

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA BENZO(A)PİRENİN
HOMOSİSTEİN SEVİYESİ İLE LİPİT
PARAMETRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NACİYE SERT ÖZEN

2013

ONAY SAYFASI

Prof.Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Mehmet ÇAY

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehmet ÇAY


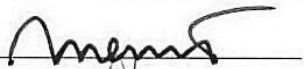
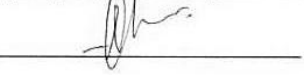
Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet ÇAY

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Doç. Dr. Ali Osman ÇERİBAŞI

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam F.Ü Veteriner Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇAY'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Araştırma süresince büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Mesut AKSAKAL ve Doç. Dr. A. YÜCE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın patoloji aşmasında benden yardımlarını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Ali Osman ÇERİBAŞI' na teşekkürlerimi sunarım. Beni Yüksek lisans yapma konusunda teşvik eden ve bu süreçte benden yardımlarını hiç esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ'ye teşekkürler.

Ayrıca bana her konuda yardım ve destek olan araştırma görevlisi Mehmet GÜVENÇ'e, Patoloji Anabilim Dalından Dr. Mustafa ÖZKARACA' ya ve Dr. Eray ATIL'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez projemi destekleyerek bana maddi olanak sağlayan F.Ü. Araştırma Fonuna,

Bana maddi ve manevi her türlü desteği veren eşim Alper ÖZEN ve biricik kızım Esin Duru'ya en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
KISALTMALAR	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar	5
3.1.1. Benzo(a)piren.....	6
3.1.1.1. Benzo(a)piren Kaynakları ve İnsanların Benzo(a)pirene Maruziyeti.....	6
3.1.1.2. Benzo(a)piren Metabolizması	8
3.1.1.3. Benzo(a)piren Emilimi, Dağılımı ve Atılımı	10
3.1.1.4. Benzo(a)pirenin Genel Etkileri	11
3.2. Homosistein.....	12
3.2.1. Homosistein Metabolizması	15
3.2.2. Dokulardaki Dağılımı.....	16
3.2.3. Regülasyonu	17
3.2.4. Homosistein Formları.....	18

3.2.5. Homosistein Düzeyleri ve Ölçümü	18
3.2.6. Homosistein Düzeylerini Etkileyen Faktörler	19
3.3. Hiperhomosisteinemi ve Mekanizması.....	24
3.3.1. Hiperhomosisteinemi Tedavisi	25
3.4. Homosistein ve Kalp- Damar Hastalıkları.....	25
3.5. Lipitler ve Plazma Lipoproteinler	27
3.5.1. Lipitler	27
3.5.2. Plazma Lipoproteinler	28
3.6. LDL Oksidasyonu	31
3.7. Benzo(A)Piren, Homosistein ve LDL Oksidasyonu	33
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
4.1. Yöntem.....	37
4.2. Kan Örneklerinin Alınması.....	37
4.3. Metodlar	37
4.3.1. Plazma Homosistein ve Lipit Düzeylerinin Belirlenmesi	37
4.3.2. Histopatolojik Metot	38
4.3.3. İstatistiksel Analizler.....	38
5. BULGULAR.....	39
5.1. Plazma Homosistein ve Lipit Düzeyleri	39
5.2. Koroner Damarlarda Histopatolojik Bulgular	41
6. TARTIŞMA.....	44
7. KAYNAKLAR	52
8. ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Benzo(a)pirenin metabolik aktivasyonu	9
Şekil 2. Homosisteinin Yapısı.....	13
Şekil 3. Metionin ve Homosistein Metabolizması	15
Şekil 4. Plazma Lipit düzeyleri	40
Şekil 5. Plazma Homosistein düzeyi	40
Şekil 6. Kontrol grubu; Koroner arterin görünümü.....	42
Şekil 7. BaP grubu; Muskuler tabaka düz kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon	42
Şekil 8. BaP grubu; peri-arteriyoler bağ doku artışı	43

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Hiperhomosisteineminin Sebepleri	21
Tablo 2. Ratlara Verilen Yemin Bileşimi.....	36
Tablo 3. Ratlarda Plazma Homosistein ve Lipit Düzeyleri	39
Tablo 4. Kontrol ve BaP gruplarında ortalama koroner arter çapı ve duvar kalınlıkları.....	41

KISALTMALAR

AHH	: Aryl Hidrokarbon Hidroksilaz
AhR	: Aromatik Hidrokarbon Reseptörü
ARNT	: Arly Reseptör Nukleus Translaktör
BaP	: Benzo(a)piren
BPDE	: Diol epoksit
BP-diol	: BP-7,8-dihidrodiol
DRE	: Dioksin Sorumlu Enzim
HDL	: High Densty Lipoprotein
IDL	: Ara Dansiteli Lipoproteinler
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
LDL	: Low Densty Lipoprotein
LPO	: Lipit Peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
MFO	: Mikrozomal Karışık Fonksiyonlu Oksidazlar
MTHF	: Metiltetrahidrofolat
MTHFR	: Metilentetrahidrofolat Redüktaz
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SAH	: S-Adenozil Homosistein
SAM	: S-adenozil Metyonin
SLE	: Sistemik Lupus Eritromatozus

- SOD** : Süperoksid Dismutaz
- SVH** : Serebrovasküler Hastalık
- tHcy** : Total Plazma Homosistein
- VLDL** : Very Low Densty Lipoprotein

1. ÖZET

Bu çalışmada, ratlara benzo(a)piren (BaP) uygulamasının plazma homosistein seviyesi, lipit parametreleri ve koroner damarlar üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, yaklaşık 200 g ağırlığında 8-10 haftalık 14 adet Wistar albino dişi rat iki gruba ayrıldı. Bu gruplar; 1.Grup (Kontrol Grubu, plasebo olarak tricapyrilin), 2. Grup (BaP Grubu: tricapyrilin içinde çözdürülen 3,4 benzo(a)pyren) deri altı yolla 50 mg/kg tek doz BaP uygulandı. Uygulamadan 10 hafta sonra 12 saatlik açlık periyodundan sonra kan örnekleri eter anestezisi altında kalpten punksiyonla alındı. Alınan kan örneklerinden, Plazmadan homosistein düzeyi, total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL ve HDL düzeyleri ile koroner damarlardaki patolojik değişimler incelendi.

Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında BaP verilen grupta total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL ve HDL düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmasına rağmen ($p < 0.05$), homosistein seviyesinde anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplara ait ortalama damar çapları ve damar duvarı kalınlık değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($P > 0.05$). Deneme grubunda ise epikardiyal koroner arterlerin musküler katmanındaki kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve belirgin olarak peri-arteriyoler bağ doku artışı belirlendi.

Sonuç olarak, BaP'nin lipit parametreleri ile homosistein seviyesi üzerindeki belirlenen etkileri, kalp damar hastalıklarının etiyojilerine önemli katkılar yapacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Homosistein, Benzo(a)piren, BaP, Aterosklerozis, Lipit parametreleri.

2. ABSTRACT

EFFECT OF BENZO(A)PYRENE ON THE HOMOCYSTEINE LEVEL AND LIPID PARAMETERS IN RATS

In this study, investigation of effects of administration of benzo(a)piren (BaP) to rats on homocysteine level, lipid parameters and coronary arteries was intended. For this purpose, approximately 200 g in Weight, 8-10 weeks age, 14 wistar albino female rats were divided into two groups. These groups; 1st Group (Control Group, tricapyrilin as placebo), and 2nd Group (BaP Group: 3,4 benzo(a)piren dissolved inthe tricapyrilin) administrated BaP 50 mg/kg single dose with subcutaneously.10 weeks after application and after 12 hours hunger period, blood samples were taken from heart with puncture under ether aneshesthesia. Taken blood samples were investigated for plasma homocysteine, total cholesterol, triglycerides, LDL, VLDL and HDL levels and coronary arteries were investigated for pathological changes.

According to results; despite there was difference found on total cholesterol, triglycerides LDL, VLDL and HDL levels of BaP group statistically ($p < 0,05$), there was no significant difference between homocysteine levels ($p > 0,05$). There was no significant differences were detected on mean blood vessel diameter and blood vessel wall thickness value between groups ($p > 0,05$). In experiment group, vacuolar degeneration and significant increase in peri-arteriolar connectivite tissue of muscle cells in the muscular layer of epicardial coronary arteries.

As a result; we believe determined effects of BaP on lipid parameters and homocysteine level will make a significant contribution to understanding etiology of cardiovascular diseases.

Key Words: Homocysteine, Benzo(a)pyrene, BaP, Atherosclerosis, Lipid Parameters.

3. GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonların devam edebilmesi için, canlılardaki iç ortamın değişmez tutulması (homeostazis) gereklidir. Vücut fonksiyonlarının canlı ihtiyaçlarına uygun bir şekilde yapılabilmesi için, bir takım düzenleyici kontrol sistemlerine gereksinim duyulmaktadır. Homeostazis; tüm sistemlerin en iyi şekilde çalışması, iç ortamın değişmez tutulması ve devam ettirilmesi anlamına gelir. Örneğin, hücrenin kimyasal yapısı, pH'sı, vücut sıcaklığı ve vücut sıvılarındaki elektrolit denge birçok sistem ve organ tarafından sabit tutulmaya çalışılır (1). Ölümcül hastalıklar içinde, kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada kanser yer almaktadır. Kalp hastalıkları ve kanser oluşumunda lipitler, fiziksel ve kimyasal kanserojenler, hormonlar, virüsler, yaş, cinsiyet, çevre faktörleri ve bazı genetik hastalıklar önemli rol oynamaktadır. Kanser etiolojisinde en önemli etkenlerden olan çevresel faktörler, günümüzde büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Bu faktörlerden biri olan Benzo(a)pyrene, çevrede bol miktarda bulunmaktadır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar grubunda yer alan bu maddenin, biyolojik sistemlerde serbest radikaller oluşturmak suretiyle normal hücrenin işleyişini bozduğu ve akciğer kanseri başta olmak üzere çok sayıda kanser türüne neden olduğu belirtilmektedir (2, 3, 4).

Benzo(a)piren; su, toprak, çalışma ortamları, sigara dumanı, atmosfer ve diyetle yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca, kömürde yapılan ızgara ve tütülenmiş etlerde, yaz günlerinde asfaltla gelen sızıntılarda, fosil yakıtlarının tam olarak yanmaması sonucunda da bu bileşik oluşmaktadır (5, 6). Canlıların BaP'a maruz kalması; özellikle bu maddeyle bulaşık gıda ve suların alınması veya

kirli hava ve sigara dumanında bulunan partiküllerin inhalasyonu yoluyla olmaktadır (7, 8).

Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olmakla birlikte, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan ve diğer aminoasitlerin aksine diyetle birlikte alınan metioninin metabolizması sonucu oluşan bir metabolik ara üründür (9). Homosistein diyetle bulunmaz, fakat memelilerde metionin metabolizmasının esansiyel bir ara metabolitidir. Hem homosistein hem de metionin birbirlerinin prekürsörleridir, birinin detoksifikasyonu diğerinin sentez aşamasını oluşturur (10). Bazı dokulardaki transsülfürasyon mekanizması homosisteinin sistein ve derivelerine dönüşümünü sağlar. Metionin ve homosistein metabolizması ardışık reaksiyonlar arasındaki homosistein veya metionin dengesiyle düzenlenir. Bu reaksiyonlardan transsülfürasyon yolu için pridoksin ve bazı vitamin derivesi kofaktörler, metionin metabolizması için de folat ve kobalamin gerekir. Bu yolların doğmasal bozukluğu klinik olarak hiperhomosisteinemiye neden olurken, son zamanlarda genetik bozukluklar yanında edinsel patoloji, toksisite ve beslenme yetersizliğinden kaynaklanan sebeplerde belirtilmiştir (11). Hiperhomosisteineminin koroner kalp hastalıklarına (KKH) sebep olduğu, 1962 yılında McCully (12) tarafından homosisteinürinin tanımlanmasıyla birlikte ortaya çıkmıştır. Günümüzde koroner kalp hastalıklarının önceden belirlenmesine yönelik bir çalışma yapılmış ve birçok parametre araştırılmıştır. Bu çalışmalarda hiperlipideminin özellikle kolesterolün başlıca sorumlu faktör olduğu savına rağmen, son yıllarda bazı koroner kaynaklı ölümlerde serum lipit düzeylerinin normal olması araştırmacıları başka faktörleri incelemeye yöneltmiştir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada,

KKH dolayı ölenlerin sadece %14 'ü kolesterol yüksekliği, %57 'sinde ise serum homosistein düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (13). Sonradan yapılan araştırmalarda, KKH oluşumunda plazma homosistein düzeyi artışının kolesterolden çok daha önemli bir parametre olduğu fikri ileri sürülmüştür (14). Hiperhomosisteinemi, son yıllarda kalp damar hastalıkları için sigara, hipertansiyon, şişmanlık ve dislipidemi üzerine bağımsız bir risk faktörü olarak eklenmiştir (15, 16).

3.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), çeşitli şekillerde birleşen iki veya daha fazla benzer halkalı bileşikler olup, organik maddelerin tamamlanmamış yanması sonucu oluşmaktadır (17, 18, 19, 20, 21). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar su, toprak, atmosfer, sigara dumanı ve besin zincirinde bulunan kimyasal maddelerin büyük bir kısmını oluşturur. Genellikle PAH çevrede yaygın olarak bulunan, deney hayvanlarına uygulandığında kanser yapıcı özelliğe sahip toksik maddelerdir. PAH insan ve hayvan organizmasında fizyolojik olayları inhibe ederek veya kısmen azaltarak kanser yapıcı etkisini gösterir. En yaygın kanserojen PAH *anthracene*, *phenanthrene*, *fluoranthrene*, *chrysene*, *chloranthrene* ve *pyrene* türevleridir. Her ne kadar *pyrene* türevleri kanserojenik ajan olmasa da mono ve dibenzo derivatları güçlü kanser yapıcı maddelerdir (22).

Yaşam için birçok aromatik bileşik çok gerekli olmasına rağmen, bazıları da tehlikelidir. PAH grubunda yer alan Benzo(a)pirende (BaP) bu maddelerden biridir (23). Yapılan çalışmalar PAH'ların insanlarda ve çeşitli hayvanlarda

kanserojenik ve aterojenik etkiye neden olduđu veya bunların oluřumunu uyardıđı ifade edilmektedir (24, 25, 26, 27). PAH'lar çevreyi kirleten diđer maddelerle karřılařtıđında çok dűřuk deriřimde bulunmalarına rađmen, kanserojenik ve mutajenik etkilerin çok bűyűk olduđu belirtilmektedir (28). Bunlar hem lipofilik olmalarından, hem de çevrede yaygın olarak bulunmalarından dolayı yađlara ve diđer besin maddelerine kolayca bulařırlar (29, 30).

3.1.1. Benzo(a)piren

Benzo(a)piren (3,4-benzopyrene, BaP), evresel ve endűstriyel kirlenmede önemli rol oynayan ve PAH sınıfında yer alan toksik etkili, immun sistemi baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında gűclű kanser yapabilme yeteneđine sahip bir maddedir. BaP diyetle, çalıřma ortamlarında, sigara dumanında ve çevrede yaygın olarak bulunur. Ayrıca, kűműrde yapılan ızgara etlerde, yaz gűnlerinde asfaltla gelen sızıntılarda, fosil yakıtlarının tam olarak yanmaması sonucu da bu bileřik oluřur (23).

3.1.1.1. Benzo(a)piren Kaynakları ve İnsanların Benzo(a)pirene Maruziyeti

Benzo(a)piren en çok çalıřılmıř Polisiklik aromatik hidrokarbondur (PAH). Ticari olarak Amerika Birleřik Devletlerinde űretilmelerine rađmen, çevrede oldukça yaygındır. PAH' lar sentetik olarak elde edilebildikleri gibi dođal olarak da bulunabilirler. BaP ticari olarak arařtırma dűzeyinden daha yűksek oranlarda űretilmez. BaP'ın dođal kaynakları arasında yaygın olarak orman yangınları, volkanik patlamalar, petrol ve petrol yađlarının yanması, fosil

yakıtların yanması, alüminyum ocakları, egzoz dumanı, sigara ve puronun yanması sayılabilir. BaP genellikle duman, kurum, hava ve toz karışımlarında bulunur ve böylelikle su ve toprağa taşınabilir. Ayrıca kömür katranı, zift ve odunların muhafazasında kullanılan creosotenin yapısında da bulunur (31, 32, 33).

