

T. C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TÜKÜRÜK VE SERUM TOTAL ANTIOKSİDAN
KAPASİTESİNE SİGARA İÇMENİN AKUT VE KRONİK
ETKİSİ

Dr. Hüseyin KURKU
UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2009

T. C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TÜKÜRÜK VE SERUM TOTAL ANTIOKSİDAN
KAPASİTESİNE SİGARA İÇMENİN AKUT VE KRONİK
ETKİSİ

Dr. Hüseyin KURKU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Murat KAÇMAZ

KIRIKKALE

2009

T. C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Biyokimya Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan “TÜKÜRÜK VE SERUM TOTAL ANTIOKSİDAN KAPASİTESİNE SİGARA İÇMENİN AKUT VE KRONİK ETKİSİ” isimli çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Dr. Hüseyin KURKU’nun “UZMANLIK TEZİ” olarak kabul edilmiştir..

Tez Savunma Tarihi: 12/08/2009

Prof. Dr. Murat KAÇMAZ
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı
(Jüri Başkanı)

Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Doç.Dr. Hakan BOYUNAĞA
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimin ilk günlerinden tezimin hazırlanması aŐamasına kadar geçen sürede engin bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı yakaladığım, ilgi ve desteklerini esirgemeyen sevgili hocalarım Prof.Dr. Murat KAÇMAZ, Prof.Dr. Osman AğLAYAN, Doç.Dr. ler KISA ve Doç.Dr. Hakan BOYUNAğA'ya tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Birlikte çalıŐmaktan keyif duyduğum değerli meslektaŐlarım Dr.Hayrunnisa SEZİKLİ, Dr.Ali YALçINDAğ, Dr.zlem CEYLAN DOğAN, Dr.Arkut İzzet DEMET, Dr.Nurkan AKSOY'a ve çalışma arkadaŐlarıma teşekkür ederim.

Sevgili eŐim Zübeyde'ye ve aileme çok teŐekkürler.

Çocuklarım Ahmet ve Salih'e sonsuz sevgilerimle.

Dr. Hüseyin KURKU

ÖZET

KURKU H. Tükürük ve serum Total Antioksidan Kapasitesine sigara içmenin akut ve kronik etkisi. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2009

Oksidatif stres, prooksidan ve antioksidan dengedeki bozulma olarak tanımlanır. Oksidatif stres süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin artmış üretimine veya bunlara karşı savunmada azalmaya bağlı olarak yahut da her ikisinin birlikte olduğu durumlarda ortaya çıkar. Artan reaktif oksijen türleri proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA gibi moleküllerde hasara yol açar. Aerobik canlıların hücre organellerinde ve membranlarında bu organik veya inorganik reaktif türlerini ortadan kaldırmaya yönelik güçlü antioksidan enzimler ve radikal temizleyicileri vardır.

Sigara dumanı akciğerlere alınan organik nitelikli yanmış kimyasal maddelerin en iyi bilinenidir. Sigara içenlerin, akciğerlerinin artmış oksidan yükü maruz kaldığı kabul edilir. Sigara içimi ile serbest oksijen radikalleri ve oksidanlar ortaya çıkmakta ve bunlar ciddi doku hasarı, kanser, kalp ve damar hastalıkları, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları, böbrek hastalıkları, romatoid artrit, katarakt ve sinir dokusu hastalıkları gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadırlar.

Çalışmaya sigara içen 32, içmeyen 31 sağlıklı gönüllü alındı. Sigara içen grubun serum, sigara öncesi ve sonrası tükürük, içmeyen grubun serum ve tükürük numunelerinde total antioksidan kapasite (TAK), total oksidan stres (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), total sülfidril grupları (t-SH), ve tükürüklerde ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri ölçüldü.

Sigara içenlerin serum TOS, OSİ, MDA, NO düzeyleri kontrolden daha yüksek ve t-SH düzeyleri kontrolden daha düşük bulundu.

Sigara içen grubun sigaradan önceki ve sonraki tükürük MDA değerleri kontrolden daha yüksek, GSH-Px düzeyleri daha düşük ve sigaradan sonraki tükürük NO değerleri kontrolden ve sigara öncesi değerden yüksekti. Sigaradan sonraki tükürük t-SH düzeyleri kontrolden düşüktü.

Sonuç olarak sigara içenlerde hem akut hem de kronik artmış oksidatif durum tespit edildi. Bu nedenle sigara içen kişilerin diyetlerine eklenecek doğal

antioksidan maddelerin, onların antioksidan kapasitesini artırarak sigaraya bağlı komplikasyonları azaltacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Sigara, lipit peroksidasyonu, oksidatif stres, total antioksidan kapasite

ETİK KURUL ONAYI:

Bu alışmaya TC Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Lokal Etik Kurul Başkanlığı tarafından 10.09.2008 tarih ve 2008/082 sayılı kararı ile ETİK KURUL onayı verilmiştir.

SUMMARY

KURKU H. Acute and chronic effects of smoking on Total Antioxidant Capacity of saliva and serum. Kirikkale University Medical Faculty Department of Biochemistry, Thesis of Specialisation, Kirikkale, 2009

Oxidative stress is defined as a disorder in prooksidan and antioxidant balance. It appears depending on the increased production of reactive oxygen species such as superoxide radical, hydrogen peroxide and hydroxyl radical or decreasing in defence against these species, or when both happens at the same time. Increased reactive oxygen species cause damage on the molecules such as proteins, lipids, carbohydrates and DNA. There are effective antioxidant enzymes and radical scavengers in organelles and membranes of aerobic organisms to eliminate these organic and inorganic reactive species.

Smoke of the cigarette is the most known of the burnt organic chemicals taken by the lungs. Lungs of smokers are considered to be exposed by increased oxidants. Free oxygen radicals and oxidants which are emerged by smoking play an important role in pathogenesis of many diseases such as serious tissue damage, cancer, heart and vascular diseases, diabetes mellitus, lung disease, kidney disease, rheumatoid arthritis, cataracts, and nervous tissue diseases.

In this study, 32 smokers and 31 non-smokers healthy volunteers are investigated. Serum and saliva sample before and after smoking of the smokers, and serum and saliva sample of non-smokers were studied. Total antioxidant capacity (TAK), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), total sülphydryl groups (t-SH) levels, and also superoxide dismutase (SOD) and, glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in saliva samples were measured.

Serum TOS, OSI, MDA, NO levels of smokers were found higher and t-SH levels were found lower than the control group.

In the smoker group; before and after smoking, the saliva MDA levels were higher, GSH-Px levels were lower than the control and saliva NO levels after smoking were higher than the control group and that before smoking. Levels of saliva t-SH after smoking were lower than the control group.

As a result, both acute and chronic oxidative statuses were determined in smokers. Therefore, we agreed that natural antioxidant substances which will be added to the diets of smokers will reduce complications related to cigarette smoking by increasing their antioxidant capacity.

Key words: smoking, lipid peroxidation, oxidative stress, total antioxidant capacity

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER	viii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sigara ve Etkileri	3
2.2. Serbest Radikaller	18
2.3. Tükürük Yapı ve Fonksiyonu	37
3. MATERYAL VE METOD	39
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	39
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	39
3.3. Kullanılan Yöntemler	40
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	45
4. BULGULAR	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
7. KAYNAKLAR	58

SİMGELER ve KISALTMALAR

- DNA : Deoksiribonükleik asit
TAK : Total Antioksidan Kapasite
TOS : Total Oksidan Stres
OSİ : Oksidatif Stres İndeksi
MDA : Malondialdehit
NO : Nitrik Oksit
t-SH : Total Sülfidril Grupları
SOD : Süperoksit Dismutaz
GSH-Px : Glutasyon Peroksidaz
KOAİ : Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
ROS : Reaktif Oksijen Türleri
NO₂ : Nitrojen Dioksit
ESR: Elektron Spin Rezonans
ACT : Sigara Katranı Ekstraktı
O₂[•] : Süperoksit Radikali
H₂O₂ : Hidrojen Peroksit
LDL : Düşük Dansiteli Lipoprotein
CO : Karbonmonoksit
Hb : Hemoglobin
ATP: Adenozin Trifosfat
PMNL : Polimorfo Nükleer Lökosit
Q-QH₂-QH[•] : Quinone- hydroquinone- semiquinone
PAH : Poliaromatik Hidrokarbonlar
LOOH : Lipithidroperoksit
PUFA : Poliansatüre Yağ Asitleri
GSH: Glutasyon
GSSG : Okside Glutasyon
GST : Glutasyon S-Transferaz
VCl₃ : Vanadyum Klorür
NEDD : N-(1-Naptil) Etilendiamin Dihidroklorit
HCl : Hidroklorik Asit

TBA : Tiobarbitürik asit

TMP : Tetrametoksipropan

EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit

DTNB : Dithio-2-nitrobenzoik asit

ŞEKİLLER ve TABLOLAR

Şekil 1. Cambridge filtresi ile sigara dumanından gaz ve partiküler fazın ayrılması	4
Şekil 2. Sigara dumanını tar fazından radikal oluşumu ve DNA hasarı	14
Tablo 1. Sigara dumanındaki bazı maddeler ve başlıca etkileri	5
Tablo 2. Sigara Dumanındaki Kanslerle İlişkili Kimyasal Maddeler	8
Tablo 3. Reaktif Oksijen Bileşikleri	19
Tablo 4. Serbest Radikallerin Etkileri	25
Tablo 5. Endojen Antioksidanlar ve Etkileri	29
Tablo 6. Çalışma grubunun yaş ortamları ve cinsiyet dağılımlar	46
Tablo 7. Sigara içen ve kontrol grubunun serum TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH ortalama değerleri	47
Tablo 8. Sigara içen ve kontrol grubunun tükürük TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH, SOD, GSH-Px ortalama değerleri	48

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sigara dumanı, akciğerlere alınan organik nitelikli yanmış kimyasal maddelerin en bilinenidir. Sigara içenlerin, akciğerlerinin artmış oksidan yüke maruz kaldığı kabul edilir. Sigara içimi ile serbest oksijen radikalleri ve oksidanlar ortaya çıkmakta ve bunlar ciddi doku hasarı, kanser, kalp ve damar hastalıkları, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları, böbrek hastalıkları, romatoid artrit, katarakt ve sinir dokusu hastalıkları gibi birçok hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadırlar (1-3).

Sigara aldehidler, fenoller, hidrokarbonlar, nitrik oksit, kinon ve semikinon radikalleri gibi pek çok kimyasal yapıyı barındırır. Bu kimyasal yapılar direkt veya indirekt yollarla oksijen kaynaklı serbest radikal oluşumuna yol açarlar (4-6).

Serbest radikallerin hücrel hasar oluşturma mekanizmalarından biri ve en önemlisi, hücre membranında neden olduğu lipit peroksidasyondur. Oluşan lipit peroksidasyonu, membran yapısında ve fonksiyonunda bozukluklara yol açmakta, permeabilitesinde non-selektif bir artış meydana getirmekte ve böylece intrasellüler ve ekstrasellüler alanlar arasında dengesizlik oluşarak hücrede hasar veya yıkım olmaktadır (3,7).

Serbest radikallerin hücre zarı yapısındaki doymamış yağ asitlerine saldırısı sonucu başlayan lipit peroksidasyonu konjuge dienler ve bazı toksik aldehit ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Bu ürünlerden en bilineni MDA'dır (4,5,8).

Sigara içiminin sonucu oluşan oksidan stresin plazma antioksidan savunma sisteminde de bazı değişiklikler yapması beklenebilir. Sigara içenlerde hem serumda hem eritrositlerde MDA düzeyleri yüksek, eritrosit SOD düzeyleri ise düşük bulunmuştur. t-SH, serbest radikallere karşı antioksidan savunmanın önemli bir kısmını oluşturur; bu nedenle serbest radikal hasarının diğer bir hedefi, solubl ve proteine bağlı sülfidril gruplarıdır (5,9).

Birçok çalışma fizyolojik durum ve hastalık patogenezinde oksidan – antioksidan dengenin rolünü göstermektedir. Sigara kullanımının etkili olduğu düşünülen hastalıkların patogenezinde sigaranın etkisinin oksidan – antioksidan denge açısından daha detaylı olarak çalışılmasının yeni yaklaşımlar ve tedavi çeşitlilikleri açısından yararlı olacağı ileri sürülmektedir (9,10).

Tükürüğün temel işlevleri oral mukozanın kayganlaştırılması, çiğnemenin kolaylaştırılması, gıda artıklarının ve bakterilerin mekanik olarak yıkanması, gıdaların çözülmesi, yutma ve sindirimin kolaylaştırılması, oral kavite pH'sının düzenlenmesi ve antimikrobiyal etki olarak özetlenebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda içerdiği epidermal büyüme faktörleri ile oral mukoza onarımına, proteinler ve peptidler aracılığıyla da oral kavitede hemostaza katkıda bulunduğu bildirilmiştir (10-12).

Sigara içenlerin tükürüklerinde yapılan bir çalışmada sigara içen grupta tükürük glutasyon düzeyi anlamlı derecede yüksek bulunurken, tükürük ürik asit ve total antioksidan kapasitede anlamlı bir fark bulunmamıştır (10).

Tükürüğün bir sistemik hastalığın tanısında kullanımı fikri ilk kez 1901 yılında Michaels tarafından ortaya atılmıştır. Bu düşünce, tükürüğün bazı tedavisel, hormonal, immünolojik ve toksik moleküllerin doku düzeylerini yansıtabileceği gerçeğine dayanmaktadır. Tükürük biyomarkırları gelecekte genel sağlığın ve hastalıkların erken teşhisinin göstergesi olabilir (11,13).

Biz bu çalışmada sigara kullanımının çok yaygın olması ve sigaraya bağlı komplikasyonların çok sık görülmesi nedeniyle sigara içenlerde oksidatif stresi araştırmayı hedefledik. Sigaranın bazı etkilerinin oksidatif temelini daha iyi açıklayabilirsek, sigara içen kişilerde sigaranın zararlarından kaçınmak için vücut antioksidan savunma sisteminin güçlendirilmesini tavsiye edebiliriz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Sigara ve Etkileri

Sigara, tüm ülkelerin en önemli sağlık problemidir. Ölüm uzun bir süre sonra ve dolaylı bir şekilde olduğu için sigaranın zararı yeterince önemsenmemektedir (14).

Ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafya, dünya tütün tüketiminde birinci sırayı almaktadır. Dünyada her yıl 4 milyon insanın ölümüne neden olan sigara, yaş 15'in üzerinde olan 1 100 000 000 kişi tarafından kullanılmakta olup, bunların %80'i orta-az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelere dendir (15). Sigara tüketimi sadece gelişmiş ülkelerde azalırken, gelişmekte olan ülkelere devam etmektedir.(16)

Ülkemizde ise farklı çalışmalarda gençlerde ortalama sigara başlama yaşları 11-18 yaş arasında bulunmuştur. 1988'de yapılan bir araştırmaya göre 15 yaş üzeri sigara içme prevalansı %43,6'dır (erkeklerin %62,8'i, kadınların %24,3'ü) (16-18). 2002'de yapılan bir araştırmaya göre 15 yaş üzeri sigara içme prevalansı %35,8'dir. (erkeklerin %50,9'u, kadınların %25,5'i). Türk Kardiyoloji Derneği tarafından 1990'dan beri yürütülen TEKHARF çalışmasına göre ise erişkin erkeklerin %59.4'ü, kadınların %18.9'u sigara içicisidir. 2000 yılındaki taramalarında erkeklerde sigara içme prevalansı %11 azalmışken özellikle genç kadınlarda artış olduğu bildirilmektedir (17).

Sigara direkt ölüme sonlanmayan yaklaşık 50 kadar kronik hastalıkla ilişkilidir. Sigara akciğer kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve aterosklerozun ana nedenidir. Bu hastalarda sigara nedeniyle, beklenen yaşam süreleri içmeyenlerle karşılaştırıldığında 20-25 yıl daha kısadır (16,17,19,20). Kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların ise başlıca nedenlerindedir. Sigara 20'ye yakın ölümcül hastalıkla ilişkilidir. Yakın zamanlarda elde edilen kanıtlar kadınların sigaradan daha fazla zarar görme olasılıkları olduğunu göstermektedir (17).

Ülkemizde her yıl sigaranın yol açtığı sağlık sorunlarının yetmiş – yüz bin kişinin ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir. Bu tüm ölümlerin yaklaşık %14'ü kadardır (17,21).

