elemanlarını etkilemektedir (Dubick ve Keen 1991).

Nikotinin mitokondrial solunum zincirini kırarak süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksit oluşumunu arttırdığı rapor edilmiştir (Zhi-Zhong ve ark 2003). Ayrıca nikotinin sitokrom P450' nin monooksijenazlarınca yönlendirilen metabolizması, oksijene ihtiyaç duyar. Yüksek doz nikotin ve enantiomerlerin hücre içi metabolizması esnasında sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesi artarak serbest radikal oluşumuna neden olabilir (Newman ve ark 2002).

Ayrıca başlıca toksik etken olan nikotinin, deri ve mukozalardan emilebilen bir kimyasal madde olarak plazma proteinlerine % 5-20 oranında bağlanarak kanda önemli değişikliklere yol açabileceği ve oksidatif stresi artırarak antioksidan savunma duvarını yıpratıldığı saptanmıştır (Hodgson ve Fridowich 1975, Svenson 1987, Clara ve ark 2001).

İlginç olarak oksidan etkilerinin tersine Parkinson ve Alzheimer hastalığında nikotinin sağladığı yararın antioksidan mekanizmalar üzerinden olabileceği düşünülmüştür. Sigaradaki nikotinin Parkinson hastalığına karşı koruyucu bir etkisi vardır (Linert ve ark 1999, Soto-Otero ve ark 2002). Ratlarda yapılan çok sayıda çalışmada nikotin uygulamasının öğrenme ve bellek prosesleri üzerine yararlı etkilerine işaret edilmiştir (Zhi-Zhong ve ark 2003, Rezvani ve Levin 2001).

Nikotinin oksidatif stres ve nöral koruma üzerine olan etkileri uygulanan doz ve mekanizma açısından farklılık göstermektedir. Genel olarak yüksek doz nikotin nörotoksisite ve oksidatif stresi stimüle eder. Ancak düşük konsantrasyonda nikotin antioksidan özellik göstermekte ve nöral koruyucu etki açısından çok önemli bir rol oynamaktadır (Zhi-Zhong ve ark 2003). Düşük konsantrasyonda nikotinin oksidatif stresi engellemesi, lipid

peroksidasyonunu uyaran hidrojen peroksitin nikotin tarafından inhibisyonuyla açıklanmıştır (Crowley ve ark 2003, Guan ve ark 2003, Yıldız 2004).

1.3.3. Kanserojen Maddeler

Sigara içimiyle oluşan dumanda kanserle ilişkili, kanser yaptığı kesin belli olan 6 madde; 4-Aminobifenil (4,6 ng), arsenik, benzen (12-48 µg), krom, nikel (20-80 ng) ve vinilklorür'ün yanında 30 kadar da kanser yapma olasılığı olan madde bulunur (Kayaalp 1986, Aşut 1993, Zhu ve ark 1996, Gazioğlu 1997, Fitzpatrick ve Blair 2000).

Bu kanserojenler, solunum havasıyla partikül halinde solunduğunda üst solunum yolları (ağız, farenks, larenks), trakea, bronş ve bronşiolle çökerek solunum yolu epitelinde uyarıcı etkiyle hiperplazi gibi bazı kalıcı değişikliklere, sekresyon artışına ve obstrüksiyona neden olurlar. Daha sonra da kansere varan süreç başlamış olur. Bu süreç günlük içilen sigara sayısı, içme süresi, sigaraya başlama yaşı, sigaradaki katran / nikotin oranı ve sigarayı bırakma yaşıyla ilişkili olarak değişir (Wogt ve ark 1996, Zhu ve ark 1996).

Sigaradaki katran ayrı bir madde değildir. Sigara dumanının özel bir filtre üzerinde kalan bölümünün, su ve nikotin dışındaki parçasıdır. Katran, binlerce kimyasal maddeden oluşan karmaşık bir yapıdır ve bu kimyasal maddelerin çoğunun deney hayvanlarında kanser yaptığı bilinmektedir. “Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu” (IARC) tarafından yapılan incelemeler sonucu, kanserojen olduğu saptanan maddeler ve kanser yapıcı etkilerinin dereceleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Bilgiç 2006).

İnsanlarda kanserle nedensel ilişki olan maddeler:		
• 4-Aminobifenil		• Krom
• Arsenik		• Nikel
• Benzen		• Vinilklorür
İnsanlarda olası Kanserojen maddeler:		
• Benzo[a]piren		• Formaldehid
• Kadmiyum		• N-Nitrozodietilamin
• Dibenzo[a,h]antrasen		• N-Nitrozodimetilamin
İnsanlarda kanserojen olduğuna ilişkin yeterli ya da hiç veri olmayan, ancak deney hayvanlarında kanserojen oldukları konusunda yeterli veri bulunan maddeler:		
• Asetaldehid	• Dibenzo[a,h]piren	• N-Nitrozodi-n-propilamin
• Benzo[b]floranten	• Dibenzo[a,f]piren	• 4-[N-Nitrozometilamino]-1-[3-piridil]-1-butanon
• Benzo[j]floranten	• Dibenzo[a,i]piren	• NiNitrozometiltilamin
• Benzo[k]floranten	• Hidrazen	• N-Nitrozonornikotin
• Para-krezol	• Ideno[1,2,3-cd] piren	• N-Nitrozopiperidin
• DDT	• Kurşun (organik)	• N-Nitrozopirolidin
• Dibenzo[a,h]akridin	• 5-Metilkriken	• Orto-Toluidin
• Dibenzo [a,i]	• 2-Nitropropan	• N-Nitrozodi-n-butilamin
• 7 H-Dibenzo[c,g]	• Üreten karbazol	
• Dibenzo[a,e]piren	• N-Nitrozodietanolamin	

Çizelge 1. Sigara Dumanındaki Kanserle İlişkili kimyasal Maddeler (IARC)

1.3.4. Diğer Zehirli Maddeler

Sigara dumanında bulunan gazlar:

- Toksik olmayan gazlar: Azot (% 59), O₂ (% 13,4), CO₂ (20-40 mg, % 13,6)
- Toksik gazlar: CO(10-23 mg, % 3,2), Cl, SO₂, SO_e, NO₃, NHO₃, NH₃ (50-130 µg), NH₄, Asetaldehit v.b.

Tütün yandığında, ana akım ve yan akım denilen iki duman oluşur. Ana akım, sigara dumanı içe çekildiğinde, yanan sigara bölümünden oluşan ve tütün kitlesi içinden geçerek sigaranın ağız bölümünden dışarı çıkan dumandır. Yan akım dumanı ise sigaranın kendiliğinden yanarken oluşturduğu, havaya yayılan dumandır (Bilgiç 2006). Ana akım dumanın % 92-95'i gaz fazındadır ve 1 mL'de 0,3–3,3 milyar partikül içerir. Ortalama partikül çapı 0,2- 0,5 µm'dir, yani solunabilir düzeydedir (Behr ve Nowak 2002).

Sigara dumanı, gaz ve parçacık (partikül) olmak üzere iki bölümden oluşur ve bir çalışma odasında 20 µg /m³ olan parçacık düzeyi, odada sigara içildiğinde 200 µg/m³'e, yoğun sigara içilmesi durumunda ise 500-1000 µg/m³'e çıkabilmektedir (Bilgiç 2006).

Partikül fazı	Başlıca etki	Gaz fazı	Başlıca etki
Tar (katran)	Mutajenik/ karsinojenik	Karbon monoksit	Oksijenin hemoglobine bağlanmasını bozar
Nikotin	Doza bağımlı uyarıcı veya parasempatik N-kolinergik reseptörler üzerine depresör	Nitrojen oksitler	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Aromatik hidrokarbonlar	Mutajenik/ karsinojenik	Aldehitler	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Fenol	İrritan, Mutajenik/ karsinojenik	Hidrosiyanik asit	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Kserol	İrritan, Mutajenik/ karsinojenik	Akrolein	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
b-Naftilamin	Mutajenik/ karsinojenik	Amonyak	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Benzo(a)piren	Mutajenik/ karsinojenik	Nitrozaminler	Mutajenik/ karsinojenik
Katekol	Mutajenik/ karsinojenik	Hidrazin	Mutajenik/ karsinojenik
İndol	Tümör hızlanması	Vinil klorit	Mutajenik/ karsinojenik
Karbazol	Tümör hızlanması		

Çizelge 2. Sigara dumanındaki bazı maddeler ve etkileri (Behr ve Nowak 2002).

1.4. SERBEST RADİKALLER

Organizma normal işlevini sürdürürken ve bunun için oksijen kullanırken bazı atık maddeler ortaya çıkmaktadır. Bu maddelere serbest radikaller (SR) denir. Serbest radikaller ve oksidan maddeler, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran reaktif atom veya moleküllerdir. Kısa ömürlüdürler ve elektrik yükü olarak negatif, pozitif

yada nötr olabilmektedirler (Kavas 1989, Cheeseman ve Slater 1993, Halliwel ve ark 1995, Thomas 1995).

Serbest radikalde bulunan eşleşmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içinde başka bir elektronla spin paylaşmadığından bu radikaller, ekstra elektronları başka atomlara lokalize olana kadar yada elektron alıncaya kadar oldukça reaktiftirler. Bu reaktif maddeler, diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek onları da kararsız hale getirirler (Karafakoğlu 2004, Thomas 1995).

Serbest radikaller yaşam süreleri çok kısa olmasına karşın, yüksek aktiviteleri nedeniyle organizmada yüksek düzeyde tahrip edicidirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile temizlenme hızı arasında denge olduğu sürece, organizma bundan etkilenmemektedir. Bu denge bozulduğunda, oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır. Bunun sonucunda, hücrel metabolizma işleyişi bozulur, oluşan moleküler yıkım ile kalp, böbrek, karaciğer, mide, akciğer, beyin gibi bir çoğu yaşamsal öneme sahip organlarda doku hasarı meydana gelir (Freeman ve Crapo 1982, Reilly ve ark 1991, Thomas 1995, Aslan ve ark 1997).

1.4.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Kaynaklar

Serbest radikal oluşturan kaynaklar, endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

1.4.1.1. Endojen Kaynaklar

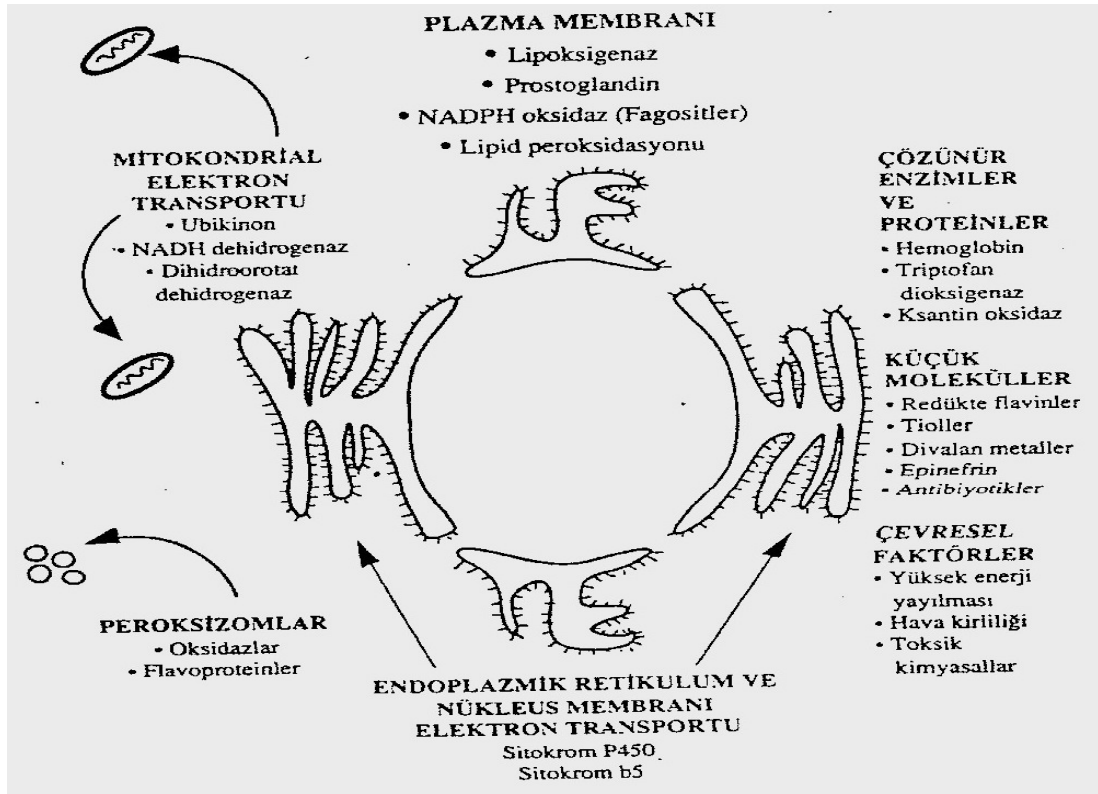
Organizmada çoğu fizyolojik olay sırasında küçük miktarlarda serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Bunlar antimikrobiyal savunma, sinyal iletimi gibi işlevlerde rol oynadıktan sonra antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilirler. Hücrenin tüm bileşenleri radikal oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Özellikle mitokondriyel elektron transport zinciri endojen kaynaklı radikallerin oluştuğu en önemli yerdir (Bagasa 1990, Hinder ve Stein 1991, Kargın ve Fidancı 1997).

Mitokondriyel solunum zinciri sırasında NADH ve FADH₂ gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması olayında, solunum zinciri taşıyıcılarının

indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır (Freeman ve Crapo 1982, Basaga 1990, Akkuş 1995).

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Elektron transport sistemlerinin aktivitesi sırasında sadece oksijen türevi radikaller meydana gelirken, ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında ek olarak yüksek toksik özelliğe sahip karbon merkezli radikaller de meydana gelebilir. Nükleer membran kaynaklı radikaller özellikle DNA hasarına neden olabilirler (Fortune ve Word 1982, Halliwell 1987, Cheeseman ve Slater 1993, Akkuş 1995).

Peroxisomlar, önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Peroxisomlardaki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot -}$) üretmeden, bol miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimine sebep olurlar. Ancak katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir (Freeman ve Crapo 1982, Akkuş 1995).



Şekil 1. Serbest radikallerin normal koşullardaki hücrede oluşum yerleri (Basaga 1990)

1.4.1.2. Ekzojen Kaynaklar

Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında sigara, pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, alkol, güneş ışınları, stres, X-ışınları hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler en önemlileridir. Ağır bedensel aktivite de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikal oluşumunu artırmaktadır. (Kalyanamaran ve ark 1980, Freeman ve Crapo 1982, Slater 1984, Janoff ve ark 1987, Heffner ve Repine 1989, Rahman ve Macnee 1996, Norton ve ark 1998, Abdollahi ve ark 2004).

Kimyasal ve organik maddelerin yanması ile açığa çıkan özel maddelerin, radikallerin olası kaynakları ve taşıyıcıları olduğu ileri sürülmektedir. Sigara dumanı, akciğerlere alınan başlıca yanmış organik materyaldir. Sigara dumanı gaz fazının, invitro poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) otooksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir (Thomas 1995).

Sigara dumanındaki NO₂'nin ilk formu nitrik oksit, hemoglobinin hem demiri ile oldukça hızlı reaksiyon verir. Böylece eritrositlerde artan methemoglobin konsantrasyonu, bu kan hücrelerini oksidasyona predispoze hale getirir. (Thomas 1995)

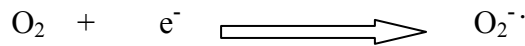
1.4.2. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve Reaktif Oksijen Türleri(ROS)

Organizmada gerçekleşen kimyasal tepkimelerin bazı basamaklarında oksijen indirgenmekte ve ara ürün olarak reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Bu ürünlerin oluşumuna neden olan etken maddelere "oksidan madde" adı verilmektedir (Dündar ve Aslan 2000).

Oksijenden oluşan serbest radikaller, biyolojik sistemlerdeki en önemli radikallerdir (Halliwell 1999). Bunlar oksijenin kendisi, hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil radikali ve geçiş metallerinin iyonlarıdır (Buechter 1988, Pal Yu 1994, Thomas 1995).

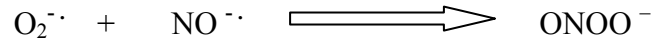
1.4.2.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktiviteleri sonucu oluşur.



Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alıp indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) oluşur. Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz adı verilen bir enzimle inaktive edilirler. Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte direkt olarak fazla zarar vermezken, asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyici olmasıdır (Ktebanoff 1980, Lehninger 1982, Akkuş 1995) .

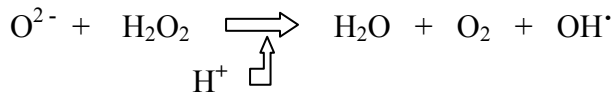
Süperoksit radikalının, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir (Akkuş 1995).



1.4.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki hidrojen atomu ile birleşmesi sonucu oluşur. Hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri arasında yer alır ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolayca yıkılabilir. Bu reaksiyona “ Haber-Weiss” reaksiyonu denir. Reaksiyon, katalizörsüz olarak yavaş ilerlerken Fenton reaksiyonunda demirle katalizlendiğinde 4000 kat hızlanmaktadır (Fortone ve Word 1982, Akkuş 1995).

- Haber-Weiss reaksiyonu



1.4.2.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, hidrojen peroksit'in geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) oluşabilir. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu da oluşur. Son derece reaktif bir oksidandır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlusudur. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur. Tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikal oluşumlarına sebep olur (Akkuş 1995).