Benzo(a)piren oluşumu hem doğal hem de antropojenik kaynaklardan olmaktadır. BaP, havada partiküller şeklinde asılı kalmasına rağmen, gaz buharı gibi görünmektedir. Düşük çözünürlük, düşük buhar basıncı ve yüksek BaP ile topraktan ve sudan düşük oranlarda havaya karışmaktadır (34). Benzo(a)piren planktonlar, istiridyeler ve bazı balıklar gibi su canlılarında birikebilir ve şimdiye kadar çeşitli miktarlarda bulunduğu rapor edilmiştir (35, 33). Benzo(a)piren, bir lipofilik karsinojendir, sudaki çözünürlüğü düşüktür. Atmosferik birikimin ana kaynağı yüzey sularıdır. Küçük kaynakların ise rafineri atıkları, belediye kirli suları, dereler ve nehirler olduğu düşünülmektedir (31).

Benzo(a)piren için önemli bozulma işlemleri fotooksidasyon, kimyasal oksidasyon ve su canlıları tarafından biyobozulma şeklinde olur. Sudaki BaP, ozonlama ve klorlama işleminden dolayı oksidize haldedir. Havadaki BaP fotolizis yoluyla bozulur. Mikrobiyal bozulma ve güneş ışığıyla bozulma ise toprakta bulunan BaP için temel bozunum yollarıdır. BaP'in topraktaki tahmini yarı ömrü 229-309 gün arasındadır. Bakteriler gibi biyolojik ajanlar kullanılarak toprak ve sulardaki kirliliğin biyolojik olarak giderilmesi geleneksel tekniklere karşı, pratik bir alternatiftir (33).

İnsanların BaP'a maruz kalması, özellikle bu maddeyle bulaşık gıda ve suların alınması veya kirli havada ve sigara dumanında bulunan partiküllerin inhalasyonu yoluyla olduğu bilinmektedir (36, 8). Besinler, insanların BaP'lara

maruz kalmasında çevre kirliliği, gıdaların paketlenmesi, pişirilmesi ve işlenmesi düşünüldüğünde temel kaynaktır (37, 38, 39).

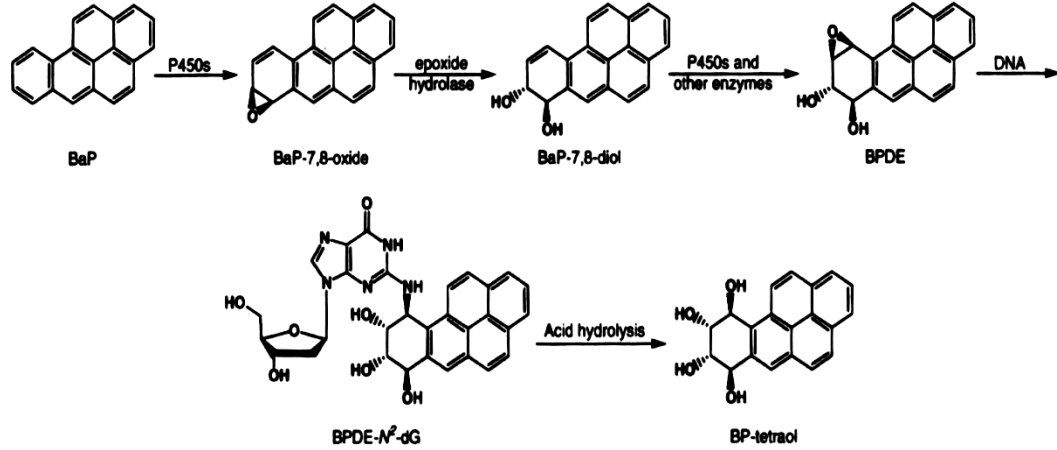
BaP tahıllar, sebzeler, meyveler ve deniz ürünlerinde de tespit edilmiştir. Izgara yapılan bir biftekte ortalama olarak 9000 ng/kg BaP olduğu belirtilmektedir (40). Gıdalar yoluyla BaP'ın günlük alımının 50 ng olduğu düşünülmektedir. BaP'ın günlük ortalama sindirilen dozunun 176 ng olduğu da tahmin edilmektedir. Her bir sigaranın yaklaşık 5-80 ng BaP içerdiği, sigara dumanının ise daha yüksek konsantrasyonda BaP içerdiği 25-200 ng bildirilmiştir. Bir sigara dumanındaki BaP 400-760000 mg/m³ miktarlarında olabilir. Puro ve pipo 18-51 ng/g ve 85 ng/g BaP içerir (41).

3.1.1.2. Benzo(a)piren Metabolizması

Benzo(a)piren, biyolojik sistemlerdeki etkilerini oluşturmadan önce, reaktif maddeleri oluşturmak için metabolik olarak bir aktivasyon geçirir. BaP'ın kanserojenik ve mutajenik etkisi; hücrel makromoleküllere bağlanan mikrozomal karışık fonksiyonlu oksidazlar (MFO) tarafından oluşturulur. MFO aryl hidrokarbon hidroksilaz (AHH) olarak da bilinir. Diğer kanserojen maddelerin etkinleştirilmesinde rolü olan bu enzim sisteminin etkisi hala tartışılmaktadır (42). BaP, MFO grubunda yer sitokrom p-450 (CYP) enzimleri tarafından BaP diolepoksitlerine metabolize edilir. Bu metabolitler kanserojen etkiye sahiptir (43, 44). BaP alındıktan sonra sitozolik aromatik hidrokarbon reseptörüne (AhR) bağlanır. BaP'ın AhR'ye bağlanmasından sonra çekirdeğe taşınarak translokale olur. AhR-çekirdek translokator (aryl reseptör nükleus translokator, ARNT) olarak adlandırılır. BaP-AhR-ARNT kompleksi, dioksin

sorumlu enzimlere (DRE) bağlanır. DRE' nin aktivasyonu p-450-1A ve p-450-1B enzimleri ve diğer genlerin aktivasyonuna neden olur (45). Karaciğer ve bağırsaklardaki yükseltgenmeyle ilgili işlemlerin yürütülüşü sırasında BaP, p-450-1A ve p-450-1B enzimleri ile epoksit, fenol ve quinonlar gibi ürünlere oksitlenir. Bu esnada bu ürünlerden başka *6-oxobenzo(a)pyrene* ve *6-hydroxymethylbenzo(a)pyrene* radikallerinin oluştuğu da belirtilmektedir. Bu epoksit ürünleri son derece etkin kanserojen bileşiklerdir (42).

Ürünlerin oksitlemesinden sonraki metabolizmada, ya BaP-epoksitleri epoksit hidrolaz enzimi ile BP-7,8-dihidrodiol (BP-diol)'e hidrate edilir, daha sonra BP-dioleri ise başka bir oksijenlenme ile diol epoksitlerine (BPDE) dönüşür ya da oksijenlenmiş ara ürünlerin konjugasyonu ile suda çözünen glutatyon, glucuronide veya sülfat konjugatlarına dönüşür (46).



Şekil 1. Benzo(a)pirenin metabolik aktivasyonu (46) .

Benzo(a)piren epoksitleri, DNA ile çok kolay nükleofilik yer değiştirme tepkimeleri verirler. DNA üzerindeki nükleofilik kısımlar epoksit halkasını açarak tepkime verirler ve BPDE ile kovalent bağ oluşturarak DNA'nın alkillenmesine yol açarlar. DNA'nın bu yoldan değişimi, kanserin başlamasına neden olur (23).

Benzo(a)piren metabolizmasının diğer enzimleri, MFO ile başlangıçta etkileşime giren epoksit redüktaz, epoksit hidrataz, glutatyon epoksit transferaz, sulfotransferazdır. Mikrozomal MFO tüm memeli türlerinin özellikle karaciğer, plasenta, lenfositler, monositler ve akciğer makrofajları olmak üzere çoğu dokusunda bulunmaktadır. MFO enzim aktivitesinin düzeyi yaş, cinsiyet ve hayvanın hormonal durumu ile etkilenmektedir (42).

Benzo(a)piren metabolizması için çok önemli olan CYP enzimlerinin uyarılması sonucu özellikle süperoksit ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oluşur (47). Oluşan serbest radikaller, oksidatif olarak değişik memeli hücre tiplerinde mitogenezisi ve hücre çoğalmasını başlatırlar. Ayrıca proteinler, lipitler, DNA ve antioksidan enzimlere zarar verirler. Özellikle oluşan serbest radikaller LDL oksidasyonuna neden olarak aterojenik etkiyi oluşturabilirler (48, 49).

3.1.1.3. Benzo(a)piren Emilimi, Dağılımı ve Atılımı

Benzo(a)piren metabolizması hem in vitro hem de in vivo olarak yoğun bir şekilde çalışılmış, yayınlanmış ve özetlenmiştir (50). Benzo(a)piren için günlük ortalama alınabilir doz 176 ng/gün olarak hesaplanmıştır (39). BaP emilimi insanlarda düşüktür fakat vücuda alınma şeklinden etkilenmektedir. Bazı hayvanların gastrointestinal bölgesinde yağların varlığında emilimi artmaktadır. Sindirim sisteminin asiditesi ve ek gıda maddelerinin olması da PAH

mobilizasyonunu etkilemektedir (51). Mesleki çalışmalara dayalı olarak, solunan BaP' in insanlar tarafından absorbe edildiği görülmüştür. In vivo ve in vitro olarak rat, kobay, insan, deri ve doku kültürlerinde BaP' in deri absorpsiyonu olduğu bildirilmiştir (52). Ham petrolün topraklardan suya geçmesiyle yüzücülerde ve bu sulara banyo yapanlarda, özellikle güneşlenme sonrası bu sularla maruziyette, deri absorpsiyonu olduğu belirtilmiştir (53).

Benzo(a)piren bazı plasental transfer seviyeleri ile hayvan dokularında geniş bir şekilde dağılır. BaP yağ dokuda, böbrekte ve karaciğerde birikme eğilimindedir. Serbest BaP ve onun metabolizma ürünleri, epoksit ara ürünleri, dihidrodioller, fenoller, quinonlar ve konjugatların çeşitli kombinasyonları dahil vücuttan atılabilir. BaP'ın atılması, bazı hayvanlarda seviyeleri değişmekle birlikte esas olarak gaita ve idrarla olmaktadır. BaP'ın hareket mekanizması onun metabolitlerinin DNA'ya kovalent bağlanmasını da içerir. Diol epoksit ara ürünlerinin, karsinojen oldukları düşünülmektedir. Bir kere diol epoksitler bölgesel olarak aktive olduğunda DNA'ya kovalent bağlanacak şekilde form oluşturur ve diğer hücrel makromoleküllerde mutajenik ve karsinojenik etkiyi başlatır (33).

3.1.1.4. Benzo(a)pirenin Genel Etkileri

Çok güçlü kanser yapabilme ve ateroskleroz oluşumunu hızlandırıcı etkiye sahip olan BaP, uygulama dozuna bağlı olarak deri, özofagus, meme, akciğer gibi değişik dokularda çeşitli tipte tümörlere neden olabilir (54). BaP'ın, deri altı veya kas içi yolla Wistar ratlarda çok yüksek oranda kötü huylu tümör oluşturduğu belirtilmiştir (55). BaP uygulanan farelerde mide tümörü, akciğer adenomu ile

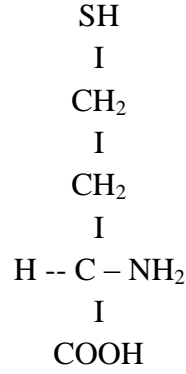
birlikte hepatotoksik etkilerin ortaya çıktığı ifade edilmiştir (54, 56). İnsanlarda normal meme epitelyal hücrelerini BaP ve diol epoksitlerin, metabolize ve aktive etme yeteneğine sahip olduğu, ayrıca epidermal hiperplaziye de neden oldukları belirtilmektedir (42). BaP'in metabolizması ve aktivasyonu canlılar arasında farklılıklar göstermektedir (57).

Benzo(a)piren, membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunda önemli bir artışa neden olur (45). Bu artış, ya hidrojen peroksit ve süperoksit radikal seviyesindeki artışın ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak oluşabilir (3, 48).

BaP'in biyotransformasyonu süresince oluşan serbest radikaller, DNA'ya zarar verebilir. BaP'in oluşturduğu serbest radikallerin bu toksik etkileri, hücrede birinci derecede önemli olan enzim sistemleri (SOD, CAT, GSH-Px) ile ortadan kaldırılabilir (2). BaP'in tümör oluşturma etkisi, antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir. Antioksidanların bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere ve/veya diğer elektrofilik ürünlere dönüşümünü engelleyerek gösterdikleri belirtilmektedir (58).

3.2. Homosistein

Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olmakla birlikte, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan yirmi aminoasit arasında yer almamaktadır. Diğer aminoasitlerin aksine diyetle birlikte alınan metioninin metabolizması sonucunda oluşan bir metabolik ara üründür (9).



Şekil 2. Homosisteinin Yapısı

Homosistein diyetle bulunmaz, fakat memelilerde metionin metabolizmasının esansiyel bir ara metabolitidir. Hem homosistein hem de metionin birbirlerinin prekürsörleridir, birinin detoksifikasyonu diğerinin sentez aşamasını oluşturmaktadır. Bu ilişkinin temelini metionin metabolizması oluşturur (10). Bazı dokulardaki transsülfürasyon mekanizması homosisteinin sistein ve derivelerine dönüşümünü sağlar. Metionin veya homosistein metabolizması ardışık reaksiyonlar arasındaki homosistein veya metionin dengesi ile düzenlenir. Bu reaksiyonlardan transsülfürasyon yolu için pridoksin ve bazı vitamin derivesi kofaktörler, metionin metabolizması içinde folat ve kobalamin gerekir. Bu yolların doğmasal olarak bozukluğu klinik anlamda hiperhomosisteinemi'ye neden olurken, son zamanlarda genetik bozukluklar yanında edinsel patoloji, toksisite ve beslenme yetersizliğinden kaynaklanan hiper homosisteinemi üzerinde durulmuştur. Hiperhomosisteinemi trombovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Fakat aminoasit konsantrasyonunun minimal düzeyde artışı bozukluk oluşumu için belirleyici bir etken olup olmadığı açık değildir. Bu açıdan homosistein metabolizmasında önemli bir yeri olan metionin:

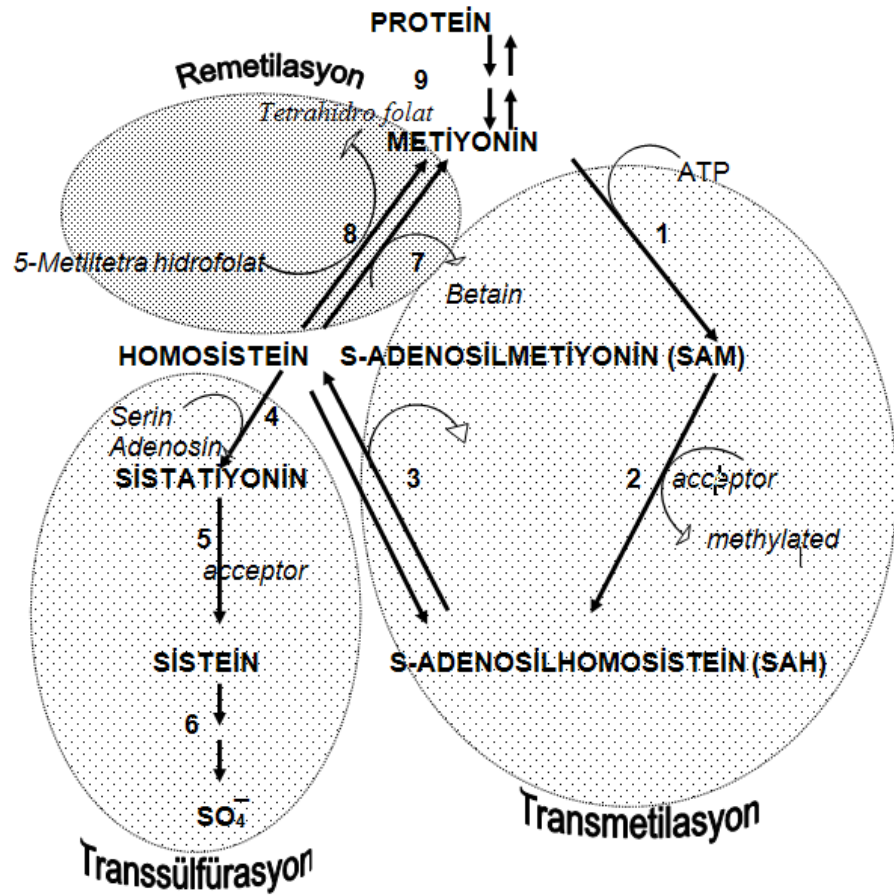
- 1- Protein sentezi
- 2- S-adenozil metionine bağımlı transmetilasyon reaksiyonları
- 3- Poliaminlerin sentezi
- 4- Sistatyonin, sistein ve transsülfürasyon yolağının diğer ürünlerinin oluşumu
- 5- İntraselüler folat ve kolin metabolizması için gerekli olan homosisteinin sağlanması gibi başlıca biyolojik süreçlerde yer almasıyla memelilerin normal büyüme ve gelişimi için esastır.