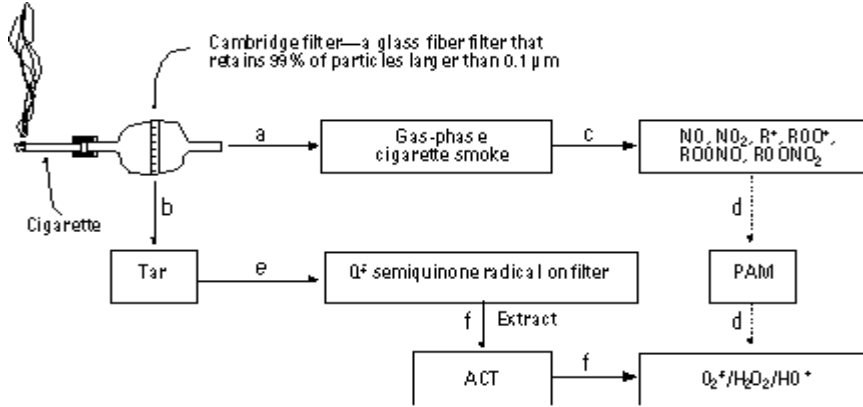
2.1.1.Sigara Dumanının İçeriği

Sigara dumanı, organik nitelikli yanmış kimyasal maddelerin kaynağıdır. Sigara içimi ile serbest oksijen radikalleri ve oksidanlar ortaya çıkar ve bunlar birçok hastalığın patogeneğinde rol oynarlar (1-3).

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 (22). Ana akım dumanın % 92-95'i gaz fazındadır ve 1 mL'de $0,3-3,3 \times 10^9$ partikül içerir. Ortalama partikül çapı 0,1-1 μm 'dir, yani solunabilir düzeydedir (14,17,23,24).

Sigara dumanı; tipik Cambridge filtresinden (0,1 μm 'nin üzerindeki partiküllerin %99,9'unu tutan) geçirildiğinde filtrede kalan Partiküler faz (tar / katran) ve filtreden geçen gaz-faz olarak ikiye ayrılabilir (**şekil 1**). Her iki faz da çok zengin radikal kaynağıdır. Her iki fazın da tüm vücutta ve akciğerde oksitleyici ve oksidatif stres oluşturucu etkisi vardır. Organik maddelerin yanması ile açığa çıkan kimyasal madde ve partiküller, serbest radikallerin başlıca kaynakları ya da taşıyıcılarıdır (9,25-28).

Sigara dumanı gaz ve partikül fazında içinde bazıları farmakolojik olarak aktif, antijenik, toksik, sitotoksik, siliatoksik, mutajenik ve kanserojen özellikte 4.000'den fazla molekül içermektedir (**tablo 1**) (14,17,23,24).



Şekil 1 . Cambridge filtresi ile sigara dumanından gaz ve partiküler fazın ayrılması (26).

Tablo 1. Sigara dumanındaki bazı maddeler ve başlıca etkileri.(17-23)

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-kolinerjik reseptörler üzerine depresör	Nitrojen oksitler	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Aromatik hidrokarbonlar	Mutajenik/ karsinojenik	Aldehidler	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Fenol	İrritan, Mutajenik/ karsinojenik	Hidrocyanik asid	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Kresol	İrritan, Mutajenik/ karsinojenik	Akrolein	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
b-Naftilamin	Mutajenik/ karsinojenik	Amonyak	İrritan, pro- inflamatuvar, siliotoksik
Benzo(a)piren	Mutajenik/ karsinojenik	Nitrosaminler	Mutajenik/ karsinojenik
Katekol	Mutajenik/ karsinojenik	Hidrazin	Mutajenik/ karsinojenik
İndol	•Tümör hızlanması	Vinil klorid	Mutajenik/ karsinojenik
Karbazol	•Tümör hızlanması		

2.1.1.1. Sigara Dumanının Gaz-faz Radikalleri

Sigara dumanının gaz-fazı puf başına $>10^{14}$ düşük molekül ağırlıklı karbon ve oksijen merkezli radikal içermektedir. Sigara dumanının gaz-fazı reaktif oksijen türü (ROS), nitrojen dioksit (NO_2), epoksit, peroksit, peroksinitrit gibi organik ve inorganik radikalleri içerebilir (29-31).

Sigara dumanı 500 ppm'den fazla NO içerir ve NO yavaşca NO₂'ye dönüşür. Gaz-faz radikalleri çok kısa ömürlüdürler, bu nedenle elektron spin rezonans (ESR)'la direkt olarak ölçülemezler ve spin drap metodu ile indirekt ölçülebilirler. Gaz-faz güçlü oksidan iken tar faz güçlü redüktan özelliindedir (4,26,32-34).

Sigara dumanı ile ortaya çıkan patolojik tablo, kısmen kirlenmiş havadan NO₂ alınması ile oluşan patolojik durumlara benzetilebilir. Sigara dumanındaki NO'nun oksijenle reaksiyonu sonucu açığa çıkan NO₂'nin invitro doymamış yağ asidi otooksidasyonunu başlattığı ileri sürülmektedir (9). Kirli havadaki NO miktarı 1 ppm'den azdır (35).

2.1.1.2. Sigara Dumanının Partiküler Faz (tar/katran) Radikalleri

Sigaradaki katran ayrı bir madde değildir. Sigara dumanının özel bir filtre üzerinde kalan bölümünün, su ve nikotin dışındaki parçasıdır (22).

Sigara dumanı katranında 10¹⁸ spins/g oksidan mevcuttur (33,35). Sigara dumanının tar radikalleri, gaz faz radikallerine göre daha stabildirler. Sigara katranı radikalleri uzun ömürlüdür ve filtrenin üzerinde, organik çözücülerde veya sıvı ekstraktlarda ESR ile direkt olarak ölçülebilir. Sigara katranı ekstrakt solüsyonları (ACT) düşük molekül ağırlıklı quinone- hydroquinone- semiquinone (Q-QH₂-QH•) sistemini içerir. Sigara dumanının tar faz semiquinone radikali tipik bir radikal olarak oksijenden süperoksit, H₂O₂ ve OH radikallerini oluşturabilir (26,29).

Tar fazda genellikle stabil organik semiquinone radikalleri çok miktarda bulunmaktadır. Tar radikaller nisbeten daha stabildirler ve reaktif değildirler. Bununla beraber ACT solüsyonları süperoksit, H₂O₂ ve OH radikalleri üretir ve güçlü oksidanlar oluşturur. Bu ACT solüsyonları alfa 1 proteaz inhibitörü antiproteinaz gibi proteinlerin oksidasyonunu, lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını başlatabilir (26,29).

Sigara dumanının oksidatif hasar mekanizması; Sigara dumanı, içeriğindeki yüksek miktarlardaki serbest radikaller, peroksidikler ve diğer oksijen kaynaklı radikaller ile oksidatif stres nedenidir. Bu toksik ürünler sonucunda, sigara dumanı primer ve sekonder olarak inflamatuvar immun sistemi aktifler ve bu yol sigarayla ilişkili oksidatif doku hasarında önemli rol oynar (36).

Sigara dumanında bulunan oksidan maddeler, oksijen radikallerinin kaynağıdır ve sigaraya bağlı kalp damar hastalıklarının oluşmasında önemli rol oynar. Sigara dumanı oksidan-antioksidan dengesini organizmada oksidan lehine bozar (24,37). Bir sigara içimiyle $>10^{14}$ serbest radikal oluşur. Alveoler makrofaj ve plazmadaki fagositik hücrelerden salgılanan oksidanlar, serbest radikal artışına ve okside LDL (Düşük Dansiteli Lipoprotein) artışına neden olarak lipit peroksidasyon artışıyla hem vazodilatasyonda azalmaya hem de aterosklerotik sürecin başlamasına neden olur. Sigara içenlerde plazma E vitamini, C vitamini ve beta-karoten seviyesinde azalma görülür (24).

2.1.1.3. Sigara İçeriğindeki Zararlı-Kanserojen Maddeler

Tütün ürünleri yandığında 4000 kadar kimyasal madde ve partikül, ortam havasına yayılmaktadır. Kabaca su buharı, gaz ve katran kısımlarından oluşan tütün yanma ürünleri hem tütün içeni hem de kapalı ortamda bulunuluyorsa, etrafta bulunanları (Pasif içicilik) etkilemektedir. Bu partiküller ortalama 0,1-1 mikron çapında olup tüm akciğer solunum ağacına ve alveole ulaşabilmektedir. Normal havalandırılmış çalışma odasında 20 mg/m^3 olan partikül düzeyi bir sigara içildiğinde 200 mg/m^3 'e, çok sigara içildiğinde $500-1000 \text{ mg/m}^3$ 'e çıkabilmektedir (24).

Sigara dumanının hem gaz hem de katran fazı major karsinojenler olarak tanımlanan polisiklik aromatik hidrokarbonları, aromatik aminleri ve tütün spesifik nitrozaminleri içerir (38).

Sigara içimiyle oluşan dumanda kanserle ilişkili, kanser yaptığı kesin belli olan 6 maddenin (4-Aminobifenil, Arsenik, Benzen, Krom, Nikel ve Vinilklorür) yanında 30 kadar da kanserojen olması muhtemel madde bulunur. Bu kanserojenler solunum havasıyla partikül halinde solunduğunda üst solunum yolları, trakea, bronş ve bronşillere 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 (24,39).

Sigaranın içinde bulunan katran, binlerce kimyasal maddeden oluşan karmaşık bir yapıdır ve bu kimyasal maddelerin çoğunun deney hayvanlarında kanser yaptığı bilinmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu tarafından yapılan incelemeler sonucu, kanserojen olduğu saptanan maddeler ve kanser yapıcı etkilerinin dereceleri tablo 2’de belirtilmiştir (22).

Tablo 2. Sigara Dumanındaki Kanserle İlişkili Kimyasal Maddeler

İnsanlarda kanserle nedensel ilişki olan maddeler:		
• 4-Aminobifenil		• Krom
• Arsenik		• Nikel
• Benzen		• Vinilklorür
İnsanlarda olası Kanserojen maddeler:		
• Benzo[a]piren		• Formaldehid
• Kadmiyum		• N-Nitrozodietilamin
• Dibenz[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
• Dibenz[a,h]akridin	• 5-Metilkrizen	• Orto-Toluidin
• Dibenz [a,i]	• 2-Nitropropan	• N-Nitrozodi-n-butilamin
• 7 H-Dibenzo[c,g]	• Üreten karbazol	
• Dibenzo[a,e]piren	• N-Nitrozodietanolamin	
<i>Kaynak: IARC</i>		

Kadmiyum, nikel, arsenik gibi metalik iyonlar da sigara dumanında yer almaktadır. Sigara içilmesi esnasında sigara tütününde yer alan kadmiyumun % 70'i sigara dumanına geçmektedir (40).

2.1.1.4. Karbonmonoksit (CO)

Karbonmonoksit, mangal ve soba zehirlenmelerine neden olan zehirli bir gazdır. Sigarada yer alan organik bileşiklerin kısmi oksidasyonu ile oluşur. Sigara dumanında yaklaşık % 3-5 oranında saptanmıştır. Her bir sigarayla 5-20 mg oluşan CO kana hızla difüze olarak kanda hemoglobin (Hb) demirine bağlanarak, karbonmonoksi hemoglobin (HbCO) bileşiğini oluşturur. CO hem bölgesine bağlanınca, hemoglobinin diğer hem bölgeleri oksijeni yüksek ilgiyle bağlar. Hemoglobinin dokulara oksijen bırakma kapasitesi azalır. Böylece sigmoid olan saturasyon eğrisi sola kayar. Hemoglobinin karbonmonoksite olan ilgisi oksijene

olan ilgisinden 220 kat daha fazladır. Hb'e bağlanır ve Hb'nin dokulara O₂ taşıma kapasitesini azaltır. Kaslarda miyoglobulinle birleşerek yine O₂'nin yerini alır ve kasta anaerobik metabolizmanın kullanımını uyarır. Mitokondrilerde ATP sentezini bozar. Özellikle akciğer arterlerinde dilatatör etkilidir (24,41).

2.1.1.5. Nikotin

Sigara dumanının major toksik bileşeni olup, periferik ve santral sinir sisteminde ROS üretimini uyararak oksidatif stresin oluşumuna yol açtığı kabul edilmektedir (42).

Dumanın farmakolojik yönden en önemli bileşeni olan nikotin, zayıf bir bazdır (yapılarında azot atomu içerirler) ve pH'ya bağımlı olarak biyolojik membranları geçer, alt solunum yolları ve akciğer alveollerinde çok hızlı (%60 kadar) absorblanır. Ayrıca nikotin hızlı bir şekilde beyne de girer. Bir sigara makineye solutulduğunda; ortalama 17 mg katran, ortalama 1.1 mg nikotin oluşmaktadır. Sigara içen kişilerde, sigara başına ortalama 1 mg nikotin absorblanır. Nikotin absorpsiyonu inhale edilen duman miktarına, duman inhalasyonunun derinliği ve süresine, dumanın pH'sına bağlı olarak değişmektedir. Nikotinin in vivo fonksiyonları kompleks olup, doza, hedef organa, toleransa ve otonomik tonusa bağlıdır. Sigara içimi ile alınan nikotin 7 saniyede beyin dokusuna ulaşır ve 15-20 saniyede tüm vücuda dağılır. Dolaşıma geçen nikotin seviyesi 10-20 dakika kadar yüksek kalır. Tekrarlanan sigara içiminde bu süre 20-40 dakikaya çıkar. Nikotinin yarılanma süresi 30-60 dakikadır. Sigara tiryakileri, kan plazma nikotin derişimlerini genellikle 10-15 ng/ml seviyelerde sabit tutmaya çalışırlar. Nikotin anne sütü yoluyla, etkileyecek miktarda emzirilen bebeğe geçer (24,43,44).

Nikotin üç mekanizmayla fonksiyonunu gerçekleştirir (43);

1. Gangliyonik geçişte önce uyarıcı olarak, daha sonra da otonomik gangliyonlarda depresyon şeklinde çift yönlü etki yapar.
2. Kromaffin hücrelerdeki nikotinik reseptörlerin aktivasyonu ile adrenal medulladan ve nöronlardaki nikotinik reseptörlerin aktivasyonu ile postgangliyonik sempatik nöronlardan katekolamin salgılanmasını sağlar.
3. Merkezi sinir sistemini uyarır.

Nikotin, sigarada bağımlılık yapan maddedir ve sigara bırakıldığında yoksunluk belirtileri gelişir (24). Sigara, temel bileşeni olan nikotinin merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki psikolojik etkisi ile ilk kullanımdan itibaren kişiyi önce alışkanlığa, daha sonra da tiryakiliğe sürükler (43).

Nikotin, doku ve serumda kolesterol, fosfolipit, trigliserit ve trigliseritten zengin lipoprotein metabolizmasına etki ederken, C ve E vitamini gibi antioksidanların plazma konsantrasyonlarını değiştirebilmekte, hem eser elementler ve antioksidanlar ile dokular arası ilişkiyi hem de serbest radikal savunma sistemlerinin elemanlarını etkilemektedir (45).

Nikotinin mitokondriyal solunum zincirini kırarak süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksit oluşumunu artırdığı rapor edilmiştir (42,46). Ayrıca nikotinin sitokrom P450' nin monooksijenazlarınca yönlendirilen metabolizması, oksijene ihtiyaç duyar. Yüksek doz nikotin ve enantiomerlerinin hücre içi metabolizması esnasında sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesi artarak serbest radikal oluşumuna neden olabilir (42,47).

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. Ratlarda yapılan çok sayıda çalışmada nikotin uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine yararlı etkilerine işaret edilmiştir (42,48).

Nikotinin oksidatif stres ve nöral koruma üzerine olan etkileri uygulanan doz ve mekanizma açısından farklılık göstermektedir. Genel olarak yüksek doz nikotin nörotoksite ve oksidatif stresi stimüle eder. Ancak düşük konsantrasyonda nikotin antioksidan özellik göstermekte ve nöral koruyucu etki açısından çok önemli bir rol oynamaktadır. Düşük konsantrasyonda nikotinin oksidatif stresi engellemesi, lipid peroksidasyonunu uyaran hidrojen peroksitin nikotin tarafından inhibisyonuyla açıklanmıştır (46,49,50).

