



BEZMÎÂLEM
VAKIF ÜNİVERSİTESİ

T.C.

BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PASİF SİGARA İÇEN ÇOCUKLARDA KATALAZ, TİYOL VE
MYELOPEROKSİDAZ DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ahmet Zahid Göksu

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Emel Torun

İstanbul 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, desteğini her daim yanında hissettiğim saygıdeğer hocam, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Akın İőcan'a,

Tez yazımımın tüm aőamalarında yardımını esirgemeyen, görüşleri ve kişiliği ile tezime yol gösteren, tez danışmanım Doç. Dr. Emel Torun'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana çocuk hekimliğini sevdiren değerli Yrd. Doç. Dr. Selçuk Uzun ve Yrd. Doç. Dr. Ayőegül Doğan Demir'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emekleri olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tüm saygıdeğer hocalarıma,

Ayrıca her anımda yanımda olan, sevgisi ile bana güç veren sevgili eşim Muhsine ve biricik oğlum Mustafa'ya sonsuz teşekkürler.

Dr. Ahmet Zahid Göksu

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	III
TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VI
ABSTRACT	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sigaranın içeriği.....	2
2.2. Çevresel tütün içiciliği.....	3
2.3. Çevresel sigara dumanı etkileri	4
2.4. Çevresel sigara dumanının çocuk sağlığı üzerindeki etkileri	4
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem.....	5
2.5.1. Antioksidanlar.....	6
2.5.1.1. Katalaz Enzimi	8
2.5.1.2 Tiyoller	8
2.5.1.3. Myeloperoksidaz Enzimi.....	9
2.5.1.3.1 Biyokimyasal yapısı	9
2.5.1.3.2. Myeloperoksidazın işlevleri	9
2.5.1.3.3. Antibakteriyel etkisi	10
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	11
3.1. İdrar kotinin / kreatinin düzeyi	11
3.2. Biyokimyasal testler	11
3.3. Serum katalaz, tiyol ve myeloperoksidaz düzeyleri	12
3.4. İstatistiki değerlendirmeler	12
4. BULGULAR	13
5. TARTIŞMA	22
6. KAYNAKLAR.....	27

SİMGELER VE KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
MPO	: Myeloperoksidaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
OH[•]	: Hidroksil
NO	: Nitrik oksit
RO₂	: Peroksil
O₂^{•-}	: Süperoksid
HOCl[•]	: Hipoklorik Asit
ONOO⁻	: Peroksinitrit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO₂	: Hidroperoksil
NO₂	: Nitrojen dioksid
HNO₂	: Nitrosoksid
SOD	: Süperoksid Dismutaz
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz

TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Sigara dumanındaki maddeler	2
Tablo 2: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri sistemleri.....	6
Tablo 3: Çalışma ve kontrol grubunun demografik Özelliklerin Dağılımı	13
Tablo 4: Tiyol, CAT ve MPO düzeyleri ile biyokimyasal markerlerin dağılımı	14
Tablo 5: Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi.....	15
Tablo 6: Tiyol, CAT ve MPO düzeylerinin değerlendirilmesi	16
Tablo 7: Çalışma ve kontrol gruplarda tiyol, CAT ve MPO düzeyleri ile yaş arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	18
Tablo 8: Çalışma ve kontrol gruplarında cinsiyete göre tiyol, CATve MPO düzeyleri değerlendirilmesi.....	21

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Grupların MPO ölçümlerinin dağılımı.....	17
Şekil 2: Grupların MPO ölçümlerinin dağılımı.....	17
Şekil 3: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile tiyol düzeyi ilişkisi.....	19
Şekil 4: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile CAT düzeyi ilişkisi.....	20
Şekil 5: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile MPO düzeyi ilişkisi	20



ÖZET

Pasif sigara içiciliği yaşamın her döneminde insan sağlığını tehdit etmekle birlikte, çocuklar için yaşamın ilk evrelerinde daha zararlı olmaktadır. Tüm dünyada 700 milyon çocuk pasif sigara içiciliğinin zararlı etkileriyle karşılaşmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde 15 milyon çocuğun pasif sigara içicisi olduğu saptanmıştır. Pasif sigara içiciliği Türkiye’de de çok önemli bir sağlık problemidir.

Sigara dumanı içerisinde 4000 den fazla bilinen ve 100.000 den fazla bilinmeyen bileşen bulunmaktadır. Sigara dumanı, yoğunlaştırılmış katran parçacıkları içinde yayılan oksidan ve prooksidan özelliklere sahip gazlar içerir. Kanıtlar pasif sigara içiminin serbest radikal üretimini artırdığı, antioksidanların tükenmesine yol açtığı ve oksidatif stresi artırdığını göstermektedir.

Sigara dumanında bulunan serbest radikaller vücudumuzdaki tüm dokulara ve hücrel yapılar zarar verebilir. Serbest radikallerin artmasıyla oluşan oksidatif stres, vücudumuzdaki antioksidan düzeylerini etkileyebilmektedir.

Biz çalışmamızda, pasif sigara içimine maruz kalan çocukların, vücudun doğal antioksidanlarından olan katalaz, tiyol ve myeloperoksidazın serum düzeylerini, pasif sigara dumanına maruz kalmayan sağlıklı kontrol grubunun serum düzeyleri ile karşılaştırdık.

Çalışmamıza pasif sigara içicisi olduğu belirlenen 4-17 yaşları arasında 24 kız, 17 erkek ile pasif sigara dumanına maruz kalmayan sağlıklı 18 kız, 12 erkek alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubu, demografik özellikler ve laboratuvar bulgularına göre karşılaştırıldığında, myeloperoksidaz düzeyleri sigara dumanına maruz kalan grupta anlamlı yüksek saptanırken ($p = 0,039$), katalaz ve tiyol düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p = 0,926$, $p=0,629$).

Sonuç olarak pasif sigara içiminin, vücudumuzdaki antioksidan sistem üzerine etkileri olduğu ve vücut savunmasında önemli rol oynayan myeloperoksidaz enzim düzeyinin pasif sigara içimine bağlı olarak artışının vücut savunmasında yönelik bir koruma mekanizması olabileceği düşünüldü.

ABSTRACT

Passive smoking threatens human health at every stage of life, but it is more harmful to children in the first stages of life. 700 million children around the world are experiencing the harmful effects of passive smoking. In the United States, 15 million children are found to be passive smokers. Passive smoking is also a very important health problem in Turkey.

Cigarette smoke contains more than 4000 parts of known and 100.000 parts of unknown components. Cigarette smoke contains oxidants and gases with prooxidant properties, which are emitted in condensed tar particles. Evidence suggests that passive smoking increases free radical production, leads to the depletion of antioxidants and increases oxidative stress.

Free radicals found in cigarette smoke can harm all tissues and cellular structures in our bodies. Oxidative stress caused by the increase of free radicals can affect the antioxidant levels in our bodies.

In our study, we compared catalase, thiol, and myeloperoxidase serum levels of natural antioxidants in children with passive cigarette smoking to a healthy control group that was not exposed to passive smoking. Among the 4-17 year olds, 24 girls and 17 boys with passive smoking and 18 healthy girls and 12 healthy boys were used in this study.

Myeloperoxidase levels were significant higher in passive cigarette smoking group compared with non-passive smokers ($p = 0,039$). Catalase and thiol levels were not significantly different between the patient and control group when we compared according to demographic characteristics and laboratory findings ($p = 0,926$, $p=0,629$).

In conclusion, it was thought that passive cigarette smoking had an effect on the antioxidant system in our body and that the increase of myeloperoxidase enzyme level, which plays an important role in body defense, due to passive smoking could be a protection mechanism for body defense.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Çevresel tütün içiciliği, yanan bir tütün ürününden etrafa yayılan dumana veya sigara içen bir kişinin çıkardığı dumana maruz kalma olarak tanımlanır (1). Çalışmalar çocukların %43'ünün evlerinde en az bir sigara içicisi olduğunu bildirmektedir (2). Pasif sigara içiciliği insan sağlığı için yaşamın her döneminde zararlı olmakla birlikte, özellikle çocuklar için yaşamın ilk evrelerinde daha zararlı olmaktadır. Tüm dünyada yedi yüz milyon çocuk, pasif sigara içicisi olarak, sigaranın zararlı etkileriyle karşılaşmaktadır (3). Amerika Birleşik Devletlerinde 15 milyon çocuğun pasif sigara içicisi olduğu saptanmıştır (4).

Pasif sigara içiminin gelişimsel bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, pulmoner hastalıklar ve inme ile ilişkili olduğu ayrıca birçok organ için karsinojenik etkileri artırdığı saptanmıştır(5). Erken doğuma sebep olma, perinatal mortaliteyi artırma, fetal gelişim geriliği ve ani bebek ölüm riskini artırma diğer olumsuz etkileri olarak sayılabilir (4).

Sigara dumanındaki gazlar ve yoğunlaştırılmış katran parçacıkları sayısız miktarda reaktif oksijen türleri üreten oksidan ve prooksidanlardır (6). Yapılan çalışmalar pasif sigara içiminin, serbest radikal üretimini artırdığı, antioksidan tükenmesine yol açtığı ve oksidatif stresi artırdığını göstermektedir (7). Oluşan serbest radikallerin organ hasarında büyük rolleri vardır. Pasif sigara içimine bağlı oluşan hasarlarda oksidatif stres önemli bir role sahiptir (8).

Antioksidanlar reaktif oksijen radikallerinin neden olduğu potansiyel dejeneratif etkileri nötralize ederler. Serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan sistem ve hücrelerdeki onarım mekanizmaları tarafından en aza indirilir (9).

Bu çalışmada, çocukluk yaş grubunda pasif sigara içiminin antioksidan sistem elemanları olan katalaz (CAT), tiyol ve myeloperoksidaz (MPO) düzeyleri üzerine etkileri pasif sigara dumanına maruz kalan ve kalmayan gruplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Sigaranın içeriği

Sigara dumanı içerisinde 4000 den fazla bilinen ve 100.000 den fazla bilinmeyen bileşen bulunmaktadır. Sigara dumanı içerisinde yüksek miktarda serbest radikal bulunmaktadır (10).