Hiperhomosisteineminin koroner kalp hastalıklarına (KKH) sebep olduğu 1962 yılında McCully (12) tarafından homosisteinürinin tanımlanması ile ortaya çıkmıştır. Günümüzde koroner kalp hastalıklarının önceden belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmış ve birçok parametre araştırılmıştır. Bu çalışmalarda, hiperlipideminin özellikle kolesterolün başlıca sorunlu faktör olduğu savına rağmen, son yıllarda bazı koroner kaynaklı ölümlerde serum lipit düzeylerinin normal olması araştırmacıları başka faktörlere incelemeye yöneltmiştir.

Yapılan araştırmalarda KKH oluşumunda plazma homosistein düzeyi artışının kolesterolden çok daha önemli bir parametre olduğu fikri ileri sürülmüştür (14). Hiperhomosisteinemi son yıllarda kalp damar hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (15, 16).

3.2.1. Homosistein Metabolizması

Homosistein, proteinlerin yapısında bulunmayan metionin metabolizması sırasında tüm dokularda oluşan sülfür içeren bir aminoasittir. Remetilasyon ve transsülfürasyon siklusu olmak üzere iki ana yolla metabolize edilir (59, 60).



Şekil 3. Metionin ve Homosistein Metabolizması

1. Metionin Adenozil Transferaz (Metionin ve ATP' den SAM sentezini katalizler).
2. Transmetilasyon Reaksiyonları.
3. S-Adenozilhomosistein Hidrolaz (SAH' ın dönüşümlü hidrolizi ile Adozin ve Homosisteine dönüşümünü sağlar).
4. Sistatyonin β -sintaz (Homosistein ve Serin' den Sistatyonin oluşumunu sağlar).
5. γ -sistatyonaz (Sistatyoninden sistein oluşumunu sağlar).
6. Sisteinin sülfata dönüşümü.
7. Betaine-homosisteine metiltransferaz (Betain gerektiren bir reaksiyonla Homosistein' den Metionin sentezini sağlar).
8. Metionin sentaz (Folat ve B₁₂ vitamininin normal düzeylerde olmasını gerektiren bir reaksiyonla Homosisteinden Metionin sentezini katalize eder).
9. Serbest metionin ve protein halindeki metionin arasındaki denge.

Remetilasyon siklusunda homosistein, metionin sentetazın katalize ettiği bir reaksiyon sonucu metionine dönüşür. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için homosisteine metil grubu katılması gerekir. Burada metil verici 5,10-metiltetrahidrofolat (MTHF) veya betaindir. MTHF'nin katıldığı reaksiyon tüm dokularda olur ve vitamin B12' ye bağımlıdır. Betainin metil vericisi olduğu reaksiyon ise karaciğer ve böbrekte olur ve vitamin B12' den bağımsızdır. Metionin ise S-adenozilmetionin sentazın sentezlediği bir reaksiyonla adozintrifosfat (ATP) varlığında S-adenozil metionine (SAM) dönüşür. SAM birçok reaksiyonda metil verici olarak görev yapar. Bu metilasyon reaksiyonu sonucu S-adenozil homosistein (SAH), SAH hidrolazın katalizlediği reaksiyonla homosisteine dönüşür (59, 60).

Eğer ortamda fazla metionin varsa veya sistein sentezine ihtiyaç varsa homosistein transsülfürasyon yoluna girer. Bu yolda homosistein, vitamin B6 bağımlı bir enzim olan sistasyon beta sentetazın katalizlediği bir reaksiyonla, serinle birleşerek sistasyonini oluşturur. Sistasyonin daha sonra pridoksalfosfata bağımlı sistasyoninaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla α -ketoglutarat ve sisteine dönüşür. Sistein, taurin ve inorganik sülfata dönüşür veya değişikliğe uğramadan böbreklerden atılır. Bir kısmı da homosisteinle birleşerek sistein-homosistein disülfidi oluşturur (59, 60).

3.2.2. Dokulardaki Dağılımı

Transmetilasyon, remetilasyon ve transsülfürasyon mekanizmalarının içerdiği enzimlerin tümü sitoplazmik komponentlerde bulunur (α -ketobütüratın oksidasyonunu kapsayan enzimler hariç). Bu enzimlerin dokulardaki dağılım

profili oldukça geniştir (61). Ratlarda, belirtilen enzimlerin bütün önemli aktivitesi karaciğerdedir. Tüm vücudun aminoasit ekonomisinde karaciğer rol oynar. Transmetilasyon ve transsülfürasyon mekanizmasında etkili tüm enzimlerin aktiviteleri özellikle bu dokuda zengindir. Karaciğer haricinde pankreas ve böbreklerde bu enzim aktiviteleri görülebilir. Aksine metionin sentaz ve metilentetrahidrofolat redüktazın özel aktiviteleri bütün dokularda olmasa da çoğunda yüksektir. Homosistein remetilasyonundaki enzimlerin yapısı dokulardaki homosistein miktarının düzenlenmesi için, özel bir ihtiyaç gösterebilir. Diğer remetilasyon enzimi (Betaine-homosistein metiltransferaz) o kadar etkin değildir. Ratlarda sadece karaciğerde bu enzimlere rastlanabilir (62). Bununla birlikte domuz ve insan gibi diğer türlerin, böbreklerinde bu enzimler ölçülebilir aktiviteye sahiptir (63).

3.2.3. Regülasyonu

Homosistein metabolizmasının düzenlenmesi ara metabolitlerin miktarı, diyet içeriği gibi birçok faktörün etkisi ile olur. Örneğin remetilasyon ve transsülfürasyon yollarıyla homosistein değişimi SAM ve SAH gibi etkili metabolitler tarafından düzenlendiği görülür. Metionin içeren bir öğünün tüketimini takiben hepatik SAM düzeyi artar. Bu sistatinyonin- β -sentaz aktivasyonu ile SAM fonksiyonunu artırır ve metilentetrahidrofolat redüktaz inhibe olur. Bu münasebetle homosisteinin remetilasyonu sınırlandırılır (61).

3.2.4. Homosistein Formları

Homosistein-sistein karışımı olan disülfid; bu form ilk kez 1978 yılında Wicken (64) tarafından açlıkta erkeklerin plazmasında asit ile deproteinize edilerek saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda, erkeklerde kadınlara oranla homosistein düzeyinin yüksekliği ve bu formun varlığına ait bulgular kanıtlanmıştır (65, 66). Jousilathi ve arkadaşları (67) yaptıkları çalışmada premenapozal kadınlarda açlık sonrası ve metionin yüklemesi yapıldıktan sonra ölçülen homosistein-sistein karışımını erkekler ve postmenapozal kadınlardaki homosistein düzeylerine oranla daha düşük bulmuşlardır.

Total, proteine bağlı ve serbest homosistein; proteine bağlı homosistein formu ilk kez Kang ve arkadaşları tarafından saptanmıştır (68). Bu form yaklaşık olarak total homosisteinin %70' ini oluşturmaktadır. Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalarda, homosisteinin hangi proteine bağlandığı araştırılmış ve büyük çoğunlukla albümine bağlandığı belirlenmiştir. Taze hazırlanmış plazmanın asit ile deproteinizasyonu sonucu presipite olan kısım proteine bağlı olan homosisteini yansıtmakta, çözünen kısım ise serbest homosisteini oluşturmaktadır. Çözünen kısım homosistein-sistein disülfid, homosistin ve homosistein içermektedir. Proteine bağlı olan kısım ile çözünen kısım bileşimi total homosisteini oluşturmaktadır.

3.2.5. Homosistein Düzeyleri ve Ölçümü

Normalde insanda plazma veya serum homosistein seviyeleri, her ne kadar çeşitli laboratuvarlar arasında bazı farklılıklar gösterse de, ortalama 10 $\mu\text{mol/L}$ 'dir. Ancak yaş ve cinsiyete göre bu seviyelerde değişiklik olur.

Homosistein plazma veya serumda radioenzimatik assay gaz-kromatografi, kitle-spektrofotometri, high performans likid kromatografi (HPLC) ve aminoasit analizörleri ile bakılabilir (69).

3.2.6. Homosistein Düzeylerini Etkileyen Faktörler

İnsanlarda normal total plazma homosistein (tHcy) düzeyi 5-15 $\mu\text{mol/L}$ arasındadır. İnsanda plazma homosistein düzeyinin 15 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerinde olması hiperhomosisteinemia olarak kabul edilmektedir (70). Genel olarak yükselmiş plazma tHcy konsantrasyonunun en sık edinsel sebepleri folat, B₁₂ ve B₆ vitaminlerinin tam veya rölatif eksikliği ve böbrek yetmezliğidir (Tablo 1). Bu durum özellikle yaşlı kimseler için daha doğrudur (71). Yüksek tHcy seviyelerine sebep olan diğer klinik durumlar; meme ve yumurtalık kanseri ve sedef hastalığıdır. Hipotiroidizm ve birçok farmakolojik ajan da yükselmiş tHcy konsantrasyonundan sorumlu olabilir. Genetik bozukluklara bağlı olarak görülen eksiklikler, genel popülasyonda veya vasküler hastalıklı kişilerde görülen yüksek seviyelerin muhtemelen sadece bir kısmının sebebi olarak düşünülmektedir. Homosisteinüriye en sık sebep olan genetik durum, yüksek tHcy seviyeleri ve prematüre kardiyovasküler hastalıklarla karakterize sistasyon β sentetaz eksikliğidir. Artmış tHcy'nin diğer genetik sebepleri; metionin sentetaz ve metilentetrahidrofolat reduktazın (MTHFR) yokluğu ve bozukluğudur (72). Bu tablo popülasyonunun %15'inde görülen MTHFR'nin oldukça termobil değişken bir formunda içerir. Bu değişken form özellikle düşük folat seviyelerinin varlığında hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır (73).

Yüksek riskli gruplar; yüksek tHcy seviyeleri olan kişiler, diğer risk faktörlerinin olmadığı durumlarda ateroskleroz için aile hikayesi olanlar ve arteriyel tıkaçıcı hastalığı olanları içerir. Yüksek tHcy seviyesi; ilerlemiş yaş, hipotiroidizm, sistemik lupus eritromatozus (SLE), nikotinik asit, teofilin ve L-dopa gibi ilaçların kullanımı sırasında da görülebilir (74).

Tablo 1. Hiperhomosisteineminin Sebepleri (75).

Kahtsal:

1. Transsülfürasyon bozuklukları

- a- Sistasyon β -sentetaz eksikliği

2. Remetilasyon bozuklukları (nadir)

- a- Vitamin B₁₂ transport bozukluğu (nadir)
b- Vitamin B₁₂ koenzim sentez bozukluğu (nadir)
c- Metionin sentetaz bozukluğu (nadir)
d- 5,10 MTHF eksikliği veya bozukluğu (nadir)
-

Kazanılmış:

1. Vitamin Eksiklikleri

- a- Vitamin B₁₂
b- Vitamin B₆

2. Renal Yetmezlik

3. Hipotiroidi

4. Akut lenfoblastik lösemi

5. Psöriazis (sedef hastalığı)

6. İlaçlar

- a- Metotreksat (dihidrofolat reduktaz inhibitörü)
b- Fenitoin veya karbamezepin (Folat antagonisti)
c- Nitrikoksit (metionin sentaz inaktivatörü)
d- Metilksantin (VitaminB₆ inhibitorü)
e- Nikotinik asit
-

Birçok çalışma tHcy ve yaş arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Kardiyovasküler hastalıklarla birlikte olan veya olmayan yaşlı popülasyonda plazma tHcy seviyeleri artar. Ayrıca folat, vitamin B₆ ve B₁₂ anormalliklerinin yaşlı kimselerdeki artmış tHcy düzeyinin patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Sağlıklı orta yaş ve yaşlı kişilerde plazma vitamin B₁₂ ve folat düzeyi, plazma tHcy'nin majör belirleyicisi olduğunu gösterir. Çoklu vitamin kullananlar, kullanmayanlardan daha düşük seviyelere sahiptir. Total homosistein ile vitamin B₆ ve folatın günlük diyetle alımıyla; vitamin B₆, vitamin B₁₂, folatın plazma konsantrasyonları arasında doğrusal olmayan güçlü bir ilişki olduğunu gösterir (75).

Postmenopozal kadınlarda plazma tHcy seviyeleri, premenopozal kadınlarla karşılaştırıldığında her zaman olmasa da genellikle yüksektir. Premenopozal kadınlarda görülen düşük tHcy seviyeleri, transülfürasyon veya demetilasyon yollarında metionin'in daha etkili olmasına bağlı olabilir. Yüksek plazma östrojen seviyeleri de, bu olgularda görülen düşük plazma tHcy' sinin sebebi olabilir. Premenopozal kadınlardaki total plazma homosistein ile serum 17- β östradiol arasında güçlü ve negatif bir korelasyon vardır (76). Östrojen seviyelerinin artmasıyla karakterize bir durum olan hamilelik süresince plazma tHcy'i düşer. Postmenopozal kadınlardaki yüksek tHcy seviyeleri, menopozdan sonra görülen kardiyovasküler olayların sıklığındaki artışı da izah edebilir. Sağlıklı pre ve postmenopozal kadınlarda tek başına progesteron veya östrojen-progesteron kombine hormon replasman tedavisi plazma tHcy seviyelerini düşürür ki, bu da risklerin azaltılmasına yardımcı olabilir (77).

Homosisteinüri olan kişilerde vasküler komplikasyonlar sıktır. Birçok çalışmada, koroner arter hastalığı (KAH), ateroskleroz, inme, periferik damar hastalıkları ve venöz tromboz gibi damar hastalıkları ile tHcy konsantrasyonları yüksekliği arasında bir ilişkinin varlığını göstermiştir. İstenmeyen kardiyovasküler olaylar ve yüksek plazma tHcy seviyeleri arasındaki ilişki yaşlı kişilerde önem kazanmaktadır. 65 yaş ve üzerindeki KAH olan kişiler, aynı yaş grubundaki sağlıklı kişilere göre daha yüksek tHcy seviyesine sahiptir. KAH bulunan yaşlı erkeklerin %43' de yüksek plazma tHcy seviyeleri görülmesine ($>17\mu\text{mol/l}$) karşın, KAH olmayanlarda bu oran %15'tir. Ciddi ekstrakraniyal karotid arter darlığı olan yaşlı hastaların %45'inde yüksek plazma tHcy seviyeleri bulunurken, ekstrakraniyal karotid arter darlığı olmayan hastalarda bu oran %20'dir (78).

Folik asit desteği normal kişilerde ve vasküler hastalıklı kişilerde tHcy seviyelerini düşürür (79). Folik asit tek başına veya vitamin B₆ ile kombine kullanılabilir. Kronik böbrek yetmezliği olmayan yaşlı kişilere günde 1 mg folik asit, 1,1 mg vitamin B₁₂ ve 5 mg vitamin B₆ kombinasyonlarının intramusküler enjeksiyonu ile yüksek tHcy seviyeleri normale indirilebilmektedir (80). Diyetle, çalışma ortamlarında ve çevrede yaygın olarak çok maruz kaldığımız benzo(a)pirenin sigara dumanında yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir. BaP ile homosistein arasında direk bir ilişkiye literatürlerde rastlanmamıştır ancak her bir sigarada yaklaşık 5-80 ng oranında bulunan BaP sigara dumanında 25-200 ng arasında yüksek oranda tespit edilmiştir (41). Sigara içimi de plazma homosistein düzeylerinde yükselmeye neden olmaktadır. Bundan plazma tiyol redox durumunun değişmesi ve vitamin seviyelerindeki azalma sorumludur (81). Birçok

ilaç plazma homosistein düzeylerinde yükselmeye neden olur. Bunlar arasında folik asit metabolizmasıyla etkileşime giren fenitoin ve methotrexate sayılabilir. Teofilin de B6 vitamini ile etkileşime girerek homosistein düzeylerinde yükselmeye neden olabilir (82, 81). Bir oral antidiyabetik olan metformin de homosistein düzeylerinde yükselmeye neden olur (83).