2.1.2.Sigara ve İlişkili Hastalıklar

Sigaranın organizmada yaptığı olumsuz etkiler ve değişikliklerin bağlı olduğu faktörler;

1. Sigaranın içerdiği katran ve nikotin miktarı

2. Sigara içme süresi
3. Günlük içilen sigara sayısı
4. Sigarayı içme şekli (ağız, dudak tiryakiliği)
5. Sigaraya başlama yaşı
6. Sigarayı bırakma yaşı olarak sıralanabilir (24).

Sigara kullanımının serbest radikal artışına bağlı oksidatif stres oluşumunda önemli bir faktör olduğu ve birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığı ileri sürülmektedir (9).

Sigara ölümle sonlanmayan yaklaşık 50 kadar kronik ve 20'ye yakın da ölümcül hastalıkla ilişkilidir. Sigaranın akciğer kanseri, KOAH, periferik ateroskleroz, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların nedeni olduğu bilinmektedir. Sigara tüm kronik akciğer hastalıklarının %80'inden, kalp hastalığı ve kansere bağlı ölümlerin de üçte birinden sorumlu bulunmuştur. Yakın zamanlarda elde edilen kanıtlar kadınların sigaradan daha fazla zarar görme olasılıkları olduğunu göstermektedir (16,17).

Sigara kullanımının, ölümcül etkilerinin yanı sıra, içmeyenlerle kıyaslandığında içenlerin daha fazla akut ve kronik hastalığa yakalanarak gündelik etkinlikten, okul ve işten daha fazla geri kaldıkları bilinmektedir. Ergenlik çağında sigara içmeye başlayan ve uzun süredir düzenli olarak sigara içen kişilerin yarısı sigaradan ölmekte ve bunların yarısı da orta yaşlarda ölmektedirler. Bu kişilerin beklenen yaşam süreleri içmeyenlerle karşılaştırıldığında 20–25 yıl daha kısadır (16,17).

2.1.2.1.Sigara ve Solunum Sistemi

Sigara içimi veya sigara dumanına maruz kalma, ilk etkisini solunum sisteminde gösterir. Akciğerler oksidanlardan en çok etkilenen organdır. Oksidanlar hücre yapısını, hücre dışı matriksin yapısını, DNA hasarı yaparak da genetik yapıyı bozar, enzimatik olayları etkiler, fibroblastlarda proliferasyona neden olur, silya fonksiyonunu bozar, sürfaktan aktivitesini azaltır, mukus yapımını, sitokinlerin aktivitesini ve proteazların etkinliğini artırır (35). Solunum yolları epiteline iritan etki nedeniyle solunum yolları epiteli arasında bulunan nöroendokrin hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde artma olur. Sigara hava yolları, mukosilier temizleme

mekanizmaları ve akciğer parankimine etkileri ile solunum sisteminde birçok patolojik durumun ortaya çıkmasına sebep olur. Solunum yolları içine doğru sekresyon artışı ve silier aktivitede azalma, sekresyon içinde tutulan partiküller küçük çaplı bronşiollerde daralmaya ve obstrüksiyona yol açar (24). Sigara içmek, solunum yollarında inflamatuvar reaksiyonlara sebep olur ve bu inflamatuvar olaylar da, periferik solunum yolları obstrüksiyonuna yol açar (43). Alveol boşluklarında, alveolleri temizleyen makrofajlarda artış olur. Makrofajlar ve diğer fagositik hücreler, toksik oksijen radikallerince alveoler parankim ve hücre hasarı subendotelyal fibrozise neden olur. Alveol membranı kalınlaştığında alveoler gaz diffüzyonu azalır. Sigara içenlerde görülen alfa-1 antitripsin eksikliği amfizem ve KOAH gelişimine neden olur. Bu gelişimde nöroendokrin hücrelerce salgılanan bombesin benzeri peptitlerin salgılanmasının da rolü vardır. Bu peptidler makrofajlarda fagositik fonksiyonları ve sitokin salgılanmasını artırır (1,4,8,24,28,51).

Sigara içenlerde sık görülen kronik bronşit ve amfizem, sigaranın aşağıda sıralanan etkileri ile akciğer dokusunu hasara uğratması sonucu gelişir. Bu etkiler şunlardır:

1. Sigaranın fiziksel ve kimyasal tahriş edici etkisi,
2. İnflamatuvar hücrelerin birikimi,
3. Alt solunum yollarında oksidatif stresin ortaya çıkması.

Sigara içmek solunum yollarında polimorfonükleer lökosit (PMNL) ve monositlerin artışına sebep olur. PMNL'lerin proteazlardan olan elastazı üretme yeteneği vardır. Elastaz bağ dokusu bileşeni olan elastini parçalar (43). Sigara ayrıca, elastaz gibi proteolitik enzimleri inhibe eden alfa-1 Antitripsinin yapısında yer alan metiyonini, metiyonin sülfokside okside ederek onu inaktif hale getirir. Sonuçta bir yandan elastaz üretimi artarken, diğer yandan inhibitörü olan alfa-1 Antitripsin inaktif hale getirilmiş olur. Böylece akciğer dokusunun elastolitik parçalanması sonucu amfizem gelişir (6,8,28,43).

Sigara alt solunum yollarına fazla miktarda oksidanın ulaşmasına neden olur. Sigara dumanı, kirli havadan yüzlerce kat daha fazla miktarda azot oksitler bulundurur. Sigara alt solunum yollarında NO konsantrasyonunu artırarak, peroksinitrit ve peroksinitröz asit gibi oksidan maddelerin oluşumuna neden olur.

Sigara antioksidan bileşiklerin tüketimi yoluyla da oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına ve oksidatif hasara yol açar. Günlük içilen sigara sayısına ve sigara içme süresine bağlı olarak antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olurken, sigaranın bırakılması ile azalmış antioksidan aktivite artar (1,28,43).

Sigara dumanı siliyalar üzerinde doğrudan toksik etki göstermektedir. Sigara içenlerde bronş epitelinde hipersekresyon, deskuamasyon, bazal hücrelerde hiperplazi, metaplazi ve atipik hücrelerin artması görülür. Bu değişiklikler sigara içmeyenlerin %1'inde ve sigarayı bırakanların %6'sında izlenir (24,52).

Sigara KOAH vakalarının yaklaşık %90'ına neden olan majör risk faktörüdür. Sigara içenlerde içmeyenlere göre 10 kat fazla KOAH gelişme riski vardır. Risk erkek ve kadınlarda eşittir. Önceden KOAH yüksek sigara içme oranı yüzünden erkeklerde daha sıkı fakat son yıllarda benzer sigara içme oranlarını yansıtır şekilde her iki cinsiyette de daha yakın oranlar görülmektedir (53).

2.1.2.2.Sigara ve Akciğer Kanseri

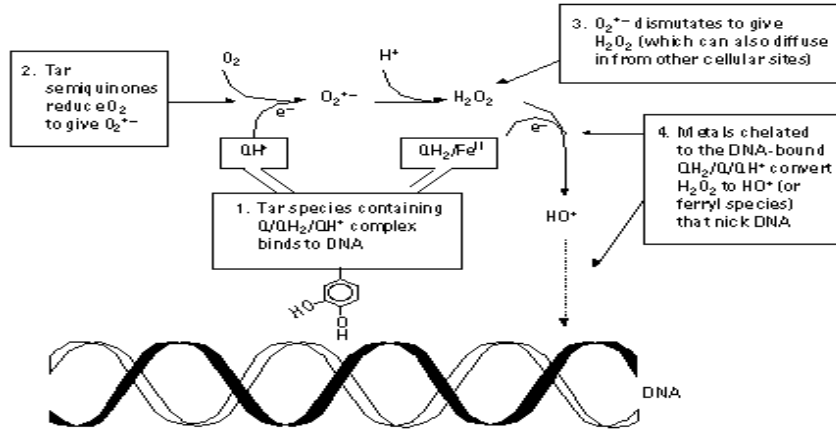
Sigara birçok organ kanserleri riskini artırmaktadır. Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldıklarında, akciğer kanserinden ölümler orta derecede sigara içenlerde 10 kat, fazla sigara içenlerde ise 15-25 kat artmaktadır. Sigaranın akciğerdeki kanser oluşturucu etkileri; hatalı replikasyon, mutasyon ve kanserojen aktive edici enzimlerin indüksiyonunu kapsamaktadır. Sigara dumanındaki siliatoksik maddeler ile mukosilier temizleme mekanizmasının bozulması; aktif PMNL ve makrofaj sayısını arttırarak, nötrofil elastazın ve diğer proteazların üretilmesine ve immünolojik cevabın azalmasına sebep olur. Ancak bu etki direkt kanserojen değildir, predispoze faktördür. Sigaranın bileşenlerinden biri olan 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon'un hayvanlarda akciğere spesifik bir kanserojen olduğu; oral, lokal, derialtı ve intraperitoneal uygulamalarla gösterilmiştir. Sigara, asbest ve radon gibi çeşitli endüstriyel moleküllerin kanserojen etkilerini de artırmaktadır (43,52).

Sigaranın toksik metabolitleri DNA hasarı yaparak solunum yollarında epitel hasarına sebebiyet vermektedir. Bu hasarın başlangıçcı skuamöz metaplazi şeklinde olup sigara içilmeye devam edilecek olursa karsinoma insituya dönüşebilmektedir (52).

2.1.2.3. Sigaranın DNA Hasarı

Sigaranın kanserojenik ve mutajenik etkileri, içinde barındırdığı, kanserojen maddeler sayesinde ortaya çıkmaktadır. Bunlar poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), nitrozaminler, aromatik aminler, aldehitler, organik ve inorganik bileşiklerdir. Bu maddeler özellikle PAH ve Nitrozaminin metabolitleri DNA'ya kovalent bağlar ile bağlanmakta (guanin ve adenin baz bölgeleri) ve DNA'nın bu haline DNA-adducts denilmektedir. DNA adducts, sigaranın metabolitlerinin DNA'ya bağlanarak oluşturduğu artık DNA'yı ifade etmektedir. Böylece, DNA'nın başlangıç fazı irreversibl olarak bölünmekte ve DNA'daki bu değişiklik ilerleme fazına geçildiğinde malign fenotipe dönüşümün ilk basamağını oluşturmaktadır. DNA'ya bağlanan toksik bileşiklerin seviyesi (DNA-adducts), maruz kalınan biyolojik genotoksik etkenin dozu ile ilişkilidir (52).

Sigara katranında bulunan düşük molekül ağırlıklı Q-QH₂-QH[•] sistemi radikalleri memeli hücre DNA'sına penetre olarak DNA hasarına neden olabilir. Bu etkileşim PAH'larla birlikte DNA-adduct oluşumuna neden olabilir. Serbest radikallerin DNA ile etkileşimi ile baz modifikasyonları ve fosfodiester bağlarının hidrolizi sonucu da DNA zincir kırıkları oluşur (şekil 2) (26,38).



Şekil 2. Sigara dumanının tar fazından radikal oluşumu ve DNA hasarı (26). (1. Q/QH₂/QH[•] kompleksini içeren tar, DNA'ya bağlanır. 2. Tar semikinonları O₂'i indirir, O₂•⁻ oluşur. 3. O₂•⁻ dismutasyona uğrar H₂O₂ oluşur. 4. DNA'ya bağlı QH₂-Q-QH[•]'la şelat yapan metaller, H₂O₂'yi HO•'ya çevirir.)

2.1.2.4. Sigaranın Kardiyovasküler Sistem Etkileri

Sigara, yaygın ateroskleroz, koroner arter hastalığı ve diğer iskemik hastalıklar için major bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (8,37,54).

Sigara kullanımı ve koroner kalp hastalıkları arasındaki ilişki ilk olarak Amerika'da 1940 yılında Mayo klinik tarafından gösterilmiştir. Sigara kullanımına bağlı ölümlerin yaklaşık yarısı kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklanmaktadır. ROS ürünlerinin, muhtemelen okside makromoleküllerin seviyesini yükseltmesinden dolayı sigara kullananlarda kardiyovasküler hastalık riski artmaktadır. Miyokard infarktüsü oluşma ve koroner kalp hastalıklarından ölüm riski sigara kullananlarda, kullanmayanlara göre 2-3 kat fazladır.

Sigara tüketiminin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri:

- 1- Trombosit agregasyonu ve adezyonunda artış ile tromboza eğilim yaratır.
- 2- Karbonmonoksit üretimi, plazma vizkozitesi ve fibrinojen seviyelerini artırır.
- 3- Sigara tek başına, koroner arterlerde spazm oluşturabilir.
- 4- Günlük tüketilen sigara miktarı ile orantısız olarak kolesterol seviyesinin arttığı ve yüksek dansiteli lipoprotein konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir.
- 5- Nikotinin etkisi ile sistolik ve diyastolik kan basıncı artarken, periferik vazokonstriksiyon olmaktadır.
- 6- Vasküler endotelde hasarlanmaya yol açarak ateroskleroz gelişimini kolaylaştırır.

Ateroskleroz için major risk faktörlerinden birini oturturan sigara içimi, damar duvarı irritasyonu ve hasarına neden olur. Endotel irritasyonu NO sentezini azaltırken endotelin-1 salgılanmasında artışa yol açar. Endotel hasarı trombositlerin agregasyonu ve adezyonunu artırır ve plazma trigliserit, LDL, çok düşük dansiteli lipoprotein ve total kolesterol miktarını artırır. Bu artışlar kalp atım sayısı artışıyla korelasyon gösterir.

Kan lipit profilindeki değişiklikler lipit peroksidasyonu ile okside-LDL miktarında artış, damar duvarındaki atherom plak oluşumu hızlanır. Okside LDL ile antioksidan savunma dengesi bozulur, sonunda ateroskleroz gelişir. Aterosklerozun koroner arterlerde gelişmesi 10 yıl alırken beyin arterlerinde ve periferik arterlerde oluşması 20 yıl sürer. Ateroskleroz gelişmesinde tromboksan-A2 sentezinde, trombosit agregasyonu ve adezyonundaki artışın ve plazmada adrenalin, noradrenalin artışının büyük rolü vardır. Sigarayla vücutta oksidan antioksidan denge oksidan lehine bozulur.

Kardiyovasküler hastalıkların etiolojisinde rol oynayan hipertansiyon, diyabet, obezite ve hiperlipidemi gibi faktörler, sigara ile birlikte sinerjik etki yapmaktadırlar. Bir çalışmada holter monitorizasyonu ile koroner kalp hastalarında sigara içimi sırasında %33 daha fazla iskemi geliştiği gözlenmiştir.

Oksidatif stresin etkilediği en önemli hastalıklardan biri de kalp yetmezliğidir. Kalp yetmezliği gelişen hastalarda SOD, katalaz, GSH-Px ve E vitamini gibi miyokardiyal antioksidanlar azalırken, serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir.

Sigaranın bırakılması koroner kalp hastalığı riskini belirgin olarak azaltmaktadır. Sigaranın bırakılmasından sonra 1 yıl içinde myokard infarktüsü riski yarıya yakın azalırken, 3-4 yıl içinde hiç sigara içmemiş kişilere benzer olmaktadır (8,16,24,55-57).

2.1.2.5.Sigaranın İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Organizmada yabancı maddelerle savaşan sistem immün sistemdir. Sigara içimi sonucu oluşan yabancı maddeler antijenik reaksiyonlara neden olur. Bunlar daha çok burun çekme, öksürük, başağrısı, gözlerde sulanma, kanlanma ve kaşıntı gibi reaksiyonlardır. Sigara içimiyle solunum yollarındaki titrete tüylerde hem azalma hem de hareket kaybı akciğerlerin en önemli savunma mekanizmasını zayıflatmış olur. Alveoler makrofajlar; alveollerde difüzyona engel olan yabancı maddelerle savaşan, alveoler temizlikten sorumlu hücrelerdir. Sigara içimiyle bu hücrelerde artış görülür. Bu hücrelerdeki artış yabancı maddelerin fagositozunu intrasellüler adezyon moleküllerine karşı antikor oluşmasını, hem CDIIa, CDIIb, CDIIc, CD18 artışını hem de süperoksit üretimindeki artışı tetikler. Dolaşımdaki reaktif oksijen metabolitlerindeki artış, monositleri harekete geçirir. Monositlerin damar duvarına adezyonunda artış nedeniyle sigara içenlerde monosit sayısında hafifçe azalma olur. Monositlerin damardan uzaklaşması aterogenezi başlatması açısından önemlidir (24,58).