Tablo 1: Sigara dumanındaki maddeler

Partikül fazı	Başlıca etkisi	Gaz fazı	Başlıca etkisi
Tar (katran)	Karsinojenik/mutajenik	Karbonmonoksit	Oksijenin hemoglobine bağlanmasını bozar
Nikotin	Doza bağımlı uyarıcı veya parasempatik N-kolinerjik reseptörler üzerine depresör	Nitrojen oksitler	Pro-inflamatur, irritan, siliotoksik
Aromatik hidrokarbonlar	Mutajenik, karsinojenik	Aldehitler	Siliotoksik, irritan, pro-inflamatur
Kresol	İrritan, mutajenik, karsinojenik	Akrolein	İrritan, siliotoksik, pro-inflamatur
Fenol	İrritan, mutajenik, karsinojenik	Hidrosiyanik asit	İrritan, proinflamatur, siliotoksik
Betanaftilamin	Mutajenik, karsinojenik	Amonyak	İrritan, proinflamatur, siliotoksik
Benzopiren	Mutajenik, karsinojenik	Nitrozaminler	Mutajenik, karsinojenik
Katekol	Mutajenik, karsinojenik	Hidrazin	Mutajenik, karsinojenik
İndol	Tümör hızlanması	Vinil klorid	Mutajenik, karsinojenik
Karbazol	Tümör hızlanması		

Sigara, içerisinde tütün, kağıt, katkı maddeleri, pestisidler, filtre kısımları, buharla dezenfekte olan ajanlar ve fabrikasyon sırasında kullanılan ajanlar barındırmaktadır. Ana akım dumanı ve yan akım dumanı olarak 2 çeşit sigara dumanı vardır. Sigaranın yanmasıyla yan akım dumanı, içen kişinin içine çekmesi ve üflemesi ile ana akım dumanı oluşur (11). Yan akım dumanından etraftakiler, ana akım dumanından ise içen kişi etkilenir (11). Ana akım dumanının, filtrede kalan kısmı katran fazı, filtreden geçen kısmı gaz fazıdır. Gaz fazındaki serbest radikallerin yarı ömrü daha kısadır. Yan akım dumanında ise filtre olmadığından, daha yoğun oranda partikül içermektedir (11).

Sigara içeriğindeki ana aktif madde nikotindir. Bağımlılık yapıcı etki nikotinden kaynaklanmaktadır. Nikotin, akciğerler, deri, gastrointestinal sistem, nasal mukoza başta olmak üzere vücudun birçok bölümü tarafından absorbe edilir (12). Nikotin beyindeki nonkolinerjik postsinaptik ve presinaptik asetilkolin reseptörlerine bağlanarak dopamin seviyesini yükseltir. Ayrıca adrenal bezlerdeki epinefrin salgısını artırarak kan basıncı, solunum ve kalp hızı artışına neden olur (12). Nikotinin yarılanma ömrü 2 saattir. Nikotinin majör metaboliti ise kotinindir ve yarılanma ömrü 19-24 saattir. Kotinin idrar, serum ve tükürük salgısında bulunur (12). Nikotin, karaciğerde metaboliti olan kotinine dönüşerek açığa çıkardığı reaktif oksijen türleri ile oksidatif strese neden olur (13).

2.2. Çevresel tütün içiciliği

Çevresel tütün içiciliği, yanan bir tütün ürününden etrafa yayılan veya sigara içen bir kişinin çıkardığı dumana maruz kalma olarak tanımlanır (1). Çalışmalar çocukların % 43 ünün evlerinde en az bir sigara içicisi olduğunu bildirmektedir (2). Amerika Birleşik Devletlerinde 15 milyon çocuğun pasif sigara içicisi olduğu saptanmıştır (4). Pasif sigara içiciliği, dünyadaki birçok ülkede olduğu gibi Türkiye’de de çok önemli bir sağlık problemidir (14). Pasif sigara içiciliğinin kanserojen etkisi dışında, gelişimsel bozukluklar, solunum yolu hastalıkları, amfizem, astım, kardiyovasküler hastalıklar ve inme ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (5). Sağlık üzerine diğer olumsuz etkileri, artmış perinatal mortalite, prematürite, fetal büyüme geriliği ve artmış ani bebek ölümü riskidir (4).

Sigara dumanındaki gazlar ve yoğunlaştırılmış katran parçacıkları, sayısız miktarda reaktif oksijen türleri üreten oksidan ve prooksidanlardır (6). Yapılan çalışmalar pasif sigara içiminin, serbest radikal üretimini artırdığı, antioksidan tükenmesine yol açtığı ve oksidatif stresi artırdığını göstermektedir (7). Oluşan serbest radikallerin, kanser oluşumu ve organ

hasarında büyük rolleri vardır. Pasif sigara içimine bağlı oluşan hasarlarda oksidatif stres büyük bir role sahiptir. Pasif sigara içimi sonucu hücrelerde protein ve lipid hasarı artar (8).

Antioksidanlar reaktif oksijen radikallerinin neden olduğu potansiyel dejeneratif etkileri nötralize ederler. Serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan sistem ve hücrelerdeki onarım mekanizmaları tarafından en aza indirilir (9).

2.3. Çevresel sigara dumanı etkileri

Pasif sigara içiminin gelişimsel bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, pulmoner hastalıklar ve inme ile ilişkili olduğu ayrıca birçok organ için karsinojenik etkileri artırdığı saptanmıştır(5). Erken doğuma sebep olma, perinatal mortaliteyi artırma, fetal gelişim geriliği ve ani bebek ölüm riskini artırma diğer olumsuz etkileri olarak sayılabilir (4).

Değişik ülkelerde yapılan epidemiyolojik araştırmalarda çevresel sigara dumanı maruziyetinin akciğer kanseri için bir risk faktörü olduğunu gösterildiğinden, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı, çevresel sigara dumanını insanlar için kanserojen olarak kabul etmektedir (15). Amerika Birleşik Devletlerinde pasif sigara dumanına bağlı olarak her yıl 3000 kişinin akciğer kanserinden öldüğü belirtilmektedir (16).

Pasif sigara içimi sonunda akciğer kapasitesinde bir miktar düşme ve solunum yolu semptomlarında artış saptanmaktadır. Bunlar dışında yapılan bazı çalışmalar göz ve burun irritasyonu, baş ağrısı ve artmış nazal konjesyona neden olduğunu göstermektedir (16).

Çevresel sigara dumanının kardiyovasküler hastalıklara neden olduğu yönünde çok sayıda çalışma mevcuttur. Amerika Birleşik Devletlerinde pasif sigara dumanı içimi nedeniyle her yıl 62000 kişinin kalp hastalığı nedeniyle öldüğü saptanmıştır (16). Çevresel sigara dumanı nedeniyle hücrelerin oksijen taşıma ve kişinin egzersiz kapasitesi düşmektedir. Çevresel sigara dumanına maruziyet endotel hasarına neden olmakta ve iskemik kalp hastalığı için zemin hazırlamaktadır (15). Çevresel sigara dumanı maruziyeti felç (inme, stroke) riskini de artırmaktadır (17).

2.4. Çevresel sigara dumanının çocuk sağlığı üzerindeki etkileri

Çevresel sigara dumanı, akciğer gelişimi henüz tamamlanmamış olan çocuklarda akut solunum yolu hastalıklarına neden olur (15,18). Çocuğun çevresel sigara dumanından maruziyet derecesi özellikle annenin sigara içiyor olmasından çok fazla etkilenmektedir (15,19). Çevresel sigara dumanına maruz kalan çocuklarda bronşit, bronşiyolit, pnömoni gibi

alt solunum yolları enfeksiyonları, orta kulak enfeksiyonu, üst solunum yolu irritasyonu, azalmış akciğer fonksiyonu ve astımlı çocuklarda artmış atak sayısı görülmektedir (23, 10, 26). Amerika Birleşik Devletlerinde infantlarda oluşan pnömoninin %50'sinin pasif sigara dumanına bağlı olduğu saptanmıştır (16).

Sigara içiminin bebeklerde düşük doğum ağırlığına neden olduğu saptanmıştır. Çalışmalar sigara içen anneden doğan bebeğin beklenenden 150-200 gram düşük ağırlıkla doğduğunu göstermektedir (15,19). Bunun nedeninin sigara içimi sonucunda oluşan hipoksi olduğu düşünülmektedir (15). Amerika Birleşik Devletlerinde düşük doğum ağırlığı ile doğan çocukların %52'sinin çevresel sigara dumanına maruz kaldığı tahmin edilmektedir (16).

Annenin sigara içmesinin ani bebek ölümü riskini artırdığı saptanmıştır. Annenin gebelikten sonra sigara içmesi durumunda ani bebek ölümü riski 2,3 kat, babanın içmesi durumunda 3,5 kat artmış bulunmaktadır (15).

Annenin sigara içtiği durumlarda çocuklarda entelektüel kapasitenin azaldığı, hiperaktivite, dikkat eksikliği ve konuşma bozukluğu gibi nöropsikiyatrik bulgulara daha çok rastlandığı gösterilmiştir (19).

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem

Oksijenli solunum yapan canlılarda vücuttaki metabolik olaylar sırasında oksijen kullanımı sonucunda serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu radikaller hücrel hasara ve toksik etkilere sebep olmaktadır. Vücutta oksijenin toksik etkilerinden korunmak için elektron taşıma sistemi ve enzim sistemleri kullanılır (20).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) hücrel metabolizmanın ürünleridir. Bu bileşikler vücutta faydalı ve zararlı etkileriyle ikili bir rol üstlenmektedirler (21). Düşük ve orta düzey konsantrasyonda bağışıklık sisteminde ve hücrel maturasyonda çok önemli rolleri bulunmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda ise lipitler, proteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde oksidatif strese neden olurlar (21). Oksidatif stresin kanser, otoimmün hastalıklar, romatoid artrit, katarakt, yaşlanma, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların oluşmasında çok önemli rolü vardır (21).

Hücrelerde serbest radikaller ve bunları nötralize eden antioksidanlar bir denge içerisinde bulunmaktadır. Serbest radikaller vücutta sürekli olarak üretilip aynı zamanda sürekli olarak tüketilerek kararlı bir denge hali bulunmaktadır (22). Bu kararlı denge haline oksidatif denge

denmektedir. Eğer bu dengede serbest radikaller artarsa, dokularda oluşan olumsuz etkiye oksidatif stres denmektedir. Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kaymasına sebep olur (22).

Oksidatif stres hücre disfonksiyonu ve hücre ölümüne, DNA'da kırıklar oluşturarak kansere ve birçok hastalığa sebep olmaktadır (22).

Reaktif nitrojen türleri ve ROS enzimatik ve nonenzimatik yollarla oluşmaktadır. Serbest radikaller, bakteri ve virüsleri öldüren fagositoz mekanizmasında, prostaglandin sentezinde, sitokrom P450 sisteminde ve solunum zincirinde enzimatik yollarla oluşmaktadırlar. Aerobik metabolizma sonucu mitokondride, oksidatif fosforilasyon esnasında non enzimatik yollarla oluşmaktadır (20).

Serbest radikaller hidroksil (OH), nitrik oksit (NO), peroksil (RO₂) ve süperoksit (O₂-)' dir. Serbest radikal olmayıp, serbest radikal reaksiyonlarına yol ağan moleküller hipoklorik asit (HOCl), peroksinitrit (ONOO-), hidrojen peroksit (H₂O₂), ozon ve single oksittir (20).

Tablo 2: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri sistemleri

	Serbest Radikal	Non Radikal
ROS	Süperoksit (O ₂) Hidroksil (OH) Peroksil (RO ₂) Hidroperoksil (HO ₂)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) Hidroklorik asit (HOCl)
RNS	Nitrik oksit (NO) Nitrojen dioksit (NO ₂)	Peroksinitrit (OONO) Nitrosoksit (HNO ₂)

2.5.1. Antioksidanlar

Serbest radikal hasarına karşı vücudun hücre ve organ sistemlerini antioksidan sistem korumaktadır. (23). Vücuttaki antioksidan sistem kaynakları sürekli olarak yenilenmektedirler. Serbest radikalleri yok eden antioksidanların kendileri de okside olmaktadır. Antioksidanlar, RNS ve ROS gibi prooksidan olarak da davranabilmektedirler (21).

Organizmada RNS ve ROS üretiminin artması enzimatik veya nonenzimatik antioksidanlardaki eksiklikten kaynaklanmaktadır. Enzimatik antioksidanlar, primer antioksidanlar (CAT, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px),

peroksiredoksinler) ve sekonder antioksidanlar (glukoz-6-fosfat-dehidrojenaz) olarak 2 gruba ayrılırlar. Nonenzimatik antioksidanlar ise gıdasal ve metabolik antioksidanlardır (24).

Metabolik antioksidanlardan tiyol içerenler; glutatyon, tiyoredoksin, lipoik asit ve glutaredoksidir. Tiyol içermeyen metabolik antioksidanlar ise melatonin, koenzim Q10, bilirubin ve ürik asittir. Besinsel antioksidanlar vitamin C, vitamin E, selenyum ve bakır gibi eser elementlerden oluşmaktadır (24).

ANTIÖKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

1. Enzimatik antioksidanlar (ROS' u daha az toksik ürünlere dönüştüren detoksifiye edici enzim sistemleri)

a) Primer:

- Katalaz
- Süperoksid Dismutaz
- Myeloperoksidaz
- Glutatyon Redoks Siklus Enzimleri (Glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz,

b) Sekonder:

- Glikoz 6 fosfat dehidrojenaz

2. Non enzimatik antioksidanlar (Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidanlar)

a) Metabolik (endojen)

- Bilirubin
- Tiyoller (Lipoik asit, N-asetilsistein, indirgenmiş glutatyon)
- NADPH, NADH
- Ubiquinon
- Ürik asit

b) Diyetle alınan (eksojen)

- A vitamini
- C vitamini
- E vitamini
- Polifenoller
- Selenyum

3. Reaktif oksijen türleri oluşumunu önleyen ve yayılmasını engelleyen sistemler

(metal bağlayan proteinler: ferritin, laktoferrin, seruloplazmin)

2.5.1.1. Katalaz Enzimi

Katalaz; eritrositler, hepatositler ve böbreklerde bulunan bir enzimdir (25). Katalaz enzimi somatik endojen bir antioksidandır. Katalazın, H_2O_2 'ye afinitesi GSH-Px 'e göre daha fazladır. Katalaz enzimi dört adet alt birimden oluşmaktadır. Alt birimlerden her birinin molekül ağırlığı yaklaşık 60 kDa ağırlığındadır ve her bir alt birim hematin (Fe^{+3} protoporfirin 9) grubu içerir (26).

Katalaz enzimi eritrosit içerisinde bol miktarda bulunur (27). Peroksisom içerisinde H_2O_2 'nin H_2O 'ya dönüşümünü sağlar. Bir CAT molekülü dakikada 6 milyon H_2O_2 molekülünü H_2O 'ya dönüştürebilir. En yüksek reaktivasyon döngüsüne sahip enzimlerdendir (28).



Hidrojen peroksit, eğer CAT tarafından parçalanmazsa Fenton reaksiyonu sonucu tehlikeli bir serbest radikal olan OH oluşumuna sebep olur (29).

FENTON REAKSİYONU



Aerobik metabolizma sırasında CAT sürekli olarak üretilip tüketilir. Düşük miktardaki H_2O_2 , CAT tarafından etkili bir şekilde katalizlenir. Ancak yüksek miktardaki H_2O_2 , DNA hasarı ve lipid peroksidasyonuna neden olur (30).

2.5.1.2 Tiyoller

Tiyoller antioksidan sistem içinde kilit rolü olan sülfhidril grubu içeren organik bileşiklerdir. Hücre içi veya hücre dışında, redükte glutatyon, tiyoredoksin veya peroksiredoksin gibi proteinlere bağlanarak işlevlerini gerçekleştirirler (31). Tiyoller hücre yüzeyine bağlı olarak hücreler arasında etki göstermenin yanında proteinlere bağlı olarak hücre içinde çözülmüş halde endojen antioksidan savunma sistemlerinde de görev yapmaktadırlar (32). Proteinlerin üzerinde bulunan sülfhidril grupları (-SH) ve homosistein, sisteinilglisin, sistein ve glutatyon gibi disülfid içeren proteinler plazmadaki tiyolleri oluşturur (33).

Sistein, fonksiyonel tiyol grubu sayesinde hücreleri oksidatif hasardan korumada hayati öneme sahiptir. Tiyoredoksin, glutaredoksin, peroksiredoksin gibi proteinlerin aktif bölgelerindeki sistein rezidüleri ROS ve RNS'yi detoksifiye eder (31).

Tiyoller, vücut sıvılarında bulunan en büyük indirgeyici grup olduklarından in vivo en büyük plazma antioksidanları olarak kabul edilir (34,35).

2.5.1.3. Myeloperoksidaz Enzimi

2.5.1.3.1 Biyokimyasal yapısı

Myeloperoksidaz memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde rol oynayan bir enzimdir. Enzimin 1, 2 ve 3 olarak tanımlanmış üç tipi bulunmaktadır. Her MPO molekülünün iki alt birimi, iki uzun iki kısa polipeptit zinciri vardır. Myeloperoksidaz, 1940'lı yıllarda Verdoperoksidaz olarak tanımlanmakta iken, sonradan myeloperoksidaz olarak adlandırılmıştır. Enzimin total ağırlığının ortalama %3-4 'ü karbonhidrattan oluşmaktadır (36, 37,38).

Myeloperoksidaz 1,2 ve 3 birbirinden bağımsız olarak bakteriyel mekanizmada görev yapabilmektedirler. En güçlü etki MPO 1 ile meydana gelmektedir. Etkilerinin farklı olmasının, MPO formlarının hedef hücrelere bağlanma güçlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (39,38).

2.5.1.3.2. Myeloperoksidazın işlevleri

Nötrofil ve monositler bakterilerin öldürülmesinde oksijen bağımlı ve oksijenden bağımsız mekanizmalara sahiptir. Her iki mekanizma da demire bağımlı olarak işleyiş göstermektedir. Oksijen bağımlı mekanizmalar MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistemi de içermektedirler. Oksijenden bağımsız sistem, patojenlerin öldürülmesinde fagolizozomlarda meydana gelen pH değişikliklerini ve lizozomal enzimleri kullanarak çalışmaktadır. Vücuttaki tüm bakterisidal mekanizmalar birlikte değerlendirildiğinde, en etkili sistemin MPO sistemi olduğu bulunmuştur. Myeloperoksidaz, demir içeren bir hem proteini olarak, vücudun savunma sisteminin yanında inflamatuvar doku hasarında da önemli role sahiptir (40,41).

2.5.1.3.3. Antibakteriyel etkisi

Fagositoz işleminden sonra, lökosit hücre membranında bulunan NADPH oksidaz sistemi çevre dokulardaki moleküler oksijeni O_2 -'ye dönüştürür. Süperoksid oluşumuna eşlik eden moleküler oksijenin hızlı tüketimi respiratuar patlama olarak adlandırılmaktadır. Oluşan O_2 -, SOD ile H_2O_2 'ye dönüşür. Fagolizozomlarda bulunan lizozomal bir enzim olan MPO varlığında peroksid ve klorür iyonları bakterilerin öldürülmesinde görev yapan HOCl'e dönüştürülür. Oluşan fazla peroksit, CAT veya GSH-Px ile nötralize edilir. NADPH oksidaz hormonal olarak düzenlenen ve alt birimlerinde sitokrom ile flavin koenzim gruplarını taşıyan enzim kompleksidir (42, 43).

Myeloperoksidaz, H_2O_2 ile birlikte veya halojen iyonlardan (iyodit, bromit, klorit) birinin de birlikte bulunduğu bir ortamda oksijene bağımlı olarak antibakteriyel etki göstermektedir. Halojenler etkilerine göre sıralandıklarında iyodit, bromit, klorit olarak yer alırlar. En etkili kombinasyon MPO+ H_2O_2 + I⁻ üçlüsüdür. Myeloperoksidazın; Escherihia coli, Lactobacillus acidophilus, Staphylococcus aureus ve Actinobacillus üzerine kesin bakterisid etkisi olduğu saptanmıştır (36, 39,44).

Lökositlerin patojenlere karşı konak savunmasında çok önemli rolleri vardır. Nötrofil ve monositlerin aktivasyonu ile O_2 ve H_2O_2 oluşur ve iltihabın yeşil renginden sorumlu olan MPO enzimi salınır. Myeloperoksidaz, H_2O_2 ve klordan hipoklorik asit /hipoklorit (HOCl/OCl) oluşumunu katalizler. Myeloperoksidazın ana substratı klordur. Halojenlerden ziyade plazmada bulunan farklı organik ve inorganik bileşiklerin de MPO için doğal substrat oldukları düşünülmektedir. Bunlardan birkaçı östrojenler, katekolaminler, tirozin, nitrit, askorbat, NADPH, serotonin ve nitrit oksittir. Nötrofil kaynaklı oksidanlar, çeşitli biyolojik ürünlerle reaksiyona girerek doku hasarına neden olmaktadır (45, 46, 47).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğinde, Ocak 2015-Ocak 2016 tarihleri arasında yürütülen çalışmamız için üniversite etik komitesinden onay ve ailelerden yazılı bilgilendirilmiş onay formu alındı.

Kesitsel tipte yaptığımız çalışmamıza, 4-17 yaşları arasındaki 24 kız, 17 erkek 41 pasif sigara dumanına maruz kalan çocuk ve adolesan ile aynı yaş grubundan 12 erkek, 18 kız olmak üzere 30 pasif sigara dumanına maruz kalmamış kontrol hastası dahil edildi. Her iki grubun demografik özellikleri, sosyoekonomik durumu ve ailelerin sigara içme alışkanlıkları değerlendirildi.