3.3. Hiperhomosisteinemi ve Mekanizması

Hiperhomosisteinemi patogenezine yönelik birçok çalışma yapılmış ve bu araştırmalar sonucunda genelde homosisteine bağlı aterojenik olaylar iki alanda toplanmıştır. Bunlar; damar endotelindeki fonksiyonel anomaliler ile endotel hasarı ile başlayıp bunu takip eden trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonu ve trombüs formasyonu sonucu endotel üzerine daha toksik etki göstermektedir (84). Bu etkisini, homosisteinin taşıdığı sülfür gruplarının otooksidasyona uğraması, hidrojen peroksiti katalizlemesi ve endotelde fonksiyonel bozulmaya neden olması ile gösterdiği belirlenmiştir (85). Homosistein düzeylerinin artmasının bir sonucunda endotelde bulunan ve lipit peroksidasyonu engelleyen glutatyon peroksidaz aktivitesinin baskılanmasıdır (86).

Homosistein, LDL (low density lipoprotein) kolesterolün oksidasyonuna neden olarak LDL'nin plazmadan temizlenmesini sağlayan reseptörlere bağlanmasını engellemekte (BaP'ın oluşturduğu reaktif oksijen türleri de LDL oksidasyonunu başlatır), okside LDL'nin serum düzeyini artırmakta ve endotelde köpük hücrelerine dönüşümlerini sağlayarak ateroskleroza zemin hazırlamaktadır. Homosisteinin yukarıda belirtilen tüm etkileri sonucunda damar endoteli hasara

uğramakta, yapısı bozulmakta, trombotik eğilim artmakta ve lipitler okside olmaktadır. Bu mekanizmalar sonucunda plazma kolayca pıhtılaşmakta, bu da koroner kalp hastalığı başta olmak üzere periferik arter hastalıklarına neden olmaktadır (85).

3.3.1. Hiperhomosisteinemi Tedavisi

Hiperhomosisteinemi tedavisinde ilk basamak, homosisteinin kaynağı olan metioninin kısıtlanmasıdır. Metioninin temel kaynağı ise hayvansal besinler özellikle kırmızı ettir. Bu nedenle homosistein düzeylerini düşürmede, kişisel beslenmenin düzenlenmesi büyük bir önem taşımaktadır (87).

Tedavide ikinci ve en önemli basamak ise, homosisteininin metabolize olmasını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan vitamin B₁₂, vitamin B₆ ve folikasit alımıdır (88). Birçok çalışmada folikasit, vitamin B₁₂ ve B₆'nın yüksek homosistein düzeyleri ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (66, 87, 89, 90, 91).

Son yıllarda tedavi yaklaşımı, kombine olarak vitamin verilmesi yönündedir. Günlük olarak insanlarda 400 µgr folat, 5 mEq'dan daha az demir, 1-2 µgr vitamin B₁₂, 10-40 mg B₆ vitamini içeren multi-vitamin kompleksine ek olarak 800 µgr folat verilmektedir. Tedaviye 8-10 hafta devam edilerek homosistein düzeyleri önemli ölçüde düşürülmektedir (92).

3.4. Homosistein ve Kalp- Damar Hastalıkları

Homosisteinin koroner kalp hastalıkları (KKH) ve vasküler hastalıklar ile ilişkisi uzun yıllardan beri bilinmektedir. Birçok araştırma, koroner kalp hastalığı için plazma homosistein yüksekliğinin bağımsız bir risk faktörü olduğunu

göstermiştir (89, 93). MTHFR enzim eksikliği olanlarda koroner kalp hastalığı riski en az iki kat artmıştır (94). MTHFR enziminin eksikliğinin popülasyonda görülme sıklığı %5 iken, koroner kalp hastalığı olanlardaki oran %17'dir (95). Ayrıca koroner kalp hastalığı olanlarda homosistein düzeylerine bakılmaksızın vitamin B₁₂ ve folat düzeyleri araştırılmış, sağlıklı olan gruba oranla KKH olan grupta bu vitaminlerin serum düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur (87, 91). Koroner kalp hastalıkları multifaktöriyel bir hastalık olup, geçmişte koroner kalp hastalıkları ile ilgili birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Geleneksel risk faktörleri içinde; yaş, cinsiyet, ailesel faktörler, hipertansiyon, obezite, yüksek LDL, düşük HDL (high density lipoprotein), diyabet, sigara, çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan BaP sayılmaktadır. Son yıllarda trigliserit, lipoprotein A, LDL ve HDL'nin alt fraksiyonları, modifiye LDL, apoE fenotipi/genotipi, fibrinojen ve homosistein gibi yeni risk faktörlerinin tanımlanmasında dikkate değer ilerlemeler olmuştur. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma yüksek serum kolesterol, trigliserit ve LDL düzeyleri ve düşük HDL düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (96, 97).

HDL'nin birincil görevi kolesterolu periferden mobilize edip kan dolaşımından uzaklaştırarak karaciğere getirmektir. Bu nedenle HDL konsantrasyonları ile koroner kalp hastalıkları riski arasında ters ilişki bulunmaktadır. HDL aynı zamanda LDL'yi de oksidasyondan korumaktadır. HDL kolesterolünde %1'lik bir artış KKH riskinde %2-4'lük bir azalmaya neden olmaktadır. Düşük HDL düzeyleri, diğer aterojenik lipoproteinlerin ve risk

faktörlerinin delilini oluştururken 60mg/dl HDL konsantrasyonu koruyucu olarak düşünülmektedir (98, 99).

Homosisteinin otooksidasyonu sonucu superoksit, hidrojenperoksit ve hidroksil radikali gibi birçok aktif oksijen türleri ortaya çıkmasına rağmen, hiperhomosisteinemiye bağlı vasküler toksisiteden esas olarak hidrojen peroksit sorumludur. Hidrojen peroksit oluşuktan sonra hücre duvarını geçerek intaselüler katalaz veya glutatyon peroksidaz tarafından inaktive edilir. Homosistein glutatyon peroksidazı inhibe ederek bu işlemin oluşumunu engeller (59, 81).

3.5. Lipitler ve Plazma Lipoproteinler

3.5.1. Lipitler

Lipitler suda çözünemeyen maddelerdir. Plazmada bulunan başlıca lipitler; trigliseritler, fosfolipitler, serbest kolesterol, kolesterol esterleri ve serbest yağ asitleridir. Plazmada serbest yağ asitleri albümine bağlı taşınırken; kolesterol, trigliserit ve fosfolipitler ise lipoprotein karmaları halinde taşınır. Bu karmalar lipitlerin çözünabilirliğini önemli ölçüde artırır (100).

Trigliserit, üç yağ asidinin üç karbonlu bir alkol olan gliserol ile esterleşmesi sonucu oluşur. Bir kısmı diyetle alınırken bir kısmı karaciğerde sentezlenir. Metabolizma sırasında enerji kaynağı olarak kullanılırlar. Trigliseritler hidrofobik olduklarından hücre içinde yağ damlacıkları halinde bulunur ve yağ asitlerinin depo şekli genelde trigliserit şeklindedir. Trigliseritler indirgenmiş olduklarından metabolik enerjinin yoğun depolarıdır. Organizmanın ihtiyacından fazla alınan karbonhidrat ve yağlar, karaciğerde trigliseritlere

dönüştürülür. Karaciğerde yapılan VLD yine karaciğerde sentezlenen trigliseritleri ekstrahepatik dokulara (başta kas ve adipoz doku) taşımaktadır (101, 102).

Kolesterol, insanlarda en çok bulunan 27 karbonlu steroldür. Steroit yapıda katı bir alkol olup, 17. karbon atomuna bağlı hidrokarbon yan zincirinden dolayı, lipit özelliği gösterir. Kolesterol dışarıdan alınabildiği gibi, karaciğer, bağırsak, adrenal korteks ve üreme dokuları başta olmak üzere tüm dokular tarafından vücutta asetil- CoA'dan sentezlenir. Kolesterol bütün hücre zarlarının bileşenidir. Safra asitleri, D vitamini ve steroid hormonların sentezinde kullanılır. Kolesterolün enerji üretilmediğinden bir başka deyişle kolesterolün halka yapısı CO₂ ve H₂O metabolize edilemediğinden sentezi kolay yıkımı ise zordur (103).

3.5.2. Plazma Lipoproteinler

Plazma lipoproteinleri, apoproteinler olarak adlandırılan özgün proteinlerle lipitlerin birleşiminden oluşurlar. Plazma lipoproteinlerin bileşiminde, ortada bir nötral çekirdek bulunur. Bu çekirdek trigliserit ve/veya ester kolesterol içerir. Bu kısmın çevresinde, apoproteinler, fosfolipit ve serbest kolesterolden oluşmuş bir kabuk kısım bulunur. Kabuğun polar kısımlarının yüzeye yakın bulunması, lipoprotein suda eriyebilmesini sağlar. Lipoproteinler, lipitlerin (trigliserit, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipitler) plazmada çözünür halde taşınmasını ve lipit içeriğini dokulara verilmesini sağlar (100). Karaciğerde sentezlenen veya besinlerle alınan trigliserit ve kolesterol gibi lipitler, proteinler ile birleşerek kanda çözünebilen lipit ve protein kompleksi halinde taşınır. Lipitlerin taşınmasında farklı görevleri olan başlıca beş lipoprotein sınıfı vardır. Bunlar şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL ve HDL'dir. Trigliseritler ve

şilomikronlar VLDL'de, kolesterol LDL'de ve fosfolipitler de HDL'de en çok bulunan lipitlerdir (99).

Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), çapları en küçük, yoğunlukları en fazla olan lipoprotein partikülüdür. Protein ve fosfolipit içeriği yüksektir. HDL' nin apolipoproteinleri Apo-AI (%65), Apo-AII (%25) ve daha az miktarda Apo-C ve Apo-E'dir. Plazmadaki Apo-E'nin %50'si HDL1 fraksiyonundadır. Diğer fraksiyonlarda Apo-E yoktur. HDL, Apo-E ve Apo-C deposu olarak görev görür (101). Apoprotein depo ve dağıtımını yanısıra, antioksidan deposu fonksiyonunda da bulunur. HDL'nin yapısında diğer lipoproteinlerden daha fazla tür ve miktarda antioksidanlar (vitamin-A, vitamin-E, β -karoten, transferrin, seruloplazmin ve paraoksonaz) bulunmaktadır. Bu antioksidanlar lipoproteinlerin oksidasyonlarını engellerler. Lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroza zemin hazırlar (104). HDL'nin görevlerinden biri karaciğer dışındaki dokulardan özellikle damar duvarından kolesterolü alarak diğer lipoproteinler aracılığı ile karaciğere taşımaktır. Bu özelliği fazla kolesterolün birikimini önler. HDL kolesterol düzeylerinin yüksek olması, koroner kalp hastalığı görülme olasılığını azalttığı yapılan çalışmalarda görülmüştür. Bu işlevi dolayısıyla anti-aterojenik lipoprotein olarak da adlandırılır (103).

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), kanda kolesterol taşıyan ve yoğunluğu 1,019-1,063 g/mL arasında olan lipoprotein sınıfına karşılık gelir. Karaciğerde üretilen çok düşük yoğunluklu lipoprotein (Veryn Low Density Lipoprotein, VLDL) metabolizması sonucu oluşur. LDL seviyesi ile kalp hastalıkları arasındaki bağlantıdan dolayı sıkça "kötü kolesterol" olarak anılır. LDL'in başlıca işlevi, kolesterol ve trigliserit üreten hücre ve dokulardan bu

molekülleri alıp bunlara gereksinimi olan hücre ve dokulara taşımaktır. Yapısında %21 protein, %11 triacilgliserol, %22 fosfolipit, %37 ester kolesterol, %8 serbest kolesterol ve %1 serbest yağ asitleri bulunur. Vücuttaki toplam kolesterolün %70'i LDL'de bulunmaktadır (105).

Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) plazma lipoproteinlerinin yoğunluğu 0,95-1.006 g/mL arasında olan bir alt grubudur. Kana ilk karıştığında %54 trigliserit, %18 fosfolipit, %12 ester kolesterol, %7 kolesterol, %1 serbest yağ asidi ve %8 proteinden oluşur. Protein oranının göreceli azlığından dolayı diğer plazma lipoproteinlerine göre yoğunluğu çok düşüktür ($< 1,006 \text{ g/cm}^3$). Bu yüzden çok düşük yoğunluklu lipoprotein olarak adlandırılmıştır (106). Karaciğer, kolesterol ve trigliseritlerin sentezlendiği başlıca organdır. Bu organın ihtiyacını aşan kolesterol ve trigliseritler VLDL tanecikleri olarak kana salınırlar. VLDL büyük çoğunlukla trigliseritlerden oluşmuştur (107). Sindirim sırasında ince barsaktan bol miktarda trigliserit yüklü şilomikron tanecikleri salgılanır, diğer zamanlarda ise trigliserit içeren lipoproteinler karaciğerin salgıladığı VLDL tanecikleridir. VLDL karaciğerde sentezlenmiş kolesterolü, trigliseritleri, fosfolipitleri ve kolesteril esterleri taşır. Suda çözünemeyen bu lipitler VLDL'in bünyesi içinde paketlenince kanda taşınabilir hale gelirler. Bu taneciklerde bulunan apo B ve apo E apolipoproteinleri hem onları sağlamlaştırır, hem de metabolik yaşamlarının sonunda hücreler tarafından tanınıp endositoz yoluyla dolaşımdan çıkartılmalarını sağlar (106, 108). VLDL, karaciğerde oluştuktan sonra taşıdıkları trigliseritleri vücuttaki çeşitli dokulara aktarırlar, bu sürecin sonunda LDL'ye dönüşürler (105).

3.6. LDL Oksidasyonu

Son yıllarda, ateroskleroz patogenezinde serbest radikaller ve lipit peroksidleri de giderek önem kazanmaktadır. Lipit peroksidleri gerek yağlı çizgilerin, gerekse ileri aterosklerotik lezyonların oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır (109, 110). Serbest radikaller ve lipit peroksidleri damarların endotel tabakasında hasar oluşturma (111), prostasiklin/tromboksan dengesini bozma (112), lipoproteinleri, özellikle LDL'yi oksitleme gibi değişik etkilerle ateroskleroz patogenezinde rol oynamaktadır. Oksitlenmiş LDL, arterlerin intima tabakasında makrofajlar ve düz kas hücrelerindeki çöpçü reseptörler tarafından kontrol dışı alınması ile köpük hücreleri (yağlı çizgiler) oluşmaktadır. Oksitlenmiş LDL sadece yağlı çizgilerin oluşumunu değil, ileri aterosklerotik lezyonların oluşumunu da yönlendirmektedir (113). Ateroskleroz oluşturulan deney hayvanlarında, çeşitli dokularda prooksidan-antioksidan dengenin değiştiği (114) ve LDL'nin oksidasyona duyarlılığının arttığı (115) gösterilmiştir. Benzer bulgular, aterosklerotik kalp-damar hastalığı olanlarda da gözlenmiştir (116, 117). Bunlara dayanarak, ateroskleroz tedavisinde lipit düzeylerini düşürmenin yanı sıra organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi düzeltici, LDL oksidasyonunu engelleyici yaklaşımlarda giderek önem kazanmaktadır. Ateroskleroz gelişiminde serum lipitleri temel bir rol oynamaktadır (118, 119).