2.1.2.6.Sigara ile İlişkili Diğer Hastalıklar

Mide ve duodenum ülserleri sigara içenlerde içmeyenlerden 2 kat daha fazladır. Sigara içimi yüzde erken yaşta kırışıklıklar oluşması, kadınlarda osteoporoz, erkeklerde seksüel disfonksiyonla ilişkilidir.

Sigara içenlerde hem romatoid artrit, hem romatoid akciğer tutulumu riski artmıştır. Sigara içicilerin katarakt riski ve yaşla ilişkili maküler hasar riski artmıştır. Sigara dumanı irritasyonuna bağlı kuru göz sendromu riski ve şiddeti artmaktadır.

Amerika'da tüm kanser ölümlerinin 1/3'ü sigaraya bağlanmaktadır. Yapılan birçok çalışma, kanser türlerinin çoğunun sigara ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bunlar; ağız boşluğu, larinks, böbrek, mide, pankreas, özefagus, mesane, uterus, serviks, akciğer kanseri ve lösemidir. Yine çeşitli çalışmalarda hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı ve diğer kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, ateroskleroz, aort anevrizması, KOAH vs. gibi hastalıkların sigara kullanımına bağlı hastalıklar olduğu gösterilmiştir (59-62).

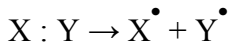
2.2. Serbest Radikaller

Bir atom veya molekülde elektronlar orbitallerde bulunur. Her bir orbitalde, spinleri zıt yönde olan iki elektron vardır. Normal bir kimyasal bağda da spinleri zıt yönde olan bir çift elektron bulunur (63,64).

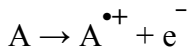
Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküller olup, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler ve yarı ömürleri kısadır. Molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta ile gösterilir (R^\bullet). Radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek, yeni radikal oluşumuna yol açarlar ve böylelikle zincir reaksiyonunu başlatırlar (65,66).

Bu bileşikler organizmada normal metabolik yollar ve patolojik mekanizmalar sonucu üç yolla oluşmaktadır:

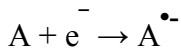
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birini alarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Biyolojik sistemde oluşan radikaller organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe_3^+ , Cu_2^+ , Mn_2^+ ve Mo_5^+ gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (kasyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler (64,66,67).

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen 8 atom numaralı, doğada dioksijen (O₂) olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir (67).

Moleküler oksijen, paralel spin durumlu iki ortaklanmamış elektrona sahiptir. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir. Biradikal oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer (66,67).

Organizmada geçiş metallerini (Fe²⁺ ve Cu⁺ gibi metaller) içeren enzimler vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektronların transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijen, biradikal doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede ROS oluşturma eğilimindedir (67).

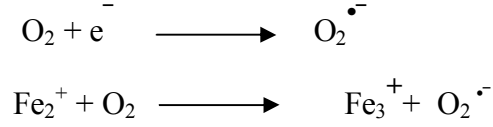
Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri iki ana başlık altında incelenmektedir. Radikal olmayan oksijen merkezli bileşiklerinde kimyasal aktivitesi oldukça yüksektir (67,68).

Tablo 3 Reaktif Oksijen Bileşikleri (69,70).

RADİKALLER		RADİKAL OLMAYANLAR	
O ₂ ^{•-}	Süperoksit	H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
•OH	Hidroksil	¹ O ₂	Singlet oksijen
HO ₂ [•]	Hidroperoksil	HOCl	Hipokloröz asit
RO [•]	Alkoksil	ONOO ⁻	Peroksinitrit radikali
ROO [•]	Peroksil	O ₃	Ozon
NO [•]	Nitrik oksit	LOOH	Lipit hidroperoksit
NO ₂ [•]	Azot dioksit		

2.2.1.1. Süperoksit Radikalleri (O₂^{•-})

Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (66).

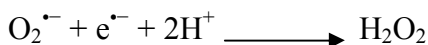


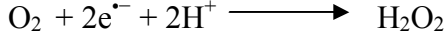
Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali oluşturmak üzere protonlanır (66,71).

İnsan vücudunda en büyük süperoksit kaynağı elektron transport zinciridir. Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan NO radikali ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO_2^*), hidroksil radikali, nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki NO'nun zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (66).

2.2.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir (66).



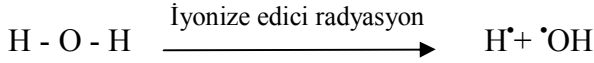
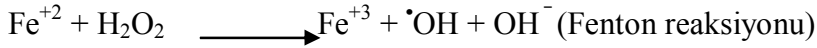


Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü Fe_2^+ veya diğer geçiş metallерinin varlığında Fenton reaksiyonu, süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturur (66,72).

Süperoksit radikalının lipit solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipit solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe içeren membranlarda hasar oluşturabilir (66,68).

2.2.1.3. Hidroksil Radikalleri (OH^\bullet)

Hidroksil radikali, Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu sonucu H_2O_2 'ten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşabilir (66).



Hidroksil radikali son derece oksidan ve yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla ROS'ların en güçlüsüdür. OH^\bullet radikalleri başta lipit, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler (66,67). OH^\bullet DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH^\bullet aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: Timine katılarak timin radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil-radikaline dönüşmektedir. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH^\bullet , DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir.

Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak thyil radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (66,73).

2.2.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

Atmosferik bir gazdır. Ortam havasında, kirli havada, egzoz gazında, sigara dumanında yoğun olarak saptanmıştır. NO[•], bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir birçok dokuda fizyolojik süreçlerin kontrolünde yer alan önemli bir sinyal molekülüdür.

Nörotransmisyon, immün direnç, apoptozis kontrolü gibi birçok süreçte rol alır. NO küçük bir molekül olduğundan membranlardan kolaylıkla geçer. Biyolojik etkilerini hem grupları, sülfidril grupları, demir ve çinko gibi hedef moleküllerde gösterir. NO endotel hücresi, sinir hücresi, makrofaj, trombosit, düz kas hücresi ve birçok hücrede L-Argininden nitrik oksit sentetazlar olarak adlandırılan bir dizi enzim tarafından sentezlenir.

Lipofilik özellikte olup, kimyasal stabilitesi olmayan, basit renksiz gazdır. Vücutta depolanmaz, hücreden çıkması için ekzositos gerekmez ve özel hücre dışı reseptörler üzerine etkili olmaz. Yarı ömrü 30 saniyenin altındadır. NO[•] metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp NO₂ oluşturur. Çözelti içerisinde hızla, reaktif olmayan ve oldukça stabil olan nitrit ve nitrata okside olur. Hızlı metabolize olduğundan etkisini lokal olarak gösterir.

NO'nun bazı etkileri;

1-Endotel kökenli NO; kan damarı tonusunun ayarlanması, kan basıncının düzenlenmesi ve vazodilatasyondan sorumludur. Endotel kaynaklı NO bilinen en güçlü vazodilatatördür.

2-Trombositlerde c-GMP düzeylerini yükselterek hem invivo hem invitro olarak trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe eder.

3-Lipit peroksit radikalleriyle tepkimeye girerek, hücre içi lipit oksidasyonundaki otokatalitik reaksiyon zincirini bozarak antioksidan ve anti aterosklerotik etki

oluşturur. 4-Süperoksit radikalleriyle etkileşir. Süperoksit fazlalığında peroksinitrite bağlı olarak proaterojenik etki oluşabilir. NO fazlalığında ise peroksinitritin prooksidan etkisi NO'nun antioksidan etkisi ile baskılanır ve bu yolla antiaterojenik etki sağlanır.

5-NO damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder (57,74-80).

2.2.3. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir (72).

2.2.3.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Normal olarak metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır. ROS hücrede aralıksız olarak üretilmektedir; kullandığımız oksijenin yaklaşık %3-5'i oksijen serbest radikale çevrilir (67,81).

- Mitokondriyal elektron transport sistemi; fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır.

- Endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P-450 moleküler oksijeni kullanarak bir çok substratı oksitler.

- Araşidonik asit metabolizması

- Fagositoz

-Otooksidasyon (Hemoglobin gibi metalloproteinler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri).

-Oksidan enzimlerin reaksiyonları (Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz (65,66,72,79,81-85).

2.2.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle de oluşabilir. Bazı yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırır. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler. 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 (69,71).

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 PUFA otooksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir (34).

Sigara dumanındaki azot dioksit gazı'nın ilk formu nitrik oksit, hemoglobinin hem demiri ile oldukça hızlı reaksiyon verir. Böylece eritrositlerde artan methemoglobin konsantrasyonu, eritrositleri oksidasyona predispoze hale getirir (34,86).

2.2.4. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

ROS oluşumu enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO₂), ozon (O₃) ve NO₂, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. Serbest radikaller elektronları sökmek üzere hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşikleri ile tepkimeye girerek hücrede işlev bozukluğu yaparlar (66,67).

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede ROS'un artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi sonrasında reperfüzyon da ROS artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, retrolental

fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur (**tablo 4**)(64,67).

Tablo 4. Serbest Radikallerin Etkileri

Hedef Bileşik	Serbest radikalın oluşturduğu etki
Lipitler	Plazma ve organel membranındaki kolesterol ve çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu çapraz bağlanma
Enzimler	Enzim inhibisyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktör aktivitesinde azalma
Karbonhidratlar	Polisakkarit depolimerizasyonu, hücre yüzeyi reseptör değişikliği
DNA	Baz modifikasyonu, hücre siklus değişikliği, mutasyon, çift sarmal ayrışması
Protein	Peptid zincir bölünmesi, çapraz bağlanma, denatürasyon
Hyaluronik asit	Sinovial sıvı, vitreus humour viskozitesindeki değişiklik

2.2.4.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Lipitler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA'nın oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri (L^{\bullet}) ve lipit peroksit radikallerinin (LOO^{\bullet}) oluşması, ROS'un neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir (66).

Hücre membranlarında lipit peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ile yağ asidi zinciri bir lipit radikali haline alır. Lipit radikali (L^{\bullet}) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikallerinin O_2 ile etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri (LOO^{\bullet}) oluşur. LOO^{\bullet} , membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ

asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipithidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit peroksitlerinin yıkılımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipit peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak H₂O₂'den Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir (7,66,72,81).

LOOH yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar (65,66).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. MDA, kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipit peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır (66,72,87-89).

Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanısıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histidin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (66,72).

Nonenzimatik lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur. Lipit peroksidasyonu ateroskleroz, kanser, diabetes mellitus, kronik pankreatit, MI gibi birçok hastalığın ve yaşlanmanın patogeneğinde önemli rol oynar (66,88,90).

2.2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı PUFA'dan daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur (66).

Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin ROS üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidrosilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem içeren proteinler de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler (66,91).

2.2.4.3. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin DNA'ya etkileri ile baz modifikasyonları ve fosfodiester bağlarının hidrolizi sonucunda DNA zincir kırıkları oluşur (38). İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂ membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Ayrıca serbest radikaller çekirdek membranını yararak çekirdekdeki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirir (55,65,66).

Süperoksida maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta ve romatoit artritite dolaşımda anti-DNA antikorlar bulunur (65,66).

2.2.4.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana

gelirler. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar (66).

2.2.5 Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmesidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmesidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak reaksiyon zincirini kırıp fonksiyonlarını engellemesidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıdır (66,92).

Antioksidanlar, endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler (66,92). Bazı önemli antioksidanlar ve etkileri **Tablo 5**'te verilmiştir (66,67,73,93).

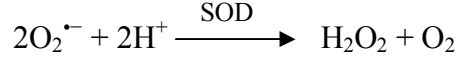
Tablo 5. Endojen Antioksidanlar ve Etkileri

A-Enzimatik antioksidanlar	Etkileri
Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi	Radikal oluşumunu önler
Süperoksit dismutaz	$O_2^{\bullet-}$ anyonunu detoksifiye eder
Katalaz	Yüksek konsantrasyonda H_2O_2 'i detoksifiye eder
Glutasyon peroksidaz	Düşük konsantrasyonda H_2O_2 'i detoksifiye eder
Glutasyon redüktaz	Okside glutasyonun indirgenmesini sağlar
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	$NADP^+$ 'ın $NADPH$ 'a dönüşmesini sağlar
B-Non-enzimatik antioksidanlar	Etkileri
1-Lipit faz	
α tokoferol	Lipit peroksidasyon zincirini kırar.
β karoten	Radikal tutar,singlet oksijeni baskılar
Melatonin	$\bullet OH$ ve $O_2^{\bullet-}$ tutar
2-Sıvı faz	
Askorbik asit	E vitamininin rejenerasyonu, $\bullet OH$ ve O_2 tutar
Ürat	Radikal tutar ve metal bağlar
Glukoz	$\bullet OH$ tutar
Mukus	$\bullet OH$ tutar
Bilirubin	Peroksil radikal tutar
Sistein	Elektron vererek organik molekülleri indirger
Seruloplazmin	Bakır bağlar. $O_2^{\bullet-}$ in detoksifikasyonu sağlar, Bakır reoksidasyonu için H_2O_2 kullanılır.
Albümin	LOOH ve HOCl tutucu,hem ve bakırı bağlar
Transferrin	Dolaşımdaki demiri bağlar
Ferritin	Dokudaki demiri bağlar
Laktoferrin	Düşük pH'da demir bağlar
Haptoglobin	Hemoglobin bağlar
Hemopeksin	Hem bağlar

2.2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (EC-SOD; E.C.1.15.1.1)

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksidin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Bu reaksiyon spontan da meydana gelebilir. Fakat, SOD varlığında reaksiyonun hızı 4000 kat artar (66).



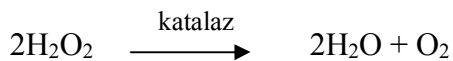
İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır (66,67).

Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylelikle lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyi düşük tutulur (66,67,92).

SOD fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD granülosit fonksiyonu için çok 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 (66).

2.2.5.1.2. Katalaz (E.C. 1.11.1.16)

Katalaz ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Eritrosit içinde bol miktarda bulunur. Hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu katalizler (66,84).



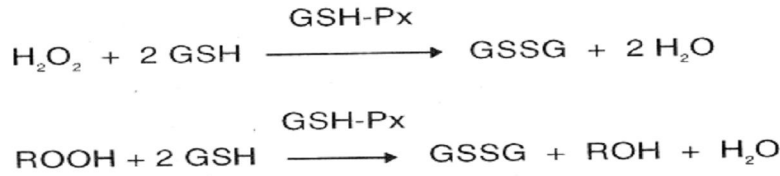
Bu enzim özellikle glutasyon miktarının kısıtlı ve GSH-Px aktivitesinin azaldığı durumlarda önemli olup, adaptif hücre cevabında oksidatif strese tolerans gelişiminde önemli rol oynar (84,92).

Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan H₂O₂'yi OH radikalinin oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (84,92).

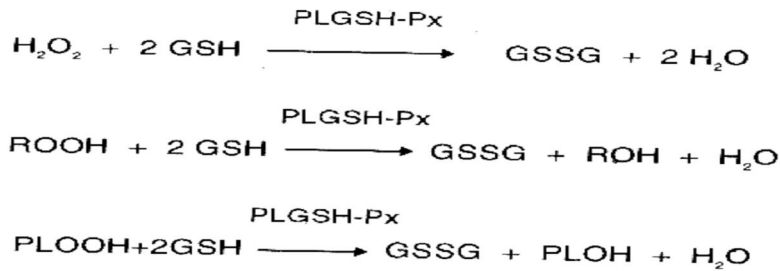
2.2.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz (E.C 1.11.1.9)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), sitoplazmada bulunan, selenyum içeren tetramerik, antioksidan bir enzimdir. Selenyum aktif olarak katalitik reaksiyona katılır. GSH-Px eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidan enzimdir (66).

Sitozolda bulunan glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ile kolesterol ve yağ asidi hidroperoksitlerine etki eder. Bu reaksiyonda indirgeyici olarak glutasyon (GSH) kullanılır.



Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen bir enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirger.