- Fenton reaksiyonu

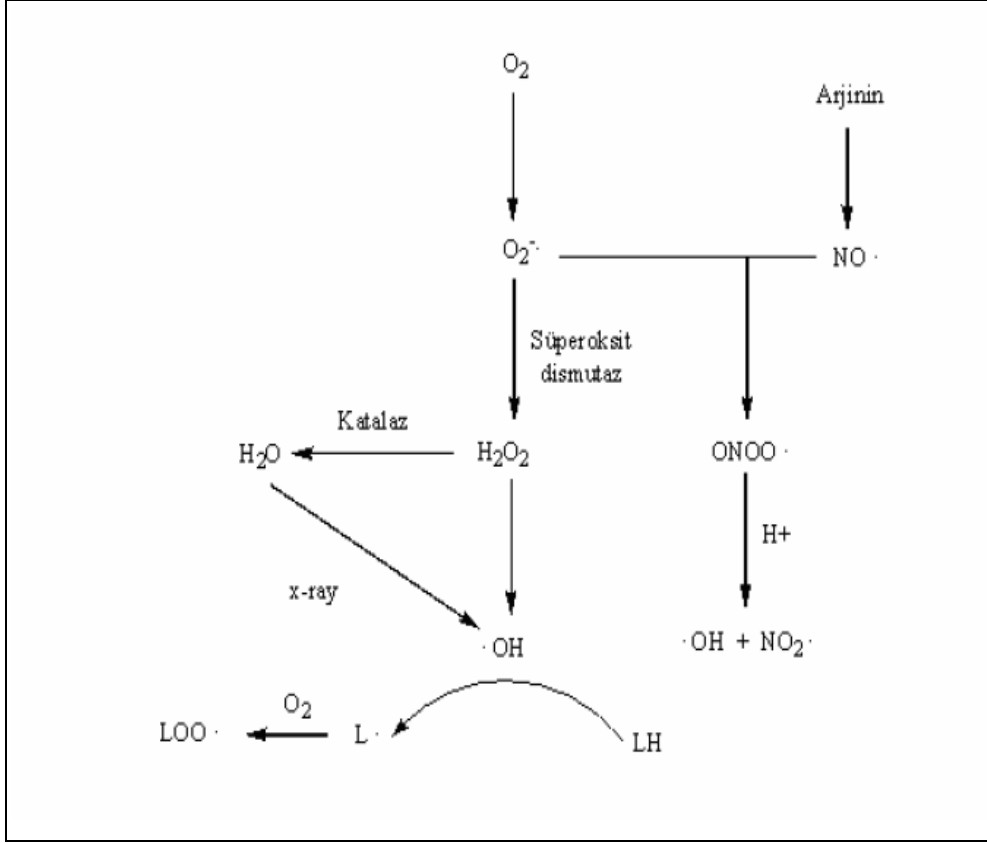


1.4.2.4. Singlet Oksijen

Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle karbon merkezli radikaller (R[•]), Peroksi radikalleri (ROO[•]), alkoksi radikalleri (RO[•]), thiyl radikalleri (RS[•]) gibi önemli serbest radikaller meydana gelir.

Oksijen elektronlarından birinin, enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale geçmesiyle oluşur. Serbest radikal reaksiyonları sonucu oluştuğu gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olabilmektedir (Ktebanoff 1980, Fortone ve Word 1982).

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu Şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil 2. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu (Stahl ve ark 2002)

1.5. SERBEST RADİKALLERİN ETKİLERİ

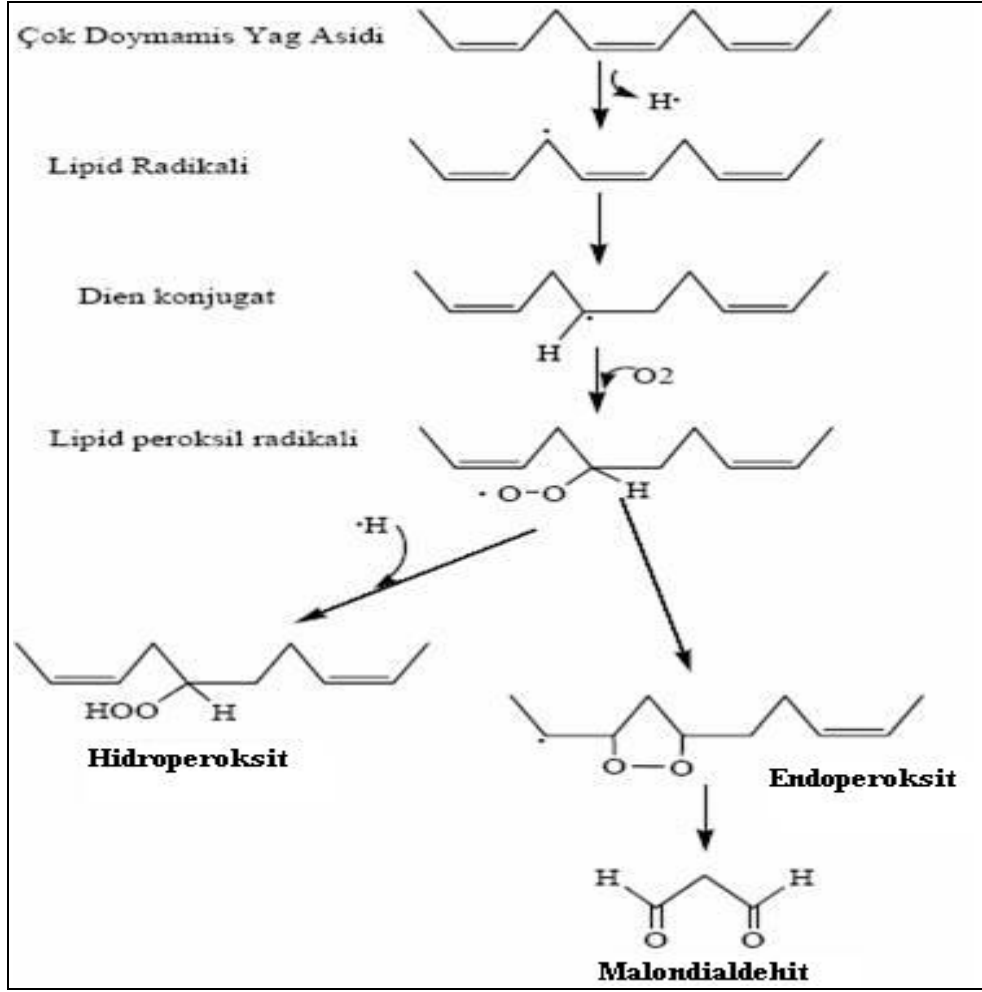
Vücutta serbest radikaller ile antioksidan savunma mekanizması arasında bir denge söz konusudur. Bu denge oksidanlar lehine bozulduğunda, serbest radikaller karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküller ile etkileşerek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olur (Cheeseman ve Slater 1993, Akkuş 1995, Gutteridge 1995).

Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonuna neden olmalarıdır. Biyolojik moleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirken en fazla zararı gören lipidlerdir. Tüm biyolojik zarlar, poliansatüre yağ asitleri ile zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlar ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eder. Lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanır (Gutteridge 1995, Murray ve ark 1996).

Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan hidroksil (OH[·])radikalinin membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. Reaksiyon OH[·] radikalini ortadan kaldırırken membranda “C” merkezli lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H[·] parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. (Nair ve ark 1986, Akkuş 1995, Gutteridge 1995).

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri de önemlidir. Glukoz, mannoz ve deoksi-şekerler otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonu, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agregasyona uğramalarına neden olurken, bazal membran kalınlaşmasıyla birlikte çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Halliwell 1994).

Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozomal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve primidin bazlarında mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlı iken süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (Halliwell ve Gutteridge 1984a, Halliwell 1994).



Şekil 3. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Murray ve ark 1996).

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit içeriklerine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren triptofan, fenil alanin, metiyonin, sistein gibi amino asitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Çünkü oksidatif protein hasarı, protein karbonil düzeylerindeki artış (Levine ve ark 1994, Reznick ve Packer 1994, Berlett ve Stadtman 1997, Evans ve ark 1999) ve protein tiol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir (Hu 1994, Bourdon ve ark 1999).

Reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asit kalıntısında ve/veya peptid yapısında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda protein karbonil ürünleri meydana gelir (Levine ve ark 1994, Reznick ve Packer 1994, Evans ve ark 1999).

Protein karbonil düzeylerinin saptanmasının oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Levine ve ark 1994, Reznick ve Packer 1994, Evans ve ark 1999).

1.6. MALONDİALDEHİT (MDA) OLUŞUMU

Lipid peroksidasyonunu başlaması için, bir lipid yapısına atak yaparak, metilen (-CH₂-) grubundan bir hidrojen atomu çıkartabilecek özellikte bir örneğin ortamda bulunması yeterlidir. Yapısında çift bağ bulundurmayan ya da bir tane olan yağ asitleri; bu ataklara, poliansatüre yağ asitlerine (PUFA) göre daha dirençlidirler. Buna rağmen membranların çoğu ve lipoproteinler, PUFA yan zincirleri içerirler (Halliwell ve Gutteridge 1999).

Malondialdehit, linolenik ve araşidonik asit gibi ikiden daha fazla çift bağ içeren poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında çok fazla miktarlarda oluşmaktadır. Ortam pH'sına bağlı olarak MDA çeşitli formlarda bulunur (Halliwell ve Gutteridge 1999).

Yağ asitlerinin peroksidasyonunda oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Porter 1984, Niki 1987, Placer ve ark 1990, Kalender ve ark 2002).

Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Lipid peroksidasyonu, biyolojik zarların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogenezinde önemli bir rol oynarlar (Bruce ve Crapo 1982, Köse ve Doğan 1992, Aleynik ve ark 1997).

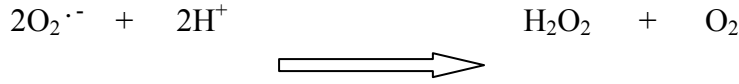
Malondialdehid sınıfından olan tiyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler (TBARS), lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerindendir (Gutteridge 1995).

1.7. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

1.7.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.7.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

İlk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1, EC-SOD) enzimi metalloenzim grubuna dahil bir enzimdir. Bu enzim, süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hücrelerdeki süperoksit düzeylerini kontrol etmede önemli rol oynar (Beckman ve ark 1973, Akkuş 1995).



Aerobik hücrelerde bulunan SOD, fizyolojik pH' da süperoksit radikalının hidrojen peroksite ve moleküler oksijene mutasyonunu, spontan dismutasyonla 10.000 kez daha hızlı katalizler (Bekerecioğlu ve ark 1998).

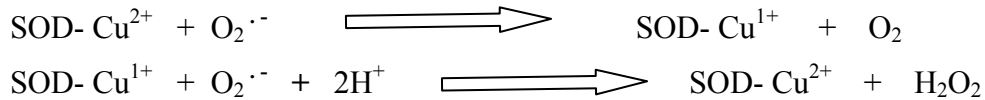
Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku kısmi oksijen basıncının (PO₂) artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD' un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (Beckman ve ark 1973, Kobayashi ve ark 1977, Akkuş 1995).

Kofaktör olarak içerdiği metal iyonu tipine göre SOD enzimi üç sınıfa ayrılır (Fridovich 1975, Asada ve ark 1980, Allen ve ark 1984).

İnsanda SOD'nin iki tipi bulunmaktadır. Bunlardan biri sitozolde bulunan, dimerik, bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren izomer (Cu-Zn SOD), diğeri mitokondride bulunan tetramerik mangan (Mn) içeren izomerdir (Mn-SOD). Prokaryotlarda bulunan ve demir (Fe) içeren bir izomeri daha vardır (Fe-SOD) (Marklund 1984).

Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alır ve birbirinin aynı olan iki alt ünitesi vardır. Her alt ünite bir Cu atomu, bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir asetilenmiş terminal amino grubu bulunduğu belirlenmiştir (Freeman ve Crapo 1982).

Süperoksit anyonu, Cu^{2+} ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu^{2+} a transfer olurken Cu^{1+} ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu^{1+} dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak hidrojen peroksidi oluştururken, enzim tekrar Cu^{2+} formuna dönmüş olur (Akkuş 1995).

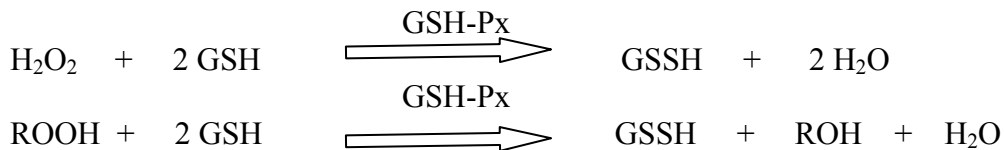


SOD fagozite edilmiş bakterilerin intraselüler olarak öldürülmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD, granülosit fonksiyonu için önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır. SOD aktivitesindeki genetik ya da sonradan meydana gelmiş değişiklikler ile hastalığa karşı hassasiyet ya da direncin birbiriyle ilişkili olabileceği kaydedilmiştir (Beckman ve ark 1973, Kobayashi ve ark 1977, Akkuş 1995).

1.7.1.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

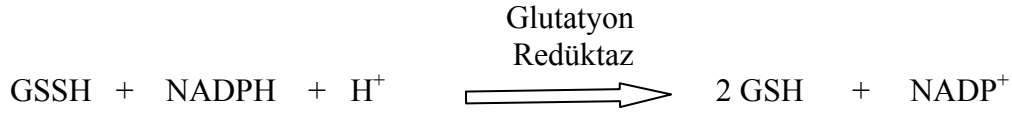
Glutatyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), molekül ağırlığı 84.000 dalton olup birçok dokuda bulunan tetramerik 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Protohem, enzimin prostetik grubudur (Wernes ve ark 1986, Akkuş 1995).

GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler (Akkuş 1995):



Peroksidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlarda hidrojen peroksit; askorbat, kinonlar ve sitokrom c gibi elektron akseptörleri olarak hareket eden bir çok maddenin zararına olacak şekilde indirgenir. GSH-Px, tamamlayıcı bir komponenti olan selenyumla birlikte E vitamininden sonra ikinci bir savunma hattı olarak, peroksitleri membrana zarar vermeden yok eder (Wernes ve ark 1986).

Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen GSSH, glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH' a dönüşür (Akkuş 1995).



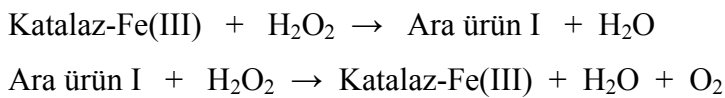
GSH-Px' in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre zararına yol açar (Cheng ve ark 1997).

GSH-Px; kemik iliği, timus, dalak, mezenterik lenf nodüllerini içeren temel retiküloendotelial sistem (RES) dokularında, eritrosit, trombosit, eozinofil ve makrofajlarda bulunur. Hücrelerde sitozolde yer alır ve bir fosfolipaz tarafından membran fosfolipidlerinden ayrılan yağ asidi hidroperoksitleri ve hidrojen peroksit üzerine etkilidir (Spallholz 1990, Cheng ve ark 1997, Ormancı 2003).

1.7.1.3. Katalaz

Katalaz enzimi 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Prostetik grup olarak yapısında Fe^{+3} içeren bir protoporfirin IX içerir. Mol başına 4 atom gram demir taşıdığı kabul edilir. Hidrojen peroksit (H_2O_2)' i oksijen ve suya parçalamakla görevlidir. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bir molekül H_2O_2 ' i elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilmektedir. (Percy 1984, Mayes 1993).

Katalazın reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir (Halliwell ve Gutteridge 1999):



Hayvan ve bitki dokularında katalaz büyük bir çoğunlukla yada tamamen peroksizomlarda lokalize olmuştur. Peroksizomlar; glikolat oksidaz, ürat oksidaz ve flavoprotein dehidrogenaz gibi H_2O_2 oluşturan hücresel enzimleri içermektedirler.

Karaciğerde bulunan mitokondriler, kloroplastlar ve endoplazmik retikulum çok az miktarda katalaz içermektedirler. Hayvan ve bitki dokularının homojenatlarında saptanan katalazın organel ile ilgili olmadığı, bunun homojenizasyon sırasında peroksizomların parçalanması ile olduğu saptanmıştır. İnsanlarda ise katalazı kodlayan gen, kromozom 11' de lokalize olmuştur ve bu genin mutasyonu sonucu akatalazemi oluşmaktadır. Bu ilk defa Japonlarda saptanmış olup, katalaz aktivitesinde siddetli bir eksiklik sonucunda, ağızda ülserasyon oluşmaktadır. (Halliwell ve Gutteridge 1999).

1.7.2. Moleküler Antioksidanlar

1.7.2.1. Vitaminler

Vitaminler, özel hücresel fonksiyonların yerine getirilmesinde vücudun eser miktarlarda gereksinim duyduğu organik bileşiklerdir. İnsanlarda sentezlenemediği için diyetle alınmak zorundadırlar ve çoğu vitamin protein ya da nükleik asit, enerji metabolizmasında koenzim olarak görev yapmaktadır (Champe ve Harvey 1997).

Antioksidan özellikli vitaminler; vitamin E, Vitamin C ve vitamin A' dır.

1.7.2.1.1. Vitamin E (α -tokoferol)

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır (Horwitt 1986, Ames ve ark 1993, Akkuş 1995).

Vitaminin yapısındaki fenolik hidroksil grubuna ait aromatik halka aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunurken, en yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. E vitaminini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (Rice–Evans ve ark 1991, Akkuş 1995).

Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutasyon peroksidaz, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin sentezini engeller. Vitamin E eksikliği sonucu oluşan hücresel hasarlara, lipid

peroksidasyonunun yol açtığı kabul edilmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1984b, Halliwell 1987).

1.7.2.1.2. Vitamin A

Vitamin A, suda erimeyen yağda ve organik çözücülerde eriyebilen bir vitamindir. Isıdan etkilenmezken ultraviyole ışınlar ve oksijene duyarlıdır. Sarı kristaller halinde olan vitamin A, karotinlerden meydana gelmiştir. A vitamininin öncül maddesi olan β -karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan etki yaptığı tespit edilmiştir. Vitamin E ile birlikte vitamin C sentezinde de görev alır (Akkuş 1995).

Karotenoidler, konjuge çift bağ açısından oldukça zengindirler ve teorik olarak düzenli mono ve poli cis izomerleri oluşturabilmektedir (Hughes ve ark 2000). Karotenoidler doğal renkli pigmentler olup sayıları 600'ün üzerindedir. Bunların yaklaşık olarak 24 kadarı insanlar tarafından gıdalar ile birlikte alınmaktadır (Di Mascio ve ark 1989, Clinton 1998). Bir karotenoid olan likopen, potansiyel bir antioksidan maddedir ve lipidler, LDL-kolesterol ile DNA üzerinde serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapmaktadır (Di Mascio ve ark 1989, Clinton 1998, Sampson ve ark 1996, Agarwal ve Rao 1998).

Vitamin A'nın görme olayındaki fonksiyonu dışında, mukopolisakkarit sentezinde rol almak suretiyle mukus salgısını stimüle ettiği, karbonhidrat metabolizmasında asetat, laktat ve gliserolden glikojen biyosentezinde ve glukokortikosteroidlerin sentezinde görev aldığı bilinmektedir. Ayrıca vitamin A, vitamin E ile birlikte vitamin C sentezinde de rol almaktadır (Bayşu ve Çamaş 1995).

Retinol (vitamin A) canlılarda görme ve üreme fonksiyonlarının yanısıra epitel dokunun diferansiyasyonunda rol oynar. Vitamin A yetmezliğinde epitelyal hiperkeratoz ve müköz membranlarda skuamöz metaplazi görülmektedir; bu açıdan birçok çalışmada antikanser aktivitesi araştırılmıştır (Goodman 1984, Watson ve Leonard 1986). Malign transformasyonu engelleyici, tümör progresyonunu yavaşlatıcı ve immunitiyi arttırıcı etkileri vardır (Sporn ve Roberts 1983, Lippman ve ark 1987).

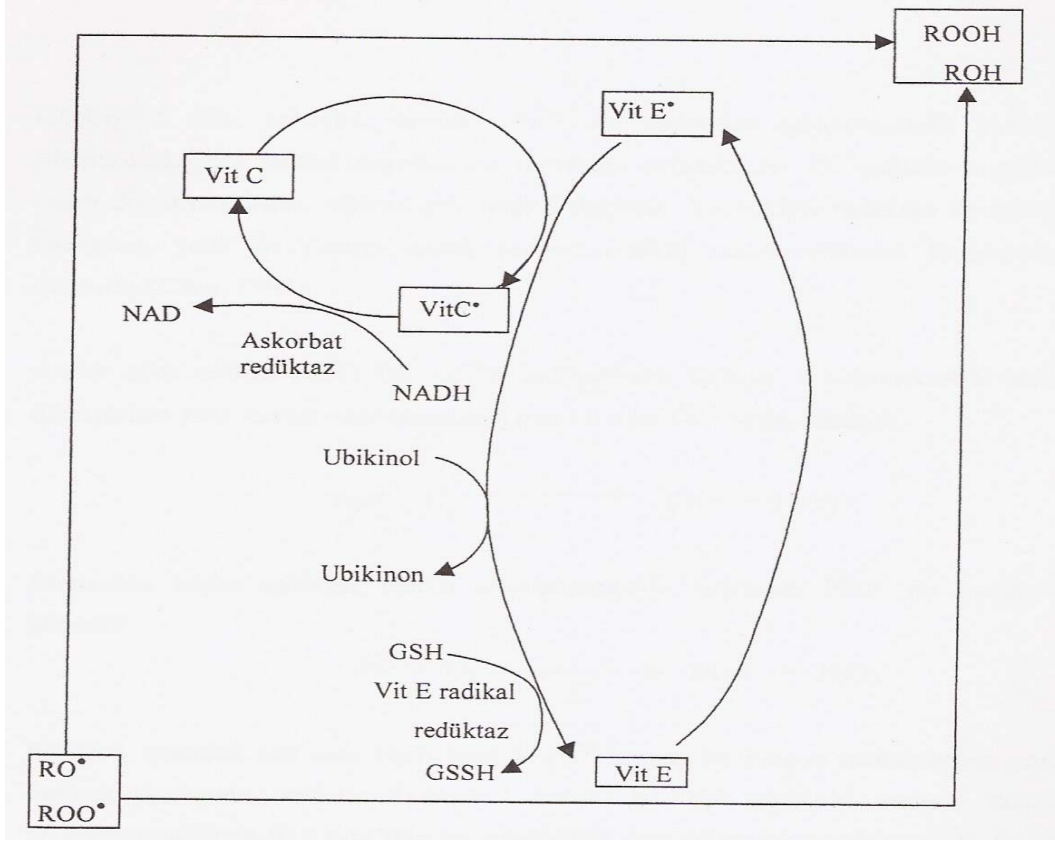
1.7.2.1.3. Askorbik Asit (C Vitamini)

Vitamin C 1933 yılında Gken King tarafından limondan izole edilmiştir. Kimyasal yapısı monosakkaritlere benzer ve 6 karbon atomlu lakton şeklindedir. İkinci ve üçüncü atomları arasında yerleşmiş enediol yapısının metabolizmada hidrojen vererek dehidro hale dönüşmesi özelliği ile indirgeyici bir molekül olarak görev yapmaktadır (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Saf askorbik asit katı halde beyaz kristal yapısında ve suda çok çözünen bir bileşiktir. Bitkiler ve hayvanların çoğu, askorbatı glukozdan sentezleyebildikleri halde, insanlar, diğer primatlar ve yarasalar C vitaminini diyetle almak zorundadırlar. C vitamininin, hem sitozolik ve hem de hücre bileşenlerinin membranlarını oksidatif hasardan koruduğu saptanmıştır. C vitamini, sitozolde hücresel metabolizma sırasında üretilen serbest radikalleri temizlemeden de primer antioksidan görevini yapmaktadır. Hücresel membranlarda ise, α -tokoferol radikallerini, α -tokoferole dönüştürerek indirekt antioksidan bir rol üstlenir. α -Tokoferol döngüsünün askorbat yoluyla oluşumu, lipozomlar ve hücresel organellerde saptanmıştır (Levin 1986, Chen ve Thacker 1987, Barber ve Haris 1994, Halliwel ve Gutteridge 1999, Naidu 2003).

Bu konuda yapılan son çalışmalarda, eritrosit membranlarında ve intakt eritrositlerde de α -tokoferol dönüşümünü sağladığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Eritrositlerde yapılan çalışmalarda, askorbatın direkt olarak plazma membranına antioksidan olarak etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, elektronlarını vererek, eritrositlerde ve nukleusu bulunan hücrelerde membranda elektron transfer aktivitesinin değişimini sağlamaktadır (Young ve ark 1992, Halliwel ve Gutteridge 1999, May 1999, Garg ve ark 2000).

Askorbik asit, peroksit radikalinin neden olduğu lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan etkisini, hidrojen atomunu vererek göstermektedir. Askorbat, redoks reaksiyonları sonucunda bir ya da iki elektronunu vermektedir. Fizyolojik pH'larda askorbatın % 99'u monoanyon formdadır. İlk elektronu kaybetmesiyle serbest askorbat radikali (ascorbate free radical, AFR) oluşur. AFR, askorbattan çok daha fazla indirgeyici ajan olmakla birlikte, halkadaki üç tane oksijen atomu ile rezonans yoluyla stabilize edilmektedir. Ferriksiyenid ve EDTA gibi ılımlı oksitleyici ajanlar, AFR' den bir elektron daha çıkararak onu dehidroaskorbik aside (DHA) dönüştürürler (Chan 1993, Halliwel ve Gutteridge 1999).



Şekil 4. Askorbik asidin antioksidan etkisi (Chan, 1993)

Askorbatın in vitro antioksidan özelliklerinden bazıları; $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , suda çözünen peroksil (RO_2^{\cdot}) radikalleri, oksisülfür radikalleri, NO^{\cdot} radikalleri, singlet O_2^{\cdot} nin ve O_3^{\cdot} nun güçlü bir temizleyicisi olması, urat üzerinde OH^{\cdot} veya RO_2^{\cdot} radikallerinin atakları ile oluşan radikal hasarlarını önlemesidir (olasılıkla urat radikalleri ile reaksiyona girerek) (Halliwell ve Gutteridge 1999).

Ayrıca Hemoglobin- veya myoglobin- H_2O_2 karışımlarının indüklediği lipid peroksidasyonu inhibe etmesi ve bazı ilaçların (örn; fenilbutazon) oluşturduğu radikalleri temizlemesi ile oksidatif hasarı inhibe etmesi olarak özetlenebilir (Halliwell ve Gutteridge 1999).

1.7.2.2. Glutatyon (GSH)

Tripeptit yapısında olan glutatyon (GSH), genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan karaciğerde sentezlenirken, aminoasit transportu, peroksit metabolizması, iskelet –kas

bütünlüğü ve çoğu enzim aktivitelerinin düzenlenmesinden sorumludur (Akkuş 1995, Sen 1995, Şaşmaz 1997, Ormancı 2003).

GSH, hemen hemen tüm hücrelerde ve doğada az yada çok bulunur ve glutamat, sistein ve glisinden oluşur. Ayrıca yapısında bir tiyol grubu (-SH) ve bir glutamil bağlantısı içerir (Meister ve Anderson 1983, Shan ve ark 1990).

En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da O₂'nin direkt etkisiyle hızla aktivitelerini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup diğer tiyol gruplarını indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar (Akkuş 1995).

1.7.2.4 Bakır (Cu) ve Çinko (Zn)

Bakır (Cu), organizmada bulunan ve bazı enzimlerin yapısında yer alan esansiyel bir eser elementtir. Diyetle alındıktan sonra duodenumdan amino asitler ya da küçük peptitlerle birleşerek absorbe olur. Mukoza hücrelerinden kana geçerek albumine bağlanır. Bakır-albumin kompleksi karaciğere taşınır ve seruloplazmin olarak plazmaya geri salınır (Marceau ve Aspin 1973, Gutteridge ve Stocks 1981, Toplan ve ark 2003).

Bakır iyonları serbest radikal hasarının ortaya çıkmasında katalizör rol oynar (Halliwell ve Gutteridge 1984a). Bakırın indüklediği oksidatif hasar genellikle yüksek derecede reaktif olan OH[•] radikalinin oluşumuyla gerçekleşir. Bu oluşum dokulara hasar veren lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (Gaetke ve Chow 2003, Toplan ve ark 2003).

Erişkin sağlıklı bir kişide serum bakır düzeyinin normal değeri 65-165 µg/dL' dir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/56-1-4-11.ppt>).

Çinko(Zn) ise, organizmadaki birçok enzimin işleyişinden sorumludur. Süperoksit dismutaz enziminin yapısında bakır oranında çinko vardır. Plazmada serbest halde bulunan bu element, SOD enziminin kofaktörü durumundadır ve biyolojik moleküllere bağlanarak demir ve bakırın bağlanmasını ve dolayısıyla oluşabilecek oksidatif hasarı önlemektedir (Khaled ve ark 1997, Seymen ve ark 1999).

Çinko vücutta depolanmaz. Plazmadaki çinko konsantrasyonu 15 µmol/L'dir ve bunun % 84'ü albumine, % 15'i α2-makroglobuline ve % 1'i amino asitlere bağlı olarak taşınır. Kandaki çinkonun % 80'i eritrositlerdeki karbonik anhidraz enzimi içerisinde, %3'ü lökositlerde ve az miktarda da trombositler içerisinde (Tapiero ve Tew 2003).

Serum plazmaya kıyasla % 16 daha fazla çinko içerir. Çinkonun serum ortalama değeri 95 ± 14 µg/dL olarak belirtilmiştir (Smith ve ark 1985). Günlük çinko gereksinimi, ilk 6 ayda 3 mg/gün, 6-12 ayda 5 mg/gün, 1-10 yaşta 10 mg/gün, erişkinlerde 15mg/gün, hamilelerde 20 mg/gün, emziren annede 25 mg/gün'dür (Saner 2002).

1.7.2.5 Demir (Fe) ve Magnezyum (Mg)

Vücutta bulunan total demirin (3-4 g) % 70'i sirkülasyonda eritrositler içinde hemoglobin şeklindedir. Total demirin % 25'inden fazlası makrofajlarda, karaciğer, dalak ve kemik iliğinde depolanmıştır. Kemik iliği demiri, hemoglobin (Hb) sentezi için gereklidir. Demir, hem grubunda ferröz (Fe⁺²) ve ferrik (Fe⁺³) yapısında bulunur. O₂, bu heme grubu tarafından taşınır. O₂'ye bağlanmış hemoglobin oksihemoglobin adını alır. Ferritin ve hemosiderin ise demirin hem'siz olan depo şeklidir (Adam 2000, Gözükara 1997).

Serum demir düzeyinin normal değerini insanlarda 90-120 µg/dL' dir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/56-1-4-11.ppt>).

Proteinlere ve kuvvetli şelatlarla bağlanamayan serbest demir, hücre ve dokuları hasara uğratan serbest radikal reaksiyonlarını katalizlediğinden toksik olarak kabul edilir (Champe ve Harvey 1997). Transferrine bağlı demir, serbest radikal hasarına katılmazken serbest demir radikal hasarını hızlandırır (Halliwell ve Gutteridge 1990, Sies 1991).

Bağlı olmayan demirin, serbest oksijen radikallerinin – özellikle H₂O₂ 'nin yüksek derecede reaktif hidroksil radikallerine dönüşümü- oluşumunu artırdığı ileri sürülmüştür. Oksijen radikallerinin oluşumunun artması LDH'ın oksidasyonuna yol açar (Antebi ve ark 1996, Champe ve Harvey 1997).

Deneysel çalışmalarda, aşırı demir yüklenmesi ile oluşturulan oksidatif hasarın karaciğer üzerine yaptığı biyokimyasal değişiklikler incelenmiş ve sonuç olarak; hasar oluşturulan tavşan karaciğerlerindeki AST (Aspartat amino transferaz), ALT (Amino alanin transferaz) ve

LDH (Laktat dehidrogenaz) aktivite düzeylerinin, kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir (Akdoğan ve ark 2004).

İnan ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada (1998); antioksidan uygulamalarının, aşırı demir yüklemesi sonucu oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerini gözlemişlerdir.

Günlük gereksimi 0.2 - 0.3 g olan magnezyum, diyetle alındıktan sonra mide asidi etkisi ile MgCl₂ (magnezyum klorür) halinde emilir. Tüm vücutta 20 g kadar magnezyum bulunur. Bunun % 70'i kemiklerde, % 30'u ise yumuşak doku ve vücut sıvılarında bulunur. Vücut sıvılarındaki, magnezyumun 2-3 mg/dL'si kanda, 3mg/dL 'si ise beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunmaktadır. Plazmadakinin 1/3'ü proteine bağlı haldedir (Adam 2000).

Erişkin sağlıklı bir insanda serum magnezyum düzeyinin normal değeri 1,7-3,0 mg/dL' dir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/56-1-4-11.ppt>).

Metabolik olarak aktif olan serbest magnezyum formunun fonksiyonları; ATP kullanan enzimlerin kofaktörü olması, fosfataz, fosforilaz, enolaz ve fosfoglukomutaz gibi enzimlerin aktivatörü olması, Adenozin trifosfatı inhibe etmesi ve sinir sisteminin aşırı duyarlılığını azaltmasıdır (Adam 2000).

Kandaki miktarının artması sonucu anestezi özelliği yapmakta; eksikliğinde ise, aşırı duyarlılık, aşırı kemikleşme ve dokularda kireçlenme meydana gelmektedir. Atılımı ise idrar ve dışkı ile olmaktadır (Adam 2000).

1.7.2.6. Diğer enzimatik olmayan antioksidanlar

Bazı araştırmacılar serumdaki antioksidan aktivitenin başlıca, bakır taşıyıcı protein olan seruloplazmine bağlı olduğunu ileri sürmektedirler. Seruloplazmin, dolaşımda singlet oksijeni metabolize eden proteinlerden biridir (Akkuş 1995).

Transferin (Tf), demir taşıyan bir plazma proteindir. Bir glikoprotein olup karaciğerde sentezlenir. Transferin lokal olarak merkezi sinir sistemi (MSS) ve testislerde de üretilmektedir. Çeşitli polikasyonları (demir, bakır, çinko, kobalt, kalsiyum) bağlayabilmesine rağmen, fizyolojik olarak demir ve bakır taşınması önemlidir. (Adam 2000, Çoban ve ark 2004, Serteser 2004).

Ferritin, demir metabolizmasında önem taşıyan bir diğ er proteindir. Normal koşullarda bu protein, gereksinim duyulacağı zamana kadar demiri depolar. Karaciğ er, dalak gibi dokularda daha fazla ferritin bulunur. Ferritin yaklaşık % 23 demir içerir. Transferrin resept oru (TfR) ve ferritin sentezi hücre demir içeriğine bağlıdır. (Akkuş 1995, Turi ve ark 2004).

Bilirubin, mikromolar konsantrasyonlarda peroksil radikalini tutarak zincir kırıcı antioksidan olarak rol oynar (Krinsky 1988).

Ürat, normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksil radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Ayrıca C vitamininin oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır. Bunun yanı sıra lipit radikalleri üzerine etkisi yoktur (Akkuş 1995).

Sistein, süperoksit ve hidroksil radikalleri toplayıcısıdır (Akkuş 1995).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Çalışma Grubu

Hiçbir sağlık problemi olmayan, sigara dışında herhangi bir ilaç, vitamin, alkol ve benzeri madde kullanmayan, sigara kullanım süreleri 5-10 yıl arasında, günlük sigara içme adedi 15-30 arasında değişen, 25-45 yaş arasında 25 erkek ile çalışmanın deneme grubu oluşturuldu. Kontrol grubu için ise hayatı boyunca hiç sigara ve alkol kullanmamış yaşları 25-45 yaş arasında değişen 23 erkek seçildi.

2.1.2. Kan Örneklerinin Alınması:

Deneme ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden tüm kan örnekleri, 12 saatlik açlığı takiben ve kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur pozisyondayken alındı. Kan örneklerinin alınmasında, hem geniş hem de yüzeğe daha yakın olduğundan *antekübital fossadaki venler (median kübital ven ya da sefalik ven)* kullanıldı.

Her bireyden, herhangi bir antikoagülan maddeyi içermeyen bir tüpe ve bir de heparin içeren tüpe *venöz* kan örnekleri alındı. Tüpler, santrifüj (NF1200R, Nüve, Türkiye) cihazında 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Ayrılan serumlarda demir (Fe) ve magnezyum (Mg) düzeylerine aynı gün içinde bakılırken, bakır (Cu) ve çinko (Zn) analizleri için kalan serum örnekleri ependorf tüplerine aktararak -20°C' de analizin yapılacağı tarihe kadar saklandı.

Elde edilen plazmalardan askorbik asit (Vit C) ve malondialdehit (MDA) ölçümü aynı gün içinde yapıldı. Lökosit tabakası alınmış eritrositler Salin fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile üç kez yıkandı ve her defasında 3000 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Son yıkama ve santrifüj sonrasında dipte bulunan eritrositlerden 0,4 ml alınıp ependorf tüplerine aktarıldı ve üzerlerine eşit hacimde PBS (Salin fosfat tampon çözeltisi) ilave edilerek süperoksit dismutaz (SOD) analizinin yapılacağı güne kadar -20 °C' de saklandı.

Ayrıca analizler için kullanılan serum ve plazma örneklerinin hemolizsiz olmasına önem verildi.

2.1.3. Analizde Kullanılan Cihazlar

Analizler sırasında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan; Spektrofotometre UV-1601 (Shimadzu, Japonya), Ph metre pH 211 (Hanna, ABD), su banyosu BM 402(Nüve, Türkiye), santrifüj NF1200R (Nüve, Türkiye) cihazları ile otomatik pipetler (Eppendorf, Transpette) ve çeşitli cam malzemeler kullanıldı.

2.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizler sırasında kimyasal madde olarak; sodyum klorür (NaCl) (Merck, 6400), potasyum klorür (KCl) (Merck, 4935), disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck, 6580), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck, 4871), potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (Merck, 4971), potasyum siyanür (KCN) (Merck, 4965), sodyum hidrojenkarbonat (NaHCO_3) (Merck, 6323), Kloroform (Merck, 2431), absolut etanol (Merck, 0986), ksantin ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$) (Sigma, X- 0626), sodyum hidroksit (NaOH) (Merck, 6462), Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma, E-5513), Nitroblue tetrazolium (NBT) (Serva, 30550), sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck, 6398), sığır albümini (Sigma, A-4503), bakır klorür (CuCl_2) (Merck, 2733), ksantin oksidaz (Sigma, X-1875), amonyum sülfat (Merck, 1216), Triklorasetik asit (TCAA) (CCl_3COOH) (Merck, 0810), Tiyobarbitirik asit (TBA) (4,6-Dihidroksi-2-tiyoprimidin) (Sigma, T-5500), 1.1.3.3.Tetraetoksipropan ($\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{O}_4$) (Sigma, T-1642), n-Butanol (Merck, 0988), sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck, 6462), sülfürik asit (H_2SO_4) (Merck, 0713), L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) (Merck, 500074), okzalik asit ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) (Merck, 0495) kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Eritrositlerin Analize Hazırlanması

Enzim analizleri için kullanılan eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn ve ark (1975) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı.

Kullanılan ayıraçlar:

Salin fosfat tampon çözeltisi (PBS): 8,06 g sodyum klorür (NaCl) (138 mM), 0,201 g potasyum klorür (KCl) (2,7 mM), 1,15g disodyum hidrojen fosfat (NaHPO₄) (8,1 mM) ve 0,2 g potasyum hidrojen fosfat (KH₂PO₄) (1,47 mM) bir beherde çözüldükten sonra bidistile su ile bir litreye tamamlandı ve pH' sı 7,4'e ayarlandı.

Testin yapılışı:

Sigara içen ve içmeyen kişilerden heparinli tüplere alınan kan örnekleri önce 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Üstteki plazma ve lökosit tabakası otomatik pipet yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra tüpün dibine çökmüş olan eritrositler pastör pipeti yardımıyla alınarak PBS ile üç kez yıkandı. Her defasında 5'er dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Son yıkama ve santrifüj sonrası tüpte bulunan eritrositlerden 0,4 ml alınıp 1,5 ml hacmindeki kapaklı polietilen tüplere aktarıldı. Üzerlerine aynı miktar PBS ilave edilerek tüple alt üst edildi ve analiz yapılıncaya kadar derin dondurucuda -20 °C' de saklandı. Bu şekilde hazırlanan ve muhafaza edilen eritrositler analiz öncesi 5 ml hacmindeki deney tüplerine 3,2 ml buz soğukluğunda bidistile su konularak hemoliz edildi.

2.2.2. Eritrosit Hemolizatında Hemoglobin Düzeyi Ölçümü

Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin düzeyleri için ferrosiyanomethemoglobin metodu kullanıldı. (Tietz 1987).

Prensip:

Hemoglobindeki ferröz (Fe⁺²) formdaki demir, ferrisiyanür ve ferrik (Fe⁺³) formdaki demir ile oksitlenir ve potasyum siyanür eklenmesiyle stabil siyanmethemoglobine dönüşür.

Siyanmethemoglobinin 540 nm’ de ölçülen absorbansı hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kullanılan ayraçlar:

Drabkin Çözeltisi: 0,198 g potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$), 0,052 g potasyum siyanür (KCN) ve 1 g sodyum hidrojenkarbonat ($NaHCO_3$) bir litre bidistile suda çözülerek hazırlandı.

Testin yapılışı:

Test tüplerine 5 ml Drabkin çözeltisi ve üzerlerine eritrosit hemolizatlarından 20 µl eklendi. İyice karıştırıldı ve 10 dakikalık bekleme süresi sonunda Drabkin çözeltisine karşı spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okundu.

Sonucun hesaplanması:

$$\text{Yüzde inhibisyon} = \frac{\text{Absorbans} \times \text{Hb standardının konst.} \times \text{Dilusyon faktörü}}{\text{Hb standardının absorbansı} \times 1000}$$

2.2.3. Plazma Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

Plazma malondialdehit düzeyi ölçümünde Yoshioka ve ark (1979) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı.

Prensip:

Tiyobarbütirik asit (TBA) tepkimesinde; lipid içerik düşük pH’ da TBA varlığında ısıtılır ve 532-535 nm’ de maksimum pik oluşturan kırmızı-pembe renk elde edilir. Bu rengi bir MDA molekülü ve iki TBA molekülünün birleşmesiyle oluşan kromojen verir. MDA’ nın bir kısmı peroksidasyon sırasında açığa çıkarken, büyük bir kısmı ise ortam asitleştirildikten sonra uygulanan ısıtma aşamasında lipit peroksitlerinin yıkımına bağlı olarak oluşmaktadır.

Kullanılan ayıraçlar:

% 20 Triklorasetik asit: 200 g Triklorasetik asit (TCAA) (CCl_3COOH), bidistile su ile balon joje içerisinde çözülerek hacim bir litreye tamamlandı.

% 0,67 Tiyobarbütirik asit: 1,675 g Tiyobarbütirik asit (TBA) (4,6-Dihidroksi-2-tiyoprimidin), bidistile su ile balon joje içerisinde çözülerek hacim 250 ml' ye tamamlandı.

Tetraetoksipropan standart çözeltisi (20 mmol/L): 0,494 ml 1.1.3.3. Tetraetoksipropan ($\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{O}_4$), bir beher içerisinde 100 ml absolut etanol ile eritilerek 20 mmol/L' lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,1 ml alınarak bir balon jøjeye aktarıldı ve 100 ml'ye tamamlanarak 20 $\mu\text{mol/L}$ 'lik çalışma standart çözeltisi elde edildi.

n-Butanol: Analiz saflığında kullanıldı.

Testin yapılışı:

Test tüplerine sırasıyla plazma örneklerinden 125 μl kondu ve daha sonra sırasıyla her bir tüpe % 0,67' lik TBA çözeltisinden 250 μl ve % 20' lik TCA çözeltisinden 625 μl ilave edildi. Kör tüpe ise sadece % 0,67' lik TBA çözeltisinden 250 μl ve % 20' lik TCA çözeltisinden 625 μl ilave edildi. Daha sonra bir beher içerisinde 95 °C' de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sonunda numuneler buzlu suda soğutuldu ve kör tüp ile test tüplerine 1 ml n-butanol ilave edildi. Tüpler çalkalanıp 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında, üstte kalan kısımların absorbanları spektrofotometrede 535 nm de okundu.

Sonucun hesaplanması:

20 $\mu\text{mol/L}$ ' lik 1.1.3.3. Tetraetoksipropan çalışma standart çözeltisi ile 1,2,4,5,10 $\mu\text{mol/L}$ ' lik dilüsyonlar hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak MDA değerleri $\mu\text{mol/L}$ plazma olarak hesaplandı.

2.2.4. Eritrosit Hemolizatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Düzeyi Ölçümü

Eritrosit hemolizatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve ark (1988) tarafından geliştirilen bir yöntemle ölçüldü.

Prensip:

Reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyon ile üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesinin, numunede bulunan SOD tarafından engellenmesi prensibine dayanır. Yöntem de süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikallerinin, nitrobluetetrazolium (NBT) ile reaksiyona girerek bu maddeyi indirgemesi sonucunda, maksimum absorbandsını 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen radikalleri dismutasyona uğratması nisbetinde, NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometre de okunan absorbands değeri düşer. Dolayısıyla, formazon oluşumunun inhibisyonunun tayin edilmesiyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Kullanılan ayıraçlar:

Kloroform: Analiz saflığında kullanıldı.

Absolut etanol: Analiz saflığında kullanıldı.

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi: 8.06 g Sodyum klorür (NaCl), 0,201 g potasyum klorür (KCl), 12.636 g disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 0,2 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) bir beher içerisinde bir litre tridistile suyla çözüldü ve pH 7.4' e ayarlandı.

Ksantin stok çözeltisi (3 milimol/L): 23 mg ksantin ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$) 50 ml' lik bir balon joje içerisinde 5 ml 0,1 N NaOH ile hafifçe ısıtılarak çözüldü. Daha sonra distile su ile hacim 50 ml' ye tamamlandı ve kullanılırken 10 kez sulandırıldı.

Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) çözeltisi (0,6 milimol/L): 0.249 g EDTA (dihidrat), bir litrelik balon joje içerisinde distile su ile çözümlenerek hacim bir litreye tamamlandı.

Nitroblue tetrazolium çözeltisi (NBT) (150 milimol/L): 12,3 mg NBT 100 ml' lik nir balon joje içerisinde distile su ile çözülerek hacim yine distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

Sodyum karbonat çözeltisi (400 mikromol/L): 4,2 g sodyum karbonat (Na_2CO_3), distile su ile bir balon joje içerisinde çözüldü ve hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Sığır albümini çözeltisi (1g/L): 100 mg sığır albümini 100 ml' lik balon joje içerisinde çözüldü ve hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

Bakır klorür çözeltisi (0,3 milimol/L): 10.7 mg bakır klorür (CuCl_2) bir balon joje içerisine kondu ve hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlandı. Kullanılacak zamana kadar + 4 °C' de saklandı.

Ksantin oksidaz enzim çözeltisi: 20 U/ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 20 µmol alındı ve 2 ml 2 M amonyum sülfat çözeltisi ile karıştırıldı.

Reaktif karışımı: 20 tüplük bir seri analiz için 100 ml' lik bir erlen içerisinde 20 ml 10 kez sulandırılmış ksantin stok çözeltisi kondu. Üzerine 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml sodyum karbonat çözeltisi ve 3 ml sığır albümini çözeltisi ilave edilerek iyice karışmaları sağlandı.

Testin yapılışı:

Kör ve test tüplerine 2,45 ml reaktif karışımı kondu. Kör tüpüne 0,5 ml bidistile su ilave edildi. Eritrosit hemolizatından 1 ml alınıp üzerine 0,3 ml kloroform ve 0,5 ml etanol ilave edilerek 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan berrak kısımdan 0,5 ml alınarak test tüpüne kondu. Daha sonra tüplere 50 µl ksantin oksidaz enzim çözeltisi konularak karıştırıldı. 20 dakika 25 °C'lik su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüplere 1 ml CuCl_2 eklenerek reaksiyon durduruldu. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometre' de 560 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

Sonucun hesaplanması:

Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak her bir numunede bulunan enzimin meydana getirdiği yüzde inhibisyon hesaplandı.

$$\text{Yüzde inhibisyon} = \frac{\text{Körün absorbanısı} - \text{Testin absorbanısı}}{\text{Körün absorbanısı}} \times 100$$

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden aktivite olarak kabul edilmektedir. Reaksiyon ortamında bulunan enzim aktiviteleri, bu ünite cinsinden hesaplandı ve U/mgHb olarak değerlendirildi.

2.2.5. Plazma Askorbik Asit (Vit C) Düzeyi Ölçümü

Plazma askorbik asit düzeyi ölçümü Kway (1978) tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirildi.

Prensip:

Fosfotungstik asitin proteinleri çöktürdükten sonra askorbik asit ile reaksiyona girerek renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan rengin yoğunluğu, askorbik asit konsantrasyonu ile orantılıdır.

Kullanılan ayıraçlar:

Renk ayıracı: 20 g sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 10 g disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bir erlene aktarıldı. Isıtılarak 30 ml distile suda eritildi. Başka bir beherde 15 ml distile su ve 5 ml sülfürik asit (H_2SO_4) karışımı hazırlandı. Hazırlanan ilk çözelti 250 ml' lik bir kaynatma balonuna alınarak üzerine su + sülfürik asit karışımı küçük porsiyonlar halinde ve devamlı karıştırılarak ilave edildi. 70 °C de 2 saat geri soğutmalı ısıtıcıda kaynatıldı. Oda ısısında soğutuldu.

Askorbik asit stok standart çözeltisi (50 mg/dL): 50 mg L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 100 ml % 0,5 'lik okzalik asit ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) solüsyonu ile eritildi.

Askorbik asit çalışma standart çözeltisi (1 mg/dL): Stok standart çözeltisinden 1 ml alındı ve % 0,5 'lik okzalik asit solüsyonu ile 25 ml' ye tamamlandı.

Testin yapılışı:

Kör ve standart tüplerine sırasıyla 2 ml distile su, 2 ml çalışma standardı kondu. Test tüplerine ise 2 ml plazmalardan kondu. Daha sonra tüm tüplere 2' şer ml renk ayırıcı ilave edildi. Tüpler karıştırılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi. Tekrar karıştırıldıktan sonra 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Spektrofotometrede 700 nm' de köre karşı standart ve test tüplerinin absorbansları okundu.

Sonucun hesaplanması:

Aşağıdaki formülden yararlanılarak plazma askorbik asit düzeyi mg/dl olarak hesaplandı.

$$\text{Vitamin C (mg/dL)} = \frac{\text{Testin absorbansı}}{\text{Standartın absorbansı}} \times \text{Standartın konsantrasyonu}$$

2.2.6. Serum Bakır (Cu) ve Çinko (Zn) Düzeyi Ölçümü

Serum bakır miktarının ölçümü, serüloplazmine bağlı olan bakırın pH 4.7' de bir indirgeyici tarafından serbest bırakılmasından sonra spesifik bir renk ayırıcı ile (4-(3,5 di bromo-2 –piridilazo)-N-etil anilin) reaksiyona girerek renk oluşturması ve oluşan bu rengin absorbansının 580 nm de ölçülmesi prensibine dayanan Randox Copper (Kat. No. CU 2340) hazır ölçüm kiti kullanılarak yapıldı.

Serum çinko miktarının ölçümü, serumda bulunan çinkonun Randox Zinc Colorimetric metod (Kat. No. Zn 2341) ticari kit ayıracında bulunan f5-Br-PAPS-2-(5-Bromo-2- piridilazo) fenol ile reaksiyona girmesi ve şelat oluşturması, oluşan bu kompleksin de 560 nm dalga boyunda absorbansının ölçülmesi esasına dayanır.

2.2.7. Serum Demir (Fe) ve Magnezyum (Mg) Düzeyi Ölçümü

Serum demir miktarının ölçümü, serumdaki demirin kromazurol B ve cetytrimetil amonyum bromit ile reaksiyona girerek renkli bir kompleks oluşturması, oluşan rengin yoğunluğunun demir konsantrasyonu ile orantılı olması ve bu oluşan rengin yoğunluğunun test kitindeki standart demir çözeltisi ile 637 nm'de ölçülen absorbans değerlerinin oranlanması prensibine dayanan IBL Iron Chromazurol B (Kat. No. TR90301) hazır ölçüm kiti kullanılarak yapıldı.

Magnezyum miktarının ölçümü, magnezyumun alkalın solüsyonda kalmagit ile renkli kompleks bir form oluşturması, oluşan rengin yoğunluğunun magnezyum konsantrasyonu ile orantılı olması ve bu oluşan rengin yoğunluğunun test kitindeki standart magnezyum çözeltisi ile 520 nm'de ölçülen absorbans değerlerinin oranlanması prensibine dayanan Spinreact Magnesium Calmagite-EGTA (Ref. 1001280) hazır ölçüm kiti kullanılarak yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistiksel analizi SPSS (for Windows Release 11.5 Standart Version Copyright © Spss Inc.1989-2001) programı yardımı ile gerçekleştirildi. Bağımsız örnekleme testi ile (Independent Samples Test) istatistiksel açıdan farklarının anlamlı olup olmadığı ve önemlilik düzeyleri saptandı.

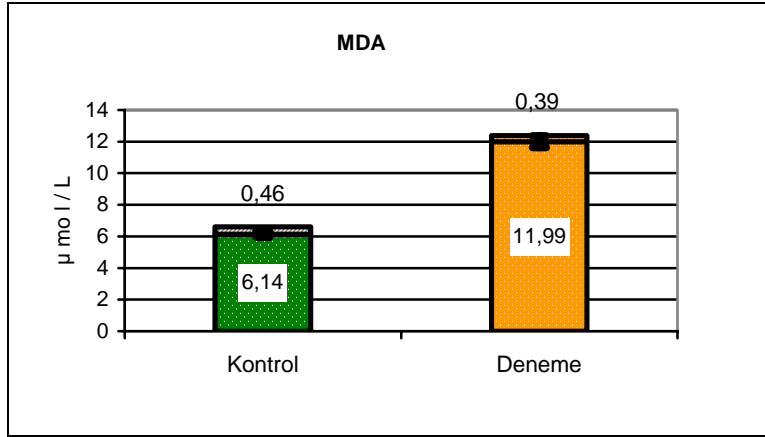
3. BULGULAR

Çalışmaya alınan kişilere ait plazma MDA ve vitamin C düzeyleri, eritrosit SOD enzim aktiviteleri ile serum Fe, Zn, Mg, Cu miktarları ve t testi sonuçları çizelge 3'te gösterilmiştir. Ayrıca kontrol ve deneme grubuna ait plazma MDA ve vitamin C düzeyleri şekil 5 ve şekil 7'de, eritrosit SOD enzim aktiviteleri şekil 6'da, serum Cu miktarları şekil 8' de, Zn miktarları şekil 9'da, Fe miktarları şekil 10'da ve Mg miktarları ise şekil 11'de grafikler halinde verilmiştir.

	Gruplar	n	Ortalama	± Standart Hata	Önemlilik -p-
MDA µmol/L	Kontrol	23	6,14	0,46	p < 0,001
	Deneme	25	11,99	0,39	
SOD U/mgHgb	Kontrol	23	30,96	2,96	p < 0,05
	Deneme	25	39,19	2,76	
Vitamin C mg/dL	Kontrol	23	0,38	0,06	p < 0,05
	Deneme	25	0,22	0,03	
Cu µg/dL	Kontrol	23	49,48	2,30	p < 0,001
	Deneme	25	86,73	5,05	
Zn µmol/L	Kontrol	23	27,45	0,77	p < 0,001
	Deneme	25	23,44	0,62	
Fe µg/dL	Kontrol	23	97,64	7,39	p > 0,05
	Deneme	25	89,31	6,23	
Mg mg/dL	Kontrol	23	2,12	0,12	p < 0,001
	Deneme	25	3,14	0,11	

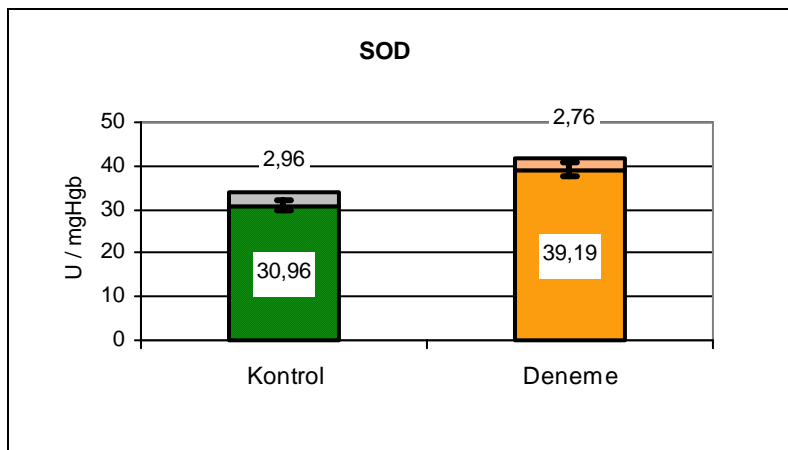
Çizelge 3. Kontrol ve deneme grubundaki kişilerin plazma MDA ve vitamin C düzeyleri, eritrosit SOD enzim aktiviteleri ile serum Cu, Zn, Mg ve Fe miktarları.

Analiz sonuçlarına göre plazma MDA düzeyleri, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $6,14 \pm 0,46 \mu\text{mol/L}$ ve $11,99 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Plazma MDA düzeylerinin kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda artmış olduğu ve gruplar arasındaki farkın $p < 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi.



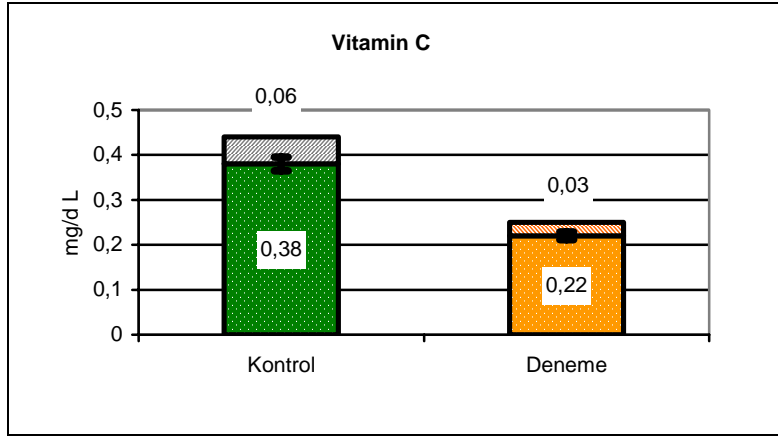
Şekil 5. Plazma MDA düzeyi sonuçları.

Eritrosit SOD enzim aktiviteleri, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $30,96 \pm 2,96 \text{ U/mgHb}$ ve $39,19 \pm 2,76 \text{ U/mgHb}$ olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki farkın $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi.



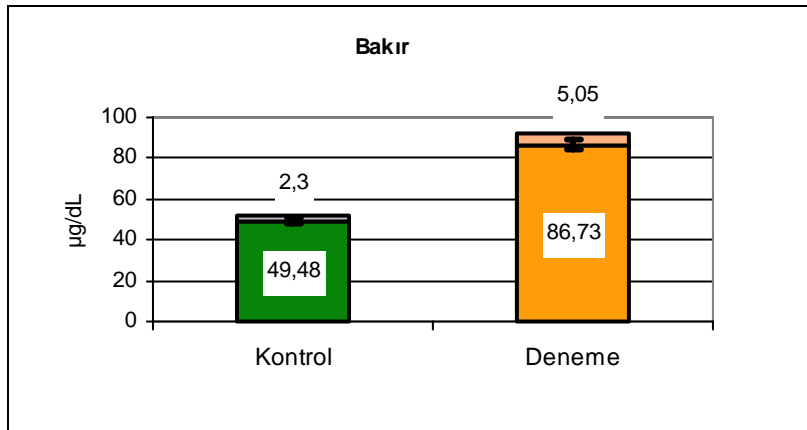
Şekil 6. Eritrosit SOD enzim aktivitesi sonuçları.

Analiz sonuçlarına göre plazma vitamin C düzeyleri, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $0,38 \pm 0,06$ mg/dL ve $0,22 \pm 0,03$ mg/dL olarak ölçüldü. Vitamin C düzeylerinin kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda azalmış olduğu ve aradaki farkın $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.



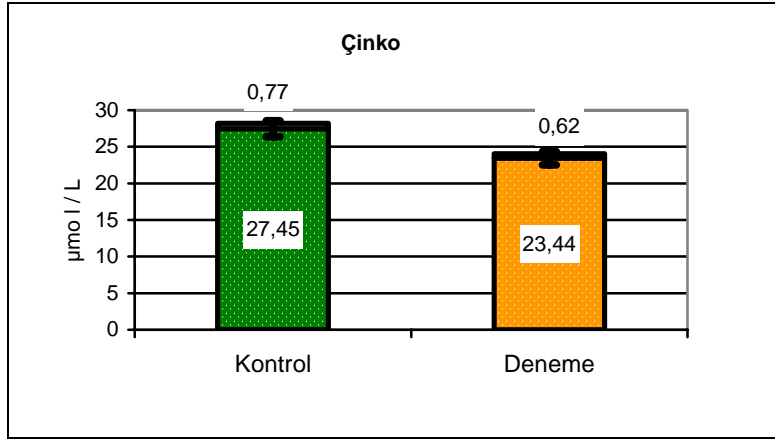
Şekil 7. Plazma vitamin C düzeyi sonuçları.

Çalışmada kullanılan kişilerin serum bakır miktarları sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $49,48 \pm 2,30$ μ g/dL ve $86,73 \pm 5,05$ μ g/dL olarak ölçüldü. Bakır miktarlarının kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda artmış olduğu ve aradaki farkın $p < 0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



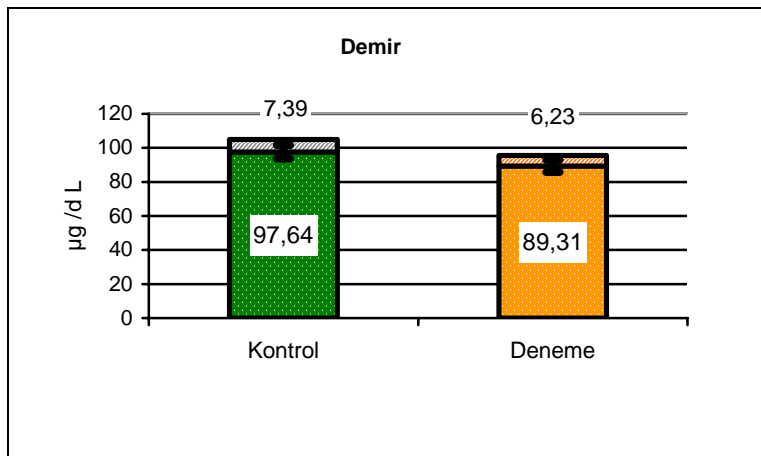
Şekil 8. Serum bakır miktarı sonuçları.

Serum çinko miktarları, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $27,45 \pm 0,77$ $\mu\text{mol/L}$ ve $23,44 \pm 0,62$ $\mu\text{mol/L}$ olarak tespit edildi. Çinko miktarlarında kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda $p < 0,001$ istatistiksel anlamlılık düzeyinde azalma gözlemlendi.



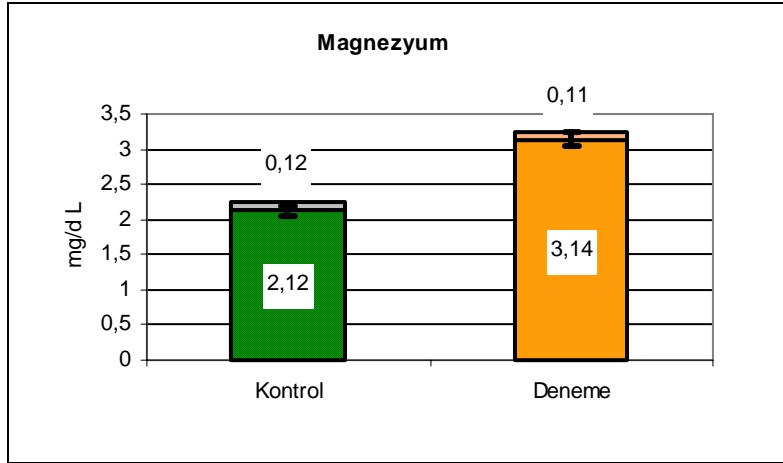
Şekil 9. Serum çinko miktarı sonuçları.

Serum demir miktarları, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $97,64 \pm 7,39$ $\mu\text{g/dL}$ ve $89,31 \pm 6,23$ $\mu\text{g/dL}$ olarak tespit edildi. Demir miktarlarında kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda azalma olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p > 0,05$).



Şekil 10. Serum demir miktarı sonuçları.

Yapılan analiz sonucunda serum magnezyum miktarları, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $2,12 \pm 0,12$ mg/dL ve $3,14 \pm 0,53$ mg/dL olarak tespit edildi. Magnezyum miktarlarında kontrol grubuna oranla sigara içen deneme grubunda $p < 0,001$ anlamlılık düzeyinde artış gözlemlendi.



Şekil 11. Serum magnezyum miktarı sonuçları.

4. TARTIŞMA

Dünya sağlık örgütünün tahminine göre, dünyada 1,1 milyar insan sigara kullanmaktadır. Yirminci yüzyılın sonlarına kadar sigara kullanımı toplumda kabul edilebilir bir davranış olarak görülürken, son 20-30 yılda sigara kullanımı ile birçok hastalık oluşumu arasında güçlü ve kabul edilebilir delillerin ortaya konulması ile sigaraya bakış tarzını değiştirmiştir.

Tütün ve sigara dumanında 4500'e yakın kimyasal madde varlığı tespit edilmiştir. İçerik olarak bol miktarda alkanlar, alkenler, alkinler, alkoller, esterler, aldehitler, ketonlar, kinonlar, asitler, karbonhidratlar, aminoasitler, steroller ve oksitlenmiş izoprenoid bileşikler, nitriller, siklik esterler, sülfür bileşikleri, pigmentler, zirai bileşikler, radyoaktif maddeler, serbest radikaller ve iyonlar bunlardan birkaçıdır (Chow 1993, Kaleli ve ark 1994). Sigara dumanı ve tütünde bulunan bu kimyasal maddeler insan sağlığını önemli derecede olumsuz etkilemektedir. Sigara, kullanan kişilerde erken ölümlere ve önlenemez birçok hastalığın oluşmasına sebep olmaktadır (Till ve ark 1984, Comporti 1985, Halliwell ve Gutteridge 1986, Bendich 1993, Mc Cord 1993, Laurent ve ark 1996).

Serbest radikaller hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal oksidasyon tepkimeleri sonucu ortaya çıkan dış yörüngelerinde bir yada daha çok sayıda çiftlenmemiş elektron içeren atom yada atom gruplarıdır (Slater 1984, Özdem ve Şadan 1994, Ceyhan ve ark 1996). Bu radikaller lipid peroksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu ve aktivasyonu ve DNA hasarını içeren geniş kapsamlı hücresel hasarlara neden olabilirler (Kılınç 1985, Kalra ve ark 1991). Vücuda dış kaynaklı olarak serbest radikal girişi olabilir (Southorn ve Powis 1988, Bendich 1993) ve sigara oksidatif stres yaratabilen bir faktör olarak serbest radikallerin dış kaynağıdır (Özdem ve Şadan 1994, Seven ve Candan 1994, Caccetta ve ark 2001).

Serbest radikaller sigarada iki ana grup halinde bulunmaktadır. Birinci grup katran fazında, ikinci grup gaz fazında yer almaktadır. Sigara dumanının bir kez içe çekilmesiyle yaklaşık olarak katran fazında 10^{14} adet, gaz fazında ise 10^{15} adet radikal molekülü alınmaktadır (Heffner ve Repine 1989, Duthie ve Wahle 1990, Fisher ve ark 1990, Mc Custer ve Hoidal 1990, Rahman ve Macnee 1996). Katran fazında başlıca radikaller kinon-

hidrokinon kompleksinden oluşmaktadır. Kinon-hidrokinon kompleksi aktif bir redoks sistemi olup moleküler oksijeni süperoksit ve daha sonra hidrojen peroksit ve hidroksil radikaline indirgeme yeteneğine sahiptir. Bu sistem hidrofobik bir çevrede oksijen serbest radikallerinin kaynağını oluşturur. (Petruzelli ve ark 1990, Pryor ve Stone 1993)

Sigara kullanımı ile yüksek miktarda serbest radikal alımı, vücutta direkt ve indirekt olarak lipid peroksidasyonunu başlatır (Kaleli ve ark 1996) ve lipid peroksidasyonu ile başlayan endotel hasarı (Neunteufl ve ark 2002) nedeniyle sigara içenlerde koroner kalp hastalığı oluşma riski yaklaşık olarak iki kat daha artmaktadır. (Kalra ve ark 1991, Işıksoluğu ve ark 1994)

Sigara kullanımı ile alınan birçok kimyasal maddenin vücutta tüm sistemler ile etkileşimi söz konusu olabilir. Sigara ile alınan radyoaktif maddeler kansere yakalanma riskini de arttırmaktadır (Uslu ve ark 1998). Sigaranın akciğer, özafagus, mesane, renal pelvis, pankreas, kemik ve serviks kanserlerine neden olduğu birçok çalışmada rapor edilmektedir (Doll 1996, Hoffman ve Hoffman 1997).

Ateroskleroz, periferik arter hastalıkları, KOAH, kanser gibi pekçok hastalığın oluşumunda oksidatif hasarın bulunduğu dair araştırmalar bulunmaktadır (Slater 1984, Till ve ark. 1984, Comporti 1985, Halliwell ve Gutteridge 1986, Bendich 1993, Mc Cord 1993, Seven ve Candan 1994, Laurent ve ark. 1996, Rahman ve Macnee 1996).

Sigara içenlerde alveolar makrofajlarda en az 2-4 kat, nötrofillerde ise 10 kata kadar artış gözlenmektedir (Euler ve ark 1996). İn vitro çalışmalar sigara içmeyenler ile karşılaştırıldığında sigara içenlerde alveolar lökosit ve makrofajlardan spontan olarak salınan süperoksit ya da hidrojen peroksit gibi oksidanların miktarında artış olduğunu göstermektedir. Aynı şekilde pasif sigara içenlerde de periferik kan lökositlerinin sayısında ve oksidan salınımında artış saptanmıştır (Anderson ve ark 1991). Bu yangı hücrelerinden salınan ilave oksidanlar hücre hasarına neden olabilme yeteneğindedir (Hunninghake ve Crystal 1983).

Nielsen ve ark (1997)'nin 213 olguyu kapsayan çalışmalarında, sigara içenlerde plazma MDA düzeyleri, sigara içmeyenlere oranla daha yüksek bulunmuştur.

Şekeroğlu ve ark (1997) 21 sigara içen ve 20 sigara içmeyen 41 olguyu irdeledikleri çalışmalarında sigara içenlerin serum ve eritrosit MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulmuşlardır.

Miller ve Appel (1997), yaptıkları çalışmada sigara içen ve içmeyenlerde lipit peroksidasyonunu karşılaştırmışlar ve sigara içenlerde bu değerleri yüksek bulunmuşlardır. Ancak her iki grubun farklı beslenme alışkanlıklarının olmasının bu çalışmanın sonuçlarını etkileyeceği düşünülmüştür.

Kim ve Lee (2001), yaptıkları çalışmada MDA düzeyini yüksek, vitamin C, β -karoten, α -tokoferol düzeyini ise düşük bulmuştur. Aynı hasta grubunda dört haftalık antioksidan tedavisinden sonra oksidan düzeylerinde düşüş saptanmıştır. Buna göre sigara içenlerde antioksidan tedavi ile oksidan-antioksidan denge bozukluğunun düzelebileceği düşünülmüştür.

Demir ve ark (2001) tarafından yapılan sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonunun araştırıldığı çalışmada; oksijen kaynaklı serbest radikallerin hücre zarında oluşturabileceği lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak ölçülen MDA düzeylerinin yükselmiş olduğu gözlenmiştir. Ozan ve ark (2005) ise yaptıkları çalışmada, sigara inhalasyonunun trakea'da oluşturduğu yapısal değişiklikleri incelemişler ve hem eritrosit hem de plazma MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığını saptamışlardır.

Churc ve Pryor (1985) tarafından yapılan bir çalışmada ise, sigara dumanının doymamış yağ asitlerinde oksidasyona yol açtığı, hücre ve doku yıkımının çoğunun başlatıcısı olan bu reaksiyonlar ile lipid peroksidasyonu ürünlerinin(MDA) arttığı tespit edilmiştir. Lapenna ve arkadaşları (1995) sigara içiminin serbest radikal reaksiyonlarını tetiklediğini, Bridges ve arkadaşları (1993) ise, plazma MDA düzeyinin sürekli sigara kullanan bireylerde yüksek olduğunu gözlemişlerdir.

Repine ve Bast (1997), yaptıkları çalışmada sigara içen sağlıklı bireylerin bronşioalveoler lavajında ve plazmalarında lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA' nın arttığını tespit etmişlerdir.

Gupta ve arkadaşları (1988) da kobaylarda sigara inhalasyonu sonucunda lipid peroksidasyonunun arttığını gözlemişlerdir. Demir ve arkadaşları (1999) ile Rahman ve

arkadaşları (1996) tarafından yapılan iki ayrı çalışmada, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) olanlarda ve sigara içenlerde distal hava yollarında oluşan oksidan-antioksidan dengesizliği araştırılmış ve sonuçta plazma MDA artışı gözlenmiştir.

Petruzzelli ve arkadaşlarının (1990) yaptıkları çalışmada, sigara içenlerin plazmalarında içmeyenlere oranla yüksek MDA düzeyi bulunurken, Harats ve arkadaşları (1989) tarafından dondurulmamış plazmalarda yapılan çalışmada MDA düzeyleri açısından sigara içenler ve içmeyenler arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Yapılan bazı çalışmalarda ise sigara içimiyle MDA düzeylerinin değişmediği ileri sürülmüştür (Duthie ve ark 1989, Duthie ve ark 1991, Leonard ve ark 1995).

Bu konuda yapılan daha birçok çalışmada, sigara içenlerin eritrosit ve plazma MDA değerlerinin sigara içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Jendryezko ve ark 1993, Mezzetti ve ark 1995, Kaleli ve ark 1996, Rahman ve William 1996).

Çalışmamızda da plazma MDA düzeyi sigara içen grupta kontrol grubuna göre yüksek olup istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark saptanmıştır ($p \leq 0,001$). Bu sonuç daha önce yapılmış çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Bu artış polimorf nükleer lökositler tarafından oksijen serbest radikallerinin üretiminin artışına bağlı olabilir. Polimorf nükleer lökosit derivesi oksijen serbest radikalleri doku ve mikrovasküler hasara neden olmaktadır. Bu da membran fosfolipidlerinde peroksidasyona neden olarak membran akışkanlığı, geçirgenliğinde artış ve membran bütünlüğünün bozulmasıyla sonuçlanmaktadır.

Sigara içenlerin eritrosit antioksidan enzim düzeylerinde değişiklikler bulunmaktadır (Toth ve ark 1986, Brown ve ark 1996). Bu da artan alveolar makrofajlar ve nötrofillerden salınan H_2O_2 ve H_2O_2 derivesi ürünlerin aşırı artışının sonucu olabilir (McCusker ve Hoidal 1990).

Sigara kullanılmasının karaciğer, akciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve bu organlarda oluşan serbest oksijen radikallerinin zararlı etkisine karşı antioksidan enzimlerin seviyesinin yükseldiği saptanmıştır (Başkaran ve ark 1999).

Yıldız ve arkadaşları (2002) pasif ve aktif sigara içenlerde eritrosit oksidan sistemi üzerine yaptıkları çalışmada, superoksit dismutaz ve katalazın sigara içenlerde azaldığını ve glutatyon peroksidazın arttığını tespit etmişler, pasif sigara içenlerin aktif sigara içenler kadar

sigaradan etkilendiği ve sigara içenlerde oksidatif stresin artmış durumda olduğu sonucuna varmışlardır.

Sigara kullanımının antioksidan sistem ve ilişkili bazı parametrelerde değişikliklere neden olup olmadığının belirlenmesi amacıyla Gültekin ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada ise enzimlerden katalaz ve GSH- Px aktiviteleri, sigara içenlerde içmeyenlere göre anlamlı olarak düşük bulunurken, SOD aktivitesinde her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamış, lipid peroksidasyon ürünü olan ve oksidatif hasarı gösteren MDA ise sigara içenlerde gerek serumda ve gerekse eritrositlerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Bolzan ve arkadaşları (1997) yaptıkları çalışmada sigara içenlerde dişilerdeki katalaz enzim aktivitesi hariç insanlardaki antioksidan enzim aktivitelerinin sigara içmeyenlere göre farklı olmadığını bulmuşlardır. Yalnız katalaz aktivitesi dişilerde erkeklere göre daha düşük bulunmuştur (Bolzan ve ark 1997).

Uzun ve kısa süreli sigara içenlerde yapılan bir çalışmada (Diken ve ark 2000) da uzun süre sigara içen bireylerde SOD ve katalaz aktivitelerinin önemli ölçüde artmış olduğu ve kısa süreli içicilerde enzim aktivitelerinin değişmediği gözlenirken, Abou-Seif (1996) tarafından sigara içenlerde yapılan başka bir çalışmada da eritrosit SOD ve katalaz aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Eritrosit antioksidanlarındaki bu artış, akciğer ve diğer dokulardaki artışa paralel olabilir. Bu nedenle eritrosit antioksidanlarındaki artış oksidan stresin göstergesi olarak ve/veya akciğer ya da diğer dokulardaki antioksidan konsantrasyonlarındaki artışı yansıtması açısından etkili olabilir. Oksidan stresi göstermesi açısından eritrosit/akciğer doku antioksidanlarındaki değişiklikler oksidantlara bağlı akciğer yada kardiyovasküler hastalıklara karşı bireysel duyarlılığın bir ön habercisi olarak önemlidir.

Askorbik asit plazmada bulunan en önemli antioksidanlardan birisidir. Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonunun indüklenmesiyle beraber inhibe olmaktadır. Yapılan çalışmalarda sigara içenlerde sigara içmeyenlere oranla plazma askorbik asit düzeyi düşük bulunmuştur (Cross ve Ark. 1993, Steinberg ve Chait 1998, Faruque ve ark 1995).

Cross ve ark (1993) in vitro olarak sigara dumanının gaz fazına maruz kalanlarda plazma askorbik asit, bilirubin ve sülfidril gruplarının düzeylerinin azaldığını buna karşın ise

ürük asit ve α -tokoferol düzeylerinin etkilenmediğini, plazma antioksidanlarındaki bu azalmanın da lipid peroksidleri ve proteinlerin karbonil içeriklerinin artışıyla beraber olduğunu bildirmişlerdir.

Banerjee ve ark (1998), bir grup yetişkin erkek sigara tiryakisinde yaptıkları çalışmada vitamin C ve glutatyon düzeylerini düşük bulurken lipid peroksidlerinin artmış olduğunu saptamışlardır.

Atay ve ark (2000), sigaradan kaynaklanan akciğer kanseri olgularında serum askorbik asit düzeylerini, kontrol grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Ozan ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada, sigara ile birlikte C vitamini ve melatonin enjeksiyonunun sigara toksikasyonu sonucu artan MDA düzeyini azalttığı, fakat katalaz ve glutatyon seviyelerindeki azalmaya çok etkili olmadığı bulunmuştur.

Salman ve ark (1994) antioksidan olan askorbik asidin, serbest oksijen radikallerini temizleyici etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, askorbik asitin kuvvetli bir serbest radikal temizleyicisi olduğunu gözlemişlerdir.

Çalışmamızda ise kontrol grubuna göre sigara kullanan grupta serum vitamin C düzeyleri istatistiksel olarak $p < 0,05$ önemlilik düzeyinde düşük bulunmuştur. Sigara kullananlarda gözlenen düşük vitamin C konsantrasyonları dışarıdan vitamin C alınımındaki azalma, bozulmuş vitamin C absorpsiyonu ve vitamin C döngüsündeki bir artış gibi çeşitli faktörlere bağlı olabilir.

Eser element düzeylerindeki değişikliklerin antioksidan savunma mekanizmasının etkinliğini azaltarak serbest oksijen radikallerinin hücre bütünlüğü üzerine olumsuz etkilerinin artmasına neden olduğu bilinmektedir. Eser elementlerin ve özellikle bakır, çinko ve demirin lipid peroksidasyonuna önemli etkileri vardır (Halliwell ve Gutteridge 1984b).

Bakır iyonları serbest radikal hasarının ortaya çıkmasında katalizör rolü oynayabilir. Redoks aktive edici bir metal olduğu için oksidatif stres üzerine etkisi söz konusudur. (Hochstein ve ark 1980, Halliwell ve Gutteridge 1984b). Bakırın indüklediği oksidatif hasar genellikle yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikalinin oluşumu ile gerçekleşir. Hidroksil oluşumu dokularda hasara neden olan lipid peroksidasyonunu başlatabilir.

Salonen ve ark (1991) tarafından yapılan çalışmada plazma bakır seviyesi yüksek insanlarda lipid peroksidasyonunun damar duvarına olumsuz etkileri sonucu, bakır seviyesi normal insanlara oranla miyokard enfarktüs riskinin 4 kat fazla olduğu gözlenmiştir.

Gülcü ve ark (2003) sigara tiryakilerinde serum bakır, demir, çinko ve ferritin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşme, Mg düzeylerinde ise yine anlamlı bir artış saptamışlardır

Bir başka çalışmada (Koçyiğit ve ark 2001), serum bakır konsantrasyonu ve eritrosit SOD aktivitesi sigara içenlerde içmeyenlere oranla yüksek bulunmuştur ve aralarında pozitif bir korelasyon vardır.

Sigara içenlerde yapılan bunlara benzer birkaç çalışmada, yüksek bakır konsantrasyonları ile yüksek eritrosit Cu-Zn SOD aktiviteleri rapor edilmiştir (Disilvestro ve Marten 1990, Dubick ve Keen 1991, Beshgetoor ve Hambidge 1998).

Hulea ve ark (1995) ise, yetişkinlerde sigara içen kişilerdeki eritrosit Cu-Zn SOD aktivitesinin içmeyenlere oranla daha düşük olduğunu gözlemişlerdir. Bu konuda yapılmış birkaç çalışmada da sigara içenlerde çinko konsantrasyonunu azaldığı bununla beraber bakır konsantrasyonunu arttığı gözlenmiştir (Keen ve ark 1987, Dubick ve Keen 1991).

Tek başına nikotinin veya tütün içerisindeki diğer bileşenlerin bakır artışından sorumlu olup olmadığı açık değildir. Bununla beraber sigara dumanının inflamatuvar stimulusa ve oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir (Disilvestro ve Marten 1990). Serum bakır konsantrasyonları ve SOD aktivitelerinin inflamatuvar olaylarda artış gösterdiği bulunmuştur. Çalışmamızda da bakır konsantrasyonları ve SOD aktivitelerinin artışı sigara içenlerin solunum yollarında oluşan kronik inflamasyonun bir sonucu olabilir.

Bazı araştırmacılar serum çinko konsantrasyonlarını sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha düşük bulmuşlardır (Gülcü ve ark 2003). Buna karşın bakır konsantrasyonları sigara içenlerde tipik olarak artmıştır. Çinko ve bakır homeostazındaki bu değişiklikler hipertansiyon ve uzun dönem sigara kullanımının bazı negatif etkileri ile ilişkili olabilir. Değişiklikler ya sigara başladıktan sonra kısa süre içerisinde yada uzun süre kullanıma bağlı sekonder olarak hipertansiyon gibi kronik hastalıkların gelişimi sonucu şekillenebilir (Keen ve Ark 1987).

Repine ve Bast (1997) 'ın yaptıkları bir araştırmada sigara içenlerde ferritin düzeyinde artış gözlenirken, yapılan bir başka çalışmada (Gökduman 1998) ise, demir ve ferritin düzeylerinde istatistiksel önemlilik olmadığı bildirilmiştir. Yöntem ve arkadaşlarının (2002) yaptıkları çalışmada da sigara içen gruplarda, kontrole göre ferritin düzeylerinde istatistiksel önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda sigara içen grupta kontrole göre demir düzeyinde istatistiksel açıdan önemli olmayan bir azalmanın olduğu görülmüştür ($p > 0,05$). Ferritinin, lizozomlarda lipid peroksidasyonunu stimüle ettiği ve hidroksil radikali oluşumunda oksijenin ferritinden demir salınımını sağlayarak Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla lipid peroksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Halliwell ve Gutteridge 1990, Lapenna ve ark 1995). Sigara dumanı da ferritinden demir salınımını tetiklemekte, bu da oksidan kapasiteyi arttırmaktadır Sigara dumanının prooksidan potansiyeli ferritin yokluğunda zayıflamaktadır (Lewis ve ark 1994).

Çalışmamızda sigara içen grupta kontrol grubuna göre serum magnezyum düzeylerinde ($p < 0,05$) istatistiksel önemlilik düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Literatür çalışmalarında sigara içenlerde serum magnezyum düzeylerinde artış gözlenen iki çalışmaya rastlanmıştır.

Glc ve ark (2003)' nin yaptıkları çalışmada aşırı sigara içenlerde magnezyum düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Sakamoto ve ark (1998) da bu konuda yaptıkları çalışmalarında sigara ienlerdeki serum ve eritrosit Mg düzeylerini içmeyenlere oranla daha yüksek bulmuşlardır.

Sigara içenlerde gözlenen yüksek magnezyum seviyeleri kalsiyum bağlanma bölgelerini etkileyerek hücre membranından kalsiyum geçişini bloke etmekte, ayrıca adenilat siklazı aktive ederek c-AMP'yi arttırmakta ve intrasellüler kalsiyumun azalmasına neden olabilmektedir. Bu da sigara kullanımının uzun vadede osteoperoza zemin hazırlanmasında rol oynayabileceğinin göstergesidir.

SONUÇ

Sonuç olarak uzun süre sigara içenlerde antioksidan-oksidan dengesi bozulmakta ve yangı hücrelerinden salınan oksijen serbest radikallerinin artışına bağı olarak hem lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA düzeyi ve hem de eritrosit antioksidanları artmaktadır.

Sigara içenlerde askorbik asit gibi plazma antioksidan düzeylerinin düşmesi bu vitaminin tüketimindeki ve absorpsiyonundaki azalmaya bağı olabilir. Bu da sigaranın patojenitesini daha da arttırmaktadır.

Sigara dumanı, serum iz element konsantrasyonlarını direkt ya da indirekt olarak etkilemektedir. Antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler, onların kofaktör konsantrasyonlarında sekonder olarak değişikliklere neden olabilir. Bu nedenle sigara kullananların diyetleri hem vitamin hem de eser element yönünden takviye edilmelidir.

ÖZET

Bu çalışmada, sigara kullanımının oksidatif stres ve serum mineral madde düzeyleri üzerine etkisi incelendi. Bu amaçla hiçbir sağlık problemi olmayan, sigara dışında herhangi bir ilaç, vitamin, alkol ve benzeri madde kullanmayan, sigara kullanım süreleri 5-10 yıl arasında, günlük sigara içme adedi 15-30 adet arasında değişen, yaşları 25-45 yaş arasında 25 erkek ile çalışmanın deneme grubunu, hayatı boyunca hiç sigara ve alkol kullanmamış aynı zamanda ev ve iş ortamlarında pasif içici olmayan yaşları 25-45 yaş arasında değişen 23 erkek ise kontrol grubunu oluşturdu.

Deneme ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden tüm kan örnekleri, 12 saatlik açlığı takiben ve kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur pozisyondayken alındı. Kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Ayrılan serumlarda demir (Fe) ve magnezyum (Mg) düzeyleri aynı gün içinde bakılırken, bakır (Cu) ve çinko (Zn) analizleri için kalan serum örnekleri ependorf tüplerine aktarılarak -20°C' de analizin yapılacağı tarihe kadar saklandı. Elde edilen plazmalardan askorbik asit (Vit C) ve malondialdehit (MDA) ölçümü aynı gün içinde yapıldı. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi için eritrosit hemolizatları hazırlanarak analiz gününe kadar -20 °C' de saklandı.

Plazma MDA düzeyleri, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $6,14 \pm 0,46$ $\mu\text{mol/L}$ ve $11,99 \pm 0,39$ $\mu\text{mol/L}$ olarak, plazma vitamin C düzeyleri ise sırasıyla $0,384 \pm 0,062$ mg/dL ve $0,217 \pm 0,027$ mg/dL olarak bulundu. Eritrosit hemolizatlarında SOD enzim aktiviteleri, sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $30,96 \pm 2,96$ U/mgHgb ve $39,19 \pm 2,76$ U/mgHgb olarak ölçüldü. Serum bakır seviyeleri sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $49,48 \pm 2,30$ $\mu\text{g/dL}$ ve $86,73 \pm 5,05$ $\mu\text{g/dL}$ olarak ölçülürken, serum çinko seviyeleri sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $27,45 \pm 0,77$ $\mu\text{mol/L}$ ve $23,44 \pm 0,62$ $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı. Serum magnezyum miktarları ise sigara içmeyen ve sigara içen kişilerde sırasıyla $2,12 \pm 0,12$ mg/dL ve $3,14 \pm 0,53$ mg/dL olarak tespit edildi.

Elde edilen bulgular sonucunda, uzun süreli sigara içiminin antioksidan sistem ve bu sistemle ilişkili serum mineral madde düzeylerinde değişikliklere neden olduğu ve sigara

içenlerin diyetlerinin askorbik asit ve aynı zamanda antioksidan enzimlerin kofaktörleri de olan eser elementler yönünden takviye edilmesinin yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sigara, Oksidatif stres, Antioksidan, Malondialdehit, Süperoksit dismutaz, Askorbik asit, Eser elementler.

SUMMARY

In this study, it is examined that the effect of the smoking on the oxidative stress and serum mineral element levels. With this aim, between 25 and 45 years old 25 men who haven't got any healthy problem, who are not using a drug, vitamins, alcohol or some materials except cigarette, smoking years between 5 or 10 years, daily smoking members changing between 15- 30 unit are the test group of this study. 23 men who haven't used cigarette or alcohol, in the same time who are not passive smokers at home or at work and changing their ages between 25 and 45 years old are the control group of this study.

Blood samples from control and test groups' members are taken for the aim of providing standardization of the blood samples, these are taken after 12 hours hunger and on the sitting position. Blood samples on 3000 rpm by making centrifuge in ten minutes, serum and plasmas are separated. On separated serums iron (Fe) and magnesium (Mg) levels are examined in the same day but serum samples for the analysis of the copper (Cu) and zinc (Zn), by transferring eppendorf tubes in -20°C were hidden till the analysis day. From the plasmas that we have, ascorbic acid (Vit C) and malondialdehyde (MDA) measuring were done in the same time. For the superoxide dismutase (SOD) analysis, by preparing hemolysates of erythrocytes they were hidden till the analysis day in -20°C degree.

It is established that plasma MDA levels between non-smokers and smokers people one by one as $6,14 \pm 0,46 \mu\text{mol/L}$ and $11,99 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$, plasma Vit C levels are also one by one as $0,384 \pm 0,062 \text{ mg/dL}$ and $0,217 \pm 0,027 \text{ mg/dL}$. In erythrocyte hemolysates SOD enzyme activities were measured between non-smokers and smokers people one by one as $30,96 \pm 2,96 \text{ U/mgHgb}$ and $39,19 \pm 2,76 \text{ U/mgHgb}$. Serum copper levels were measured between non-smokers and smokers people one by one as $49,48 \pm 2,30 \mu\text{g/dL}$ ve $86,73 \pm 5,05 \mu\text{g/dL}$ and serum zinc levels were fixed between non-smokers people one by one as $27,45 \pm 0,77 \mu\text{mol/L}$ and $23,44 \pm 0,62 \mu\text{mol/L}$. Serum magnesium quantities were established between non-smokers and smokers people one by one as $2,12 \pm 0,12 \text{ mg/dL}$ ve $3,14 \pm 0,53 \text{ mg/dL}$. In the result of the evaluated findings, it was come to a conclusion that long time smoking causes changes on antioxidant system and serum mineral substance level that with

this system and it will be useful to reinforcement on trace elements which are the cofactors of the antioxidane enzymes in the same time and ascorbic asid of the smoker diets.

Key words: Cigarette, Oxidative stress, Antioxidane, Malondialdehyde, Superoxide dismutase, Ascorbic asid, trace elements

KAYNAKLAR

Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A (2004) *Pesticides and oxidative stress: a review*. Med. Sci. Monit.; 10: 141-147.

Abou-Seif MAM (1996) *Blood antioxidant status and urine sulfate and thiocyanate levels in smokers*. J Biochem Toxicology 11(3): 133-138.

Adam B (2000) *Klinik Biyokimya*. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti. ISBN 975-591-129-4. Bölüm 12, Demir Metabolizması ve Anemiler.; 95-104 s.

Adamson John W (2004) *Demir Eksikliği ve diğer hipoproliferatif anemiler*. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri 15. Edition. Cilt 1. Nobel Kitabevleri. Çeviri Editörü, Prof. Dr. Yahya Sağlıker. Bölüm 105. 660-664 s.

Agarwal S, Rao AV (1998) *Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study*. Lipids; 33: 981-984.

Aleynik IS, Leo AM, Ma Y, Aleynik KM and Lieber SC (1997) *Polyenylphosphatidylcholine Prevents Carbon Tetrachloride- Induced Lipid Peroxidation while it Attenuates Liver Fibrosis*. J. Hepatol.; 27: 554-561.

Allen RG, Farmer KJ, Newton R.K, Sohal RS (1984) *Effects of paraquat administration on longevity, oxygen consumption, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides and glutathione in the adult housefly*. Comp. Biochem. Physiol. C.; 78(2): 283-8.

Altın R, Kart L, Ünalacak M, Dutkun Y, Örnek T (2004) *Tıp fakültesi hastanesinde çalışanlarda sigara içme prevalansı ve sigaraya karşı tutumlarının değerlendirilmesi*. Kocatepe Tıp Dergisi.; 5: 63-67

Akdoğan M, Gültekin F, Altuntaş İ, Delibaş N, Kaleli S (2004) *The Biochemical changes due to oxidative damage caused by experimentally over loaded iron in liver of rabbits*. T. Biyokimya Derg., 25(1) : 29-35

Akkuş İ (1995) *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.

Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM (1993) *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging*. Proc. Natl. Acad. Sci.; USA. Sep 1; 90 (17): 7915-22.

Anderson R, Theron AJ, Richards GA, Myers MS, Rensberg JV (1991) *Passive smoking by human sensitizes circulating neutrophils*. Am. Rev. Respir. Dis; 144: 570-574.

Antebi H, Pages N, Zimmerman L (1996) *Resistance of oxidation of native lipoproteins and erythrocyte membrane lipids in rats with iron overload*. *Annals of Nutrition and Metabolism*;1: 63-68

Asada K, Kanematsu S, Okada S, Hayakawa T (1980) *Chemical and biological aspects of superoxide and superoxide dismutase*. Elsevier, Amsterdam, 136-153.

Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayıroğlu F, Gültekin F (1997) *Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: relation to age, sex, exercise, air pollution and life habits*. *J. Environ. Sci. Healthy*; 32: 2101-2109.

Aşut Ö (1993) *Hekim ve Sigara*. TTB yayınları.

Atay A, Barsal G, Kılıç S, Erciyes F, Ertuğrul G, Halilçolar H (2000) *Akciğer kanserli hastalarda serum askorbik asit düzeyinin araştırılması*. XVI. Ulusal Biyokimya Kong. 23-27 Ekim.

Bagasa HS (1990) *Biochemical aspects of free radicals*. *Biochem et Biophysica Acta*; 1047: 255-263.

Barber DA, Haris S (1994) *Oxygen free radicals and antioxidants: a review*. *Am. Pharm. NS.*, 34(9): 26.

Başkaran S, Lakshmi S, Prasad PR (1999) *Effect of cigarette smoke on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in albino rat*. *Indian J Exp Biol.*; 37: 1196-200).

Bayşu N, Çamaş H (1995) *Biyokimya*, Kafkas Üniv. Fen Ed. Fak. Yayınları No: 1, KARS.

Beckman G, Lundgen E, Tarnvik A (1973) *Superoxide dismutase isoenzymes in different human tissues, their genetic control and intracellular localization*. *Human Heredity*; 23, 339-345.

Behr J, Nowak D (2002) *Tobacco smoke and respiratory disease*. *Eur Respir. Monograph.*; 21:161-179.

Bekerecioğlu M, Uğraş S, Dilek ON (1998) *Serbest radikaller*, *Sendrom*; 10: 3, 85-94.

Bendich A (1993) *Symposium; antioxidants, immune response, and animal function*, *J. Dairy Sci.*; 76: 2789-2794.

Banerjee KK, Marimuthu P, Sarkar A, Chaudhuri RH (1998) *Influence of cigarette smoking on vitamin C, glutathione and lipid peroxidation status*. *Indian J. Public. Health.*; 42, 1 : 20-23.

Berlett BS, Stadtman ER (1997) *Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress*. *J Biol Chem*; 272: 203-13.

Beshgetoor D, Marten JT (1998) *Clinical conditions altering copper metabolism in humans*. *Am J Clin Nutr*; 67: 1017-21.

Bilgiç H (2006) *Sigara ve Kanser*. Erişim: http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/onkoloji/kk_index.htm, Erişim tarihi: 18.01.2007.

Bolzan AD, Bianchi MS, Bianchi NO (1997) *Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: Influence of sex, age and cigarette smoking*. Clin. Biochem, 30, 6: 449-454.

Bourdon E, Loreau N, Blache D (1999) *Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin*. FASEB, 13:233-244.

Bridges AB, Scott NA, Parry GJ (1996) *Age, sex, cigarette smoking and indices of free radical activity in healthy human*. Eur.J. Med, 2: 205-8.

Brown KM, Marrice PC, Arthur JR, Duthie GG (1996) *Effects of vitamin E supplementation on erythrocyte antioxidant defence mechanisms of smoking and non-smoking men*. Clin.Sci, 91(1) : 107-111.

Bruce AF, Crapo JD (1982) *Biology of Disease. Free Radicals and Tissue Injury*. Lab Invest.; 47(5): 412-426.

Buechter DD (1988) *Free radicals and oxygen toxicity*. Pharm. Res.; 5:253-60.

Caccetta RA, Burke V, Mari TA (2001) *Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects*, Free Radical Bio. Med.; 30: 6: 636-642.

Ceyhan A, Günal S, Çıkan T (1996) *Serbest Radikaller Ve Anestezi*, Sendrom; 65-69

Champe PC, Harvey RA (1997) *Lippincott's Illustrated reviews*. Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevileri, 2. Baskı. 311-29.

Chan AC (1993) *Partners in defence. Vitamin E and vitamin C*. Can. J. Physiol. Pharmacol.; 71: (9), 725.

Cheeseman KH, Slater TF (1993) *An introduction to free radical biochemistry*, Br. Med. Bull.; 49, 3, 481-493.

Chen LH, Thacker RR (1987) *Effect of ascorbic acid and vitamin E on biochemical changes associated with vitamin E deficiency in rats*. Internat. J. Vit. Nutr. Res.; 57: 385-390.

Cheng WH, Ho YS, Ross DA, Valentine BA, Combs GF, Lei XG (1997) *Cellular glutathione peroxidase knockout mice Express normal levels of selenium-dependent plasma and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidases in various tissues*, The J. of Nutr.; 127, 1445-1450.

Chow CK (1993) *Cigarette smoking and oxidative damage in the lung*. Ann. New York Acad. Sci., 689, 289-99.

Churc DF, Pryor WA (1985) *Free radical chemistry of cigarette and its toxicologic implications*. Environ. Health Perspect.; 64: 111-7.

Clara JG, Coelho C, Breitenfeld L, Siqueira C (2001) *Acute effects of tobacco and vascular risk modulated by genetic factors*. Rev. Port. Cardiol.; 20: 103-109.

Clinton SK (1998) *Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease*. Nutr Rev.; 5: 35-51

Cloyton S (1991) *Gender differences in psychosocial determinants of adolescent smoking*. J. Sch. Health.; 61: 115-20.

Comporti M (1985) *Biology of disease: Lipid peroxidation and celluler damage in toxic liver injury*. Lab Invest.; 53(6): 599-623.

Cross CE, O'neill CA, Reznick AZ, Hu ML, Marcocci L, Packer L, Frei B (1993) *Cigarette smoke oxidation of human plasma constituents*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 686, 72-90.

Crowley-Weber CL, Dvorakova K, Crowley C, Bernstein H, Bernstein C, Garewal H, Payne CM (2003) *Nicotine increases oxidative stress, activates NF-kappaB and GRP78, induces apoptosis and sensitizes cells to genotoxic/xenobiotic stresses by a multiple stress inducer, deoxycholate: relevance to colon carcinogenesis*. Chem Biol Interact, 145(1):53-66.

Çoban E, Akın M, Aykut A, Timurağaoğlu A (2004) *Yaşlı hastalarda anemi sıklığı ve morfolojik olarak dağılımı*. Türk Geriatri Dergisi; 7(3): 131-132.

Danacı AE, Yorgancıoğlu A, Çelik P (2000) *Manisa ili lise öğretmenlerinin sigara içmeye karşı tutumları*. Toraks Dergisi; 1:16-20.

Demir T, Aydemir A, Güler S (1999) *Akut ve stabil KOAH olgularında oksidatif stres*. Solunum Derg; 1: 43-7.

Demir S, Özkurt S, Köseoğlu M, Enli Y, Aslan D, Gümüşsu N (2001) *Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu*. Solunum Derg.; 3: 57-59.

Demirel Y, Toktamış A, Nur N, Sezer E (2004) *İlköğretim okullarındaki öğretmenlerde sigara içme durumu*. Türkiye Klinikleri J Med. Sci., 24: 492-7.

Di Mascio P, Kaiser S, Sies H (1989) *Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher*. Arch Biochem Biophys.; 274:532-53.

Disilvestro RA, Marten JT (1990) *Effect of inflammation and copper intake of rat liver and erythrocyte Cu-Zn superoxide dismutase activity levels*. J Nutr; 120: 1223-7.

Doll R (1996) *Cancers weakly related to smoking*. Br Med Bull; 52: 35-49.

Dubick MA, Keen CL (1991) *Influence of nicotine on tissue trace element concentrations and tissue antioxidant defence*. Biol. Trace Elem. Res.; 31: 97-109.

Duthie GG, Arthur JR, James WPT, Vint HM (1989) *Antioxidant status of smokers and nonsmokers. Effect of vitamin E supplementation*. Ann. NY. Acad. Sci.; 570: 435-438.

Duthie GG, Arthur JR, James WPT (1991) *Effects of smoking and vit. E on blood antioxidant status*. Am. J. Clin. Nutr.; 53 (4 suppl): 1061-1063.

Duthie GG, Wahle KJ (1990) *Smoking, antioxidant, essential fatty acids and coronary heart disease*, Bio. Soc. Trans., 18:1051-1054.

Dünder Y, Aslan R (2000) *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*, Afyon Kocatepe Üniv., 1. Baskı.

Ergün A (1998) *Sigara ve Sistemik etkileri*. T Klin J Med Sci.; 18.

Euler DE, Dave JS, Guo H (1996) Effect of cigarette smoking on pentane excretion in alveolar breath. Clin. Chem.; 42:2, 303-308.

Evans P, Lyras L, Halliwell B (1999) *Measurement of protein carbonyls in human brain tissue*. Methods Enzymol.; 300: 145-156.

Faruque MO, Khan MR, Rahman MM, Ahmed F (1995) *Relationship between smoking and antioxidant nutrient status*. Br. J. Nutr.; 73 (4), 625-632

Fisher EB, Debra JR, Morgan DG, Rehberg H, Rost K (1990) *Smoking and smoking cessation*. Am. Rev. Respir. Dis.; 142: 702-720.

Fitzpatrick TM, Blair EA (2000) *Upper airway complications of smoking*. Clin. Chest. Med.; 21:147-157.

Floyd RL, Rimer BK, Giovino GA ve Ark (1993) *A review of smoking in pregnancy: Effects on pregnancy outcomes and cessation efforts*. Annu..Rev. Public. Health; 14:379-411.

Fortone JC, Word PA (1982) *Role of Oxygen-derived free radicals and metabolites in leucocyte dependent inflammatory reaction*, Am. J. Pathol.; 107, 3, 397-413.

Freeman BA, Crapo JD (1982) *Biology of disease free radicals and tissue injury*. Lab. Invest., 4: 412-426.

Fridovich I (1975) *Superoxide dismutases*. Annu. Rev. Biochem.; 44:147-59.

Gaetke LM, Chow CK (2003) *Copper toxicity, oxidative stres and antioxidant nutrients*. Toxicology.; 189: 147-163.

Garg CM, Singh KP, Bansal DD (2000) *Effect of vitamin C supplementation on oxidative stres in experimental diabetes*. Indian J. Exp. Biol.; 35: 264-66

Gazioğlu K (1997) *Akciğer hastalıkları*. Nobel Kitabevi. İstanbul. 206 s.

Goodman DS (1984) *Vitamin A and Retinoids in Health and Disease*. N. Engl. J. Med; 310: 1023-1031.

Goodman J (1995) *Tobacco in history: The cultures of dependency*. Routledge, New York, s.3-19.

Gökdoğan A (1998) *Sigara içenlerde Antioksidant Savunma Sistemindeki Değişmeler*. Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 53 s. Isparta.

Gözükara M E (1997) *Koenzimler ve eser elementler. Demire ihtiyacı duyan enzimler*. Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri, Üçüncü baskı. Cilt 2. Bölüm 14, 716-719 s.

Guan ZZ, Yu WF, Nordberg A (2003) *Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells*. Neurochem. Int.; 43(3): 243-49

Gupta MP, Khanduja KL, Sharma RR (1988) *Effect of cigarette smoke inhalation on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the rat*. Toxicology Letters; 41: 107-14.

Gutteridge JMC, Stocks J (1981) *Ceruloplasmin: Physiological and pathological perspectives*. CRC. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. ,14: 257-329.

Gutteridge JM (1995) *Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage*. Clin. Chem.; 41(12):1819-28.

Gülcü F, Polat SA, Gürsu MF (2003) *Aşırı sigara kullanımının tiroid fonksiyon testleri ve eser element düzeylerine etkileri*. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.; 23: 386-391.

Gültekin F, Gökdoğan A, Özgüner F, Akdoğan M, Sütçü R, Delibaş N (2001) *Sigara içenlerin antioksidan savunma sistemindeki değişmeler*. Tuberk toraks Derg.; 49(2): 259-264

Gür M (1986) *Türkiye Tütüncülüğü Ve Geleceği Sempozyumu*, Tokat, 12-14 Kasım; 51-52.

Güreş G, Pehlivan E, Eğri M (1997) *Turgut Özal Tıp Merkezi Hekim, Hemşire ve Tıp Öğrencilerinde Sigara içme Sıklığı*. T. Ö. Tıp Mer. Dergisi; 4(4): 407-412

Halliwell B (1987) *Free radicals and metal ions in health and disease*. Proc. Nutr. Soc. Feb; 46(1):13-26.

Halliwell B (1994) *Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?* Lancet. Sep. 10; 344 (8924): 721-4.

Halliwell B (1999) *Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition*. Mutat. Res.; 443:37-52.

Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI (1995) *Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work*. Critical Rew. Food. Sci. and Nutrit.; 35: 7-20.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1984a) *Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy*. The Lancet. 23:1396-1398.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1984b) *Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease*. Biochem. J; 219: 1-14.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1986) *Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine. Some problems and concepts*. Arch. Biochem. Biophys; 246(2): 501-14.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1990) *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease*. On overview Methods Enzymol.; 186: 63-8

Halliwell B, Gutteridge JMC (1999) *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, Third edition.

Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y (1989) *Sigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages*. Atherosclerosis; 79: 245-52.

Hasan Su (1996) *ATS statement--cigarette smoking and health*. Am. J. Respir. Crit. Care Med.; 154: 1579-80.

Heffner JE, Repine JE (1989) *Pulmonary strategies of antioxidant defense*. Am. Rev. Respir. Dis.; 140: 531-554.

Hesse M (2002) *Alkaloids. Nature's curse or blessing* (Çev. A. Beard). Wiley-VCH Press, Ochsenfurt-Hohestadt, 358-365.

Hill DJ, White VM, Williams RM, Gardner GJ (1993) *Tobacco and Alcohol Use Among Australian Secondary School Students in 1990*. Mwed. J. Aust; 158 (4): 228-34

Hinder RA, Stein HJ (1991) *Oxygen-derived free radicals*. Arch. Surg.; 126: 104-108.

Hochstein P, Kumar KS, Forman SJ (1980) *Lipid Peroxidation and the cytotoxicity of copper*. Ann NY Acad Sci.; 355: 240-248.

Hodgson EK, Fridowich I (1975) *The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide. Inactivation of the enzyme*. Biochemistry, 14: 5294-5295.

Hoffman D, Hoffman I (1997) *The changing cigarette, 1950-1995*. J. Toxicol Environ Health; 50: 307-64

Hops H, Tildesley E, Lichenstein, Sherman L (1990) *Parent-adolescent problem solving interactions and drug use*. Am. J. Drug Alcohol Abuse.; 16: 239-58.

Horwitt MK (1986) *Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B-6*. Am. J. Clin. Nutr. Dec; 44(6): 973-85.

<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/56-1-4-11.ppt> Erişim tarihi: 18.08.2007

Hu ML (1994) *Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma*. Methods Enzymol: 233;381-385.

Hughes DA, Wright AJ, Finglas PM, Polley AC, Bailey AL, Astley SB, Southon S (2000) *Effects of lycopene and lutein supplementation on the expression of functionally associated surface molecules on blood monocytes from healthy male nonsmokers*. J Infect Dis.; 182 Suppl 1:S11-5.

Hulea SA, Olinescu R, Nita S, Crocnan D, Kummerow FA (1995) *Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stress: a case-control study*. J Environ Pathol Toxicol Oncol; 14: 173-180.

Hunninghake WG, Crystal RG (1983) *Cigarette smoking and lung destruction. Accumulation of neutrophils in the lungs of cigarette smoking*. Am.Rev. Respir. Dis.; 128: 833-838.

Husain K, Scott BR, Somani SM (2001) *Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defence system*. Alcohol; 25: 89-97.

İşıksoluğu MK, Özdemir Y, İlhan N, ve Ark. (1994) *Açlık kan şekeri, protein ve hemoglobin ile vücut ağırlığı, cinsiyet, çay ve sigara arasındaki ilişkiler*, *Biyokimya Dergisi*, XIX: 1, 9-22.

İnan C, Kılınc K, Katiloğlu E, Akman H O (1998) *Antioxidant therapy of cobalt and Vit. E in hemostiderosis*. *J Lab Clin Med* ; 132(29): 157-165

Janoff A, Pryor WA, Bengali ZH (1987) *Effect of tobacco smoke components on cellular and biochemical process in the lung*. *Am. Rev. Respir. Dis.*; 136(4): 1058-64.

Jendryezko A, Szyrka G, Kozowicz M (1993) *Cigarette smoke exposure of school children: effect of passive smoking and vitamin E supplementation an blood antioxidant status*. *Neoplasma*; 40: 199-203.

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM (2000) *Biyokimya*, 2. Baskı, Nobel Y. Dağıtım Ltd. Şti., Ankara.

Kaleli S, Akkuş İ, Koçyiğit A, Aköz M, Vural H, Şekeroğlu M R, Koşar A (1994) *Sigara içen ve içmeyen sağlıklı kişilerde koroner kalp hastalarında Apo A₁, Apo B ve bazı lipid parametrelerinin tayini*. *T. Klin. Kardiol.*, 7, 204-8.

Kaleli S, Çağlayan O, Ay M (1996) *Sigara içen ve içmeyen sağlıklı kişilerde serum lipid peroksid ve lipid parametrelerinin araştırılması*. *SDÜ Tıp Fak. Derg.*; 3: 17-9.

Karla J, Chaudhary A K, Prasad K (1991) *Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers*, *Int. J. Exp. Pat.*; 72: 1-7

Kalyanamaran B, Perez E, Mason R P (1980) *Spin trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of guinone anti-cancer drugs*. *Biochim. Biophys. Acta.*; 630: 119-120.

Kalender S, Kalender Y, Öğütçü A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Açıköz F (2002) *Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E*. *Toxicology*, 202: 227-235.

Karafakoğlu YS (2004) *Tütün çalışanlarında oksidan - antioksidan durum*. *The Medical Journal of Kocatepe.*; 5: 7-10.

Kargın F, Fidancı U R (1997) *Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif hasar*. *Türk Vet. Hek. Derg.*; 9: (2) 26-28.

Kauffmann N, Yach D (2000) *Tobacco control-challenges and prospects*. *Bull World Health Organ.*; 78:867.

Kauffmann F, Tager I B, Munoz A Et. Al (1989) *Familial factors related to lung function in children aged 6-10 years*. *Am J Epidemiol*; 129:1289-99.

Kayaalp O (1986) *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. *Hacettepe ÜTF Yayınları.*, 3: 1137-49

Kavas GÖ (1989) *Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri*, Türkiye Klin. Derg.; 9, 1, 1-8.

Keen CL, Clegg MS, Ferrell F, et al. (1987) *Hypertension induced alterations in copper and zinc metabolism: a link to vascular disease?* In: Sorenson JRJ. ed. *Biology of copper complexes*. Clifton. NJ: Humana Press, 141.

Khaled S, Brun JF, Bardet ML, Cassanas G, Monnier JF, Orsetti A (1997) *Serum zinc and blood rheology in sportmen*. Clin. Hemorheol. Microcirc.; 17: 47-58.

Kim HS, Lee BM (2001) *Protective effects of antioxidant supplementation on plasma lipid peroxidation in smokers*. J. Toxicol. Environ. Health; 24:583-98.

Kılınc K (1985) *Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları Ve Toksik Etkileri*. Biyokimya Derg.; X: 2 60-89

Kobayashi Y, Ishigame Y, Usui T (1977) *Superoxide dismutase activity of human granulocytes and lymphocytes*, The Lancet, April, 16, 865-866.

Koçyiğit A, Erel O, Gur S (2001) *Effect of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzymes activities*. Clin. Biochem; 34:629.

Köse K, Dogan P (1992) *Lipid Peroksidasyonu*. Erciyes Tıp Derg.; 340-350.

Krinsky NI (1988) *Membrane antioxidants*. Ann. Acad. Sci.; 555, 17-31.

Ktebanoff SJ (1980) *Oxygen metabolism and toxicproperties of phagocytes*, Ann. Int. Med.; 93, 480-489.

Kway A (1978) *A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma*. Clin. Chem. Acta.; 86: 153-157.

Lapenna D, Giorgia S, Mazezetti A and et. al. (1995) *Cigarette smoke, ferritin and lipid peroxidation*. Am. J. Crit. Care Med.; 151: 431-5.

Laurent T, Markert M, Feihl F, Schaller MD (1996) *Oxidant-antioxidant balance in granulocytes during ARDS*. Chest; 109: 163-6.

Lehninger A (1982) *Principles of Biochemistry* Worth, Publishers Inc., 46-220 New York.

Leonard MB, Lawton K, Watson ID (1995) *Free radical activity in young adult cigarette smokers*. J. Clin. Pathol.; 48(4): 385-7.

Levin M (1986) *New concepts in the biology and biochemistry is ascorbic acid*. New Engl. Med., 3: 892-02.

Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E (1994) *Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins*. Methods Enzymol.; 233: 347-357.

Lewis JW, Michael EN, Barry SS (1994) *Increased release of ferritin and iron by iron-loaded alveolar macrophages in cigarette smokers.* Am J Respir Crit Care Med; 150: 690-5.

Linert W, Bridge MH, Huber M, Bjugstad KB, Grossman S, Arendash GW (1999) *In vitro and in vivo studies investigating possible antioxidant actions of nicotine: relevance to Parkinson.s and Alzheimer.s diseases.* Biochimica Acta; 1454:143-52

Lippman SM, Kessler JF, Meyskens FL(1987) *Retinoids as preventive and therapeutic anticancer agents.* Cancer treatment reports 1987; 71: 391-405.

Marceau N, Aspin N(1973) *The intracellular distribution of radio-copper derived from ceruloplasmin and from albumin.* Biochem. Biophys. Acta, 328: 338-350.

Marklund SL (1984) *Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung.* Biochem. J., May 15., 220(1): 269-72

May JM (1999) *Is ascorbic acid an antioxidant fort he plasma membrane?* FASEB J; 13: 995-1006

Mayes PA (1993) *Lipids of physiologic significance,* In: Harper's Biochemistry, Ed. RK. Murray, DK. Granner, AA. Moyes, VW. Radwel; 23. Ed. 142-153,588-599, Lange Medical Publication, London.

Mc Cord JM (1993) *Human disease, free radicals, and the oxidant / antioxidant balance.* Clin Biochem; 26: 351-7.

Mc Custer K, Hoidal JR (1990) *Selective increase of antioxidant enzymes activity in the alveolar macrophages from cigarette smokers and smoke-ex-posed hamsters.* Am. Rev. Respir. Dis.; 141: 678-82.

Meister A, Anderson ME (1983) *Glutathione.* Ann. Rev. Biochem.; 52, 711-760.

Mezzetti A, Lapenna D, Pierdominico SD (1995) *Vitamine E, C and lipid plasma and arterial tissue in smokers and non-smokers.* Atherosclerosis; 112: 91-9.

Miller ER, Appel JL (1997) *Smoking and lipid peroxidation.* Circulation; 96(4) 1097-1101.

Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW (1996) *Fizyolojik öneme sahip lipidler.* N. DİKMEN, T. ÖZGÜNEN. Harper'ın Biyokimyası, 24. baskı, Barış Kitabevi, İstanbul.

Naidu KA (2003) *Vitamin C in human healty and disease is stil a mystery? An overview.* Nutr. J. Aug 21, 2: 7.

Nair V, Cooper CS, Vietti DE, Turner GA (1986) *The chemistry of lipid peroxidation metabolites: crosslinking reactions of malondialdehyde.* Lipids. Jan; 21(1):6-10.

Neunteufl MD, Hener S, Kostner K (2002) Contribution of nicotine to acute endothelial dysfunction in long-term smokers. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 39:2,251-256.

Newman MB, Arendash GW, Shytle RD, Brickford PC, Tighe T, Sanberg PS (2002) *Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS*. *Life Sciences*; 71:2807- 820

Nielsen F, Nielsen J, Mikkelsen BB, Andersen HR (1997) *Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors*. *Clinical Chem.*; 43(7).1209-14

Niki E (1987) *Antioxidant in relation to lipid peroxidation*. *Chem. Phys. Lipids*, 44: 227-253.

Norton ID, Apte MY, Lux O, Haber PS (1998) *Chronic ethanol administration causes oxidative stress in the rat pancreas*. *J. Lab. Clin. Med.*, 131: 442-446.

Oci TP, Burton A (1990) *Attitudes toward smoking in 7 to 9 year old children*. *Int. J. Addict.*; 25: 43-52.

Ormancı N (2003) *Egzersiz yaptırılan atlarda vitamin E uygulamasının lipid peroksidasyonu ve antioksidanlar üzerine etkisinin araştırılması*. Y.Y. Üniv. Biyokimya A. D. Doktora tezi, Van.

Otan H, Apti R (1989) *Tütün*. İzmir: Tarım Orman ve Köy işleri Bakanlığı Yayını., 8-22.

Ozan E, Çolakoğlu N, Sönmez MF, Ozan S, Yılmaz S, Taşdemir B, Ozan G (2005) *Sigara inhalasyonunun trakea'da oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve c vitamininin etkileri*. *Fırat Tıp Derg.*, 10(2): 40-44.

Özdem SS, Şadan G (1994) *Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi*. *Akd. Ü. Tıp. Fak. Dergisi*, XI: 1: 63-71.

Özkurt S, Bostancı M, Altın R ve Ark. (2000) *Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışanlarında sigara içme prevalansı ve nikotin bağımlılığı durumu*. *Tüberküloz ve Toraks Derg.*; 48: 140-147.

Pal Yu B (1994) *Cellular defenses against damage from reactive species*. *Physiological Rev.*, 1, 139-162.

Percy M E (1984) *Catalase: an old enzyme with a new role*. *Can. J. Biochem. Cell. Biol.*; 62: 1006-1014.

Petruzzelli S, Hietanen E, Bartsch H, Camus A C, Mussi A, Angeletti C A , Saracci R, Guintina C (1990) *Pulmonary lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients*. *Chest*; 98: 931-5.

Piar (1988) *Sigara alışkanlıkları ve sigara ile mücadele kampanyası kamuoyu araştırma raporu*.

Placer CA, Cushman LL, Johnson BC (1990) *Estimation of product of lipid peroxidation (Malondialdehyde) in biochemical systems*. *Anal. Biochem.*; 16: 259-264.

- Porter N A** (1984) *Chemistry of lipid peroxidation*. Methods Enzymol.; 105: 273-283.
- Pryor WA, Stone K** (1993) *Oxidants in cigarre smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite*. Ann. N. Y. Acad. Sci. May 28; 686: 12-27.
- Rahman I, William M** (1996) *Role of oxidant/antioxidants in smoking-induced lung diseases*. Free Radicals Biology and Medicine; 21: 669-81.
- Rahman I, Morrison D, Donaldson K, Macnee W** (1996) *Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers*. Am. J. Respir. Crit. Care. Med.; 154: 1055-60.
- Rahman I, Macnee W** (1996) *Oxidant / antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease*. Thorax; 51: 348-350.
- Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB** (1991) *Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites*. Am. J. Surg.; 161: 488-503.
- Repine JE, Bast A** (1997) *Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease*. Am. J. Respir.Crit. Care Med.; 156: 341-57.
- Reznick AZ, Packer L** (1994) *Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay*. Methods Enzymol; 233:357-363.
- Rezvani AH, Levin HD** (2001) *Cognititive effects of nicotine*. Biol Psychiatry; 49:258-67
- Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR** (1991), *Tecniques in free radicals research*. Elsevier, Amsterdam, vol 22.
- Sakamoto N, Sakamoto K, Ando S** (1998) *Mineral concentrations in the blood of male smokers and non-smoking males and females measured whit fluoro-X-ray analyzer*. Cent Eur J Public Health. Nov.; 6(4):284-7.
- Salepçi B, Fidan A, Çağlayan B, Torun E, Durmuş N, Aka ÜA, Haydar S** (2004) *Sağlık çalışanlarının sigara alışkanlıkları ve sigaraya karşı tutumları*. Poster bildiri. Toraks Derneği V7. yıllık kongresi, Antalya, 28 Nisan-1 Mayıs.
- Salman E, Bayraktaroğlu M, Doğan OV ve Ark** (1994) *Askorbik asitin serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı*. GKD Cer. Derg.; 2: 216-220.
- Salonen JT, Salonen R, Korpela H, Sunttiomen S, Tuomiletho J** (1991) *Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: A prospective study in men in Easter Finland*. Am. J. Epidemiol., 134: 268-74.
- Salonen K, Lahoetie J** (1992) *No Effect of Maternal Smoking in Early Pregnancy Observed on Chromosome Aberrations in Chorionic Villus Samples*, Mut. Research, 298 : 285-289, 1992.
- Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA** (1996) *Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls*. FEBS Lett 1996; 384: 240-242.
- Saner S** (2002) *Beslenme ve beslenme bozuklukları; besin gereksinimleri*. Neyzi O, Ertugrul T. Pediatri cilt 1. Nobel Tıp Kitapevleri: s167-182.

Sen CK (1995) *Oxidants and antioxidants in exercise*, Am. Physiol. Soc.; 79, 3, 675-685.

Serteser M (2004) *Hemopoetik Faktörler*. (in Temel Hematolojik Testler. Ed. M. Serteser). Temel Hematolojik Testler. Türk Klinik Biyokimya Derneği Yayınları. 9 Eylül 2004 IV. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, Marmaris. 25-36, 43-45 s.

Seven A, Candan G (1994) *Radikal ve lipid peroksid düzeyini artıran etkenler*, Biyokimya Derg.; XX:4: 43-56.

Seymen HO, Mengi M, Özçelik D, Gülyaşar T, Seymen P, Yiğit G (1999) *Demir yüklemesinin plazma bakır çinko düzeylerine etkisi*. Cerrahpaşa J. Med.,30(2): 155-158.

Sies H (1991) *Oxidative stress: From basis research to clinical application*, Am. J. Med., 91,3,31-38.

Slater T F (1984) *Free radical mechanisms in tissue injury*. Biochem J; 222: 1-15.

Shakumary AL, Vijagummal PL (1997) *Effect of nicotine on lipoprotein metabolism in rats*. Lipids, 32: 311-315.

Shan X, Aw TY, Jonei DP (1990) *Glutathione-dependent protection against oxidative injury*. Pharmacy. Ther., 47, 61-71.

Smith JC, Holbrock JT, Danford DE (1985) *Analysis and evaluation of zinc and copper in human plasma and serum*. J. Am. Coll. Nutr.; 4: 627-38.

Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Hermidia- Amerijeiras A, Lopez-Real AM, Labandeira-Garcia JL (2002) *Effects of (-) nicotine and (-) cotinine on 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and neurotoxicity: relevance for Parkinson's disease*. Biochem. Pharmacol.; 64: 125-35

Southorn AP, Powis G (1988) *Free radicals in medicine. Chemical nature and biologic reactions*, Mayo Clin. Proc., 63: 381-389.

Spallholz JE (1990) *Selenium and Glutathione Peroxidase: Essential Nutrient AND Antioxidant Component of The Immune System*, in " Antioxidant Nutrients and Immune Functions", 262, 145-158, Plenum Pres, New York.

Sporn MB, Roberts AB (1983) *The role of retinoids in differentiation and carcinogenesis*. Cancer Res.; 43: 3034-3040,.

Stahl W, Sies H (2002) *Introduction: Reactive oxygen species*. Research Monographs, 1-2.

Steinberg FM, Chait A (1998) *Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers*. Am. J. Clin. Nutr.; 68, 319-27.

Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988) *A simple for clinical assay of superoxide dismutase*. Clin. Chem., 34: 497-500.

Svenson CK (1987) *Clinical pharmacokinetics of nicotine*. Clin. Pharmacokinet., 12: 30-40.

Şaşmaz GV (1997) *Genç erkek farelerde farklı sürelerdeki hafif egzersizin kas karaciğer antioksidan sistemlerine etkisi*, Gazi Üniv. Tıp Fak. Biyokimya A.D. Uzmanlık Tezi, Ankara.

Şekeroğlu MR, Recep A, Algün E (1997) *Sigara kullananlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite*. *Tüberküloz ve Toraks Derg.*; 45: 105-9.

Tapiero H, Tew KD (2003) *Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins*. *Biomed Pharmacother* 2003; 57: 399-411.

Thomas MJ (1995) *The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 21-29.

Tietz WN (1987) *Measurement of plasma hemoglobin. Fundamental of Clinical Chemistry*, Saunders Company. p. 805-806.

Till GO, Hatherill JR, Tourtellotte WW, Lutz MJ (1984) *Lipid peroxidation and acute lung injury after thermal trauma to skin. Evidence of a role for hydroxyl radical*. *Am J Pathol.*, 119: 376.

Toplan S, Darıyerli N, Özçelik D, Akyolcu M C (2003) *Sıçanlarda deneysel bakır uygulamasının oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkileri*. *Cerrahpaşa J. Med.*, 34: 185-187.

Toth KM, Berger EM, Buhler CJ (1986) *Erythrocytes from cigarette smokers contain more glutathione and catalase and protect endothelial cells from hydrogen peroxide better than do erythrocytes from nonsmokers*. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134: 281-4.

Turgut T, Deveci F, Altuntaş E, Muz MH (2001) *Elazığ' da lise ve dengi okul öğretmenlerine uygulanan sigara anketi sonuçları*. *Solunum*; 3:295-9.

Turi JL, Yang E, Garrick MD, Piantadosi CA, Ghio AJ (2004) *The iron cycle and oxidative stress in the lung*. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(7): 850-857.

Uğur M (1994) *Medikal psikoloji*, 1. Baskı. İstanbul , Sahafklar Kitabevi.

Uslu I, Tanker M, Aksu L (1998) *Radyoaktivite in cigarette*. *Tr. J. Nuclear Sci.* 25:2, 61-70.

Warren CW, Riley L, Asma S (2000) *Tobacco use by youth: a surveillance report from the Global Youth Tobacco Survey project*. *Bull World Health Organ* ;78:868-76.

Watson RR, Leonard TK (1986) *Selenium and Vitamins A, E and C: Nutrients with Cancer prevention Properties*. *Am. Diet Assoc. J.*; 86: 505-510.

Webb E, Ashton CH, Kelly P, Kamah F (1998) *An Update On British Medical Students Lifestyle*. *Med. Educ*; 32 (3): 325-31

Wernes SW, Shea MJ, Lucchesi BR (1986) *Free radicals and myocardial injury*, *Phar. Imp Cir.*, 74, 1, 1-5.

Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W (1975) *The estimation of red cell superoxide dismutase activity.* J Lab Clin Med., 55, 337-341.

Wogt MT, Couley SA, Scott SC, Kuller LH, Browner WS (1996) *Smoking and mortality among older women.* Arch Intern Med., 156: 630-6.

World Bank (1999), *Curbing the Epidemic: Governments and the Economics of Tobacco Control.* Washington, World Bank.

Yıldırım G (2006) Erişim: www.sonsigaram.drgungor.org/tarihce.htm. Erişim Tarihi: 27/03/2006.

Yıldız D (2004) *Nicotine, its metabolism an overview of its biological effects.* Toxicol.; 43:619-32

Yıldız L, Kayaoğlu N, Aksoy H (2002) *The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers.* Clin Chem Lab Med 2002 Jun;40:612-5

Yoshioka T, Kawada K, Shimada T (1979) *Lipit peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood.* Am. J. Obstet.Gynecol., 135: 372-376.

Young IS, Torney JJ, Trimble E R (1992) *The effect of ascorbate supplementation on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rat.* Free Radical Biol. Med; 13: 41-46.

Yöntem M, Çevrim EE, Kaleli S (2002) *Sigara İçen ve İçmeyen Kişilerde Süperoksid Dismutaz, Glutasyon Redüktaz, Ferritin ve Hemogloblin Düzeylerinin Araştırılması.* S.D.Ü. Fen Bilimleri Enst. Derg., 6 (2): 79-86.

Zhi-Zhong G, Wen-Feng Y, Agneta N (2003) *Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells.* Neurochemistry International; 43: 243-49

Zhu B, Sun Y, Sievers RE, Shumon SL, Glontz SA, Chotlarjee K, Pormley LW W (1996) *Wolfe, larginine decreases infact. Size in rats exposed to enviromental tobacco smoke.* Am. Hearts J; 132: 91-100

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Aydın' da doğdu. İlkokul, ortaokul ve liseyi Aydın'da tamamladı. 1997 yılında girdiği Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2001 yılında mezun oldu. 2004 Yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. ADÜ Tıp Fak. Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında 2001 yılında başladığı çalışmasına halen devam etmektedir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Funda KIRAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Her konuda katkılarını esirgemeyen ADÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ayşegül BİLDİK, diğer öğretim üyeleri Doç.Dr. Kamil SEYREK ve Yrd.Doç.Dr. Pınar Alkım ULUTAŐ'a, çalışmamın analiz aşamasında yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen, Biyolog Binnaz PAZARÇEVİREN'e sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren, maddi manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve nişanlım Mustafa Tüker' e sabır ve özverilerinden dolayı teşekkür ederim.