Günümüzde ateroskleroz patogenezinde LDL oksidasyonu teorisi en geçerli bir teori olarak benimsenmektedir (120, 121). Gerçekten organizmada prooksidan-antioksidan sistemdeki değişimler, LDL oksidasyonu ve ateroskleroz arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir (122). Bilindiği gibi, serbest radikaller organizmada endojen oluşabildiği gibi, çeşitli ekzojen yani immun sistemi

baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip olan BaP gibi toksik maddelerin uyarılarıyla da oluşabilmektedir (123, 124). Özellikle bu radikaller ve radikallerin etkisi ile oluşan lipit peroksidleri serumda bulunmaktadır. Serumda uzun süre yüksek düzeyde seyreden lipit peroksidlerinin tek başına endotel hasarını oluşturmada etkili bir faktör olduğu bulunmuştur (111). Bunun yanı sıra lipit peroksidlerinin damar duvarlarında prostasiklin sentezini inhibe ettiği, tromboksan sentezini arttırdığı bulunmuştur (112). Bu sonuçlar serbest radikaller ve lipit peroksidlerinin ateroskleroz patojenezindeki rolünün çok yönlü olduğunu göstermiştir. İlk kez 1952 yılında Glavind ve ark. (125) tarafından başlatılan bu çalışmalar günümüze değin değişik araştırma gruplarınca sürdürülmüş ve ateroskleroz oluşturulan deney hayvanlarında (126), kalp-damar hastalığı olan kişilerde (127, 128.), hiperkolesterolemik fare ve sıçanlarda (129) ve insanlarda (130) prooksidan ve antioksidan dengenin prooksidasyon yönünde değiştiği, LDL oksidasyonunun arttığı bulunmuştur. Bunlara dayanarak, ateroskleroz tedavisinde lipit düzeylerini düşürmenin yanısıra organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi düzeltici, LDL oksidasyonunu engelleyici yaklaşımlar da giderek önem kazanmaktadır. LDL oksidasyonunu artıran BaP'in zararlarını azaltmak için gıda, tütün ve diğer bitkilerin dumanı, iş çevreleri ve doğrudan BaP içeren maddelerle temasdan kaçınılması LDL oksidasyonunu engelleyici yaklaşımlar olarak değerlendirilebilir. Bu yönde çeşitli deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmış ve genellikle olumlu sonuçlar elde edilmiştir (131).

İlk olarak 1978 yılında Wilcken ve arkadaşları (132) koroner arter hastalığı olan kişilerde metionin yüklemesini takiben homosistein

düzeylelerinde hafif yükselme tespit etmişlerdir. Bu hafif homosisteinemi ile vasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi gösteren ilk çalışmadır. Daha sonra KAH, periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalıkla (SVH) hafif hiperhomosisteinemi arasında pozitif bir ilişki olduğu değişik çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalarda hiperhomosisteineminin hiperlipidemi, hipertansiyon ve obezite gibi risk faktörlerinden bağımsız bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. O tarihten bu zamana kadar homosisteinle, vasküler hastalık ve tromboz başta olmak üzere birçok hastalık arasında ilişki olduğunu gösteren sayısız çalışmalar yapılmıştır. Artık hiperhomosisteineminin hiperlipidemi, hiperkolesterolemi ve sigara gibi bağımsız bir koroner risk faktörü olarak kabul edilmektedir.

3.7. Benzo(A)Piren, Homosistein ve LDL Oksidasyonu

İnsanların, çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan ve immun sistemi baskılayan, güçlü kanserojen ve aterojen özelliğe sahip olan BaP'a maruziyeti sıklıkla olmaktadır (133). BaP membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunda artışa neden olur. Bu artış, ya süperoksit radikal seviyesinin artmasının ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak oluşabilir (48, 3). Serbest radikal düzeylerinin artması hücrenin antioksidan savunma sisteminde bir azalmaya neden olur (134). Oksidatif strese bağlı olarak oluşan bu serbest radikallerin düzeyleri kontrol edilemezse, bu radikaller ve lipit peroksidasyon (LPO) sonucu oluşan malondialdehit (MDA) gibi bazı toksik ürünler nükleik asit, aminoasit, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi hücrenin temel unsurlarını olumsuz etkiler. Hidroksil

radikalleri gibi serbest radikaller ve MDA gibi toksik ürünlerin etkisiyle, DNA yakınlarında sentezlenen pürin ve pirimidin bazıları zarar görür. Genetik materyalde mutasyonlar sonucu başta kanser olmak üzere birçok fonksiyon bozukluğu meydana gelebilir (135, 136, 137).

Hiperhomosisteineminin endotele primer sitotoksik etkisi oksidatif hasar kanalıyla olmaktadır. Homosistein LDL kolesterolün oksidasyonuna neden olarak, LDL'nin plazmadan temizlenmesini sağlayan reseptörlere bağlanmasını engellemekte, okside LDL'nin serum düzeyini artırmakta ve endotelde köpük hücrelerine dönüşümlerini sağlayarak ateroskleroza zemin hazırlamaktadır. Homosisteinin yukarıda belirtilen etkisi sonucunda damar endoteli hasara uğramakta, yapısı bozulmakta, trombotik eğilim artmakta ve lipidler okside olmaktadır. Bu mekanizmalar sonucunda plazma kolayca koagüle olmakta, bu da koroner kalp hastalığı başta olmak üzere periferik arter hastalıklarına neden olmaktadır (11, 59, 138).

Bu çalışmada, güçlü oksidan ve kanserojenik etkiye sahip olan BaP'ın, kalp ve damar hastalıklarının etiolojisinde önemli rol oynayan homosistein ve lipit profilleri düzeyi üzerine etkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) sınıfında yer alan Benzo(a)piren (BaP), çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan ve toksik etkili, immün sistemi baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip bir maddedir. Canlıların diyetssel ve çevresel olarak oldukça sık maruz kaldığı BaP, organizmada tetiklediği Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ile hücre zarları ve DNA'da önemli fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Özellikle karaciğerdeki oksidatif tahrip sonucu, muhtemelen kalp damar

hastalıklarının bağımsız bir risk faktörü olan, homosistein metabolizmasını etkileyebilir. Yapılan literatür taramalarında BaP ile homosistein seviyesi arasında bir ilişkiye rastlanmamıştır. Bu açıdan bu çalışma önem kazanmaktadır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (FÜBAP- VF.12.15). Çalışmamızda, F.Ü. Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜTDAM) temin edilen ortalama 200 g ağırlığında 8-10 haftalık 14 adet dişi Wistar albino cinsi ratlar kullanıldı. Araştırma FÜTDAM' da, deneysel araştırma standartlarına uygun olarak gerçekleştirildi. Araştırmada, ratlar için kullanılan özel kafeslerde barındırıldı. Kafeslerin özel bir bölümüne uçlarında damlalık bulunan ve ratların sürekli taze su alabilmelerini sağlayan şişeler yerleştirildi. Kafeslerin düzenli olarak temizlenmesi sağlandı.

Ratlar, çalışma öncesi bir hafta boyunca adaptasyon sağlamaları açısından yem ve su ad-libitum olarak verildi. Yem olarak, Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi kullanıldı. Yem içeriği Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Ratlara Verilen Yemin Bileşimi

Yem Maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	30
Mısır	15
Arpa	10
Kepek (Buğday)	5
Soya küspesi	30
Balık unu	6.5
Limestone (Mermer tozu)	2
Tuz	1
Metionin	0.25
* Vitamin ve Mineral karması	0,25

*A (12.000.000 IU), D₃ (2.400.000 IU), E (30.000 mg), K₃ (2.500 mg), B₁ (3.000 mg), B₂ (7.000 mg), B₆ (4.000 mg), B₁₂ (15 mg) vitaminleri ile nicotinamide (40.000 mg), folic acid (1.000 mg), D-biotin (45 mg), vitamin C (50.000 mg) ve Choline chloride (125.000 mg)'ten oluşmaktadır. Mangan (80.000 mg), Demir (40.000 mg), Çinko (60.000 mg), Bakır (5.000 mg), İyot (400 mg), Kobalt (100 mg), Selenyum (150 mg) mineralleri ile Antioksidan (10.000 mg)'dan oluşmuştur.

4.1. Yöntem

Araştırmada kullanılacak ratlardan iki grup oluşturuldu. Bu gruplar aşağıda belirtilmiştir.

1. Grup (Kontrol Grubu) (n=7): Plasebo olarak plasebo olarak tricapyrilin (Sigma–Aldrich) deri altı olarak uygulandı.

2. Grup (BaP Grubu) (n=7): 50 mg/kg 3,4 benzo(a)pyren (Sigma–Aldrich), tricapyrilin içinde çözdürülerek deri altı yolla tek doz uygulandı.

4.2. Kan Örneklerinin Alınması

Deneyisel uygulamadan 10 hafta sonra, 12 saatlik açlık periyodunu müteakiben kan örnekleri, eter anestezisi altında kalpten punksiyon ile alındı. EDTA’lı tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm’de +4 °C’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, üstte kalan plazma kısmı polipropilen tüplere alınarak yapılacak analizler için –20 °C’de muhafaza edildi.

4.3. Metodlar

4.3.1. Plazma Homosistein ve Lipit Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma homosistein düzeyleri immuchrom marka ticari kit kullanılarak HPLC (Shimadzu) ile belirlendi. Sonuçlar µmol/L olarak verilmiştir. Plazma total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL ve HDL düzeyleri ticari kitler kullanılarak otoanalizörde (Siemens advia 2400) belirlendi. Bu analizler F.Ü. Tıp Merkezinde yapılmıştır.

4.3.2. Histopatolojik Metot

Kalp damarlarındaki morfolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla, kalbin koroner damarlarını içeren kısımlarından alınan kalp dokuları; %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içerisine bırakılarak 24 saat süre ile tespit edildi. Bu süre sonunda epikardiyal koroner arterlerin değerlendirilmesi amacıyla her rata ait kalp dokuları aynı kısımlarından geçecek şekilde transversal olarak küçültme işlemine tabi tutularak tekrar 48 saat süre tespit solüsyonuna bırakıldı. Tespit solüsyonundan alınan dokular 12 saat çeşme suyunda yıkandıktan sonra rutin klasik işlemlerden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. Bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eosin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (139). Oküler mikrometre yardımıyla her hayvana ait kalp kesitlerinde koroner damar çapı ve duvar kalınlıkları ölçüldü. Damar duvar kalınlığının damar çaplarına oranlaması yapıldı.

4.3.3. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen tüm veriler tanımlayıcı istatistiksel olarak ortalama ± standart hata (SE) ile ifade edildi. İstatistiksel analizler SPSS (15.0) bilgisayar programında yapıldı. Verilerinin grup ortalamaları arasındaki farklılıklar parametrik test varsayımları yerine geldiği için bağımsız t Testi uygulandı. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ ve daha küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Oküler mikrometre yardımıyla her hayvana ait kalp kesitlerinde koroner damar çapı ve duvar kalınlıkları ölçüldü. Damar duvar kalınlığının damar çaplarına oranlaması yapıldı. Elde edilen tüm değerler istatistiksel açıdan Bağımsız t Testi ile değerlendirildi.

5. BULGULAR

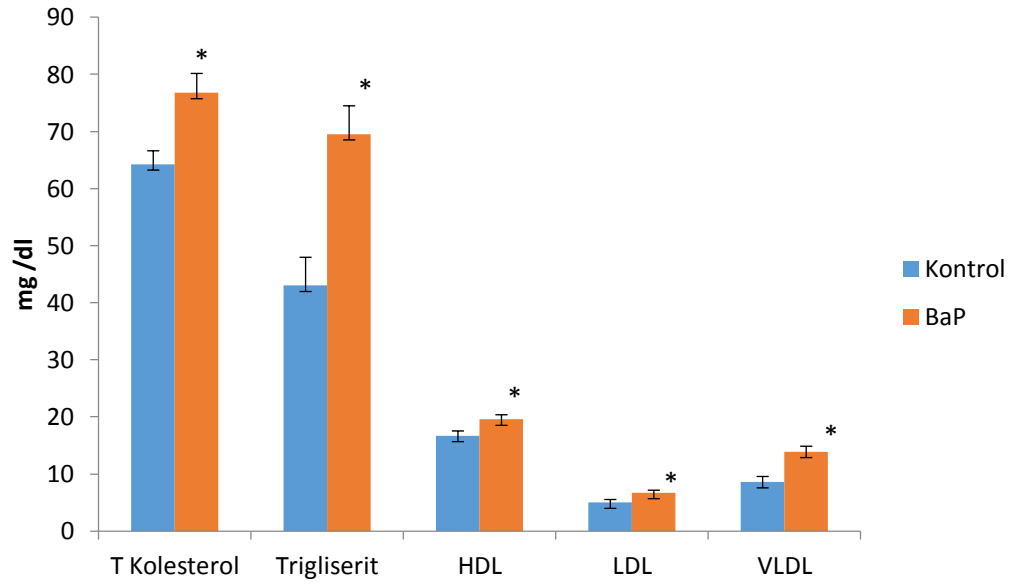
5.1. Plazma Homosistein ve Lipit Düzeyleri

Çalışmada, gruplara ait elde edilen plazma homosistein ve lipit düzeyleri Tablo.3' te verilmiştir. Bu verilere göre; kontrol grubuna kıyasla BaP verilen ratların total kolesterol, trigliserit HDL, LDL ve VLDL düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). BaP uygulanan grupta kontrole göre homosistein seviyesinde bir artış görülmesine rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3. Ratlarda Plazma Homosistein ve Lipit Düzeyleri, ($X\pm SE$)

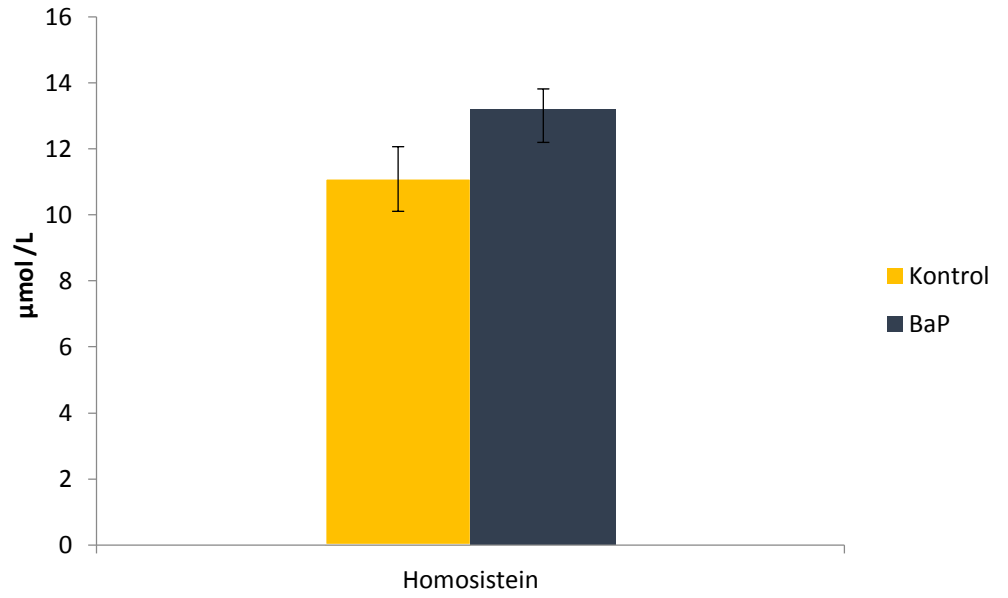
Parametreler	Kontrol Grubu (n=7)	BaP Grubu (n=7)	Pdeğeri
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	11,11 \pm 0,96	13,20 \pm 0,62	0,081
T. kolesterol (mg/dl)	64,28 \pm 2,37	76,77 \pm 3,43*	0,14
Trigliserit (mg/dl)	43,00 \pm 5,00	69,55 \pm 4,98*	0,002
HDL (mg/dl)	16,70 \pm 0,87	19,56 \pm 0,85*	0,036
LDL (mg/dl)	5,02 \pm 0,55	6,71 \pm 0,49*	0,04
VLDL (mg/dl)	8,60 \pm 1,00	13,91 \pm 0,99*	0,002

*: Aynı satırdaki değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



*: Kontrole kıyasla fark önemlidir ($P < 0.05$).