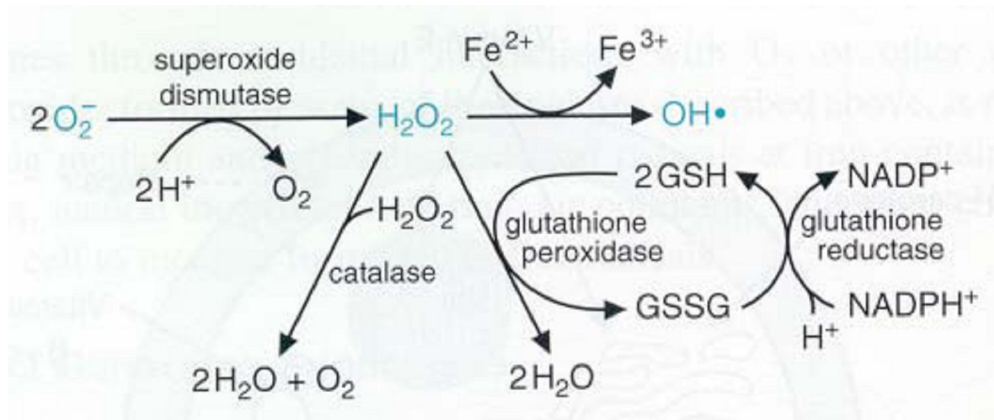
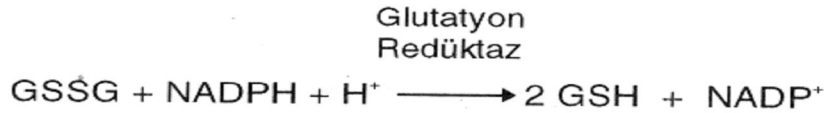
Fosfolipit hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) membrana bağlı en önemli antioksidan olan E vitamini yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur.

Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.

GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px'in aktivitesindeki azalma hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (65,66).

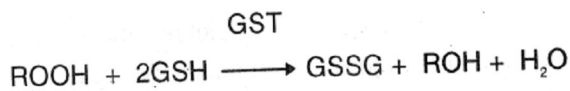
2.2.5.1.4. Glutatyon Redüktaz (GSSG-Rd; EC:1.6.4.2)

Glutatyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan GSSG'nin, NADPH⁺ bağımlı olarak tekrar indirgenmiş GSH'a dönüşümünü katalize eder (94).



2.2.5.1.5. Glutatyon-S-Transferazlar (E.C.2.5.1.18)

Glutatyon S-transferazlar (GST), her biri iki alt birimden oluşmuş esas olarak sitozolde bulunan bir enzim ailesidir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda rol alan, başta araşidonik asit ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar (66,95).



GST'lar, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler (66,95).

2.2.5.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli olan normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar (66).

2.2.5.2. Enzimatik Olmayan - Moleküler Antioksidanlar

2.2.5.2.1. Glutatyon (GSH)

GSH, karaciğerde sentezlenen intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşur. Çok önemli bir antioksidan olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümü, eritrositleri, lökositleri oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Glutatyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunun yanı sıra protein ve DNA sentezinde de önemli rol oynar (38,66,82,96).

Redükte glutatyon, reaksiyon sonucu oksitlenerek GSSG'a dönüşür. Okside glutatyonun tekrar redükte hale gelmesi NADPH'in kullanılması ile mümkündür. Glutatyon ve glutatyon metabolizması antioksidan savunma için doku ve kanda mutlaka gereklidir (66,71,82,89,96).

2.2.5.2.2. E Vitamini (α -Tokoferol)

E vitamini tokoferol yapısındadır ve alfa, beta, gama, delta, eta ve zeta gibi çeşitli türevleri bulunmaktadır. D- α -tokoferol en geniş doğal dağılımı ve en büyük

biyolojik aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol de α -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, molekülün kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan PUFA'yı serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin α -tokoferole karşı çok yüksek affinitesi vardır (66,67,72,97).

E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonu, E vitamini vasıtasıyla sonlandırılabilir. Bunun sonucunda serbest radikal reaksiyon zinciri kırılır (66,72).

Glutasyon peroksidaz ve E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin oluşumunu engeller (66,67).

2.2.5.2.3. Askorbik Asit

C vitamini suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. Aynı zamanda çok güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit, semidehidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Semidehidroaskorbat da antioksidan etki gösterir. C vitamini ayrıca antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller, tokoferoksil radikalinin, α -tokoferole indirgenerek rejenere olmasını sağlar (58,66,98).

Sigara içenlerde C vitamini düzeyi sigara içmeyenlerden daha düşük bulunmuştur (58). Diyetle C vitamini alınmasının akut sigara içimiyle oluşan LDL oksidasyonunu azalttığı tesbit edilmiştir.

C Vitamini, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalinin üretimine neden olur. Ayrıca C vitamini oksidasyonunda doğrudan H_2O_2 de meydana gelebilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük

konsantrasyonlarda (normal plazma konsantrasyonunun çok altında) görüldüğü daha yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olduğu kaydedilmiştir (66).

2.2.5.2.4.β–Karoten (A vitamininin ön maddesi)

Yağda çözünen β-karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan etki gösterdiği kaydedilmiştir (66,98).

2.2.5.2.5.Melatonin

Melatonin; lipofilik olması sayesinde hücrenin hemen bütün organallerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir, kan-beyin bariyerini geçebilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatonin en zararlı serbest radikal olan OH radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır (60,66).

2.2.6.Total Oksidan Stres (TOS)

Serum ya da plazmadaki oksidan moleküllerin konsantrasyonlarını ayrı ayrı ölçmek mümkündür. Ancak oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir olan bu moleküllerin tek tek ölçülmesi pratik değildir. Bu düşünceden yola çıkılarak tüm oksidanların durumunu yansıtabilecek bir yöntem olan invitro TOS ölçümü geliştirilmiştir (99).

2.2.7.Total Antioksidan kapasite (TAK)

Organizma, plazma ve vücut sıvılarında serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyen ve değerleri ölçülebilir birçok antioksidan içermektedir. C ve E Vitamini, albümin, bilirubin, ürik asit gibi antioksidan moleküller ve SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzimler hücreleri oksidan ajanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Bu antioksidanların serum konsantrasyonları tek tek ölçülebilir ancak bu zaman alıcı ve pahalı olup daha komplike teknikler gerektirmektedir. TAK ise, son zamanlarda geliştirilen bir ölçüm yöntemi olup, numunedeki enzimatik olan ve olmayan tüm antioksidanların durumunu yansıtılmaktadır. TAK çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri türevlerine karşı organizmanın antioksidan savunma etkisini bir bütün olarak gösterir. TAK invitro olarak ölçülmektedir (70,99).

2.2.8.Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Organizmadaki oksidan/antioksidan dengeyi gösterir. TOS değerlerini TAK sonuçlarına yüzde cinsinden oranlanarak bulunan OSİ değerleri oksidatif stresin derecesinin göstergesi olarak kullanılır. OSİ organizmanın oksidan/antioksidan dengesini yansıtır. $OSI = (TOS = \mu\text{mol/ H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv/L}) / (\text{TAK} = \text{mMol/GSH Equiv/L} \times 1000) \times 100$ formülü ile hesaplandı (100,101).

2.3. Tükürük Yapı ve Fonksiyonu

Tükürük oral kaviteye salgılanan karmaşık yapılı biyolojik bir sıvıdır. Tükürük günde ortalama 600 mL üretilir ve içeriğinin yaklaşık %99'u su, %1'i ise organik - inorganik maddelerden meydana gelir. Tükürüğün su, elektrolitler, glukoz, amilaz, lipaz, müsin, lizozim ve salgısal IgA, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi 65 farklı madde içerdiği saptanmıştır (11,13).

Tükürük bezlerden çıktığında sterildir ancak ağız içinde bu özelliğini yitirir. Ağız ortamındaki tükürük içinde dişeti oluşu sıvısı, mukozal eksüda, bronşiyal ve nazal salgılar, bakteriler, virüsler, mantarlar, epitel hücreleri ve gıda artıkları bulunmaktadır (11).

Tükürüğün temel işlevleri oral mukozanın kayganlaştırılması, çiğnemenin kolaylaştırılması, gıda artıklarının ve bakterilerin yıkanarak mekanik olarak uzaklaştırılması, gıdaların çözülmesi, yutma ve sindirimin kolaylaştırılması, oral kavite pH'sının düzenlenmesi ve antimikrobiyal etki olarak özetlenebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda içerdiği epidermal büyüme faktörleri ile oral mukoza onarımına, proteinler ve peptidler aracılığıyla da oral kavitede hemostaza katkıda bulunduğu bildirilmiştir (10-12).

Tükürük sigara dumanını ilk karşılayan sıvıdır. Hayvan çalışmalarında tükürüğün antikarsinogenik potansiyelinin, oral kanserlerinin başlama ve ilerlemesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Tükürüğün antioksidan sistemi, tükürüğün antikarsinogenetik etkisinde çok önemli rol oynar. Bu sistem ürik asit ve peroksidaz sistemi gibi çok çeşitli ve önemli molekülleri içerir. Tükürük total antioksidan kapasitesinin yaklaşık %70'inden ürik asit sorumludur. Bu antioksidan sistem, sigara dumanının serbest radikallerini önemli ölçüde engeller (102,103).

Tükürük bezinde yaygın nöronal nitrik oksit sentaz yerleşimi NO'nun tükürük bezinin kan akımı ve sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. NO'nun tükürük bezlerinde vasküler tonusu kontrol ettiği, tükürüğün antibakteriyel etkisinde, oral karsinogenlerin detoksifikasyonunda, tükürüğün sıvı ve protein içeriğinde ve kolinerjik uyarı ile ilişkili tükürük amilaz sekresyonunda rol aldığı bildirilmektedir (104).

Tükürüğün bir sistemik hastalığın tanısında kullanımı fikri ilk kez 1901 yılında Michaels tarafından ortaya atılmıştır. Bu düşünce, tükürüğün bazı tedavisel,

hormonal, immünojik ve toksik moleküllerin doku düzeylerini yansıtabileceği gerçeğine dayanmaktadır. Ayrıca tükürüğün örnekleme ve saklama kolaylığı, pıhtılaşmaması ve hasta konforu klinik olarak serumdan avantajları olarak görölmektedir. Tükürük biyomarkerleri gelecekte genel sağlığın ve hastalıkların erken teşhisinin göstergesi olabilir (11,13).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizörü (Almanya)
2. Mikro 22 R Hettich santrifüj Cihazı (Almanya)
3. Nüve NF100DR soğutmalı santrifüj (Türkiye)
4. Hassas Terazi (Shimadzu AY220), (Kyoto), (Japonya)
5. Spektrofotometre (μ Quant, Biotek instruments Inc), (USA)
6. Vortex (Velp Scientifica), (İtalya)
7. ELx50 otomatik strip yıkayıcı (Biotek Instruments Inc.), (USA)
8. Otomatik pipet (100,1000 μ l Hamilton), (50-300 μ l 8'li otomatik pipet Finnpiquette), (Thermo Labsystems)
9. Benmari (Nüve ST402), (Türkiye)
10. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica), (İtalya)
11. Shaker (IKA- Schuttler MTS 2), (Almanya)

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

1. Vanadyum Klorür (VCl_3) (Merck)
2. Sulfanilamid (Merck)
3. N-(1-Naptil) Etilendiamin Dihidroklorit (NEDD)(Sigma)
4. Hidroklorik Asit (HCl) (Merck)
5. Sodyum Nitrat (Sigma)
6. Sodyum dodesil Sülfat (Merck)
7. Asetik Asit (Merck)
8. Sodyum Asetat (Carlo Erba)
9. Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma)
10. Tetrametoksipropan (TMP) (Sigma)
11. Tris (Hidroksimetil)-aminometan (Merck)
12. Etilendiamin tetraasetik asit disodyum tuzu ($EDTA-Na_2$)(Merck)
13. Dithio-2-nitrobenzoik asit (DTNB) (Sigma)
14. Metanol (Merck)
15. Glutasyon (Redükte)(Merck)

16. Toplam Antioksidan Kapasite kiti (Şanlıurfa, TÜRKİYE)
17. Toplam Oksidan Kapasite kiti (Şanlıurfa, TÜRKİYE)
18. Etanol (Grup Deltalar)
19. Hydrogen Peroxide (surechem products)
20. Superoxide dismutase manuel kiti (Ransel – RANDOX Antrim, İNGİLTERE)
21. Glutathione Peroxidase manuel kiti (Ransel – RANDOX Antrim, İNGİLTERE)

3.3. Kullanılan Yöntemler

Bu çalışmaya Eylül–Aralık 2008 tarihleri arasında, herhangi bir şikayeti veya kronik hastalığı olmayan, 18 - 56 yaş arasında sigara içen 32 kişilik (19 erkek ve 13 kadın) gönüllü “sigara içen” grubu ve sigara içmeyen 31 kişilik (17 erkek ve 14 kadın) sağlıklı gönüllü “kontrol grubu” olmak üzere toplam 63 kişi alınmıştır.

Önceden bilinen herhangi bir sistemik hastalığı olanlar (diabetes mellitus, hipertansiyon, böbrek hastalığı), ilaç kullananlar, herhangi bir malignansisi olanlar (Lenfoma, lösemi, Paget’s hastalığı, myelom gibi), gebelik, anemi, oral kaviteyi ilgilendiren herhangi bir şikayet veya hastalığı olanlar, çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sigara içen grubunda sabah açlık kanları ile eş zamanlı sigara içmeden önce tükürük numunesi (sigara öncesi tükürük numunesi) ve bir adet sigara içiminden bir saat sonra tekrar tükürük numunesi (sigara sonrası tükürük numunesi) alındı. Kontrol grubunda ise açlık kanı ve eş zamanlı tükürük numunesi (kontrol tükürük numunesi) alındı. Alınan venöz kan numunesi 3000g’de 5 dakika santrifüj edildi. Tükürük numunesi alımı için önceden steril edilmiş doğal pamuk 2 dakika ıslanıldı, ıslak pamuk steril enjektörle sıkıldı ve tükürük numunesi cam tüpe alındıktan sonra 3000g’de 5 dakika santrifüj edilerek üst fazları çalışma gününe kadar -80 °C’de saklandı.

Çalışma grubundan örnek alımı sırasında yaşı, cinsiyeti, sigara içip içmediği, içiyorsa kaç yıldır sigara içtiği, günde ne kadar sigara içtiği sorularak kaydedildi. Günlük içilen sigara miktarı (paket/gün) ile içilen toplam yıl sayısı çarpılarak; sigara içimi paket/yıl olarak hesaplandı ve kaydedildi.

Toplanan serum ve tükürük numunelerinden manuel olarak MDA, NO, t-SH çalışıldı. Serum ve tükürük numunelerinden TOS, TAK ve tükürük numunelerinden SOD, GSH-Px düzeyleri Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizöründe çalışıldı. TAK, TOS sonuçları kullanılarak OSİ hesaplandı ve tüm sonuçlar olgu rapor formuna kaydedildi.

MDA düzeylerinin ölçülmesi

Yağı'nin metodu modifiye edilerek çalışıldı (105).

Reaktifler:

- 1. % 8,1 w/ v, Lauryl Sülfat:** 0,81 g Lauryl Sülfat 10 mL distile suda çözüldü.
- 2. % 20 v/v, pH 3,5 Asetik Asit:** 18 mL Asetik asit, 2,3 g Sodyum Asetat pH ayarlanarak toplam hacim 100 mL olacak şekilde hazırlandı.
- 3. % 0,53 w/v, TBA:** 530 mgTBA 100 mL distile su içinde çözüldü.

Standartlar: 10 µmol / mL standart için 82 µL TMP, 40 mL distile su ve 40 damla konsantre HCl karıştırıldı, distile su ile total hacim 50 mL'ye tamamlandı. Bu standart çözeltiden; 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 1.5625 nmol/mL olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı.

Yapılışı:

	Analiz	RB
Numune, Standart	50 µL	-
Lauryl Sülfat	50 µL	50 µL
Asetik Asit	375 µL	375
TBA	375 µL	375
Distile su	150 µL	200 µL

- Vidalı kapaklı tüplere tablodaki görüldüğü gibi reaktif ve serum numuneleri kondu, tüpler karıştırılıp ağızları sıkıca kapatılarak 95°C'ye getirilmiş benmaride 1 saat bekletildi.
- Bulanıklık olmaması için soğuduktan sonra 5000 g' de 10 dakika santrifüj edildi.
- Üst fazlardan numune alınarak primer dalga boyu 532 nm, sekonder 700 nm olacak şekilde bikromatik ölçüm yapıldı.