Çalışma grubu, başvurudan en az 6 hafta önce başlayan, günde en az 5 adet sigara dumanına maruziyeti olan çocuklar arasından seçildi. Pasif sigara dumanına maruz kalan çalışma grubu hastaları, sabah ilk alınan idrar örneğinden kotinin/kreatinin oranına bakılarak belirlendi. Kronik hastalıkları olanlar, parenteral beslenenler, herediter lipide mi yönünden aile hikayesi olanlar, ilaç kullananlar, sigara ve alkol kullananlar çalışmaya dahil edilmedi.

Kontrol grubu, başvurudan en az 6 hafta önce pasif sigara dumanına maruz kalmadığı belirtilen hastalardan oluşturuldu. Kontrol grubunun sabah ilk alınan idrar örneğinden kotinin/kreatinin oranına bakılarak pasif sigara dumanına maruz kalmadıkları belirlendi.

Her iki gruptan biyokimyasal testler için serum örneği ve idrar analizleri alındı. Her iki grubun vücut kitle indeksi (kg/m^2) hesaplandı.

3.1. İdrar kotinin / kreatinin düzeyi

Hasta ve kontrol grubunun sabah alınan ilk idrar örnekleri toplandı ve -20 derecede donduruldu. İdrar kotinin düzeyi immünoassay enzim metodu (Thermo-Fisher scientific, XXX, XX, USA) kullanılarak ölçüldü. İdrar kreatinin değeri kalorimetrik yöntemle belirlendi. İdrar miktarlarının değişkenliği nedeniyle pasif sigara maruziyeti idrar kotinin/kreatinin (ng/ml) oranı hesaplanarak değerlendirildi.

3.2. Biyokimyasal testler

Kan örneklerinden total kolesterol, LDL- kolesterol, insülin düzeyleri ölçüldü. Total kolesterol ve LDL kolesterol homojen kalorimetrik enzim tekniği (Cobas 800; Roche, Basel,

Switzerland) ile ölçüldü. İnsülin düzeyi direkt kimyasal ışıklandırma (Centaur; Siemens) yöntemi ile ölçüldü.

3.3. Serum katalaz, tiyol ve myeloperoksidaz düzeyleri

Katalaz aktivitesinin ölçümü: Antioksidatif durumun bir göstergesi olan CAT aktivitesi Aebi ve ark.'nın (48) geliştirdiği H₂O₂'nin parçalanarak azalmasına dayanan spektrofotometrik yöntem ile (Siemens ADVIA 1200) ölçüldü (IU/mL).

Tiyol düzeyinin ölçülmesi: Serumdaki serbest sülfidril grupları (-SH), Hu ve ark. (49) tarafından modifiye edilen Ellman (50) metodunun kullanıldığı otoanalizörde (Siemens ADVIA 1200) ölçüldü (µmol/L).

Myeloperoksidaz aktivitesinin ölçümü: Myeloperoksidaz aktivitesi, Krawisz ve arkadaşlarının (51) geliştirdiği yöntemin kullanıldığı otoanalizörde (Siemens ADVIA 1200) ölçüldü (IU/mL).

3.4. İstatistiki değerlendirmeler

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) yanı sıra nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Student's t test, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test, Yates' continuity correction test (Yates düzeltmeli Ki-kare) kullanıldı. Değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Anlamlılık p<0,01 ve p<0,05 düzeylerinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışma Ocak 2015- Ocak 2016 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hastanesi'nde %40,8'i (n=29) erkek, %59,2'si (n=42) kız toplam 71 olgu ile yapılmıştır. Çalışmaya katılan olguların yaşları 4 ile 17 yıl arasında değişmekte olup, ortalama 10,17±3,61 yıl olarak saptanmıştır.

Olguların BMI ölçümleri 12,89 ile 28,40 kg/m² arasında değişmekte olup, ortalama 17,92±3,42 kg/m² olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3: Çalışma ve kontrol grubunun demografik Özelliklerin Dağılımı

		Min – Maks	Ort±Ss
Yaş (yıl)		4 – 17	10,17±3,61
BMI (kg/m²)		12,89 – 28,40	17,92±3,42
		n	%
Cinsiyet	Erkek	29	40,8
	Kız	42	59,2
Gelir (TL)	<1000 TL	20	28,2
	1000-2000 TL	37	52,1
	>2000 TL	14	19,7
•Sigara İçen	Baba	23	47,9
	Anne	12	25,0
	Diğer	13	27,1
Günlük Sigara İçme Miktarı	<5 Tane	12	29,3
	>5 Tane	29	70,7

•Birden fazla seçenek işaretlenmiştir.

Olguların %28,2'sinin (n=20) aile geliri 1000 TL den az iken, %52,1'inin (n=37) 1000-2000 TL arasında ve %19,7'sinin (n=14) 2000 TL den fazla olduğu saptanmıştır.

Çalışma grubunda 23 olgunun (% 47,9), babası, 12 olgunun (%25) annesi, 13 olgunun (%27,1) ise evdeki diğer kişiler sigara içicisi olduğu için pasif sigara dumanına maruz kaldığı saptanmıştır. Sigara içenlerin ebeveynlerin 12'sinin (%29,3) günde 5'ten az sigara içtiği saptanırken, 29 'unun (%70,7) 5'ten fazla sigara içtiği görülmüştür.

Tablo 4: Tiyol, CAT ve MPO düzeyleri ile biyokimyasal markerlerin dağılımı

	Min – Maks	Ort±Ss
	n=71	
Tiyol (µmol/L)	0,28 – 2,88	0,58±0,45
CAT (IU/mL)	4,82 – 189,17	47,04±51,13
MPO (IU/mL)	23,86 – 2268,61	287,06±373,67
Total Kolesterol (mg/dl)	90 – 207	149,01±24,34
LDL Kolesterol (mg/dl)	32 – 150	87,04±23,14
İnsülin (mU/L)	3,10 – 46,40	13,20±9,40
İdrar kotinin/kreatinin oranı (ng/ml)	0-5,19	0,83±1,11

Olguların tiyol ölçümleri 0,28 ile 2,88 µmol/L arasında değişmekte olup, ortalama 0,58±0,45 µmol/L olarak, CAT ölçümleri 4,82 ile 189,17 IU/mL arasında değişmekte olup, ortalama 47,04±51,13 IU/mL olarak ve MPO ölçümleri 23,86 ile 2268,61 IU/mL arasında değişmekte olup, ortalama 287,06±373,67 IU/mL olarak saptanmıştır.

Olguların total kolesterol ölçümleri 90 ile 207 mg/dl arasında değişmekte olup, ortalama 149,01±24,34 mg/dl olarak, LDL ölçümleri 32 ile 150 mg/dl arasında değişmekte olup, ortalama 87,04±23,1 mg/dl olarak ve insülin ölçümleri 3,10 ile 46,40 mU/L arasında değişmekte olup, ortalama 13,20±9,40 mU/L olarak saptanmıştır. İdrarda kotinin/kreatinin oranı 0 ile 5,19 ng/ml arasında değişmekte olup ortalaması 0,83±1,11 ng/ml olarak saptanmıştır.

Tablo 5: Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi

		Hasta (n=41)	Kontrol (n=30)	p
Yaş (yıl)	Ort±Ss	10,15±3,77	10,20±3,45	^a 0,951
	Min-Maks	5-17 (10)	4-16 (10,5)	
	(Medyan)			
BMI (kg/m ²)	Ort±Ss	18,07±3,64	17,73±3,19	^b 0,694
	Min-Maks	12,89-28,4	13,13-24,28 (16,43)	
	(Medyan)	(16,62)		
Total Kolesterol (mg/dl)	Ort±Ss	149,38±24,25	148,50±24,9	^a 0,885
	Min-Maks	96-206 (149,5)	90-207 (149)	
	(Medyan)			
LDL – Kolesterol (mg/dl)	Ort±Ss	89,32±23,91	83,59±21,9	^a 0,322
	Min-Maks	43-150 (85)	32-126 (89)	
	(Medyan)			
İnsülin (mU/L)	Ort±Ss	13,27±10,63	13,12±8,08	^b 0,667
	Min-Maks	3,2-46,4 (10,4)	3,1-29,6 (11,3)	
	(Medyan)			
İdrar kotinin/kreatinin oranı (ng/ml)	Ort±Ss	1,27±1,16	0,22±0,66	^b 0,001**
	Min-Maks	0-5,19 (0,78)	0-2,52 (0)	
	(Medyan)			
		n (%)	n (%)	
Cinsiyet	Erkek	17 (41,5)	12 (40,0)	^c 1,000
	Kız	24 (58,5)	18 (60,0)	
Gelir	<1000 TL	13 (31,7)	7 (23,3)	^d 0,726
	1000-2000 TL	20 (48,8)	17 (56,7)	
	>2000 TL	8 (19,5)	6 (20,0)	

^aStudent-t Test

^bMann Whitney U Test

^cYates Continuity Correction Test

^dPearson Chi-Square Test

**p<0,01

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların vücut kitle indeksleri ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların total kolesterol, LDL – kolesterol ve insülin ölçümleri, gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların aile gelir dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

İdrarda kotinin/kreatinin oranı gruplara göre anlamlı farklılık göstermektedir; çalışma grubunda bu oran anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$).

Tablo 6: Tiyol, CAT ve MPO düzeylerinin değerlendirilmesi

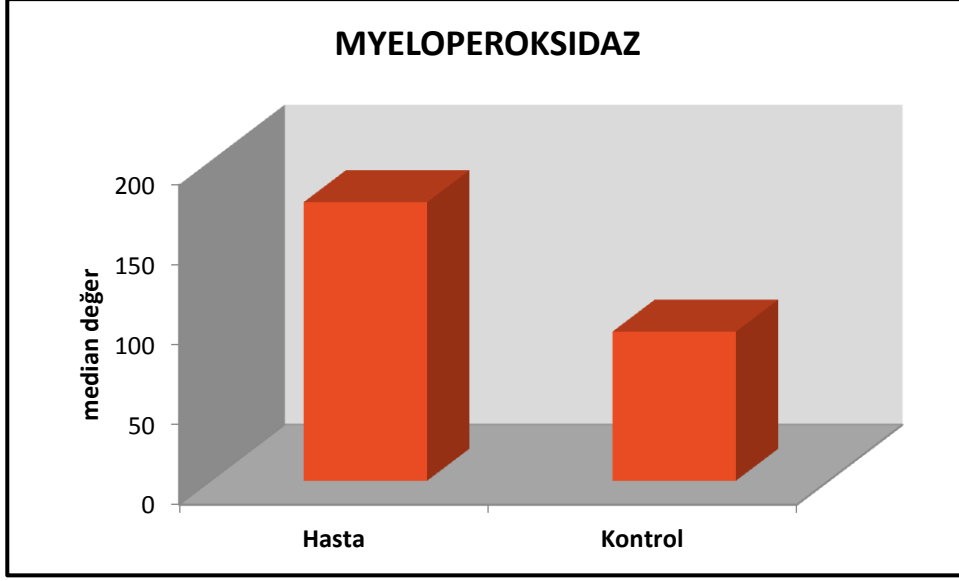
	Hasta (n=41)	Kontrol (n=30)	p
Tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	<i>Ort±Ss</i>	0,63±0,56	0,51±0,19
	<i>Min-Maks</i>		
	<i>(Medyan)</i>	0,29-2,88 (0,40)	0,28-1,00 (0,43)
CAT (IU/mL)	<i>Ort±Ss</i>	51,68±57,14	40,69±41,63
	<i>Min-Maks</i>	4,82-189,17	6,55-140,28
	<i>(Medyan)</i>	(17,46)	(20,51)
MPO (IU/mL)	<i>Ort±Ss</i>	370,30±449,04	165,39±165,89
	<i>Min-Maks</i>	50,81-2268,61	23,86-587,07
	<i>(Medyan)</i>	(173,98)	(93,12)

^bMann Whitney U Test

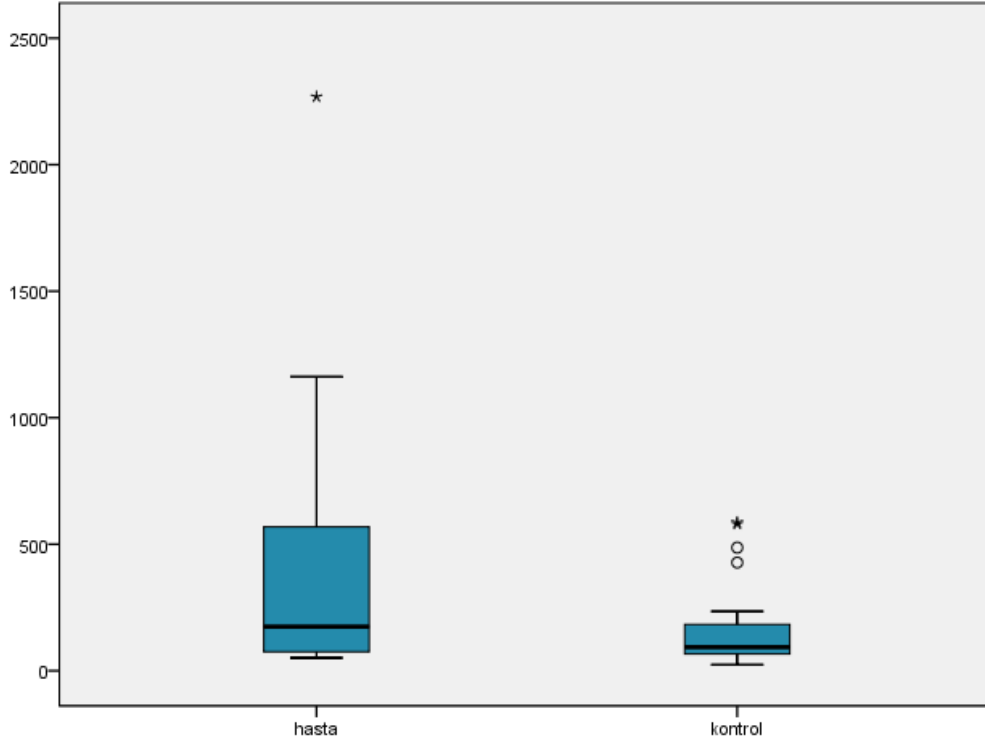
* $p<0,05$

Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında olguların tiyol ve CAT düzeyleri ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p = 0,629$, $p = 0,926$).

Pasif sigaraya maruz kalan çalışma grubu olgularının MPO düzeyleri kontrol grubu olgularına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p = 0,039$).



Şekil 1: Grupların MPO ölçümlerinin dağılımı



Şekil 2: Grupların MPO ölçümlerinin dağılımı

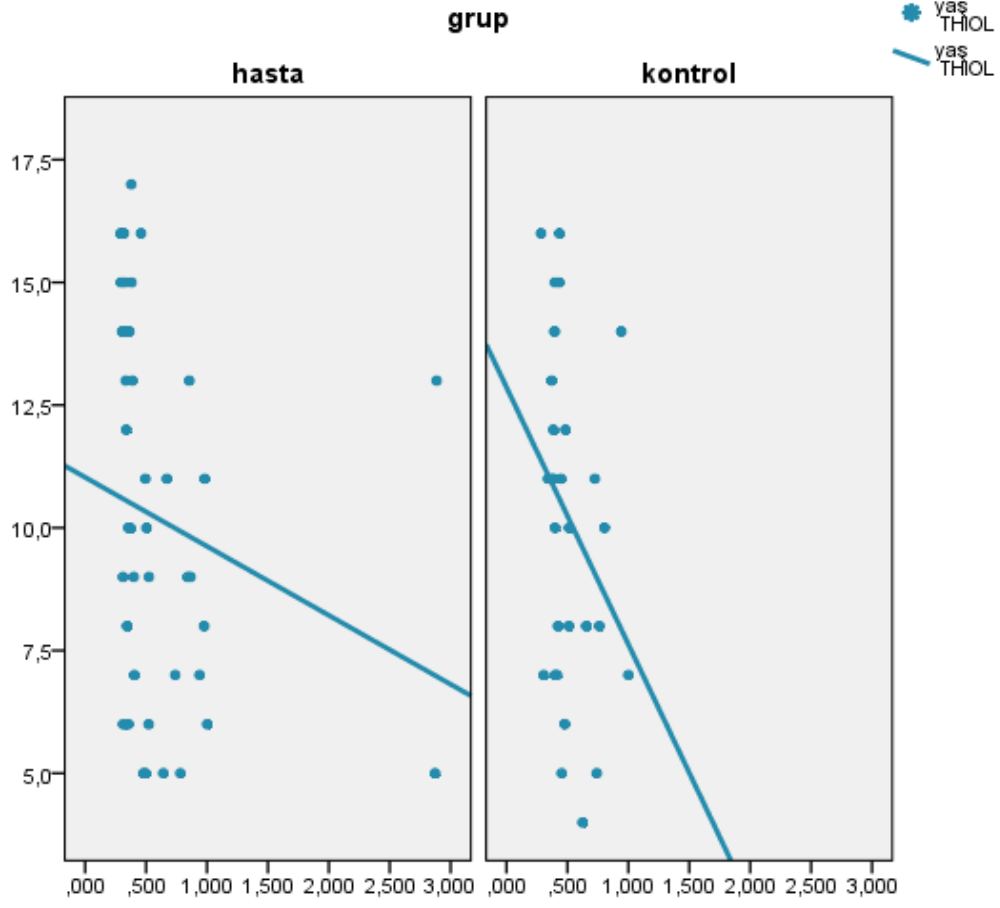
Tablo 7: Çalışma ve kontrol gruplarda tiyol, CAT ve MPO düzeyleri ile yaş arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

	Yaş			
	Hasta (n=41)		Kontrol (n=30)	
	R	p	r	P
Tiyol (µmol/L)	-0,415	0,007**	-0,380	0,038*
CAT (IU/ml)	-0,357	0,022*	-0,391	0,032*
MPO (IU/ml)	-0,366	0,024*	-0,382	0,054

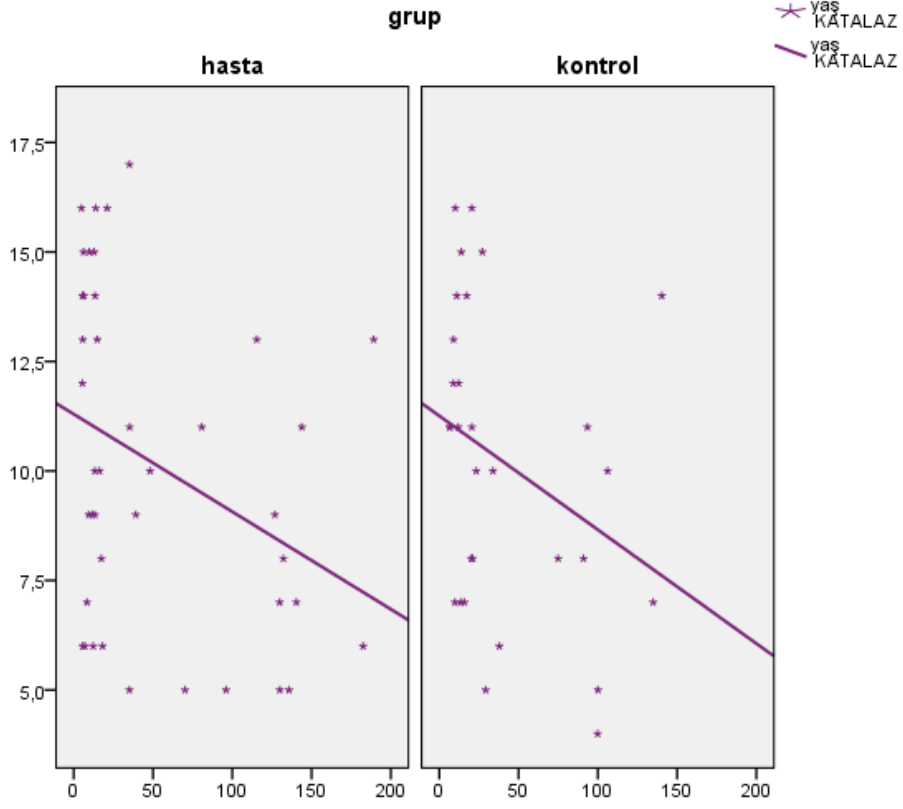
r=Spearman'ın Korelasyon Katsayısı **p*<0,05 ***p*<0,01

Çalışma grubu olgularının yaş dağılımları ile tiyol düzeyi arasında negatif yönlü (yaş arttıkça tiyol değeri azalan) %41,5'lik ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,415$; $p=0,007$; $p<0,01$). Çalışma grubu olgularının yaş dağılımları ile CAT düzeyleri arasında negatif yönlü (yaş arttıkça katalaz değeri azalan) %35,7'lik ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,357$; $p=0,022$; $p<0,05$). Çalışma grubu olgularının yaş dağılımları ile MPO düzeyleri arasında negatif yönlü (yaş arttıkça MPO değeri azalan) %36,6'lık ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,366$; $p=0,024$; $p<0,05$).

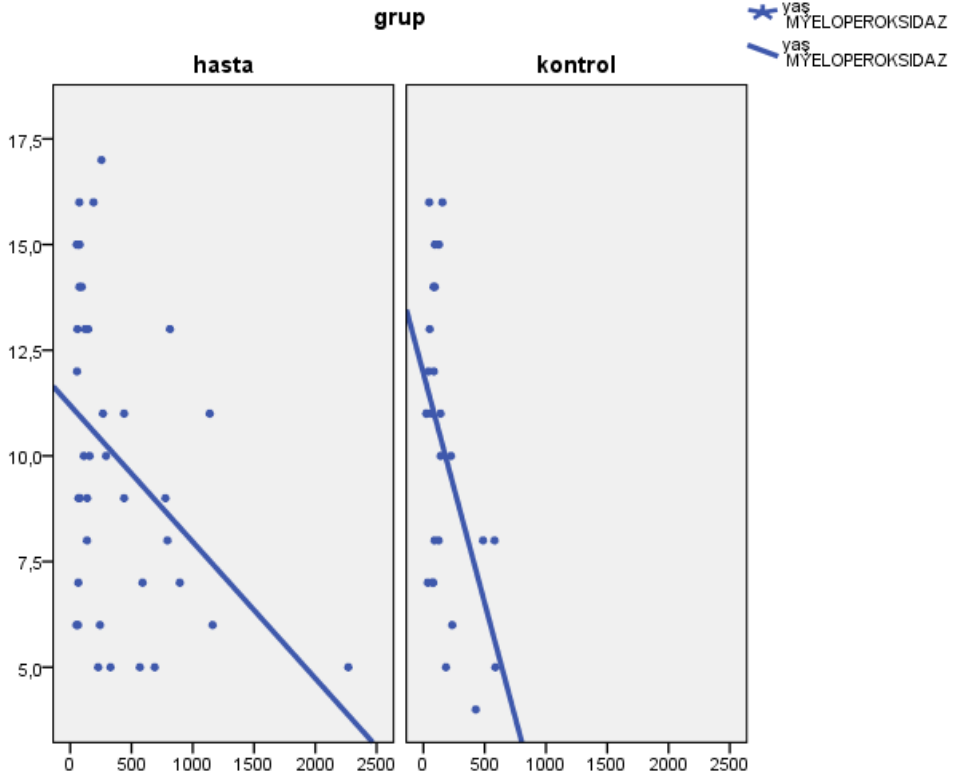
Kontrol grubu olgularının yaş dağılımları ile tiyol düzeyleri arasında negatif yönlü (yaş arttıkça tiyol değeri azalan) %38'lik ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,380$; $p=0,038$; $p<0,05$). Kontrol grubu olgularının yaş dağılımları ile CAT ölçümleri arasında negatif yönlü (yaş arttıkça CAT değeri azalan) %39,1'lik ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,391$; $p=0,032$; $p<0,05$). Kontrol grubu olguların yaş dağılımları ile MPO ölçümleri arasında negatif yönlü (yaş arttıkça MPO değeri azalan) %38,2'lik ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte dikkat çekici bulunmuştur ($r=-0,382$; $p=0,054$; $p>0,05$).



Şekil 3: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile tiyol düzeyi ilişkisi



Şekil 4: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile CAT düzeyi ilişkisi



Şekil 5: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ile MPO düzeyi ilişkisi

Tablo 8: Çalışma ve kontrol gruplarında cinsiyete göre tiyol, CAT ve MPO düzeyleri değerlendirilmesi

		Erkek	Kız	^b p	
Hasta Grubu	Tiyol (µmol/L)	<i>Ort±Ss</i>	0,68±0,61	0,59±0,54	0,315
		<i>Min-Maks</i>	0,31-2,87 (0,48)	0,29-2,88 (0,39)	
		<i>(Medyan)</i>			
	CAT (IU/ml)	<i>Ort±Ss</i>	59,81±59,21	45,92±56,19	0,328
		<i>Min-Maks</i>	5,47-182,49	4,82-189,17	
		<i>(Medyan)</i>	(21,11)	(13,64)	
MPO (IU/ml)	<i>Ort±Ss</i>	534,95±582,7	262,92±304,15	0,062	
	<i>Min-Maks</i>	58,39-2268,61	50,81-1138,35		
	<i>(Medyan)</i>	(328,3)	(122,28)		
Kontrol Grubu	Tiyol (µmol/L)	<i>Ort±Ss</i>	0,55±0,21	0,48±0,17	0,169
		<i>Min-Maks</i>	0,31-1 (0,47)	0,28-0,94 (0,41)	
		<i>(Medyan)</i>			
	CAT (IU/ml)	<i>Ort±Ss</i>	49,88±42,47	34,57±41,11	0,063
		<i>Min-Maks</i>	9,9-134,85	6,55-140,28	
		<i>(Medyan)</i>	(26,29)	(13,65)	
MPO (IU/ml)	<i>Ort±Ss</i>	219,74±199,3	131,43±137,24	0,082	
	<i>Min-Maks</i>	35,48-587,07	23,86-486,58		
	<i>(Medyan)</i>	(139,9)	(81,87)		

^bMann Whitney U Test

Çalışma grubu olgularının tiyol , CAT ve MPO düzeyleri, cinsiyetlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p=0,315; p=0,328; p=0,062; p>0,05) ancak erkek olguların MPO düzeyleri, kız olgulara göre dikkat çekici düzeyde yüksek saptanmıştır (p = 0,082).

Kontrol grubu olgularının; tiyol, CAT ve MPO düzeyleri, cinsiyetlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemekle birlikte (p=0,169; p=0,063; p=0,082; p>0,05), erkek olguların CAT ve MPO düzeyleri, kız olgulara göre dikkat çekici düzeyde yüksek saptanmıştır (p = 0,063)

5. TARTIŞMA

Yetişkinlerde ve çocuklarda sigara içmenin veya çevresel sigara dumanına maruz kalmanın yol açtığı hastalıklar ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. 192 ülkeyi kapsayan toplum sağlığı çalışmalarında, pasif sigara dumanına maruziyetin bölgeden bölgeye değişmekle birlikte, çocuklarda % 40, kadınlarda %35 ve erkeklerde %33 olduğu ve maruziyetin çocuklarda ağırlıklı olarak ev ortamında, erişkinlerde ise iş yerlerinde olduğu saptanmıştır (52). Ülkemizde toplumun birlikte kullandığı ortak kapalı yaşam alanları ve iş yerlerinde sigara içilmesi yasak olduğu için çalışmamıza dahil edilen pasif sigaraya maruz kalmış olguların tümünün ev ortamında, kendi ebeveynleri veya birlikte yaşadıkları yakın akrabalarının sigara içmesi sonucu sigara dumanına maruz kalmakta olduğu dikkat çekmektedir. Aynı çalışmada sosyoekonomik olarak gelişmiş olan Amerika ve çoğu Avrupa ülkelerinde toplu yaşam alanlarında sigara içiminin yasak olması sebebiyle sigara dumanına maruziyet oranı az iken Asya, Latin Amerika ve Ortadoğu ülkelerinde bu oran artmaktadır (52). Çalışmamızda vaka sayısı epidemiyolojik veri elde etmek için yetersiz olsa da sigara dumanına maruziyet oranının ekonomik olarak daha iyi durumda olan ailelerde daha az olduğu sonucu görülmektedir.

Pasif sigara dumanına maruziyetin çocuk sağlığı üzerine olumsuz etkileri ilk başlarda ağırlıklı olarak gebelik ve doğum sonrası bebeğe etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Annenin aktif ve pasif sigara içiminin bebekte gelişim geriliği ve fetal kayıplarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (53). Sonraki çalışmalar çevresel sigara dumanına maruziyetin çocuklarda ve yetişkinlerde akciğer hastalıkları, astım, kanser, kalp hastalıkları ve inme riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (54). Bu konuda erişkin hastalarda yapılan çalışmalar, özellikle kalp hastalıkları açısından risk belirlemede en önemli faktörün HDL/total kolesterol oranı ile sigara kullanımı veya sigara dumanına maruziyet olduğunu göstermektedir (55). Çalışmamızda sigara dumanına maruz kalan grup ile kontrol grubu arasında vücut kitle indeksi, insülin seviyesi veya kan kolesterol oranları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sağlık üzerine bu kadar olumsuz etkisi olan sigara dumanının hastalıklara yol açma mekanizmaları araştırma konusu olmuş ve oksidatif hasarın rolü ön plana çıkmıştır (7, 56). Aktif sigara içen veya pasif sigara dumanına maruz kalan annelerin bebeklerinin daha düşük doğum ağırlıklı olması yanında, bu annelerin bebeklerinin kord kanında, vücutta bilinen antioksidan özellikli enzimlerin seviyesinin daha düşük ve oksidatif stres indeksinin daha

yüksek olduğu gösterilmiştir (56). Başka bir çalışmada pasif sigara dumanına maruz kalan bebek ve çocuklarda antioksidan vitamin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (57). Bu çalışmalarda göstermektedir ki gebelerin aktif sigara içmesi veya pasif sigaraya maruz kalması bir enflamasyona sebep olmakta ve fetüs etkilenmektedir.

Vücut oksidatif strese maruz kaldığı zaman, etkin antioksidan sistemler ile savunmaya geçmektedir. Bu sistem içinde yer alan SOD veya GSH-Px gibi enzimler primer antioksidan sistem içinde yer alır. Antioksidan sistem içinde albümin, ürik asit, bilirubin veya askorbik asit gibi plazma proteinleri ve peroksizomal bir enzim olan ve H₂O₂ bağımlı olan CAT da sayılabilir. Sigara dumanına maruziyet kronik bir enflamasyon yaratmakta ve buna bağlı antioksidan seviye düşmektedir. Sigara dumanına maruziyetin yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak antioksidan enzim sistemlerinin seviyesi de değişebilmektedir. CAT seviyesi kronik sigara içicilerinde artmış miktarlarda gösterilmektedir (58). Zhou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, ana plazma antioksidan sistemleri olan SOD, GSH-Px ve CAT enzimlerinin düzeylerini sigara içen grupta, içmeyen gruba göre düşük bulmuşlardır (59). Diğer bir çalışmada ise sigara dumanı maruziyetinde SOD ve CAT enzimi düşerken GSH-Px seviyesi değişmemektedir (60). Bu çalışmalardan en dikkat çekici olan ise genç sigara içicilerinde plazma antioksidan enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu ve yaş ilerledikçe seviyenin düştüğünün görülmesidir (61). Çalışmamızda antioksidan sistem enzimlerinin yaş arttıkça azaldığının görülmesi, bu çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada pasif sigara dumanına maruz kalan grupta CAT seviyesinin, sigara dumanına maruz kalmayan gruba göre farklı olmadığı saptanmıştır. İki grup arasında fark olmamasının, maruziyetin süresi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bu veriyi destekleyen Kurku ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, günde bir adet sigara içen vakaların tükürük örneklerinden antioksidan enzim düzeyleri bakılmış ve sigara içimi öncesi ve sonrası enzim düzeylerinde fark saptanmamıştır (62).

Nötrofil ve monositler bakterilerin öldürülmesi için hem oksijen-bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmalar içerirler. Oksijen-bağımlı mekanizmalar MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistemi içerirler. Fagositoz olduktan sonra, lökosit hücre membranında yerleşmiş olan NADPH oksidaz sistemi çevre dokulardaki moleküler oksijeni O₂⁻'ye dönüştürür. Sonra O₂⁻, SOD ile H₂O₂'ye dönüştürülür. Fagolizozomda bulunan lizozomal bir enzim olan MPO'nun varlığında peroksid ve klorür iyonları bakteriyi öldüren HOCl'ye dönüştürülür.

Bağıışıklık sisteminde çok önemli rolü olan bu enzim sisteminin, sigara dumanına maruziyete bağılı oluşan kronik enflamasyonda oynadığı rol konusunda çalışmalar kısıtlıdır. Sigara dumanına pasif veya aktif olarak maruz kalmak akciğerde hava yollarında ciddi bir inflamasyona ve nötrofil ve monosit göçüne sebep olur (63). Sigara içen ve içmeyen erişkin işçilerde yapılan bir çalışmada, sigara içen işçilerde enflamatuar hücre elemanları olan nötrofil, eosinofil, monosit, basofil ve lenfosit oranlarının, sigara içmeyen aynı yaş grubu işçilere göre daha yüksek olduğı saptanmıştır (64). Erişkin hastalarda yapılan bir başka çalışmada göğüs ağrısı ile başvuran ve koroner kalp hastalığı saptanan hastalarda MPO enzim düzeylerinin inflamasyon ile uyumlu olarak yüksek bulunduğı ve bunun kardiyovasküler hastalık riskini göstermede önemli olduğı vurgulanmıştır (65). MPO enzimi lipid peroksidasyonunda önemli role sahip olduğı için damarlarda plak oluşumu ve ateroskleroz açısından risk değerlendirilmesinde de önemli rolü vardır (66). Çalışmamızda sigara dumanına pasif olarak maruz kalan grupta serum MPO enzim düzeyleri, maruz kalmayan gruba göre yüksek bulunmuştur. Sigara dumanının akciğer ve diğer dokularda yarattığı inflamasyona cevap olarak akut dönemde MPO düzeyinin arttığı düşünölmüştür. Ek olarak yapılan çalışmalarda antioksidan enzim düzeylerinin genç bireylerde daha yüksek seviyede olduğı ve yaş arttıķça seviyesinin düştüğü göz önüne alındığında çalışma sonuçlarımız literatür bilgileri ile uyumludur. Erişkin hastalarda yapılan çalışmalarda MPO enzim düzeylerinin cinsiyetler arasında farklı olmadığı görölmektedir (67). Çalışmamızda MPO, CAT ve tiyol grubu antioksidan enzimlerin seviyesinin erkek çocuklarda kıızlara göre anlamlı derecede yüksek olduğı görölmektedir.

Sölfhidril grubu içeren organik bileşikler olan ve homosistein, sisteinilglisin, sistein ve glutatyon gibi disölfid içeren proteinleri içeren tiyoller, plazma antioksidan sistemin bir diğer grubudur. Tiyoller, vücut sıvılarında bulunan en büyük indirgeyici grup olduklarından in vivo en büyük plazma antioksidanlarıdır. Aktif ve pasif sigara dumanına maruz kalan yetişkin hastalarda tiyol grubu antioksidanların plazma düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalarda tiyol grubuna giren homosistein düzeylerinin pasif sigara dumanına maruz kalan hastalarda en az aktif sigara içenler kadar yüksek olduğı ve ateroskleroz açısından riskli olduğı gösterilmektedir (68). Diğer bir çalışmada aktif sigara içen hastalardan sigarayı bırakan grup ile sigara içmeye devam eden grupların glutatyon ve onun öncölü aminoasidi olan sistein düzeyleri karşılaştırılmış ve sigara içmeyi bırakan grupta glutatyon ve sistein serum düzeylerinin takipte arttığını saptamışlardır (69). Bu hastalarda içilen sigara sayısının azaltılmasının antioksidan sistem elemanlarının artışına yol açmadığı ancak tam olarak sigara içimi bırakıldığında

oksidatif stresin azaldığı ve antioksidan sistemin seviyesinin arttığı vurgulanmıştır. Sadece kronik sigara içen olgularda değil, akut sigara içen olgularda da akciğer sıvılarında glutatyon seviyesinin düştüğü gösterilmiştir (70). Aktif sigara içen hastalarda serum ve akciğer sıvılarında tiyol grubu aminoasitlerin seviyesi düşerken, bunların okside olmuş formlarının seviyesi ise yükselmektedir (68, 71, 72). Düşük glutatyon seviyelerinin artmış kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalık ve artrit ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73, 74, 75). Çalışmalar, özellikle vitamin C içeren diyet takviyesini antioksidan seviyesini artırdığını ve oksidatif stresi azalttığını desteklemektedir (76). Aynı çalışmada aktif sigara içenlerden daha az oranda olmakla birlikte, pasif sigara maruziyetinin de plazma antioksidan seviyesini düşürdüğü vurgulanmaktadır.

Çevresel sigara içiciliğinin çocuk ve erişkin hastalarda tiyol grubu antioksidan seviyesine etkisi konusunda çalışmalar kısıtlıdır. Bu konuda yapılan hayvan çalışmalarında, pasif sigara dumanına maruz kalan farelerde, plazma glutatyon, sistein, sisteinilglisin, homosistein seviyelerinde bir değişme olmadığı, ancak bu aminoasitlerin okside olmuş formlarında belirgin yükselme olduğu saptanmıştır (77). Başka bir hayvan çalışmasında, pasif sigara dumanına maruziyetin, bebek farelerin beyin dokusunda antioksidan enzim aktivitelerine olan etkisi incelenmiştir (78). Bu çalışmada pasif sigara dumanına maruziyet oranı arttıkça hücrelerdeki lipid peroksidasyonunun arttığı, ana oksidasyon enzimleri olan aminolevülinat dehidrataz, CAT, tiyol grubu ve SOD enzimlerinin aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada az miktarda pasif sigara maruziyetinin beyinde askorbik asit seviyesini artırdığı, maruziyet oranı arttıkça seviyenin düştüğü gösterilmiştir. Bu çalışma, henüz erken postnatal dönemde olan farelerin beyin dokusunun pasif sigara dumanından belirgin şekilde etkilendiğini göstermektedir. Çalışmamızda çocuk ve adolesan hastalarda pasif sigara dumanına maruz kalan grubun serum tiyol düzeylerinin sigara dumanına maruz kalmayan grubun serum tiyol düzeyi ile aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Gruplar arası fark olamamasının maruziyetin süresi, diyetle alınan antioksidan miktarının değerlendirilememesi ve hastaların yaş gruplarının küçük olması ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda çocuk ve adolesan yaş grubunda pasif sigara dumanına maruziyetin doğrudan antioksidan enzimlerin serum düzeylerine olan etkileri, pasif sigara dumanına maruz kalmayan aynı yaş grubu olgularla karşılaştırılarak araştırılmıştır. Erişkin yaş grubunda pasif sigaranın antioksidan sistem enzimlerine etkisi ile ilgili çalışma bulunmakla birlikte, çocuk ve adolesan yaş grubunda bu konu ile ilgili çalışma sayısı kısıtlıdır. Aktif sigara içilmesi kadar pasif sigara dumanına maruziyetin de birçok hastalığın etyopatogenezinde önemli rolü olan

oksidan sistem ve onun etkisini azaltan antioksidan sistem üzerine etkileri olduğu düşünölmüştür. Çalışmamızda antioksidan sistem enzimleri olan tiyol ve CAT grubunun serum düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı olmadığı ancak MPO düzeyinin pasif sigara dumanına maruz kalan grupta arttığı saptanmıştır. Myeloperoksidaz seviyesindeki bu artışın akut dönemde sigara dumanına maruz kalındığında oluşan enflamasyona cevap olarak geliştiği düşünölmektedir. Antioksidan enzim düzeylerinin yaşı küçük hastalarda yüksek olması ve yaş ilerledikçe seviyenin düşmesi literatür bilgisi ile uyumludur. Pasif sigara içiminin hastalık etyopatogenezinde rolünün anlaşılması kadar pasif sigara dumanına maruziyetin de önlenmesi için gerekli tedbirlerin alınması önemli bir halk sağlığı sorunudur.



6. KAYNAKLAR

1. U.S Department of Health and Human Services: The Health Consequences of Involuntary Smoking: A Report of the Surgeon General. Rockville, MD; 1986.
2. J.L. Pirkle, K.M. Flegal, J.T. Bernert, D.J. Brody, R.A. Etzel, K.R. Maurer, Exposure of the US population to environmental tobacco smoke. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 to 1991, JAMA 275 (1996) 1233–1240.
3. Bartal M. Health effects of tobacco use and exposure. Monaldi Arch Chest Dis 2001; 56(6): 545-554
4. J. Dejmek, I. Solansk'y, K. Podrazilov'a, R.J. Sram, The exposure of nonsmoking and smoking mothers to environmental tobacco smoke during different gestational phases and fetal growth, Environ. Health Perspect. 110 (2002) 601–606.
5. De Sario M, Forastiere F, Viege G, Simoni M, Chellini E, Piccioni P, Indinnimeo L, Brunetti L. Parenteral smoking and respiratory disorders in childhood. Prevent 2005; 29: 52-6
6. Alberg AJ. The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. Toxicology 2002; 180: 12
7. Polidori MC, Mecocci P, Stahl W, Sies H. Cigarette smoking cessation increases plasma levels of several antioxidant micronutrients and improves resistance towards oxidative challenge. Br J Nutr 2003;90: 147-150
8. Sharda B. Free radicals: Emerging challenge in environmental health research in childhood and neonatal disorders. Int. J. Environ. Res. Public Health 2006;3(3):286-91
9. Kahraman FU, Torun E, Osmanoglu NK, Oruclu S, Ozer OF. Serum oxidative stress parameters and paraoxonase-1 in children and adolescents exposed to passive smoking. Pediatrics international: official journal of the Japan Pediatric Society. 2017;59(1):68-73.
10. C.J. Smith, T.H. Fischer, Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction, Atherosclerosis 158 (2001) 257–267.

11. Örsel O. tütün içeriği, farmakokinetiği ve tütün ürünleri. Ed (karadağ M, bilgiç h) Tütün kontrolü. İstanbul Türk Toraks Derneği, 2010;131-140
12. Kliegman R. Nelson textbook of pediatrics. 19th edition. Elsevier; 2011. p. 679
13. Sütçü R, Doğuç D, Aktürk O, Altuntaş I, Delibaş N, Subkronik nikotin uygulanmasının ratlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelere etkisi. SDÜ Tıp Fak Dergisi 2006; 313: 7-20
14. Zalata A, Yahia S, El- Bakary A, Elsheikha HM. Increased DNA damage in children caused by passive smoking as assessed by comet assay and oxidative stress. Mutation Research 2007; 629:140-7
15. Environmental Tobacco Smoke Air Quality Guidelines -Second Edition WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2000 Erişim Adresi : http://www.euro.who.int/document/aig/8_1ets.pdf
16. World Health Organisation. Tobacco Atlas. <http://www.who.int/tobacco/en/atlas/10.pdf>
17. Zhang X, Shu XO, Yang G, Li HL, Xiang YB, Gao YT, LiQ, Zheng W. Association of Passive Smoking by Husbands with Prevalence of Stroke among Chinese Women Nonsmokers. Am J Epidemiology 2005; 161:213-218.
18. Hopkins DP, Briss PA, Richard CJ et all. Reviews of Evidence Regarding Interventions to Reduce Tobacco Use and Exposure to Environmental Tobacco Smoke. Am J Prev Med 2001;20(2S).
19. Samet JM. Synthesis: The Health Effects of Tobacco Smoke Exposure on Children Erişim Adresi: <http://www.who.int/tobacco/media/en/samet.pdf>
20. Aruoma OI. Free radicals oxidative stress and antioxidants in human health and disease. JACOBS 1998; 75(2): 199-212
21. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals antioxidants in disease and health International Journal of Biomedical Science 2008; 4(2): 89-96
22. Berköz M, Yalın S, Güler VG, Yalçın A. akut lösemilerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi. Erciyes Tıp Dergisi 2008; 30(3): 157-162

23. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007; 2(2): 219-36
24. Amir Aslani B, Ghobadi S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*. 2016;146:163-73.
25. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys*, 2001;389(1):84-93.
26. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 1999; 32:595-603.
27. Karabulut AB, Özerol E, Temel İ, Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2002; 9(2) :85–88.
28. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*; 160: 1-40
29. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoib J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters*, 1995;358(1):1-3.
30. Chistiakov DA, Savost'anov KV, Turakulov RI, Titovich EV, Zilberman LI, Kuraeva TL, Dedov D, Nosikov VV. A new type 1 diabetes susceptibility locus containing the catalase gene (chromosome 11p 13) in a Russian population. *Diabetes Metab Res Rev*, 2004;20(3):219-224.
31. Thomas JA, Poland B, Honzatko R. Protein sulfhydryls and their role in the antioxidant function of protein S-thiolation. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1995;319(1):1-9.
32. Chianeh YRP, K. Protein Thiols as an Indicator of Oxidative Stress. *Archives Medical Review Journal*. 2014;23(3):443-56.
33. Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Dalle-Donne I. Cysteinylation and homocysteinylation of plasma protein thiols during ageing of healthy humans. *J Cell MolMed* 2008;10:1582-4934.

34. Monod J, Wyman J, Changeux JP. On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J Mol Biol* 1965;12: 88–118.
35. Prakash M, Upadhyaya S, Prabhu R. Proteinthiol oxidation and lipid peroxidation in patients with uremia. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64: 599-604.
36. Miyasaki KT, Vilson ME, Genco RJ. Killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by the human neutrophil myeloperoxidase-hydrogenperoxide-chloride system. *Infect Immun* 1986; 161-165.
37. Fenna RE: Crystallization and subunit structure of canine myeloperoxidase. *J Mol Biol.*1987; 196: 919-925.
38. Weis SS. Tissue destruction by neutrophils. *N Eng J Med.*1989; 320: 365-376.
39. Johnson NW. Crevicular fluid-based diagnostic tests. *Cur Opin Dent.*1991; 1: 52-65.
40. Koller DY. Sampling methods. Urine/blood analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 31-33.
41. Kröncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection-how, why, when, and where? *Nitric Oxide* 1997; 1: 107-20.
42. Champe PC, Harvey RA (eds). *Lippincott's Illustrated Reviews. Biochemistry (2nd ed)*. JB Lippincott Comp. Philadelphia: 1994.
43. Taetle R, Rapaport SI. Inflammation and phagocytosis Ch 22. In: West JB (ed). *Physiological Basis of Medical Practice (12th ed)*. Williams and Wilkins Inc. Baltimore: 1990; 362-8.
44. Lehrer. R.: Neutrophils and Host Defence *Ann Intern Med.* 1988;109(2):127-142.
45. Bergt C, Marsche G, Panzenboeck U, Heinecke JW, Malle E, Sattler W. Human neutrophils employ the myeloperoxidase/ hydrogen peroxide/ chloride system to oxidatively damage apolipoprotein A-1. *Eur J Biochem* 2001; 268: 3523-31.
46. Dalen CJ, Winterbourn CC, Senthilmohan R, Ketde AI. Nitrite as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase. *J Biol Chem* 2000; 275: 11638-44.
47. Zhang R, Shen Z, Nauseef WM, Hazen SL. Phagocytes. *Blood* 2002; 99: 1802-10.

48. Aebi H, Suter H. Catalase. *Methods of enzymatic analysis*. 1969;23:597-603.
49. Hu M-L, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1993;121(2):257-62.
50. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1959;82(1):70-7.
51. Krawisz J, Sharon P, Stenson W. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology*. 1984;87(6):1344-50.
52. Öberg M, Jaakkola MS, Woodward A, Peruga A, Prüss-Üstün A. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. *Lancet* 2011;377: 139-46
53. Cameron P. The presence of pets and smoking as correlates of perceived disease. *J Allergy* 1967;40: 12
54. Samet JM, Neta GI, Wang SS. Secondhand smoke. In: *Environmental Toxicants: Human exposures and their health effects*, 3rd, Lippmann M (Ed), John Wiley and Sons, Inc, Hoboken 2009.p.709.
55. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle age men and women in Finland. *Circulation* 1999;99:1165
56. Aycicek A, Ipek A. Maternal active and passive smoking causes oxidative stress in cord blood. *Eur J Pediatr*. 2008; 167: 81-85
57. Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh TH, Watson D, Montgomery R, Whitehall J. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant vitamins and the influence of smoking. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2002;86: 36-40
58. Kondo T, Tagami S, Yoshioka A, Nishimura M, Kawakami Y. Current smoking of elderly men reduces antioxidants in alveolar macrophages *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 178-182

59. Zhou JF, Yan XF, Guo FZ, et. al . Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomed Environ* 2000;13:44-55
60. Yıldız L, Kayaoğlu L, Aksoy H. The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:612-5
61. Ozguner F, Koyu A, Cesur G. Active smoking causes oxidative stress and decreases blood melatonin levels. *Toxicol Ind Health* 2005;21:21-6
62. Kurku H, Kacmaz M, Kısa U et al. Acute and chronic impact of smoking on salivary and serum total antioxidant capacity. *J Pak Med Assoc* 2015;65:164-9
63. Heijink IH¹, Pouwels SD, Leijendekker C, de Bruin HG, Zijlstra GJ, van der Vaart H, ten Hacken NH, van Oosterhout AJ, Nawijn MC, van der Toorn M. Cigarette smoke-induced damage-associated molecular pattern release from necrotic neutrophils triggers proinflammatory mediator release. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2015 May;52(5):554-62
64. Mansoor MA¹, Stakkestad JA, Drabløs PA. Higher leukocyte subpopulation counts in healthy smoker industrial workers than in nonsmoker industrial workers: possible health consequences. *Acta Haematol.* 2013;129(4):218-22.
65. Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et.al. prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595
66. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Tromb Vasc Biol.* 2005;25: 1102-1111
67. Khine HW, Teiber JF, Haley RW, Khera A, Ayers CR, Rohatgi A. Association of serum myeloperoxidase/ high- density lipoprotein particle ratio and incident cardiovascular events in a multi-ethnic population: observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis* 2017;263:156-162
68. Sobczak A, Szoltysek-Boldys I, Grela W, Zielińska-Danch W. The influence of tobacco smoke on homocysteine level in plasma of healthy males. *Przegl Lek.* 2007;64(10):679-84.

69. Mons U, Muscat JE, Modesto J, Richie JP Jr, Brenner H. Effect of smoking reduction and cessation on the plasma levels of the oxidative stress biomarker glutathione--Post-hoc analysis of data from a smoking cessation trial. *Free Radic Biol Med.* 2016 (2) ;91: 172-7.
70. Gould NS, Min E, Gautrier S, Martin RJ, Day BJ. Lung glutathione adaptive responses to cigarette smoke exposure, *Respiration* 2011;12:133
71. Moriarty SE, Shah JH, Lynn M et.al. Oxidation of glutathione and cysteine in human plasma associated with smoking. *Free Radic Biol Med.* 2003;35: 582-8
72. Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M, Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentration of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. *Circulation* 2002;105:1155-7
73. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* 2003;57(3-4):145-55.
74. Julius M, Lang CA, Gleiberman L, Harburg E, DiFranceisco W, Schork A. Glutathione and morbidity in a community-based sample of elderly. *J Clin Epidemiol.* 1994;47(9):1021-6.
75. Nuttall SL, Martin U, Sinclair AJ, Kendall MJ. Glutathione: in sickness and in health. *Lancet.* 1998 Feb 28;351(9103):645-6.
76. Spitale RC, Cheng MY, Chun KA, Gorell ES, Munoz CA, Kern DG, Wood SM, Knaggs HE, Wulff J, Beebe KD, Chang AL. Differential effects of dietary supplements on metabolomic profile of smokers versus non-smokers. *Genome Med.* 2012 Feb 23;4(2):14
77. Rossi R, Giustarini D, Fineschi S, De Cunto G, Lungarella G, Cavarra E. Differential thiol status in blood of different mouse strains exposed to cigarette smoke. *Free Radic Res.* 2009 Jun;43(6):538-45.
78. Stangherlin EC, Luchese C, Ardais AP, Nogueira CW. Passive smoke exposure induces oxidative damage in brains of rat pups: Protective role of diphenyl diselenide. *Inhal Toxicol.* 2009 Aug;21(10):868-74.