Şekil 4. Plazma Lipit düzeyleri ($\bar{X} \pm SE$)



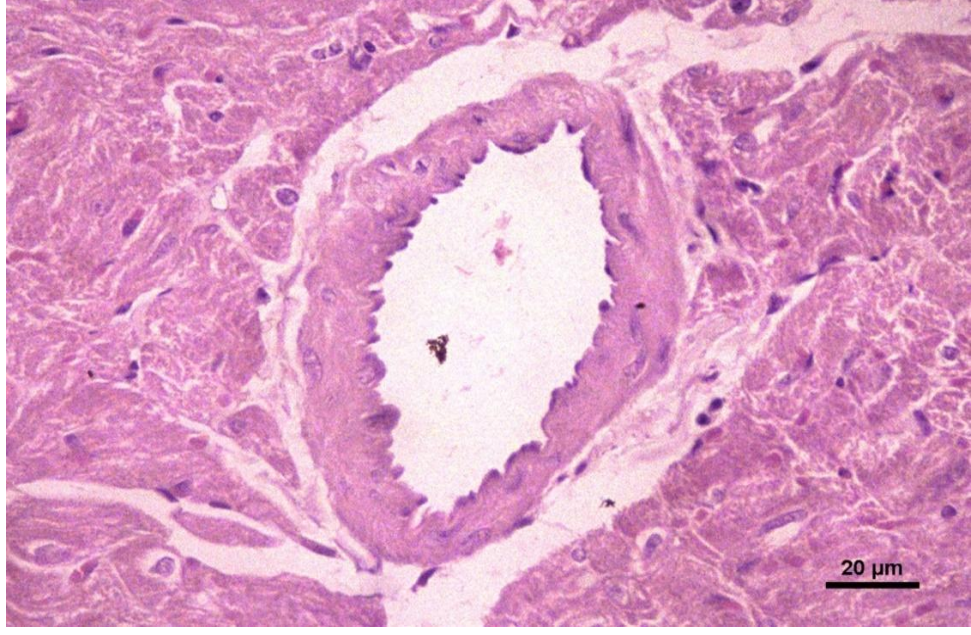
Şekil 5. Plazma Homosistein düzeyi ($\bar{X} \pm SE$)

5.2. Koroner Damarlarda Histopatolojik Bulgular

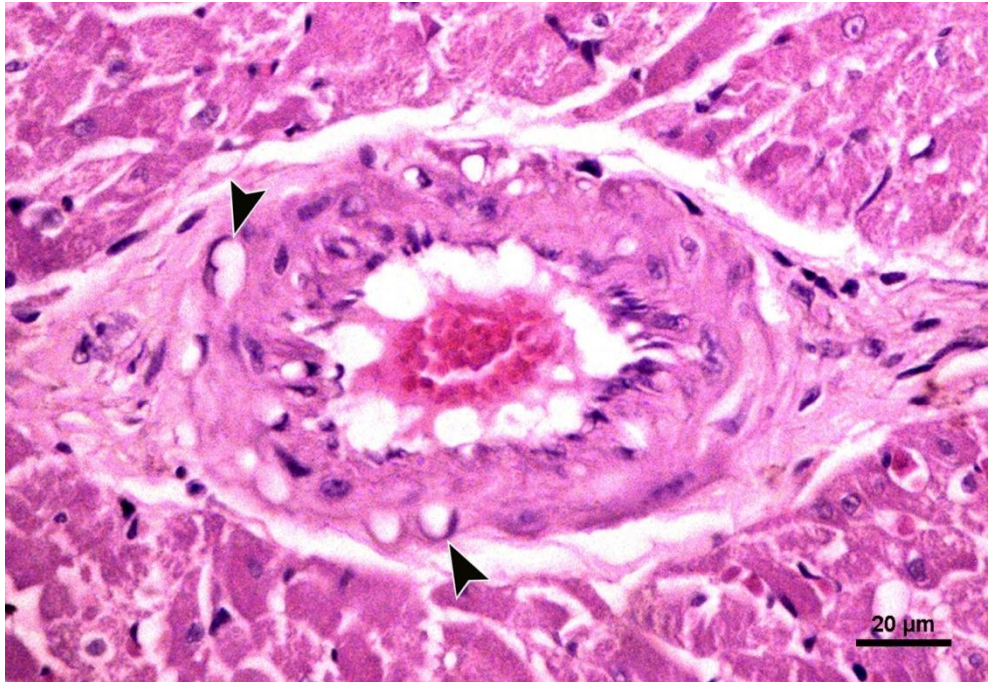
Tüm gruplara ait ortalama damar çapları ve damar duvarı kalınlık değerleri Tablo 4’de verilmiştir. İstatistiksel açıdan anılan değerler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($P>0.05$). Mikroskopik olarak kontrol grubuna ait koroner damarlarda herhangi bir değişim kaydedilmedi (Şekil 1). BaP grubunda ise epikardiyal koroner arterlerin musküler katmanındaki kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon tespit edildi (Şekil 2). Ek olarak belirgin peri-arteriyoler bağ doku artışı şekillendiği dikkati çekti (Şekil 3).

Tablo 4. Kontrol ve BaP gruplarında ortalama koroner arter çapı ve duvar kalınlıkları (μm).

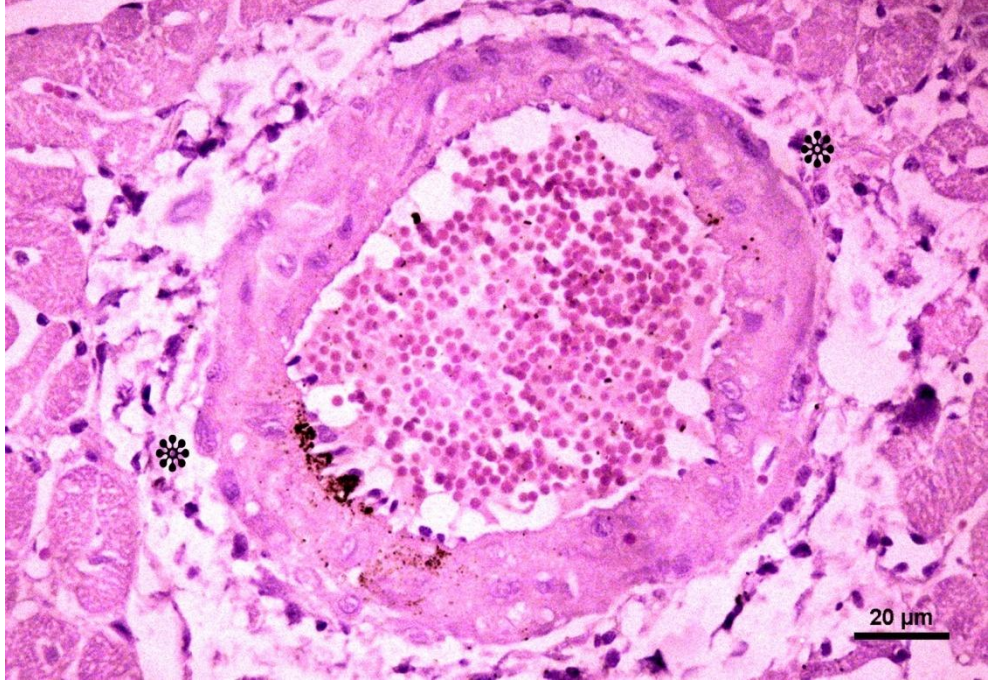
	Kontrol Grubu	BaP Grubu	P
Ortalama Koroner Arter çapı (μm)	111.25 \pm 5.66	106.85 \pm 4.57	0.549
Ortalama Koroner Arter duvar kalınlığı (μm)	20.56 \pm 0.89	22.85 \pm 0.98	0.90



Şekil 6. Kontrol grubu; Koroner arterin görünümü, H-E.



Şekil 7. BaP grubu; Muskuler tabaka düz kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (ok başları), H-E.



Şekil 8. BaP grubu; peri-arteriyoler bağ doku artışı (yıldızlar), H-E.

6. TARTIŞMA

Günümüzde, ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklar öncül rol oynamaktadır. Bu hastalıkların oluşumunda bazı kimyasal maddeler, hormonlar, yaş, cinsiyet, çevre faktörleri, genetik faktörler ve en önemlisi de oksidatif stres rol oynamaktadır. Yaşam için birçok aromatik bileşik gerekli olmasına rağmen, bazıları da tehlikelidir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) grubunda yer alan Benzo(a)pirende (BaP) bu maddelerden biridir. Benzo(a)pyren, güçlü kanserojen, aterojen ve oksidatif etkiye sahip olan kimyasal ve çevresel faktörlerden biridir (2, 3, 6, 47, 140, 141). BaP toksik etkili çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan, immun sistemi baskılayan ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip bir maddedir (5). Çevrede yaygın olarak bulunan BaP, genellikle su, toprak, endüstriyel çalışma ortamları, sigara dumanı, kirli hava ve kömürde yapılan ızgara ve tütsülenmiş etlerde çok miktarda bulunmaktadır (5, 6). Canlıların BaP'a maruz kalması; kirli havanın solunması, gıda alımı, deri ve özellikle sigara dumanında bulunan partiküllerin inhalasyonu yoluyla olmaktadır (7, 8, 142). BaP, ratlarda ağız yoluyla alındıktan kısa bir süre sonra karaciğer, akciğer ve böbrek dokularına yayılmaktadır. Ayrıca BaP'ın kan beyin engelini kolayca geçtiği ifade edilmektedir (3, 7, 143, 144). BaP, mutajenik ve kanserojenik etkilerini oluşturmadan önce, reaktif türleri oluşturmak için organizmada metabolik olarak bir aktivasyon geçirirler (42). BaP metabolizması için çok önemli olan sitokrom p-450 enzimlerinin uyarılması sonucu süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS) oluşur (47). Organizmada, özellikle hücre membranlarında

ve kanda bulunan çok zincirli doymamış yağ asitleri (PUFA) ROS'a oldukça duyarlıdır. PUFA'nın ROS tarafından oksidasyonu sonucu lipit peroksidleri oluşmaktadır. Lipit peroksidasyonu; hücre zarlarının işlevini bozarak, enzim ile diğer hücre bileşenlerini olumsuz etkileyerek ve son ürün olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olurlar (6, 145, 146). Serbest radikaller özellikle lipit peroksidleri; ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, kanser, inflamasyon, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları, böbrek bozuklukları, kas hastalıkları gibi birçok hastalığın oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkilidir (147). Serbest radikallerin bu toksik etkileri, hücrede birinci derecede önemli olan enzim sistemleri (SOD, CAT, GSH-Px) ve antioksidanlar ile ortadan kaldırılabilir. Antioksidanlar, bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere ve diğer elektrofilik ürünlere dönüşümünü engelleyerek gösterirler (2, 6).

İnsanların yüksek dozda BaP'a maruz kalması, birçok organlarda kansere neden olmasına ilaveten ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık oranlarında da artışa neden olmaktadır. İnsanlardaki kardiyovasküler morbidite ve mortalite de sigara dumanı, hava kirliliği ve endüstriyel çalışma ortamlarının önemli etkisi olduğu ve bu etki dikkate alındığında, PAH'ların kardiyovasküler hastalıkların etiolojisinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (148). Hem temel bilim hem de halk sağlığı araştırmalarında elde edilen bulgular, PAH'a maruz kalma ile kardiyovasküler hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Çeşitli hayvan türlerinde PAH uygulaması ile yapılan çalışmalar da, PAH'ın dozuna bağlı olarak aortik plak hacimlerinde önemli bir artışın olduğu ve uzun süreli PAH'a maruz kalanlarda, aterosklerotik plaklardaki inflamatuvar hücrelerin

sayısında önemli oranda artışın olduğu ifade edilmiştir (149, 150, 151). BaP'ın kaynağı olan Sigara ve kirli havaya maruz kalan insanlarda yapılan araştırmalarda, her iki etkenin de KVH'lar ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak yüksek oranda BaP'a maruz kalan kişilerde iskemik kalp hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklardan ölüm riskinin arttığı rapor edilmiştir (152, 153). PAH'ın ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık gelişiminde etkili olan mekanizmalardan biri inflamasyon olayıdır. BaP'ın inflamatuvar etkisi oldukça fazladır. Bu etki aterogenezi indükleyebilir. Birçok inflamatuvar faktör, aterosklerozun önemli derecede hazırlayıcısıdır (141, 142).

Hiperhomosisteinemi, son yıllarda kalp damar hastalıkları için sigara, hipertansiyon, obezite ve dislipidemiden bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (15, 16). Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olmakla birlikte, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan ve diğer aminoasitlerin aksine diyetle birlikte alınan metioninin metabolizması sonucu oluşan bir metabolik ara üründür (9). Plazma homosistein düzeyleri hem genetik hem de besinsel olarak düzenlenmektedir. Ayrıca çeşitli fizyolojik faktörler, kronik hastalıklar, çeşitli kanserler, koroner kalp hastalığı ve sigara gibi faktörler homosistein seviyesini yükseltirler (15, 154).

Koroner kalp hastalıkları ile ilgili birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Geleneksel risk faktörleri; yaş, cinsiyet, ailesel faktör, hipertansiyon, obezite, yüksek LDL, düşük HDL, diyabet ve sigaradır. Son yıllarda trigliserit, lipoprotein A, LDL ve HDL'nin alt fraksiyonları, modifiye LDL, apoE fenotipi ve homosistein gibi yeni risk faktörlerinin tanımlanmasında dikkate değer ilerlemeler olmuştur. Birçok epidemiyolojik çalışma yüksek serum kolesterol, trigliserit ve

LDL düzeyleri ve düşük HDL düzeyleri ile kardiovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (96, 97, 98).

Koroner kalp hastalıklarına (KKH), yol açan en önemli etiyolojik faktör aterosklerozdur. Homosistein düzeyi ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi, birçok çalışma göstermiştir (89, 93). Clark ve arkadaşları (155) metionin yükleme testleri yapılan koroner kalp hastalarının %30'unda ağır hiperhomosistenemi saptamışlardır. Robinson ve arkadaşları (156) periferik, serebral ve koroner arter hastalıklarına sahip kişilerde plazma homosistein seviyesinin kontrole oranla yaklaşık %80 arttığını tespit etmişlerdir.

Homosisteine bağlı aterojenik olaylar iki alanda toplanmıştır. Bunlar damar endotelindeki fonksiyonel anomaliler ve endotel hasar ile başlayıp bunu takip eden trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonu ve trombüs oluşumudur (84, 144). Araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada homosisteinin timidin alınımında ve siklik-mRNA düzeylerinde artışa yol açtığını, bunun sonucunda damar düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olduğunu ve sonuç olarak endotel hasarı yaptığı saptamıştır (157). Ayrıca homosistein düzeylerinin artması, tromboksan B₂ sentezini ve tromboksan A₂ aktivitesini artırmakta bu da damarın endotel yapısında spazm ve iskemi oluşturmaktadır (158). Homosistein, endotelde bulunan önemli bir antioksidan olan glutatyon peroksidazın aktivitesini azaltarak, lipit peroksidasyonunu arttırmaktadır (86). Homosisteindeki, sülfür gruplarının otooksidasyona uğraması sonucu oluşan hidroksil radikali ve hidrojen peroksitler, endotelde fonksiyonel hasarlara neden olur (85). Serbest radikaller ve homosistein LDL'nin oksidasyonuna neden olarak LDL'nin plazmadan temizlenmesini sağlayan reseptörlere bağlanmasını

engellemektedir. Böylece okside LDL hücreye alınıp katabolize edilemez. Bu da dolaşımda okside LDL'nin düzeyini artırmakta ve endotelde köpük hücrelerine dönüşümlerini sağlayarak ateroskleroza zemin hazırlamaktadır (85, 159, 160, 161).

HDL, LDL'nin oksidasyonunu azalttığı ve bu etkisiyle kardiovasküler sistem üzerine koruyucu etkinliğinin çok yönlü bir özellik taşıdığı bildirilmektedir (3, 145, 156, 161). HDL yüzeyinde antioksidan özellik taşıyan paraoksanaz enzimi bulunur. Bu enzim, HDL'yi oksidasyona karşı koruyarak HDL'nin kolesterol geri transport aktivitesinin devamını sağlar. Ayrıca hidroperoksit ve hidrojen peroksitleri hidrolize ederek LDL'yi oksidasyona dirençli kılar. HDL, antioksidan etkinliği ile endotel hücrelerinde sentezlenen ve vazodilatatör bir madde olan nitrik oksidin (NO) oksidasyonunu önleyerek vasküler hemostazın devam etmesini sağlar (3).

BaP membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunda artışa neden olur. Bu artış ya ROS seviyesinin artmasından ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak oluşabilir (162). Homosistein de, endoteldeki glutatyon peroksidazın aktivitesini azaltarak, lipit peroksidasyonunu arttırmaktadır. Serbest radikal düzeylerinin artması hücrenin antioksidan savunma sisteminde bir azalmaya neden olur (34). Oksidatif strese bağlı olarak oluşan bu serbest radikallerin düzeyleri kontrol edilemezse, bu radikaller ve LPO sonucu oluşan MDA gibi bazı toksik ürünler nükleik asit, aminoasit, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi hücrenin temel unsurlarını olumsuz etkiler, lipitler en hassas olanlarıdır. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek

peroksidasyon oluştururlar. Lipit peroksidasyonu ile şekillenen membran hasarı geriye dđnüşümsüzdür ve membranın akıcılık ve elastikiyetinde bozulmaya ve bunun sonucu olarak hücre parçalanmasına neden olur (160, 163, 164, 165).