Standartlar kullanılarak çizilen grafikten numune MDA konsantrasyonları nmol / mL cinsinden hesaplandı.

Tükürük numune volümleri 4 kat fazla konarak çalışıldı ve düzeltmeli sonuç hesaplandı.

NO düzeylerinin ölçümü

Miranda ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (106).

Reaktifler:

1. **80 mL Etanol**
2. **VCl₃**: 400 mg VCl₃ , 45,85 mL distile su içine eklenip, 4,15 mL konsantre HCl ile 50 mL'ye tamamlandı.
3. **% 0,1 NEDD**: 10 mg NEDD 10 mL distile suda çözüldü.
4. **% 2 Sulfanilamid % 5 HCl içinde hazırlandı**: 200 mg Sulfanilamid, 8,864 mL distile suya eklendi. 1,136 mL konsantre HCl ile 10 mL'ye tamamlandı.

Standartlar: 17 mg Sodyum Nitrat 100 mL distile suda çözülerek 2 mM konsantrasyonda hazırlanan çözeltiden; 200, 100, 50, 25, 12, 5, 6.25 µmol / L olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı.

Yapılışı:

	Analiz	Analiz körü
Numune, Standart	100 µL	100 µL
VCl₃	100 µL	100 µL
Sulfanilamid	50 µL	–
NEDD	50 µL	–
Distile su		100 µL

- Serum numuneleri 100 µL serum 300 µL Etanol ile ependorf tüp içinde deproteinize edildi. +4°C'de 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.

- Serumlar için süpernatandan ve distile su ile ¼ dilüsyon yapılmış tükürük numunelerinden tabloda görüldüğü gibi çalışıldı, 30 dakika 37°C'de inkübasyon sonrası 540 nm'de mikroplate okuyucuda absorban ölçümü yapıldı.

Numune körlerinin absorbanı analiz absorbanlarından çıkarıldı.

Standartlar kullanılarak çizilen grafikten numune NO konsantrasyonları $\mu\text{mol} / \text{L}$ cinsinden hesaplandı, sonuçlar dilüsyon faktörü (4) ile çarpıldı.

t-SH düzeylerinin ölçülmesi

Sedlak ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı (107).

Reaktifler:

1. 0,2 M, pH 8,2 Tris Tampon: 605,5 mg Tris, 186,1 mg EDTA 15 mL distile suda çözülüp pH ayarlandı ve volüm distile su ile 25 mL'ye tamamlandı.

2. DTNB, 0,01 M: 3,9635 mg / mL olacak şekilde metanol ile çözüldü. Bu çözeltiden 1 mL hazırlandı.

3. Sodyum Dodesil Sülfat, % 0,5: 500 mg Sodyum Dodesil Sülfat toplam hacim 100 mL olacak şekilde distile suda çözüldü.

***Renk Reaktifi:** 1 birim DTNB+ 79 birim Sodyum Dodesil Sülfat karışımından oluşur. 0,625 mL DTNB + 49,375 mL Sodyum Dodesil Sülfat karıştırıldı.

Standartlar: Glutasyon ile standart solusyon hazırlandı. 30,73 mg GSH 10 mL distile suda çözülerek 10 mMol / L konsantrasyonda hazırlanan çözeltiden; 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0,3125 mMol / L olacak şekilde standart seri oluşturuldu.

Yapılışı:

	Analiz	Analiz körü	Reaktif körü
Numune, Standart	15 μL	15 μL	–
Tris Tampon	45 μL	45 μL	60 μL
* Renk Reaktifi	240 μL	–	240 μL
Dodesil Sülfat	–	240 μL	–

-Tabloda görüldüğü üzere mikroplate'de çalışıldı ve 30 dakika oda ısısında shaker'da inkübe edildi. 412 nm dalga boyunda ikinci dalga boyu 630 nm olmak üzere mikroplate okuyucuda absorbans ölçümü yapıldı. Standartlar kullanılarak çizilen grafikten numune t-SH konsantrasyonları mMol / L cinsinden hesaplandı.

TOS ölçülmesi

Erel'in metoduna göre çalışıldı (108). Total oksidan stres ticari kiti (Şanlıurfa, TÜRKİYE) Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizörü'ne uyarlanarak çalışıldı. H₂O₂'den standart seri hazırlandı ve sonuçlar µmol/H₂O₂ Equiv/L olarak hesaplandı.

TAK ölçülmesi

Erel'in metoduna göre çalışıldı (109). Total antioksidan kapasite ticari kiti (Şanlıurfa, TÜRKİYE) Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizörü'ne uyarlanarak çalışıldı. GSH'dan standart seri hazırlandı ve sonuçlar mmol/ GSH Equiv/L olarak hesaplandı

OSİ hesaplanması

Numunelerin total oksidatif stres değerleri yüzde cinsinden total antioksidan kapasite değerlerine oranlandı ve OSİ değerleri elde edildi. Oksidatif stres indeksi hesaplanırken TAK konsantrasyonları µmol glutasyon Equiv./L'ye dönüştürülerek; $OSI = (TOS = \mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv/L}) / (\text{TAK} = \text{mMol}/\text{GSH Equiv/L} \times 1000) \times 100$ formülü ile hesaplandı (100).

SOD düzeyinin ölçülmesi

Superoxide dismutase düzeyi RANSOD ticari kiti (RANDOX, Antrim, İNGİLTERE) Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizörüne uyarlanarak ölçüldü.

GSH-Px düzeyinin ölçülmesi

Glutathione Peroxidase düzeyi RANSEL ticari kiti (RANDOX, Antrim, İNGİLTERE) Roche/Hitachi modular P800 biyokimya otoanalizörüne uyarlanarak ölçüldü.

SOD ve GSH-Px sonuçları U/mg protein cinsinden hesaplandı.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS for Windows 13.0 programı kullanılarak; kontrol ve sigara içen grubu karşılaştırılmasında student t, sigara içen grubunda 1. ve

2. tükürük örneklerinin karşılaştırılmasında paired t, gruplarda parametreler arası ilişkinin incelenmesinde pearson korelasyon analizi kullanıldı ve p değerinin < 0.05 olması anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma grubuna sigara içen grubu olarak; yaş ortalamaları 30.5 (± 7.4) olan 32 kişi (E:19, K:13) ve kontrol grubu olarak; yaş ortalamaları 31.7 (± 10.5) olan 31 sağlıklı gönüllü (E:17, K:14) olmak üzere toplam 63 kişi kabul edildi. Hasta ve sağlıklı grup arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 6)

Tablo 6. Çalışma grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları

	yaş ort (SD)	cins		toplam n
		E	K	
sigara içen	30.5 (7.4)	19 (%59)	13 (%41)	32 (%100)
kontrol	31.7 (10.5)	17 (%55)	14 (%45)	31 (%100)

Sigara içen grubun sigara kullanım süresi 10,6 ($\pm 6,9$) yıl, ortalama içilen sigara miktarı 16,1 ($\pm 8,0$) adet/gün ve 9,4 ($\pm 8,0$) paket/yıl olarak bulunmuştur. Sigara kullanım süresi ile sigara içenlerin serum OSİ ve sigara öncesi tükürük TAK düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.

Sigara içen ve kontrol grubunun serum numunelerinin TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH ortalama değerleri ve standart deviasyonları tablo 7’de gösterilmiştir (Bazı numuneler yetersiz olduğu için n sayıları değişmektedir).

Sigara içenlerin serum TOS, OSİ, MDA ve NO düzeyleri kontrol grubundan anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sigara içenlerin serum t-SH düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düşük bulundu ($p<0,05$).

Tablo 7. Sigara içen ve kontrol grubunun serum TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH ortalama değerleri ve standart deviasyonları

SERUM		TAK (mmol/L GSH)	TOS (μ mol/L H ₂ O ₂)	OSİ (H ₂ O ₂ /GSH (%))	MDA (nmol/ mL)	NO (μ mol/ L)	t-SH (mmol/ L)
sigara içen	ort (sd)	0,466 (0,08)	6,795 * (3,63)	1,489 * (0,85)	8,32 * (5,27)	44,27 * (12,23)	0,551 * (0,08)
	n	27	27	27	27	27	32
kontrol	Mean (sd)	0,500 (0,08)	4,81 (1,10)	0,966 (0,18)	4,95 (2,48)	33,64 (12,28)	0,608 (0,06)
	n	27	27	27	26	26	31

* : kontrol grubundan anlamlı farklı p<0,05

Sigara içen grubun; sigara öncesi - sonrası ve kontrol grubunun tükürük numunelerinin TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH, SOD, GSH-Px ortalama değerleri ve standart deviasyonları tablo 8’de gösterilmiştir (Bazı numuneler yetersiz olduğu için n sayıları değişmektedir).

Sigara içen grubun, sigaradan önceki ve sigaradan sonraki tükürük MDA düzeyleri kontrol grubundan anlamlı yüksek bulundu (p<0,05). Sigara içen grupta sigaradan sonraki tükürük MDA düzeyleri, sigara öncesi tükürük değerlerinden biraz yüksekti ancak aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sigara içen grubun, sigaradan sonraki tükürük NO düzeyleri, sigaradan önceki tükürük NO ve kontrol tükürük NO düzeylerinden anlamlı yüksek bulundu (p<0,05). Sigaradan önceki tükürük NO düzeyleri, kontrol grubundan biraz yüksekti ancak aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,139).

Sigara içen grubun sigaradan sonraki tükürük t-SH düzeyleri kontrol tükürük t-SH düzeylerinden anlamlı düşük bulunmuştur (p<0,05).

Sigara içen grubun sigaradan önceki ve sonraki tükürük GSH-Px düzeyleri kontrol tükürük GSH-Px düzeylerinden anlamlı düşük bulunmuştur (p<0,05).

Sigara içen ve kontrol grubunun tükürük SOD düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 8. Sigara içen ve kontrol grubunun tükürük TAK, TOS, OSİ, MDA, NO, t-SH, SOD, GSH-Px ortalama değerleri ve standart deviasyonları

TÜKÜRÜK	sigara içen				kontrol	
	sigara öncesi		sigara sonrası			
	Ort (sd)	n	Mean (sd)	n	Mean (sd)	n
TAK (mmol/LGSH)	0,223 (0,096)	27	0,231 (0,105)	27	0,234 (0,095)	26
TOS (mmol/LH ₂ O ₂)	3,056 (1,070)	27	2,689 (1,068)	27	2,768 (1,839)	26
OSi (%)(H ₂ O ₂ /GSH)	1,578 (0,857)	27	1,389 (0,785)	27	1,193 (0,650)	26
MDA (nmol/mL)	1,360 ^a (2,01)	27	1,729 ^a (1,226)	26	0,353 (0,337)	26
NO (mmol/L)	278 (159)	27	407 ^{a,b} (225)	27	210 (170)	26
t-SH (mmol/L)	0,031 (0,010)	32	0,028 ^a (0,011)	32	0,035 (0,016)	31
SOD (U/mg protein)	1,834 (0,91)	32	1,538 (1,10)	32	1,912 (0,87)	23
GSH-Px (U/mg protein)	0,0165 ^a (0,024)	32	0,0113 ^a (0,011)	29	0,0312 (0,028)	23

a: kontrol grubundan anlamlı farklı p<0,05

b: sigara öncesi değerinden anlamlı farklı p<0,0

Sigara içen grubun, sigaradan sonraki tükürük OSİ düzeyleri kontrol tükürük OSİ düzeylerinden biraz yüksek bulundu ancak aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,072).

Çalışma grubunda, sigara içenlerin serum TAK ile sigara öncesi ve sonrası tükürük TAK düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca serum NO ile sigara sonrası tükürük NO düzeyleri arasında ve serum OSİ ile sigara öncesi ve sonrası MDA düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar bize bu çalışmada sigara içiminin genel anlamda oksidatif stresi artırdığını ancak bu artışın tüm parametreler tarafından gösterilemediğini, başka bir deyişle bazı parametrelerin değişmediğini göstermektedir.

5.TARTIŞMA

Sigara kullanımının serbest radikal artışına bağı oksidatif stres oluşumunda önemli bir faktör olduğu ve birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığı ileri sürülmektedir (9). Sigara dumanında bulunan oksidan maddeler oksijen radikallerinin kaynağıdır ve sigaraya bağı hastalıkların oluşmasında önemli rol oynarlar. Sigara dumanı organizmanın oksidan-antioksidan dengesini oksidanlar lehine bozar. (24,37)

Daha önce yapılmış birçok çalışmada sigara içiminin serum ve plazma MDA düzeylerini anlamlı şekilde artırdığı bildirilmiştir (3,5,27,29,54,56,88,89,110,111).

Serdar ve ark. 103 sigara içen 74 sigara içmeyen koroner arter hastalarında yaptıkları çalışmada sigara içen hastalarda sigara içmeyenlere göre serum MDA düzeylerini anlamlı yüksek bulmuşlardır (54).

Bazı araştırmacılar yoğun sigara içen grupta bu artışın daha da fazla olduğunu bildirmişlerdir. Örnek olarak; Solak ve ark. plazma MDA düzeylerinin sigara içenlerde daha yüksek olduğunu ve bu yüksekliğin daha yoğun sigara içen gruplarda daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada eritrosit GSH-Px aktivitesini sigara içen gruplarda anlamlı düşük bulmuşlardır (89). Biz aynı sonuçlara tükürük GSH-Px değerlerinde ulaştık.

Birkaç çalışmada serum plazma MDA düzeylerine ek olarak; eritrosit MDA düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir. Gültekin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada eritrosit GSH-Px'in sigara içenlerde anlamlı düşük, eritrosit SOD farksız ve MDA ise sigara içenlerde gerek serumda gerekse eritrositte anlamlı yüksek bulunmuştur (29).

Şekeroğlu ve ark. yaptıkları bir çalışmada sigara içenlerde serum ve eritrosit MDA düzeylerini kontrol grubuna oranla oldukça yüksek bulmuşlardır. Eritrosit SOD aktivitesi sigara içenlerde önemli oranda düşük bulunurken, eritrosit GSH-Px aktivitesinde anlamlı fark bulamadıklarını rapor etmişlerdir (9).

Biz de çalışmamızda daha önceki verilerle uyumlu olarak sigara içenlerin serum MDA düzeylerini kontrol grubundan anlamlı yüksek bulduk.

Guentsch ve ark. sigara içenler ile içmeyenlerin tükürüklerinde MDA, GSH-Px ve TAK düzeylerinde anlamlı fark bulmamışlardır. Ancak aynı çalışmada hastada periodondit varlığında aynı parametrelerde anlamlı farklar bulunmuştur (112).

Bizim çalışmamızda; sigara içen grubun, sigaradan önceki ve sigaradan sonraki tükürük MDA düzeyleri kontrol grubundan anlamlı yüksek bulundu. Sigara içen grupta sigaradan sonraki tükürük MDA düzeyleri, sigara öncesi tükürük değerlerinden biraz yüksek ancak aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu bulgu lipid peroksidasyonunun kronik etkiyle geliştiğini düşündürmektedir.

Birkaç değişik sonuç olsa da daha önce yapılan çalışmalar ve bizim çalışmamızdaki bulgularla; sigara içimine bağlı olarak sigara dumanındaki ve PMNL'deki serbest radikallerin salınmasıyla, radikallerin ilk hedefi olan membran lipidlerinde lipid peroksidasyonu ortaya çıkarak, bunun göstergesi olan MDA düzeylerinin arttığı düşünülebilir.

Farklı çalışmalarda serum ve tükürük TAK, TOS, OSİ düzeyleri konusunda sonuçlar değişkendir. Sonuçlar genellikle sigara içenlerde TAK'ın azaldığı (100,113) ya da değişmediği (10,56,112) yönündedir. TOS ve OSİ'nin de arttığı görülmektedir (100,113).

Charlabopoulos ve ark. genç erkeklerde yaptıkları çalışmada plazma TAK'ın sigara içenlerde içmeyenlerden anlamlı daha yüksek ve sigara içen grupta sigara öncesi - sonrası arasında fark olmadığını bulmuştur. Yine aynı çalışmada sigara içen ve kontrol grubu arasında tükürük TAK arasında fark bulunmamıştır (114).

Ayçiçek ve ark. anneleri aktif ya da pasif sigara dumanına maruz kalan bebeklerin kord kanında yaptıkları çalışmada total-SH düzeylerini hem aktif hem pasif içicilikte kontrol grubundan daha düşük bulmuşlardır. TAK değerlerini aktif içici annelerin bebeklerinde pasif içici ve kontrol grubundan daha düşük, TOS ve OSİ değerlerini ise daha yüksek bulmuşlardır (113).

Ayçiçek ve ark. pasif sigara dumanına maruziyeti olan bebekler ve annelerinde yaptıkları bir başka çalışmada ise serum OSİ ve MDA değerlerini hem anneler de hem bebeklerinde pasif içici grupta daha yüksek, TAK'ı daha düşük bulmuşlardır (100).

Biz çalışmamızda sigara içenlerin serum TOS ve OSİ düzeylerini kontrol grubundan anlamlı yüksek bulduk. Sigara içenlerin serum TAK düzeyleri kontrol grubundan biraz düşük bulundu ancak aralarında anlamlı bir fark yoktu ($p=0,134$). Sigara içen grubun, sigaradan sonraki tükürük OSİ düzeyleri kontrol tükürük OSİ

düzeylerinden biraz yüksek bulundu ancak fark anlamlı değildi ($p=0,072$). Sigara içen - kontrol tükürüklerinde TAK, TOS farksız bulundu.

Bu çalışmada oksidatif stresin göstergesi olan OSİ değerleri genel anlamda sigara içenlerde daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durum sigara içenlerin oksidan yükünün arttığını göstermektedir. TAK düzeyi ise o numunedeki antioksidan etkinliğin tamamı hakkında fikir vermektedir. Bizim çalışmamızda, TAK'ın değişmemiş olmasının nedeni organizmanın oluşan bu oksidatif stresi sınırlı da olsa dengelemeye çalıştığını düşündürebilir. Çünkü bizim çalışma grubumuz nisbeten genç popülasyon ve ılımlı sigara içici grubudur. Bu veriler sigara içiminin ilk aşamalarda daha kolay kompanse edilebildiğini düşündürmektedir. Yine bizim çalışmamızda sigara kullanım süresi ile serum OSİ düzeyleri arasında bulmuş olduğumuz pozitif korelasyon bu görüşümüzü destekleyebilir. Ayçiçek ve ark., bebeklerde yaptıkları çalışmada buldukları düşük TAK düzeyleri, bebeklerin antioksidan potansiyellerinin daha zayıf olduğunu ve oksidatif stresi kompanse edemediklerini gösterebilir.

NO'nun istirahatte ve otonom sinir sitümlasyonu sonrası tükürük bezlerinde vasküler tonusu kontrol ettiği bilinmektedir. NO'nun tükürüğe salındığı ve tükürüğün antibakteriyel etkisinde ve oral karsinogenlerin detoksifikasyonunda fizyolojik rol oynayabileceğine ilişkin deliller bulunmaktadır (104).

Daha önce yapılmış çalışmalarda sigara içenlerin serum ve solunum havasında NO düzeylerinin arttığına dair sonuçlar vardır. Balint ve ark. solunum havasında yaptığı çalışmada sigara içenlerin solunum havası NO düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı düşük ve nitrit+nitrat düzeyi ise anlamlı yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada sigara öncesi değerlerine göre, iki adet sigara içimini takiben 30. dk. solunum havası nitrit+nitrat değeri anlamlı yüksek ve fakat 90. dk da sigara öncesi değerlere benzediğini göstermektedir (75). Bahsedilen çalışmanın nitrit+nitrat sonuçları bizim çalışmamızla paraleldir.

Jennifer ve ark. yaptığı çalışmada serum MDA ve glutatyon konsantrasyonunu sigara içenlerde yüksek ancak istatistiksel olarak anlamsız bulmuşlar; serum NO konsantrasyonunu ise sigara içenlerde istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulmuşlardır (36).

Bu çalışmada sigara içenlerin serum NO düzeyleri kontrol grubundan anlamlı yüksek bulundu. Sigara içen grubun, sigaradan sonraki tükürük NO düzeyleri, sigaradan önceki tükürük NO ve kontrol tükürük NO düzeylerinden anlamlı yüksek bulundu. Sigaradan önceki tükürük NO düzeyleri, kontrol grubundan biraz yüksek ancak aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,139$). Bu sonuçlar bize tükürük NO'un solunum havası NO düzeyi gibi oksidan maddeye karşı kısa süreli salınıp etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu da bize NO'nun oksidatif strese karşı da kompensatuvar olarak etkili bir biçimde hızla salındığını ancak kısa yarılanma ömrü nedeniyle ortamdaki hızla kaybolduğunu düşündürmektedir.

Daha önce yapılmış çalışmalarda serum, tükürük ve eritrosit t-SH düzeyleri konusunda birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir; sigara içen grupta kontrole göre anlamlı düşük (113), yüksek (10) ya da değişmemiş bulunmuştur (5,56,115).

Bloomer her iki grubun benzer diyet alımı ile sigara içen ve kontrol grubunda yaptığı çalışmada TAK ve total glutatyon değerlerini değişmemiş olarak bulmuştur (56). MDA ve TAK sonuçları bizim çalışmamızla paralellik gösterirken, biz t-SH değerlerini sigara içen grupta düşük bulduk.

Demir ve ark. sigara içenlerin serum MDA düzeylerini sigara içmeyenlerden anlamlı şekilde yüksek bulurken t-SH'yı ise değişmemiş olarak bulmuşlardır. t-SH'nin değişmemesinin kompensatuvar mekanizmalarla olabileceğini ya da oksidatif stres belirteci olarak t-SH'nin sorgulanması gerektiğini belirtmişlerdir (5). Bu sonuçlardan MDA bizim çalışmamızla uyumluysen, biz sigara içenlerin serumlarında t-SH'yı düşük bulduk.

Daha önceki birçok çalışmada sigara içenlerde serum ve eritrosit Glutatyon düzeylerini bizim çalışmamızla paralel bulmuşlardır (33,35). Bizim çalışmamızda sigara içenlerin serum t-SH düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düşük bulundu. Sigara içen grubun sigaradan sonraki tükürük t-SH düzeyleri kontrol tükürük t-SH düzeylerinden anlamlı düşük bulunmuştur.

Dinçer ve ark. yaptıkları çalışmada eritrosit glutatyon düzeyini sigara içenlerde anlamlı düşük ve DNA zincir kırıklarını da anlamlı yüksek bulmuşlardır (38).

Glutatyon serbest radikal inaktivasyonunda son derece önemlidir ve bizim sonuçlarımıza göre t-SH, sigara içenlerde artmış oksidan yüke karşı kullanılarak

azalmaktadır. Bu azalma Dinçer'in çalışmasındaki gibi DNA zincir kırıkları ile bağlantılı olarak sigara içenlerdeki mutasyonlarla ilişkili olabilir.

Daha önce yapılmış çalışmalarda serum, tükürük ve eritrosit SOD ve GSH-Px düzeyleri sigara içenlerin numunelerinde kontrol ile karşılaştırıldıklarında SOD azalmış (9,33) ya da değişmemiş (3,29) ve yine GSH-Px azalmış (29,89) ya da değişmemiş bulunmuştur (9,112).

Yardımcı ve ark., ratlara 2 saat/gün sigara dumanı solutarak yaptıkları çalışmada serum MDA, eritrosit SOD ve katalaz değerlerinde başlangıçta fark yokken 60. günde sigara dumanı soluyan ratların MDA'sının arttığı, SOD ve katalaz değerlerinin ise anlamlı derecede azaldığını göstermişlerdir (116).

Kanehira ve ark. 30 yıldan fazla sigara içen grupta yaptığı çalışmada sigara içenlerde tükürük SOD düzeylerini anlamlı yüksek ve GSH-Px düzeylerini ise anlamlı düşük bulmuştur (117). Bu sonuç bizim çalışmamızdaki tükürük SOD düzeyleri ile uyumsuzdur. Bunun nedeninin Kanehira'nın çalışmasındaki sigara içen grubu bizim çalışmamızdakine göre çok daha uzun yıllar ve ağır sigara içici grubu olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Duthie ve ark. sigara içenlerde yaptığı çalışmada eritrosit GSH-Px düzeyini anlamlı düşük bulmuş ancak eritrosit SOD, total glutatyon düzeylerinde anlamlı fark bulmamıştır (115).

Özby ve ark. sigara içenlerde serum MDA düzeylerini yüksek, tam kan SOD düzeylerini düşük ve GSH-Px düzeylerini kontrol grubu ile farksız bulmuştur (118).

Bizim çalışmamızda sigara içen grubun sigaradan önceki ve sonraki tükürük GSH-Px düzeyleri kontrol tükürük GSH-Px düzeylerinden anlamlı düşük bulunmuştur. Sigara içen ve kontrol grubunun tükürük SOD düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Bizim çalışmamızda t-SH düzeyleri ile uyumlu olarak tükürük GSH-Px düzeyleri de düşük bulunmuştur. Bu birliktelik bize sigaraya bağlı oksidatif strese glutatyonun önemini ve metabolizmasının ne kadar etkilendiğini açıkça ortaya koymaktadır. GSH-Px özellikle hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerine etki eder. Bu antioksidatif reaksiyonlarda indirgeyici olarak glutatyon kullanılır. Sigara içenlerde oksidatif moleküllerin artışına bağlı olarak bu reaksiyonun hızı artar

ve aşırı kullanılmaya bağılı olarak glutatyonun azaldığını düşünebiliriz. Ortamdaki serbest radikal artışına ek olarak glutatyon düzeyindeki azalmanın da GSH-Px'in aktivitesinde azalmaya neden olduğunu düşünebiliriz.

SOD ise süperoksidi H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürür, ayrıca granülositlerin fagositik fonksiyonu için önemlidir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımını olan dokularda ve PMNL'de çok miktarda bulunur. Bu nedenle sigara içenlerde oksidatif strese karşı kompanse edilir ve tükürükte düzeyi değişmeden işlevine devam ettiği düşünülebilir. SOD düzeylerinin ancak uzun yıllar ve ağır içicilerde etkileneceği düşünülebilir. GSH-Px ise glutatyon metabolizması ile primer olarak ilişkilidir ve özellikle oksidatif strese son derece duyarlı olan eritrositlerin antioksidan metabolizmasında yer alır.

Tükürük sigara dumanını ilk karşılayan sıvıdır. Tükürüğün antioksidan sistemi tükürüğün antikanserojenik, antibakteriyel etkisinde çok önemli rol oynar (102-104). Bizim çalışmamızdaki sonuçlar sigara içenlerde tükürüğün oksidan/antioksidan dengesinin oksidan lehine bozulduğunu göstermektedir. Dengedeki bu bozulma sigara içenlerin hem ağız hijyeninin bozulmasına hem de oral kanserlerin gelişimine katkıda bulunabilir.

Çalışma grubumuzda MDA, NO, t-SH değerlerinde hem serumda hem tükürükte sigara içenler ile kontrol arasında anlamlı farklar bulduk. Bu bize sigara içenlerin oksidan /antioksidan dengelerini göstermede tükürük numunelerinin de kullanışlı olabileceğini gösterebilir. Sigara içenlerin serum – tükürük TAK, serum tükürük NO düzeyleri arasında ve serum OSİ ile sigara öncesi ve sonrası MDA düzeyleri arasında bulmuş olduğumuz pozitif korelasyon bu düşüncemizi desteklemektedir. Bununla birlikte rutin olarak az sayıda parametrenin düzeyinin ölçümünde kullanılan tükürük numunelerinin gelecekte çok daha yaygın olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Sigara içenler ile kontrol grubu arasındaki bu çalışmalarda farklı sonuçların bildirilmesi oksidan/antioksidan dengenin çevresel, beslenme, spor, yaşam tarzı ve metabolizma gibi kişiye bağılı birçok faktörden etkilendiğini göstermektedir.

Tüm bu sonuçlar bize oksidan/antioksidan dengenin organizmada sistemler dengesi olarak fonksiyon gördüğünü, organizmanın bu sistemi dengede tutmak için metabolizmasını çok sıkı bir şekilde kontrol edip, lüzumu halinde değiştirebildiğini

düşündürmektedir. Bu nedenle oksidan/antioksidan dengeyi araştırırken tek tek moleküller üzerinden değerlendirme yapmak yerine sistemin tamamı değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak sigara içenlerde sigara dumanının içerdiği yüksek miktardaki eksojen serbest radikallere ek olarak organizma tarafından ortama salınan endojen radikallerin de etkisiyle oksidatif stresin arttığını söyleyebiliriz. Sigara içenlerin diyetlerine eklenecek doğal antioksidanların, onların antioksidan potansiyellerini artırarak oksidatif stresin etkilerini azaltabileceği kanısındayız.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sigara ölümle sonlanmayan yaklaşık elli kadar kronik ve yirmiye yakın da ölümcül hastalıkla ilişkilidir. Sigaranın akciğer kanseri, KOAH, periferik ateroskleroz, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların nedeni olduğu bilinmektedir. Sigara içimi tüm kronik akciğer hastalıklarının %80'inden, kalp hastalığı ve kansere bağlı ölümlerin de üçte birinden sorumlu bulunmuştur.

Sigara, ülkemiz gibi az gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık ve sosyal problemlerinden birisidir. Gerek kişilerin sağlığı gerekse ülkelerin ekonomik kayıpları nedeniyle sigarayla ilgili sorunlar hakkında yeni çalışmalar yapılmaktadır ancak bu çalışmaların sonuçlarının sigara içenler üzerinde daha fazla etkili olabilmesi hususunda çalışmalar yapılmalıdır. Bu tür çalışmalarla sigara içenlerin hem kendilerini hem de çevrelerindeki sigara içmeyen insanları sigaranın yıkıcı etkilerinden korumalıyız.

Sigara içenler ile kontrol grubu arasındaki çalışmalarda birbirine zıt sonuçların bildirilmesi oksidan/antioksidan dengenin birçok faktörden etkilendiğini düşündürmektedir. Bu nedenle daha sonra yapılacak çalışmalarda bu etkenlerde daha fazla standardizasyon sağlanmaya çalışılmalıdır.

Ulaştığımız sonuçlar bize oksidan/antioksidan dengenin organizmada sistemler arasındaki ilişkiyi gösterdiğini, organizmanın bu dengesini korumak için metabolizmayı çok sıkı bir şekilde kontrol edip gerekli durumlarda değiştirebildiğini düşündürmektedir. Bu nedenle oksidan stres araştırmalarında tek tek parametreler yerine sistemi bir bütün olarak değerlendirmek daha sağlıklı sonuçlar verecektir.

Birçok çalışma fizyolojik durum ve hastalık patogenezinde oksidan/antioksidan dengenin rolünü göstermektedir. Sigara kullanımının etkili olduğu düşünülen hastalıkların patogenezinde sigaranın etkisinin oksidan/antioksidan denge açısından daha detaylı olarak çalışılması yeni yaklaşımlar ve tedavi modelleri açısından yararlı olacaktır.

Tükürüğün örnekleme ve saklama kolaylığı, pıhtılaşmaması ve hasta konforu, klinik olarak serumdan daha avantajlı olarak görülmektedir. Tükürük tüm metabolik olayların iyi bir göstergesidir. Bu nedenle, tedavi takiplerinde, hormonal ve immünolojik değişimlerde yararlanılabilecek kullanışlı bir materyaldir. Tükürük

örnekleri gelecekte genel sağlığın ve hastalıkların erken teşhisinde daha çok kullanılabilir. Bu nedenle tükürük üzerine yeni çalışmalar yapılmalıdır.

7.KAYNAKLAR

1. Rahman I, MacNee W. Oxidant/antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1996 Apr;51(4):348-50.
2. Ünlü M, Tahan V, Akkaya A, Demirci M, Şahin Ü. Erişkin sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu. *T. Klin J Med Sci*. 1998, 18:105-8
3. Çimen F, Ulubaş B, Eryılmaz T, Bilgin G. Sigara içenlerde lipid peroksidasyonu, antioksidan aktivite ve solunum fonksiyon testleri. *T. Klin Tıp Bilimleri*. 2002,22:292-6
4. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect*. 1985 Dec;64:111-26.
5. Demir S, Özkurt S ve ark. Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu *Solunum*.2001;3:57-9
6. Van der Vaart H, Postma DS, Timens W, ten Hacken NH. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax*. 2004 Aug;59(8):713-21. Review.
7. Thomas CE, Morehouse LA, Aust DS. Ferritin and superoxide dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1985; 260(6): 3275-80.
8. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J*. 1991 Jul 1;277 (Pt 1):133-8.
9. Şekeroğlu MR, Aslan R ve ark. Sigara kullananlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *Tüberküloz ve toraks*. 1997, 45:2;105-9
10. Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol*. 1999 Jun;44(6):485-8.
11. İlhan Kal B, Tuğsel S, Özgönül AM. Tükürüğün sistemik hastalıklardaki tanısal önemi. *T. Klin J Med Sci*. 2008,28:66-73
12. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res*. 2000 Dec;14:40-7. Review.
13. Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc*. 2002 Mar;68(3):170-4. Review.

14. Yılmaz G, Yurdakök K. Sigara dumanına maruziyetin bebeklerin sağlığına ve serum antioksidan düzeylerine etkisi. T Klin Pediatri 2003;12:260-66
15. Öztuna F. Sigara bırakma polikliniklerinde tedavi ve izlem. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005;25:546-50
16. Özol D, Koçak OM. Sigara alışkanlığı, iskemik kalp hastalıkları ve tedavi yaklaşımları. Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci 2006;18:57-61
17. Karlıkaya C ve ark. Tütün kontrolü. Toraks Dergisi 2006;7:1;51-64
18. Kılıç N, Ek NH. Adnan Menderes Üniv. Sağ. YO ve Sağ. Hizm. MYO öğrencilerinin sigaraya yönelik tutum ve davranışları. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2006;15(2),85-90
19. Plymoth A, Löfdahl CG, Ekberg-Jansson A, Dahlbäck M, Broberg P, Foster M, Fehniger TE, Marko-Varga G. Protein expression patterns associated with progression of chronic obstructive pulmonary disease in bronchoalveolar lavage of smokers. Clin Chem. 2007 Apr;53(4):636-44.
20. Özyurt MS ve ark. Sigara kullanımının kandaki total kolesterol, trigliserid ve protein seviyelerine etkileri. Dumlupınar Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi2004;7:45-59
21. İnternet erişimi:<http://www.sonsigaram.org/rakam.htm> Dr.güngör Yıldırım. erişim tarihi 27/05/2009
22. Bilgiç H. Sigara ve kanser. http://gata.edu.tr/dahilibilimler/onkoloji/sigara_kanser.htm. Erişim tarihi:14.01.2009
23. Behr J, Nowak D. Tobacco smoke and respiratory disease. Chapter 12, Eur Respin Mon. 2002,21,161-79
24. Ergün A Sigara ve sistemik etkileri T. Klin J Med Sci. 1998;18:159-63
25. Euler DE, Davé SJ, Guo H. Effect of cigarette smoking on pentane excretion in alveolar breath. Clin Chem. 1996 Feb;42(2):303-8.
26. Pryor WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. Environ Health Perspect. 1997 Jun;105 Suppl 4:875-82. Review.
27. Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen HE. Plasma malondialdehyde is induced by smoking: a study with balanced antioxidant profiles. Br J Nutr. 2004 Aug;92(2):203-6.

28. Lagente V, Planquois JM, Leclerc O, Schmidlin F, Bertrand CP. Oxidative stress is an important component of airway inflammation in mice exposed to cigarette smoke or lipopolysaccharide. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008 May;35(5-6):601-5.
29. Fatih Gültekin, Ayşe Gökdoğan, Fehmi Özgüner, Mehmet Akdoğan, Recep Sütçü, Namık Delibaş. Changes in the antioxidant defense system of the smokers. *Tüberk Toraks*. 2001; 49(2): 259-64
30. Sezer M ve ark. Effects of N-acetylcysteine on the lung histopathology and oxidant-antioxidant status in rabbits exposed to cigarette smoke. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2006;54 (2):144-51
31. Vardavas CI, Linardakis MK, Hatzis CM, Malliaraki N, Saris WH, Kafatos AG. Smoking status in relation to serum folate and dietary vitamin intake. *Tob Induc Dis*. 2008 Sep 9;4(1):8.
32. Euler DE, Davé SJ, Guo H. Effect of cigarette smoking on pentane excretion in alveolar breath. *Clin Chem*. 1996 Feb;42(2):303-8.
33. Garg N, Singh R, Dixit J, Jain A, Tewari V. Levels of lipid peroxides and antioxidants in smokers and nonsmokers. *J Periodontal Res*. 2006 Oct;41(5):405-10.
34. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1995;35:21-29.
35. Elif Altuntaş ve ark. KOAH'lı hastalarda oksidan-antioksidan düzeyleri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2003;51(4): 373-79
36. Chávez J, Cano C, Souki A, Bermúdez V, Medina M, Ciszek A, Amell A, Vargas ME. Effect of cigarette smoking on the oxidant/antioxidant balance in healthy subjects. R, Valasco M. *Am J Ther*. 2007 Mar-Apr;14(2):189-93.
37. Yamaguchi Y, Nasu F, Harada A, Kunitomo M. Oxidants in the gas phase of cigarette smoke pass through the lung alveolar wall and raise systemic oxidative stress. *J Pharmacol Sci*. 2007 Mar;103(3):275-82.
38. Dinçer Y ve ark. Sigaranın DNA hasarı ve kan glutatyon düzeyi üzerine etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003;23:108-111
39. Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. *HÜTFYayınları*., 1986,3: 1137-49

40. Nandi M, Jick H, Slone D, Shapiro S, Lewis G. Cadmium content of cigarettes. *Lancet*. 1969; 2: 1329-1330.
41. Ergün A Sigara ve Sistemik etkileri. *T Klin J Med Sci.*;1998;18:3:159-63
42. Sütçü R. Ve ark. Subkronik nikotin uygulamasının, ratlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak.Derg.*2006;13(3),17-20
43. Yıldız L, Kılıç H. Siaranın klinik ve biyokimyasal etkileri. *T Klin Tıp Bilimleri*. 2000;20:306-12
44. Maritz GS. Nicotine and lung development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008 Mar;84(1):45-53. Review.
45. Shakumary AL, Vijagummal PL. Effect of nicotine on lipoprotein metabolismin rats. *Lipids*, 1997;32: 311-15.
46. Guan ZZ, Yu WF, Nordberg A. Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells. *Neurochem Int*. 2003 Aug;43(3):243-9
47. Newman MB, Arendash GW, Shytle RD, Bickford PC, Tighe T, Sanberg PR. Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS. *Life Sci*. 2002 Nov 1;71(24):2807-20. Review.
48. Rezvani AH, Levin HD. Cognitive effects of nicotine. *Biol Psychiatry*. 2001;49:258-67
49. Crowley-Weber CL, Dvorakova K, Crowley C, Bernstein H, Bernstein C, Garewal H, Payne CM Nicotine increases oxidative stress, activates NF-kappaB and GRP78, induces apoptosis and sensitizes cells to genotoxic/xenobiotic stresses by a multiple stressinducer, deoxycholate: relevance to colon carcinogenesis. *Chem Biol Interact*. 2003;145:53-66.
50. Guan ZZ, Yu WF, Nordberg A. Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells. *Neurochem. Int*. 2003; 43:243-49
51. Uzun K. Oxidative stres in smokers and COPD. *T. Klin J Med Sci*. 1999;19:123-29
52. Öztuna F, Sigaranın Hücresel etkileri. *Akciger Arsivi*: 2004; 2: 111-116
53. Andrew L. Ries. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı tanım ve epidemiyoloji. *Göhüs hastalıkları klinik problemler el kitabı Çeviri editörü: Doç.Dr.B. Pınar Yıldız*. 6.baskı. Lippincott Williams&Wilkins 2008:s 287-93

54. SERDAR Z., ve ark. Koroner arter hastalarında Sigaranın Lipid peroksidasyonu ve antioksidanlar üzerine olan etkilerinin araştırılması. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19(5):266-74.
55. Demircan G, Dıraman E, Demircan S. Kalp hastalıklarında oksidatif stresin rolü. *Türk Kardiyol Dern Arş.* 2005;33:488-92
56. Bloomer RJ. Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to nonsmokers: Impact of dietary intake. *Nutr J.* 2007 Nov 8;6:39.
57. Türk Farmakoloji derneği. Nitrik oksidin farmakolojisi. Farmakoloji eğitim sempozyumları programı. 27 Mayıs 2005, Mersin.
58. Scott DA, Poston RN, Wilson RF, Coward PY, Palmer RM. The influence of vitamin C on systemic markers of endothelial and inflammatory cell activation in smokers and non-smokers. *Inflamm Res.* 2005 Mar;54(3):138-44.
59. Karlıkaya C, Sigara ve Meslek. *Solunum Dergisi:* 2004; 6(6): 262-275
60. Çolakoğlu N ve ark. Sigaranın karaciğerde oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve C vitaminin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 2005;10:3
61. David M. Burns. Tütün kontrolü. Göhüs hastalıkları klinik problemler el kitabı.. Çeviri editörü: Doç.Dr.B. Pınar Yıldız.6.baskı.Lippincott Williams&Wilkins 2008:s.121-25
62. Satici A, Bitiren M, Ozardali I, Vural H, Kilic A, Guzey M. The effects of chronic smoking on the ocular surface and tear characteristics: a clinical, histological and biochemical study. *Acta Ophthalmol Scand.* 2003 Dec;81(6):583-7.
63. Nokhrin SM, Howarth DF, Weil JA. Magnetic resonance in systems with equivalent spin-1/2 nuclides. Part 2: energy values and spin states. *J Magn Reson.* 2008 Jul;193(1):1-9.
64. Altan N ve ark. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya dergisi.* 2006;31(2):51-6
65. Erden M. Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri* 1992;12:201-7
66. Akkuş İ.:Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayımları, 1995:1-73
67. Collen Smith, PhD at al. Oksijen toksisitesi ve serbest radikal örsentisi.Marks' Temel tıbbi biyokimyası. Güneş tıp kitapevleri.2.baskı:2007:s.439-56

68. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;14:12:1819-28.
69. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998;11:336-41.
70. Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G. Antioxidant measurements. *Physiol Meas.* 2007 Apr;28(4):R41-55.
71. Ünal D. Serbest radikaller. *Sendrom* 1999; Mart:68-80.
72. Köse K, Doğan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi Ek-1*:1992:340-50
73. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819-28. Review.
74. Yerlikaya HF, Mehmetoğlu İ ve ark. Obez ve sağlıklı bireylerde serum Nitrik oksit, okside düşük dansiteli lipoprotein ve total antioksidan aktivitenin araştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28:123-27
75. Balint B, Donnelly LE, Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitric oxide metabolites in exhaled breath condensate after exposure to tobacco smoke. *Thorax.* 2001 Jun;56(6):456-61.
76. Villalobo A. Nitric oxide and cell proliferation. *FEBS J.* 2006 Jun;273(11):2329-44.
77. Baykal Y. Aterosklerozun patogenezi. *T. Klin Tıp Bilimleri* 1998;18:360-68
78. Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J, Kaye DM. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension.* 2006 Aug;48(2):278-85.
79. Balazy M. Trans-arachidonic acids: new mediators of inflammation. *J. Physiol Pharmacol.* 2000 Dec;51(4 Pt 1):597-607. Review.
80. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW: Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxynitrite formation and action. *J. Hypertension.* 1996;28:488-93
81. Yücel D ve ark. Oxidative / nitrosative stres in chronic heart failure: a critical review. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2006;31:2:86-95
82. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T. Klin Tıp Bilimleri.* 2002;22:442-48
83. Aksu N. ve ark. Yetişkin astımlı hasta serumlarında lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi. *Solunum* 2007;9:3:153-7

84. Karabulut AB ve ark. Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. İnönü Üniv. Tıp Fak.Dergisi.2002;9(2) 85-8
85. Lesgards JF, Durand P, Lassarre M, Stocker P, Lesgards G, Lanteaume A, Prost M, Lehucher-Michel MP. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. Environ Health Perspect. 2002 May;110(5):479-86.
86. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. X-irradiation, phorbol esters, and H₂O₂ stimulate mitogen-activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates. Cancer Res. 1994 Jan 1;54(1):12-5.
87. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. Clin Chem. 1997 Jul;43(7):1209-14.
88. Gülen Attila at all. Association between cigarette smoking and lipid peroxidation. Annals of Medical Sciences 2001;10(4):160-162
89. Solak ZA, Kabaroğlu C, Cok G, Parildar Z, Bayindir U, Ozmen D, Bayindir O. Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paraoxonase 1 activity in healthy people. Clin Exp Med. 2005 Oct;5(3):99-105.
90. Walker A, Udupa KB, Chowdhury P. Mitogenic and functional responses by nicotine and hydrogen peroxide in AR42J cells: a comparative study. Tob Induc Dis. 2008 Jul 31;4(1):5.
91. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. T Klin 1989;9:1;1-8
92. Wassman S, Wassman K and Nickenig G. Modulation of Oxidant and Antioxidan Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. Hypertension 2004;44:381-86.
93. Rangan U, Bulkley GB:Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. Br Med Bull 1993;49(3)700-18
94. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):44-84.

95. Sheweita SA, Mousa N, Al-Masry HM. N-Nitrosodimethylamine changes the expression of glutathione S-transferase in the liver of male mice: The role of antioxidants. *J Biochem Mol Toxicol.* 2008 Nov;22(6):389-95.
96. Konukoğlu D, Akçay T. Glutatyon metabolizması ve klinik önemi. *T. Klin tıp Bilimleri.* 1995, 15:1214-18
97. Koul A, Bhatia V, Bansal MP. Effect of alpha-tocopherol on pulmonary antioxidant defence system and lipid peroxidation in cigarette smoke inhaling mice. *BMC Biochem.* 2001;2:14.
98. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1987 Dec;1(6):441-5. Review.
99. Yağcı R ve ark. Behçet Hastalığında toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan durum ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeyleri. *Ret-Vit* 2007;15:263-66
100. Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. *Pediatr Int.* 2005 Dec;47(6):635-9.
101. Altındağ Ö ve ark. DNA damage and oxidative stres in patients with osteoarthritis: a pilot study. *Romatizma* 200;22:60-3
102. Greabu M, Battino M, Totan A, Mohora M, Mitrea N, Totan C, Spinu T, Didilescu A. Effect of gas phase and particulate phase of cigarette smoke on salivary antioxidants. What can be the role of vitamin C and pyridoxine? *Pharmacol Rep.* 2007 Sep-Oct;59(5):613-8.
103. Nagler RM, Reznick AZ. Cigarette smoke effects on salivary antioxidants and oral cancer-novel concepts. *Isr Med Assoc J.* 2004 Nov;6(11):691-4. Review.
104. Parıldar Z ve ark. Sjörger sendromunda tükruk nitrik oksid düzeyleri. *T. Klin J Med Sci.* 2003;23:295-99
105. Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases. *Adv. Exp.Med. Biol.* 1994;366:165-9.
106. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001 Feb;5(1):62-71

107. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968 Oct 24;25(1):192-205.
108. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005 Dec;38(12):1103-11.
109. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004 Apr;37(4):277-85.
110. Isik B, Ceylan A, Isik R. Oxidative stress in smokers and non-smokers. *Inhal Toxicol.* 2007 Jul;19(9):767-9.
111. Edgar R. Miller, III, MD, PhD; Lawrence J. Appel, MD, MPH; Long Jiang; ; Terence H. Risby, PhD Association Between Cigarette Smoking and Lipid Peroxidation in a Controlled Feeding Study *Circulation.* 1997;96:1097-1101.)
112. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig.* 2008 Dec;12(4):345-52.
113. Aycicek A, Ipek A. Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in cord blood. *Eur J Pediatr.* 2008 Jan;167(1):81-5.
114. K. Charalabopoulos, D. Assimakopoulos, S. Karkabounas, V. Danielidis, D. Kiortsis, A. Evangelou. Effects of cigarette smoking on the antioxidant defence in young healthy male volunteers. *J Clin pract,* january 2005;59,25-30
115. Garry G Duthie et al. Effect of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 1991;53:1061-1063
116. Yardımcı S ve ark. Effects of cigarette smoke exposure on the level of plasma lipid peroxidation product and the activities of erythrocyte antioxidant enzymes. *Türk hematoloji onkoloji dergisi.* 1999;9,4, 195-99
117. Kanehira T, Shibata K, Kashiwazaki H, Inoue N, Morita M. Comparison of antioxidant enzymes in saliva of elderly smokers and non-smokers. *Gerodontology.* 2006 Mar;23(1):38-42.

118. Ozbay B, Dülger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku J Exp Med.* 2002 Jun;197(2):119-24.