Bu çalışmada, kanserojenik ve atrojenik etkiye sahip olan oksidan BaP'ın, kalp ve damar hastalıklarının etiolojisinde önemli rol oynayan homosistein ve lipit profilleri düzeyi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan literatür taramalarında BaP ile homosistein seviyesi arasında direkt bir ilişkiyi gösteren bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolaylı olarak katkı yapacak bazı çalışmalar üzerinden tartışılmıştır. Yapılan bir çalışmada sürekli sigara içen ve içmeyenlerde, idrar Bap metabolitleri ile homosistein ve akyuvar sayıları arasındaki ilişki araştırılmış, sonuçta idrar Bap metabolitleri ile homosistein ve akyuvar sayıları arasında küçük ama pozitif bir korelasyon olmasına rağmen, sigara içmeyenlerde bu korelasyonun olmadığı ifade edilmiştir (141). Yapılan diğer bir çalışmada, kardiyovasküler hastalıkları için, serum biyomarkırları olan homosistein ve fibrinojen seviyelerindeki yükselmenin PAH içeren sigara ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (150). Başka bir çalışmada da homosistein seviyesi, sigara içenlerde (15.02 $\mu\text{mol/L}$) içmeyenlere (13.29 $\mu\text{mol/L}$) kıyasla artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (166). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar incelendiğinde (Tablo. 3) Bap uygulanan grup, kontrol grubuyla kıyaslandığında homosistein seviyesinde bir artış görülmesine (sırasıyla 13,20 - 11,11 $\mu\text{mol/L}$) rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,081$). Bu sonuçları dolaylı olarak kısmen yukarıdaki bildirimler (150, 166) desteklemektedir. BaP'ın homosistein seviyesi üzerindeki etkisini daha uzun süreli çalışmalar muhtemel belirleyebilir. Elde ettiğimiz sonuç 10 haftalık sürede

BaP'in homosistein seviyesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığıdır. Bu sonuçlar bir sonraki çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Yukarıda belirtildiği gibi birçok epidemiyolojik çalışma serum kolesterol, trigliserit LDL ve HDL düzeyleri ile kardiovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Azalmış HDL'ye karşın artmış diğer lipit düzeylerinin aterosklerotik lezyonların gelişimini önemli dercede tetiklemektedir. Yapılan birçok çalışmada BaP ile lipit parametreleri arasındaki ilişki belirtilmiştir. BaP uygulanan farelerde serum HDL ve LDL seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir (167). BaP uygulanan kuşlarda plazma total kolesterol seviyesinin artmasına rağmen lipoproteinlerde farklılık olmadığı ve BaP 'ın aterosklerotik lezyonların gelişimini ve Brachiocephalik arterlerde lezyonların çap ve sayılarında artışa sebep olduğu bildirilmiştir (168). BaP' in yoğun olarak bulunduğu sigaranın lipit parametreler üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda; Sigara içen insalarda içmeyenlere kıyasla plazma lipitleriyle korelasyon halinde olduğu ama HDL'yi azalttığı (169), ayrıca total kolesterol, trigliserit, fosfolipit, VLDL seviyelerinde önemli artış HDL de ise azalma olduğu bildirilmiştir (170). Ratlarda yapılan bir çalışmada (171, 172) sigara dumanına maruz kalan ratlarda kontrollere kıyasla plazma total kolesterol, trigliserit seviyesinde artış olurken, HDL seviyesinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda verilen bildirimler, BaP ve BaP içeren sigaranın lipit profillerini olumsuz etkilediği yönündedir. Çalışmamızda, gruplara ait elde edilen plazma lipit düzeyleri (Tablo. 3)' te verilmiştir. Bu verilere göre; kontrol grubuna kıyasla BaP verilen ratların total kolesterol, trigliserit HDL, LDL ve VLDL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bu sonuçlar yukarıda verilen bildirimler tarafından desteklenmektedir. Ancak HDL seviyesindeki yükselme sadece (167) bildiriyle desteklenmektedir.

Farelerde BaP ile gerçekleştirilen deneysel çalışmada 12 hafta sonunda aortada orta şiddette aterosklerozise ilişkin başlangıç değişimlerinin gözlemlendiği vurgulanmış, 24 hafta sonunda ise aortada lipit birikimleri ve mononükleer hücre infiltrasyonları ile karakterize şiddetli aterosklerozis tespit edilmiştir (166). Sunulan çalışmada koroner damar duvarında lipit birikimleri gözlenmemekle birlikte kas hücrelerinde dejeneratif değişimler saptanmış, bu değişimlerin çalışmanın 10 haftada tamamlanmasından dolayı koroner damarlardaki aterosklerotik değişimlerin erken dönemi olabileceğine yorumlanmıştır.

Sonuç olarak BaP, canlıların diyetel ve çevresel olarak oldukça sık maruz kaldığı oksidatif etkili bir maddedir. Lipitler ve homosistein ise kardiyovasküler hastalıklarda önemli risk faktörleridir. Bu çalışmada elde edilen bulgular; kalp ve damar hastalıklarının etiolojisine ve özellikle BaP ile homosistein seviyesi arasındaki ilişkinin araştırılmamış olması açısından da, literatüre önemli katkı sunacağı kanısındayız.

7. KAYNAKLAR

1. Kızıl M. ve. Çay M. Benzo(A)piren Uygulanan Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Koruyucu Etkileri F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg 2000; 24: 81-85.
2. Boutin AC, Shirali P, Garçon G, et al. Peripheral markers (clara cell protein and α -glutathione S-Transferase) and lipidperoxidation (Malondialdehyde) assesment in sprague-dawley rats instilled with haematite and benzo(a)pyrene. Journal of applied toxicology 1998; 18(1), 39-45.
3. Evangelou A, Kalpouzios G, Karkabounas S, et al. Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. Cancer Letters 1997; 115: 105-111.
4. Kim HS, Kwack SJ, Lee BM. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes, and benzo(a)pyrene quinones in the blood of rats treated with benzo(a)pyrene. Chemico-Biological Interactions 2000; 127: 139-150.
5. Graham S, Craig F. Organik kimya. 7. basımdan çeviri. Çeviri editörleri Güral Okay, Yılmaz Yıldırım 2002; 514-515.
6. Hyung SK, Seung JK, Byung ML. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and benzo(a)pyrene-quinones in the blood of rats treated with benzo(a)pyrene Chemico-Biological Interactions 2000; 12: 139-150.
7. Das M, Mukhtar H, Seth P. Distribution of benzo(a)pyrene in discrete regions of the rat brain. Bull Environ Contam Toxicol 1985; 35: 500-504.
8. Philips DH. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. Mutat Res 1999; 443: 139-147.
9. Cooper AJL. Biochemistry of sulfur-containing Amino Acids. Ann Rev Biochem 1983; 52: 187-222.
10. James DF, John JM. Homocysteine. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology 2000; 32: 385-389.
11. Yüce A, Aksakal M. Ratlarda Homosisteinin Oksidan-Antioksidan Sistem ve Koroner Damarlarda Oluşturduğu Değişiklikler Üzerine Melatoninin Etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2006; 20(1): 51-59.
12. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia. Am J Pathol 1969; 56: 111-128.

13. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is Relationship between serum Cholesterol and Risk of Premature Death from coronary Heart Disease Continuosus and Graded Findings 356222 Primary screeners of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT).JAMA 1986; 256: 2823-2828.
14. Hopkins PN, Williams RR. Human Genetics Risk and Coronary Heart Disease: A Public Healt Perspective. Ann Rev Nutr 1989; 9: 303-345.
15. Fallest-Strobl PC, Koch DD, Stien JH, Mcbride PE. Homocysteine: a New Risk Factor for Atheroscklerosis. Am Fam Physician 1997; 56: 1607-1610
16. Lindgren F, Israelsson R, Lindgern L. Plasma Homocysteine in Acute Myocardial Infarction. J Intern Med 1995; 237: 381-386.
17. Tuominen J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography/mass spectrometry and method development in supercritical fluid chromalography. Technical Research Centre of Finland, Publications 60 Espoo, Finland, 1990.
18. Williams PT. Sampling and analysis of aromatic compounds from Compustion systems. Journal of the Institue of Energy 1990; 63: 22.
19. Moret S, Conte LS. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. Journal of Chromatography A 2000; 882: 245-253.
20. Kaya S, Pirinçi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi Ankara 1998; 35: 452
21. Moret S, Conte LS. A rapid method for Polycyclic aromatic hydrocarbons Determination in vegetable oils. Journal of Separation Sciense 2002; 25: 96-100.
22. International agency for research on cancer. Tobacco smoking, in: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Lyons. France 1986; 38
23. Graham S, Craig F. Organik kimya. 7. basımdan çeviri. Çeviri editörleri. Gural Okay, Yılmaz Yıldırım 2002; 514-515.
24. Anonim. Refik Saydam Hıfzısıha Merkezi Başkanlığı Çevre sağlığı Araştırma Müdürlüğü Hava Kirliliğine Genel Bakış 2003; 47-60
25. Anonim. International Agency for Researc on Cancer (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemical to humans, polynuclear aromatic compounds. Part 1, France, 1983.
26. Shuguan L, Dinhua P, Guoxiong W. Analysis of Polycyclic aromatic hydrocarbons in cooking oil fumes. Archives of Environmental Health 1994; 49(2): 119-122.

27. Moret S, Plani B, Bortolomeazzi R, Conte LS. HPLC determination of Polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils. *Z. Lebesm Unters Forsch A* 1997; 205: 116-120.
28. Troche VS, Falcon GMS, Amigo GS, Yusty LMA, Lozano SJ. Enrichment of benzo(a)pyrene in vegetable oils and determination by HPLC-FL. *Talanta* 2000; 51: 1069-1076.
29. Draman E. Aspirin ve antioksidanların (butylated hydroxyanisole ve askorbik asit) farelerde (mus musculus) benzo(a)pyrene hidroksilaz aktivitesi üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Samsun, 1994.
30. Gfrerer M, Lankmayr E. Microwave-assisted saponification for the determination of 16 Polycyclic aromatic hydrocarbons from pumpkin seed oils. *Journal of Separation Science* 2003; 26: 1230-1236.
31. ATSDR Toxicological Profile for Benzo(a)pyrene, May. Prepared by ICF-Clement under Contract No. 68-02-4235 for USDHHS, PHS, CDC, ATSDR, in collaboration with the United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA), with technical editing/document preparation by Oak Ridge National Laboratory. ATSDR/TP-88/05. ATSDR, CDC. Atlanta, Georgia, 1990.
32. ATSDR Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, December. Prepared by Clement International Corporation for the ATSDR, USDHHS, PHS, CDC. ATSDR/TP-90/20. ATSDR, CDC. Atlanta, Georgia, 1990.
33. ATSDR Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) (Update), August. Prepared by Research Triangle Institute for the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), United States Department of Health and Human Services (USDHHS), Public 1995.
34. Hicks HE. The Great Lakes: A historical overview. *Toxicol. Ind. Health* 1996; 12(2/3):303-313.
35. US EPA Ambient Water Quality Criteria for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, October, 1980. US. Environmental Protection Agency EPA-440/5-80-069. Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, US. Environmental Protection Agency, Washington DC, 1980.
36. Das UN. Effect of anti-oxidants, free radical quenchers and siklo oksigenase inhibitor on benzo(a)pyrene-induced suppression of human lymphocyte mitogenesis in vitro. *Med Sci Monit* 2002; 8 (6): 205-207.
37. Santodonato JP, Howard and D. Basu Health and ecological assessment of polynuclear aromatic hydrocarbons. *J. Environ. Pathol. Toxicol* 1981; 5: 1-376.

38. De Vos RH, Van Dokkum W, Schouten A, and Jong-Berkhout P. Polycyclicaromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chem. Toxicol* 1990; 28(4): 263-268.
39. Buckley TJ, Waldman JM, Dhara R, et al. Anassessment of a urinary biomarker for total human environmental exposure to benzo(a)pyrene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1995; 67(4): 257-266.
40. US EPA An Exposure and Risk Assessment for Benzo(a)pyrene and Other Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Vol. IV. EPA/440/4-85-020-V4. Prepared by Perwak, J. et al. at AD. Little, Inc. Cambridge, Massachusetts, October, 1982. Monitoring and Data Support Division, Office of Water Regulations and Standards, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1985.
41. Tremolada PV, Burnett D, Calamari and Jones KC. Special distribution of PAHs in the U.K. atmosphere using pine needle. *Environ. Sci. Technol* 1996; 30: 3570-3577.
42. Gelboin HV. Benzo(a)pyrene metabolism, Activation, and Carcinogenesis: Role and regulation of Mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiological reviews* 1980; 60: 4, 1107-1108.
43. Cheng L, Spitz MR, Hong WK, Wei Q. Reduced expression levels of nucleotide excision repair genes in lung cancer; a case-control analysis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1527-1530.
44. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *science* 1996; 274: 430-432.
45. Badary OA, Abd El-Gavad HM, Taha RA, Ali AA, Hamada FMA. Effects of benzo(a)pyrene on tissue activities of methabolising enzymes and antioxidant systeme in normal and protein-malnourished rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17 (2): 86-91.
46. Boysen G, Hecht SS. Analysis of DNA and protein adducts of benzo(a)pyrene in human tissues using structure-specific methods. *Mutat. Res* 2003; 543: 17-30.
47. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44: 239-267.
48. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OhdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer Letters* 1998; 132: 219-227.

49. Sullivan PD. Free radicals of benzo(a)pyrene and derivatives. *Environ. Health Perspect.* 1985; 64: 283-295.
50. OEHHA Benzo(a)pyrene as a Toxic Air Contaminant, Part B, Health Assessment: Health Effects of Benzo(a)pyrene. Prepared by Collins JF, and Alexeeff GV. Office of Environmental Health Hazard Assessment for the Air Resources Board (ARB), Cal/EPA. Sacramento CA. July, 1994.
51. Hack A, and Selenka F. Mobilization of PAH and PCB from contaminated soil using a digestive tract model. *Toxicol. Lett.* 1996; 88: 199-210.
52. Moody RP, Naddeau B. and Chu I. In vivo and in vitro dermal absorption of benzo(a)pyrene in rat, guinea pig, human and tissue-cultured skin. *J. Dermatol. Sci.* January 1995; 9(1): 48-58.
53. Moody RP, and Chu I. Dermal exposure to environmental contaminants in the Great Lakes. *Environ. Health Perspect.* December 1995; 103 (Suppl. 9): 103-114.
54. Dreher D, Junot AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996; 32: 30-38.
55. Charalabopoulos K, Karkabounas S, Charalabopoulos A, Papalimneou K, Ioachim HL, and Giannakopoulos X. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced carcinogenesis by vitamin C alone and by Vitamin C/vitamin E and Selenium/glutathione 2003; 93: 201-209.
56. Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N. Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food and Chem Toxicol.* 2001; 39: 423-436.
57. Keshava C, Whipkey D, Weston A. Transcriptional signatures of environmentally relevant exposures in normal human mammary epithelial cells: benzo(a)pyrene. *Cancer Letters* 2004; 1-11.
58. Slaga TJ, Bracken WM. The effects of antioxidants on skin tumor initiation and aryl hydrocarbon hydroxylase. *Cancer Research* 1977; 37: 1631-1635.
59. Welch NG, Upchurch RG, and Lascenzo J. Homocysteine. Oxidative stress and vascular disease. *Hospital Practice* 1997; 32: 81-92.
60. Selhub J, Miller JW. Pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1991; 55: 131-138.
61. Finkelstein JD. Methionine Metabolism in Mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228-237.

62. James DH, Rene LJ, Lori MS, Margaret EB, John TB. Regulation of Homocysteine Metabolism. *Avdan Enzyme Regul* 1999; 39: 69-91.
63. Mckeever PW, Weir DG, Mollay A, Scott JM. Betainehomocysteine Methyltransferase: Organ Distribution in Man, Pig and rat and Subcellular distribution in the Rat. *Clin Sci* 1991; 81: 551-556.
64. Wicken DEL, Dubman NPB. Homocystinuria and Atherosclerosis(Review). *Monogr Hum Genet* 1991; 14: 311-324.
65. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhup J. Nonfasting Plasma Total Homocysteine Levels and All-cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly Framingham Men and Women. *Arch Intern Med* 1999; 159 (10): 1077-1080.
66. Ubbink JB, Vermaak WJH, Von-der A, Becker PJ. Vitamin B12, Vitamin B6 and Folate Nutritional Status in Men with Hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 47-53.
67. Jousilahti P, Tuomilehto J, Vartiainen E, Pekkanen J, Puska P. Body Weight Cardiovascular Risk Faktors and Coronary Mortality. 15-Year Follow-up of Middle-aged Men and Women in Eastern Finland. *Circulation* 1996; 93: 1372-1379.
68. Kang S, Wong PWK, Curly K. The Effect of d-penicillamini on Protein-bound Homocysteine in Homocystinurics. *Pediatr Res* 1982; 16:370-372.
69. Cheng TO. Standardization (external and internal) of HPLC assay for plasma homocysteine. *Clin Chem* 1997; 43: 1653-1655.
70. Gruba S, Fink L, Fanceso V. Hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Path* 1996; 106: 709-722.
71. Andersson A, Brattström L, Israelsson B, et al. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 79-87.
72. Todesco L, Angst C, Litynski P, et al; MTHFR polymorphism, plasma homocysteine and age. *Eur J. Clin Invest* 1999; 29(12): 1003-9.
73. Brönstrup A, Pietrzik K. Low dose B vitamin intervention in elderly individuals: Extent of homocysteine plasma reduction and association with vitamin and genotype status for the methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Neth J. Med* 1998; 2:19.
74. Wouters MG, Mourrees MT, van der Moren MJ, et al: Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J. Clin Invest* 1995; 25: 801-5.

75. Van Asselt D, Pasman J, Vingerhoets D, et al: Positive effect of cobalamin supplementation on cognitive performance and cerebral function in free-living older subjects with low plasma cobalamin levels. *Neth J Med* 1998; 52:S2.
76. Van der Mooren MJ, Wouters MG, et al; Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in post-menopausal women. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 733-6.
77. Baal WM, Kenemans P, Teerlink T, et al: Homocysteine and postmenopausal HRT: Is progestagen the determining reducing factor? *Neth J Med* 1998; 52: 40.
78. Aronow WS, Ahn C, Schoenfeld MR. Association between plasma homocysteine and extracranial carotid arterial disease in older persons. *Am J Cardiol* 1997; 79: 1432-3.
79. Homocysteine Lowering Trialists Collaboration, Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: Meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 1998; 316: 894-8.
80. Naurath HJ, Joosten E, Riezler R, et al: Effects of vitamin B₁₂ folate and vitamin B₆ supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations. *Lancet* 1995; 346: 85.
81. Moghadasiam MH, Manus BM, Frohlich JJ. Homocysteine and coronary artery disease: Clinical evidence and genetic and metabolic background. *Arch Intern Med.* 1997; 157: 2299-2308.
82. Welch NG, Upchurch RG and Lasczko J. Homocysteine oxidative stress, and vascular disease. *Hospital practice* 1997; 32: 81-92.
83. Carlsen SM, Folling I, Grill V et al. Metformin increases total serum homocysteine levels in non-diabetic male patients with coronary heart disease. *Scand. J Clin Lab Invest* 1997; 57: 521-527.
84. Brattstrom L, Israelson B, Tengborn L. Homocysteine, Factor VII and Antithrombin III in Subjects with Difference Gene Damage for Cystathionine β Synthase. *J Inherit Metab Dis* 1989. 12: 475-482.
85. Stampfer MJ, Osborn JA, Jaraki M. Adverse Vascular Effects of Homocysteine are Modulated by Endothelium-derived Relaxing Factor and Related Oxides of Nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91: 308-318.
86. Upchurch GR, Welch GN, Freedman JE. Homocysteine Attenuates Endothelial Glutathione Peroxidase and Thereby Patients Peroxide Mediated Injury. *Circulation* 1995; 92: 1-28.

87. Dalery K, Luisier S, Selhup J, Latour Y. Homocysteine and Coronary Artery Disease in French Canadian Subject: Relation with Vitamins B12, B6, Pyridoxal Phosphate, and Folate. *Am J Cardiol* 1995; 75: 1107-1111.
88. Israelsson B, Brattström LE. Homocysteine and Myocardial Infarction. *Atherosclerosis* 1988; 71: 227-233.
89. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, et al: Serum Total Homocysteine and Coronary Heart Disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 704-709.
90. Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, et al: Neuropsychiatric Disorders Caused by Cobalamin Deficiency. *N Eng J Med* 1988; 318: 1720-1728.
91. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Aalleh RH. Prevalence of Cobalamin Deficiency in the Framingham Elderly Population. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 2-11.
92. Challem J, Doldy V. Homocysteine the Silent Killer. Keats Publishing, Inc New Canaan, USA, 1997.
93. Den Heijer M, Blom HJ, Gerrits WBJ. Is Hyperhomocysteinemia a Risk Factor for Recurrent Venous Thrombosis? *Lancet* 1995; 345: 882-885.
94. Morita H, Taguchi J, Kurihara H. Genetic Polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate Reductase as a Risk Factor for Coronary Artery Disease. *Circulation* 1997; 95: 2032-2036.
95. Kang SS, Wong PW, Susmano A. Thermolabile Methylene Tetrahydrofolate Reductase an Inherited Risk Factor for Coronary Artery Disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 536-545.
96. Frishman WH. Biologic Markers as Predictors of Cardiovascular Disease. *Am J Med* 1998; 104(6A):18-27.
97. Kannel WB, Sytkowski PA. Atherosclerotic Risk Factors. *Pharmac Ther* 1987; 32: 207-235.
98. Wu LL. Review of Risk Factors for Cardiovascular Diseases. *Ann Clin Lab. Sci* 1999; 29(2): 127-132.
99. Havel R. McCollum Award Lecture, Triglyceride-rich Lipoproteins and Atherosclerosis-New Perspectives. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 795-799.
100. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Açısından Tıbbi Farmakoloji Cilt-1 Hacettepe-Taş, 2000.
101. Adam B, Yiğitoğlu R, Göker Z. *Biyokimya & Klinik Biyokimya UTS Serisi. 2. Baskı: Atlas Kitapçılık* 1990.

102. Adam B, Ardiçoğlu Y. Klinik Biyokimya Analiz Metotları: 1. Baskı: Atlas Kitapçılık, 2002.
103. Mehmetoğlu İ. Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı. Yelken Basım Dağıtım, 3. Baskı, Konya, 2004.
104. Onat T, Emerk K, Sözmen E. İnsan Biyokimyası. Palme Yayınları, Ankara, 2002.
105. Walker HK, Hall WD. Clinical Methods, Third Edition. Editors Stoneham MA 9: Butterworth Publishers, 1990.
106. Freeman WH, and co. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. New York: Biochemistry, 5th ed. J, 1987.
107. Champe CP, Harvey AR. Biyokimya kitabı, LİPPİNCOTT'S Illustrated Review Serisinden: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.İstanbul 1997; 180-206-207-216-221.
108. Dean L, Mcentrye JR, Bethesda MD. The Genetic Landscape of diabetes. National Library of Medicene (US), 2004.
109. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: An overview. Free Radical Biol Med 2000; 12: 1815-1826.
110. Mügge A. The role of reactive oxygen species in atherosclerosis. Z Kardiol 1998; 87: 851-864.
111. Yagi K. Increased serum lipid peroxides initiate atherogenesis. Bio Essays 1985; 1: 58-60.
112. Warso MA, Lands WEM. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and pathophysiology. Brit Med Bull 1983; 39: 277-280.
113. Uysal M. Ateroskleroz, kalp-damar hastalıkları ve serbest radikaller. Aktüel Tıp Dergisi 2000; 5: 15-21.
114. Balkan J, Dogru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Uysal M. Serum prooxidant/antioxidant balance and LDL oxidation in healthy subjects with different cholesterol levels. Clin Exp Med 2004; 3: 237-242.
115. Balkan J, Hatipoglu A, Aykaç-Toker G, Uysal M. Influence of hazelnut oil administration on peroxidation status of erythrocytes and apolipoprotein B-100 containing lipoproteins in rabbits fed on a high cholesterol diet. J Agric Food Chem 2003; 51. 3905-3909.
116. Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Bulur H, Babalık E, Öztürk S, Aykaç-Toker G, Uysal M. Lipid peroxides and antioxidant status in serum of patients with angiographically defined coronary atherosclerosis. Clin Biochem 1999; 32: 671-672.

117. Mutlu-Türkoglu Ü, Akalın Z, İlhan E, Yılmaz E, Bilge A, Nisancı Y, Uysal M. Increased plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem* 2005; 38: 1059-1065.
118. Betteridge DJ, and Morrell JM. *Lipids and coronary heart disease*. Chapman and Hall Medical, London, 1998.
119. Grundy SM. *Atlas of Lipid Disorders, Cholesterol, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease*, Gower Medical Publ. New York 1990; 1: 2-1.38.
120. Itabe H. Oxidized low-density lipoproteins: What is understood and what remains to be clarified. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 1-9.
121. O'Brien KD, Chait A. The biology of the artery wall in atherogenesis. *Med Clin North Amer* 1994; 78: 41-67.
122. Jessup W, Kritharides L, Stocker R. Lipid oxidation in atherogenesis: An overview. *Biochem Soc Transact* 2004; 32: 134-138.
123. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford Science Publ. Oxford, 1999.
124. Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidanantioksidan dengelyi etkileyen kosullar. *Klinik Gelisim* 1998; 11: 336-341.
125. Glavind J, Hartmann S, Clemmesen J, Jessen KE, Dam H. Studies on the role of lipid peroxides in human pathology, II. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerotic aorta. *Acta Pathol* 1952; 30: 1-6.
126. Hatipoğlu A, Kanbağlı Ö, Balkan J, ve ark: Hazelnut oil administration reduces aortic cholesterol accumulation and lipid peroxides in plasma, liver and aorta of rabbits fed on a high-cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004; 68: 2050-2057.
127. Nishi K, Uno M, Fukuzawa K, et al: Clinicopathological significance of lipid peroxidation in carotid plaques. *Atherosclerosis* 2002; 160: 289-296.
128. Van de Vijver LPL, Kardinaal AFM, Van Duyvenvoorde W, et al: LDL oxidation and extent of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 193-199.

129. Sener G, Balkan J, Çevikbas U, Keyer-Uysal M, Uysal M. Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of C57BL/6J mice. *J Pineal Res* 2004; 36: 212-216.
130. Arujo FB, Barbosa DS, Hsin CY, Maranhao RC, Abdalla DSP: Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1995; 117: 61-71.
131. Mashima R, Witting PK, Stocker R. Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 411-418.
132. Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest.* 1976; 57: 211-215.
133. Das UN Effect of anti-oxidants, free radical quenchers and siklo oxigenase inhibitor on benzo(a)pyrene-induced suppression of human lymphocyte mitogenesis in vitro. *Med Sci Monit* 2002; 8 (6): 205-207.
134. Horrobin DF. Is the main problem in free radical damage caused by radiation, oxygen and other toxins the loss of membrane essential fatty acids rather than the accumulation of toxic materials? *Medical Hypothesis* 1991; 35: 23-26.
135. Barber DA, and Haris SR. Oxygen free radicals and antioxydants. *American Pharmacy* 1994; 34 (9): 26-35.
136. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull, Review* 1993; 49 (3): 481-93.
137. Skrzydlewska E, Stankiewicz A. Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer. *J. Toxicol and Environ Health* 2001; 64: 213-22.
138. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. *J Clin Inves* 1996; 98: 24.
139. Luna LG. (Ed), *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Third Edition, The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Company, London, 1968; 32-38.
140. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross C. *Modern Nutrition in health and disease*. Lippincott Williams & Wilkins. ABD, 1999.
141. John D. Clark, Berrin Serdar, David J. Lee, et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and serum inflammatory markers of cardiovascular disease. *Environmental Research* 2012; 117: 439-493.

142. Knaapen M, Curfs M, Pachen A, et al. The environmental carcinogen benzo[a]pyrene induces expression of monocyte-chemoattractant protein-1 in vascular tissue: a possible role in atherogenesis *Mutation Research* 2007; 621: 31–41
143. Hartwell JL, and P Shubik. Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity. Rockville MD. Thompson, 1967.
144. Malinow M, Nieto F, Szklo M. Carotid Artery Intimae Medial Wall Thickening and Plasma Homocysteine in Asymptomatic Adults. *Circulation* 1993; 87: 1107-1113.
145. Azzi A, Stocker A. Vitamin E: Non-antioxidan roles. *Prog Lipid Res* 2000; 39: 231-255.
146. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715-725.
147. Trush MA, Kensler TW. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free rad Biol Med* 1991; 10: 201-209.
148. Albert RE, Vanderlaan M, Burns FJ, et al. Effect of carcinogens on chicken atherosclerosis. *Cancer Res* 1977; 37: 2232–2235.
149. Curfs DMJ, Knaapen AM, Pachen DMFA, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons induce an inflammatory atherosclerotic plaque phenotype irrespective of their DNA binding properties. *The FASEB Journal* 2005; 19: 1290–1292.
150. Bazzan LA, He J, Muntner P, et al. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med* 2003; 138, 891–897
151. Burstyn I, Kromhout H, Partanen T, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and fatal ischemic heart disease. *Epidemiology* 2005; 16: 744–750.
152. Dominici F, Peng RD, Bell ML, et al. Fine particulate air pollution and hospital admission for cardio-vascular and respiratory diseases. *JAMA* 2006; 295: 1127–1134.
153. Mensah GA, Brown DW, Croft JB, et al. Major coronary risk factors and death from coronary heart disease: baseline and follow-up mortality data from the second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II). *Am J Prev Med* 2005; 29: 68–74.

154. Giral P, Bruckert E, Nelly J, et al. Homocysteine and Lipid Lowering Agents. A Comparison Between Atorvastatin and Fenofibrate in Patients with Mixed Hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001; 154: 421-427.
155. Clarke R, Daly L, Robinson K. Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-1155.
156. Robinson K, Arheart K, Refsum H. Low Circulating Folate and Vitamin B₆ Concentrations Risk Factors for Stroke, Peripheral Vascular Disease, and Coronary Artery Disease. *Circulation* 1998; 97: 437-443.
157. Tsai JC, Perala MA, Yarkizumi M. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 6369-6373.
158. Di Minno G, Davi G, Margaglione M. Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. *J Clin Invest* 1993; 92: 1400-1406.
159. Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2. Baskı, İstanbul, 2001.
160. Aydılek N. Testeron ve E vitaminin tavşanlarda bazı pıhtılaşma faktörleri lipit peroksidasyonu ve lipit değerleri üzerine etkileri. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Elazığ, 2002.
161. Ganong WF. Ganong Tıbbi Fizyoloji 19. Baskı Barış Kitabevi 1999; 324-325
162. Portakal O, Özkaya O, İnal ME, Bozan M, Sayek I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem* 2000; 33 : 279-284.
163. Ataş M. Diabetik Ratlarda Retina Lipit Peroksidasyonu üzerine Melatoninin Etkisi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Elazığ, 1998.
164. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
165. Delibaş N, Özçankaya R. Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Dergisi* 1995; 2 (3): 11-17.
166. Danielle MJ, Curfs Esther Lutgens, Marion JJ, et al. Exposure to the Carcinogenic Compound Benzo[a]Pyrene Induces Larger and Phenotypically Different Atherosclerotic Plaques in ApoE-Knockout Mice. *The American Journal of Pathology* 2004; 101-108
167. Godschalk R, Curfs D, Bartsch H, et al. Benzo[a]pyrene Enhances Lipid Peroxidation Induced DNA Damage in Aorta of Apolipoprotein E Knockout Mice. *Free Radical Research*, 2003; 37 (12): 1299-1305.

168. Hough JL, Baird MB, Sfeir GT, et al. Benzo(a)pyrene enhances atherosclerosis in White Carneau and Show Racer pigeons. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1993; 13: 1721-1727.
169. Jason P, Eiserich Albert Van Der Vliet, Garry J, Handelman Barry Halliwell, and Carroll E. Cross. Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 490-500.
170. Ashakumary L, and Vijayammal PL. Effect of Nicotine on Lipoprotein Metabolism in Rats. *Lipids*, 1997; 32(3)
171. Çay M, Nazıroglu M, Köylü H. Selenium and Vitamin E Modulates Cigarette Smoke Exposure-Induced Oxidative Stress in Blood of Rats. *Biol Trace Elem Res* 2009; 131: 62-70.
172. Nazıroglu M, Çay M. Vitamin C modulates blood lipid peroxidation and antioksidant enzyme values in rats exposed to cigarette smoke. *Cell Membrane and Free Radical Research* 2008; 1(2): 73-77.

8. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Kırıkkale’de doğdum. İlk, ortaokul ve lise öğrenimini Kırıkkale’de tamamladım. 2003 yılında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu, Ebelik bölümünden mezun oldum. 2010 yılında F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim.