

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SİGARA İÇEN, PASİF İÇİCİ VE SİGARA İÇMEYEN
ANNELERİN PERİFERİK VENÖZ KANI VE
BEBEKLERİNİN PLASENTA DOKUSU İLE KORD
KANINDA TOTAL OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN
KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mustafa VARMA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

ŞANLIURFA
2010

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SİGARA İÇEN, PASİF İÇİCİ VE SİGARA İÇMEYEN
ANNELERİN PERİFERİK VENÖZ KANI VE
BEBEKLERİNİN PLASENTA DOKUSU İLE KORD
KANINDA TOTAL OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN
KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mustafa VARMA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 2009/53 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2010

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Himmət KARAZEYBEK, Prof. Dr. Ahmet KOÇ, Prof. Dr. Akın İŞCAN, Prof. Dr. Murat SÖKER, Doç. Dr. Kabil ŞERMATOV, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN, Yrd. Doç. Dr. Ali ATAŞ, Yrd. Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK ve Doç. Dr. C. Dost ZEYREK'e teşekkürlerimi sunarım.

Kliniğimizde öğretim üyesi olduğu dönemde bu tezin danışmalığını yürüten, tezin projelendirilmesi, organizasyonu yapan, yan-dal eğitiminin başlaması dolayısıyla tez danışmanlığı sona ermesine rağmen sonuçlarının yorumlanması ve yazımında büyük emeği geçen ayrıca uzmanlık eğitimim süresince sabrını ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocam *Yrd. Doç. Dr. Ali AYÇİÇEK*'e teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarım ve tezimde yardımlarını esirgemeyen Dr. Faruk YILDIRIM'a, Dr. Mustafa AKÇALI'ya, Dr. Şadiye AKBIYIK'a, Dr. Veysi ALMAZ'a ve de fedakâr değerli arkadaşlarım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımındaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT'e ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya A.D. çalışanlarına, Dr. Hasan BİNİCİ ve biyolog Abdullah TAŞKIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak asistanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen sevgili eşime, anneme, babama, kardeşlerime ve tezimi geciktirmem için elinden gelen her şeyi yapan kızım HAYRÜNNİSA ve oğlum OĞUZHAN'na sevgilerimi sunarım.

Dr. Mustafa VARMA

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----------------|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| TABLO DİZİNİ | iv |
| GRAFİK DİZİNİ | v |
| SİMGE ve KISALTMALAR | vi |
| ÖZET | vii-vii |
| ABSTRACT | ix-x |
| 1. AMAÇ | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Sigara | 2 |
| 2.1.1. Nikotin | 3 |
| 2.1.2. Karbonmonoksit | 3-4 |
| 2.2. Gebelik | 5 |
| 2.2.1. Plasenta | 5-6 |
| 2.2.2. Fetal Zarlar | 6 |
| 2.2.3. Göbek Kordonu | 6 |
| 2.3. Plasental ve Fetal Beslenme | 6-7 |
| 2.4. Gebelikte Oksidan ve Antioksidan Durum | 7-10 |
| 2.5. Serbest Oksijen Radikalleri | 10-11 |
| 2.5.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu | 11-12 |
| 2.5.1.1. Süperoksit Radikali (O₂⁻) | 12 |
| 2.5.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) | 13 |
| 2.5.1.3. Hidroksil Radikali (HO⁻) | 13-14 |
| 2.5.1.4. Singlet Oksijen | 14 |
| 2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri | 15 |
| 2.5.3. Membranların Lipid Peroksidasyonu | 15-17 |
| 2.5.4. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu | 17 |
| 2.5.5. DNA Lezyonları | 18 |
| 2.5.6. Karbonhidratlara Etkileri | 18 |
| 2.5.7. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları | 18-19 |

| | |
|--|--------|
| 2.6 Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları | 19 |
| 2.6.1. Antioksidan etki tipleri | 19 |
| 2.6.2. Antioksidan Sistemler | 20-21 |
| 2.6.3. Enzimatik Antioksidanlar | 21 |
| 2.6.3.1 Süperoksit Dismutaz (SOD) | 21 |
| 2.6.3.2. Katalaz (CAT) | 21-22 |
| 2.6.3.3 Glutatyon Peroksidaz (GPx) | 22 |
| 2.6.3.4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST) | 23 |
| 2.6.3.5. Glutatyon Redüktaz (GR) | 23 |
| 2.6.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz | 23 |
| 2.6.4. Total Antioksidan Seviye (TAS) | 24-25 |
| 2.6.5. Vücutta Serbest Radikallere Karşı Savunma Gelişmesi | 25 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 26 |
| 3.1. Total Antioksidan Seviye (TAS) | 27 -28 |
| 3.2. Total Oksidant Seviye (TOS) | 29 |
| 3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) | 29 |
| 3.4. İstatistiksel Analiz | 30 |
| 4. BULGULAR | 31-41 |
| 5. TARTIŞMA | 42-45 |
| 6. SONUÇLAR | 46 |
| 7. KAYNAKLAR | 47-56 |

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmadaki bebeklerin ortalama doğum haftası, ortalama ağırlık, boy ve baş çevrelerinin karşılaştırılması.

Tablo 2. Grupların TOS, TAS ve OSI düzeyleri.

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1, 2 ve 3. Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında TOS düzeyleri.

Grafik 4, 5 ve 6. Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında TAS düzeyleri.

Grafik 7, 8 ve 9. Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında OSI düzeyleri.

SİMGE VE KISALTMALAR

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

Ark. Arkadaşları

Mg: Miligram

Kg: Kilogram

Sc: Subkutan

Vs: Vesaire

GABA: Gama amino bütirik asit

UV: Ultraviole

DNA: Deoksribonükleik asit

SOD: Süperoksit dismutaz

MDA: Malonilaldehit

Gpx: Glutatyon peroksidaz

TAS: Total antioksidan seviye

TOS: Total oksidan seviye

OSİ: Oksidatif stres indeksi

ASİ: Aktif sigara içici,

PSİ: Pasif sigara içici

K: Kontrol.

ÖZET

SİGARA İÇEN, PASİF İÇİCİ VE SİGARA İÇMEYEN ANNELERİN PERİFERİK VENÖZ KANI VE BEBEKLERİNİN PLASENTA DOKUSU İLE KORD KANINDA TOTAL OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Günümüzde kadınlarda ve gebelikte sigara kullanımı gittikçe artmaktadır. Sigara dumanına maruziyet sonrasında oluşan prooksidan ve oksidan maddeler ile serbest radikallerin oksidatif hasarı başlattığı ya da artırdığı ve kanser dâhil çeşitli dejeneratif hastalıklar, akciğer ve kalp-damar hastalıklarına yol açtığı bilinmektedir. Literatürde maternal kan ve kord kanında sigara maruziyeti ile oksidatif stresin değerlendirildiği birkaç çalışma bulunmakla birlikte, insan plasenta dokusunda sigaraya maruziyet sonucunda oluşan oksidatif stres ve antioksidatif seviyeyi değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda aktif sigara içen ve pasif olarak sigaraya maruz kalan annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında oksidatif stres parametreleri çalışılarak, herhangi bir şekilde sigaraya maruz kalmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Yöntem: Çalışmaya miadında doğan toplam altmış bebek alındı. Bebekler, annelerinin gebelikteki sigara maruziyetine göre üç gruba ayrıldı. Anneleri aktif olarak sigara içen grupta toplam 10'u kız ve 9'u erkek, anneleri pasif sigara maruziyeti olan grupta 10'u kız ve 9'u erkek, anneleri sigara maruziyeti olmayan kontrol grubunda toplam 10'u kız ve 12'si erkek olmak üzere toplam 60 bebek çalışmaya alındı. Annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan seviye (TAS) Erel yöntemi ile çalışıldı ve oksidatif stres indeks (OSI) değerleri hesaplandı. Gruplar arasındaki fark tek yönlü varyans analizi ve Tukey HSD posthoc testlerle karşılaştırıldı.

Bulgular: Aktif ve pasif sigara içici ile kontrol grubundaki annelerin kanında TOS düzeyleri sırası ile $23,20 \pm 4,23$; $18,69 \pm 5,97$; $14,74 \pm 3,64$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L olarak bulundu. Anneleri aktif sigara içici, pasif sigara içici ve kontrol grubundaki bebeklerin TOS düzeyleri plasenta dokusunda sırası ile $396,96 \pm 121,4$; $358,08 \pm 102,96$;

273,90± 86,66 µmol H₂O₂ Eqv./L ve kord kanında 22,32± 5,39; 15,78± 3,98; 12,76± 1,83 µmol H₂O₂ Eqv./L olarak bulundu. Aktif içici annelerin hem kendi periferik kanlarındaki TOS düzeyleri hem de bebeklerinin plasenta dokusu ve kord kanlarındaki TOS düzeyleri, pasif içici ve kontrol gruplarındaki annelerin kanlarındaki ve bebeklerin plasenta ve kord kanındaki TOS düzeylerinden anlamlı derecede daha yüksekti.

Aktif ve pasif içici ile kontrol grubunda TAS düzeyleri sırası ile anne kanında 0,87± 0,16; 1,0± 0,16; 1,12± 0,17 µmol H₂O₂ Eqv./L olarak bulundu. Anneleri aktif sigara içici, pasif sigara içici ve kontrol grubundaki bebeklerin TAS düzeyleri plasenta dokusunda 2,25± 0,47; 2,64± 0,58; 3,36± 0,76 µmol H₂O₂ Eqv./L ve kord kanında 1,0± 0,13; 1,14± 0,21; 1,25± 0,19 µmol H₂O₂ Eqv./L olarak bulundu. Aktif sigara içicisi annelerin hem kendi periferik venöz kanlarındaki TAS düzeyleri hem de bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanlarındaki TAS düzeyleri kontrol grubundaki annelerin kanlarındaki ve bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanındaki TAS düzeylerinden anlamlı derecede daha düşüktü.

Aktif ve pasif sigara içici ile kontrol grubundaki annelerin kanında OSI düzeyleri sırası ile 2,75±0,74; 1,88± 0,62; 1,34± 0,40 AU olarak bulundu. Anneleri aktif sigara içici, pasif sigara içici ve kontrol grubundaki bebeklerin OSI düzeyleri plasenta dokusunda 18,32± 7,89; 13,89± 4,41; 9,10±3,74 AU ve kord kanında 2,26± 0,65; 1,44± 0,48; 1,04± 0,26 AU olarak bulundu. Aktif içici annelerin hem kendi periferik kanlarındaki OSI düzeyleri hem de bebeklerinin plasenta dokusu ve kord kanlarındaki OSI düzeyleri, pasif içici ve kontrol gruplarındaki annelerin kanlarındaki ve bebeklerin plasenta ve kord kanındaki TOS düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksekti.

Sonuç: Çalışmamız, gebelikte sigaraya maruz kalmanın hem anne, hem de bebekte önemli derecede oksidatif stres artışına yol açtığını, bu artışın aktif olarak sigara içen anne ve bebek grubunda daha yüksek olduğunu göstermiştir. Yüksek düzeyde serbest oksijen radikallerinin organizmada uzun dönemde ortaya çıkaracağı hastalıklar dikkate alındığında sigaraya maruziyetin engellenmesi ve gebelik sırasında sigara maruziyetin saptanması durumunda güçlü antioksidanlar ile desteklenmesi gerekir.

Anahtar kelimeler: Gebelikte sigara kullanımı, bebek, oksidatif stres.

ABSTRACT

EVALUTION OF TOTAL OXIDANT AND ANTIOXIDANT STATUS IN ACTIVE/PASSIVE SMOKER AND NO-SMOKER MOTHER'S PERIFERAL BLOOD, FETAL PLACENTA TISSUE AND CORD BLOOD

Aim: Smoking increasingly among the women and pregnant women at the present time. Exposure to smoke result in formation of free radicals and oxidative damage by prooxidant and oxidant substances. Also we well known free radical damage may promote cancer, several degenrative disease lung and cardiovascular disease. There are few report about the connection of exposure smoke and oxidative stres in maternal and cord blood. However, there is no report regarding exposed to smoke which contributes to the oxidative damage and antioxidant level in the human placental tissue. In this study we determinated oxidative status parameters in the maternal (active, pasive smokers) blood, cord blood and placental tissue. The levels were compared with those of the control groups.

Method: Sixty term infants have been taken into research. The infants have been divided into three groups according to the mothers' active smoking, passive smoking and control. The active smoker group consists of 19 infants (10-9, Female/Male), passive smoker group consist of 19 infants (10-9; Female/Male), control group consist of 22 infants (10-12; Female/Male). Total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) levels were evaluated with Erel methods in samples of fetal placenta tissue, cord blood and mother's peripheral blood serum in all groups.

Results: The active smoker, passive smoker, and control group mother's peripheral blood TOS levels were 23.20 ± 4.23 ; 18.69 ± 5.97 ; 14.74 ± 3.64 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, in placenta tissue $396.96 \pm 121,4$; 358.08 ± 102.96 ; 273.90 ± 86.66 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, in cord blood 22.32 ± 5.39 ; 15.78 ± 3.98 ; 12.76 ± 1.83 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L. The TOS levels group whose mothers were active smokers are higher than in passive smoker group, and are significantly higher than the control group.

The active smoker, passive smoker, and control group mother's peripheral blood TAS levels were 0.87 ± 0.16 ; 1.0 ± 0.16 ; 1.12 ± 0.17 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, in placenta tissue 2.25 ± 0.47 ; 2.64 ± 0.58 ; 3.36 ± 0.76 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, in cord blood 1.0 ± 0.13 ; 1.14 ± 0.21 ; 1.25 ± 0.19 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L. The TOS levels group whose mothers were active smokers are lower than in passive smoker group, and are significantly lower than the control group.

The active smoker, passive smoker, and control group mother's peripheral blood OSI levels were 2.75 ± 0.74 ; 1.88 ± 0.62 ; 1.34 ± 0.40 AU, in placenta tissue 18.32 ± 7.89 ; 13.89 ± 4.41 ; 9.10 ± 3.74 AU, in cord blood 2.26 ± 0.65 ; 1.44 ± 0.48 ; 1.04 ± 0.26 AU. The TOS levels group whose mothers were active smokers are higher than in passive smoker group, and are significantly higher than the control group.

Conclusion: It has been shown by our study that being exposed to smoke during pregnancy causes a considerable increase of oxidative stress level of both mother and infant and this increase is higher in active smoker group. Considering the fact that the high level of loose oxygen radicals causes long term diseases in organism, smoke exposure should be prevented and if it detected during pregnancy the mother should be supported by powerful antioxidants.

Keywords: Smoking in pregnancy, infant, oksidative stress

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sigara kullanımı son yıllarda kadınlarda arttığı gibi gebelik döneminde de gittikçe artmaktadır. Sigara ile mücadele konusunda yapılan bütün çabalara rağmen, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kadınlar arasında sigara kullanımı hızla artmaktadır (1). Gebelikten önceki dönemde sigara kullananların büyük çoğunluğu gebelik sırasında da buldukları sosyokültürel ortamlara göre değişen oranlarda sigara içmeye devam etmektedirler (2) . Gebelik sırasında annenin sigara içmesi veya sigaraya maruziyeti yalnız perinatal yan etkilere değil, önemli doğum sonrası problemlere de sebep olur. Gestasyonel dönemde annenin sigara içmesi fetusün mortalite riskini artırmasına, plasenta gelişimindeki yetersizliğe bağlı olduğu düşünülen fetal büyümede gerilik, çocukluk çağında solunum yolu hastalıkları, sinir sistemi ve bilişsel anormallikler dâhil olmak üzere pek çok gelişimsel problemlerle de ilişkilidir. Sigara dumanına maruziyet sonrasında oluşan prooksidan ve oksidan maddeler ile serbest radikallerin oksidatif hasarı başlattığı ya da artırdığı ve kanser dâhil çeşitli dejeneratif hastalılar, akciğer ve kalp-damar hastalıklarına yol açtığı bilinmektedir. Literatürde maternal kan ve kord kanında sigara maruziyeti ile oksidatif stresin değerlendirildiği birkaç çalışma bulunmakla birlikte, insan plasenta dokusunda sigaraya maruziyet sonucunda oluşan oksidatif stres ve antioksidatif seviyeyi değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda aktif sigara içen ve pasif olarak sigaraya maruz kalan annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında oksidatif stres parametreleri çalışılarak, herhangi bir şekilde sigaraya maruz kalmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca insan plasenta dokusunda ilk defa olmak üzere annenin sigara maruziyetine göre plasenta dokusunda TOS ve TAS çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sigara

Sigara kullanımı günümüzde en yaygın bağımlılıklardan biri olup; zararları bireysel ve toplumsal düzeyde her geçen gün artarak ortaya konmaktadır. Sigara nedeni ile meydana gelen ölümler terör, trafik kazası, AIDS vb. nedeni ile meydana gelen ölümlerden 5–10 kat daha fazladır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından sigara kullanımı, günümüzde bir biyo-sosyo-psikolojik zehirlenme hali olarak tarif edilmektedir. Sigara alışkanlığı, bireylerin birbirlerini etkilemesiyle bir sosyal zehirlenme ve ortaya çıkardığı tolerans hali, fizik ve psikolojik bağımlılık yapma özelliğiyle de aynı zamanda bir psikolojik zehirlenme durumudur(2).

Günümüzde sigara kullanımı kadınlarda arttığı gibi gebelik döneminde de gittikçe artmaktadır (1). Bu, beraberinde sigaranın fetüs üzerine olumsuz etkilerini araştırmayı gündeme getirmiştir. Bu konuda yapılan araştırmalar son yıllarda artarak sürdürülmektedir (3,4).

DSÖ'nün verilerine göre gelişmiş ülkelerdeki kadınların yaklaşık %20'si sigara içerken, gelişmekte olan ülkelerdeki kadınların yaklaşık %9'u sigara içmektedir (5). Sigara içen kadınların çoğu sigara içmeye gebelik döneminde de devam etmektedirler. Bu önemli bir halk sağlığı problemidir; çünkü sigara içimi sadece kadının sağlığına zarar vermekle kalmaz aynı zamanda gebelik komplikasyonlarına, yenidoğanda ciddi sağlık problemlerine ve hayatın diğer dönemlerinde ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir.

Tütün dumanındaki mutajenik ve karsinojenik maddelerden birçoğu aktif içicilerin kanında bulunur ve plasentadan fetal dolaşıma rahatlıkla geçerler. Ancak tütün dumanında bulunan 4000'den fazla maddenin hangisinin hangi miktarda plasentayı geçtiği ve hangi spesifik bileşiklerin gelişmekte olan fetusa zarar verdiği bilinmemekle birlikte prenatal sigaraya maruz kalan infantlarda birçok önemli doğumsal defektin ortaya çıktığı bilinmektedir (6).

Sigara yakıldığında tütünün yanma ürünleri ile birlikte sigara kâğıdının da yanma ürünleri vardır. Sigara dumanı, tütün yandığı zaman oluşan yanma ve distilasyon ürünlerinin karmaşık bir birleşimidir. Sigara içen kişinin dışarıya üflediği hava “ana duman” olup yüksek ısıda oluşur 950°C ve içen kişi için duman maruziyetin temel kaynağıdır. “Yan duman” ise sigaranın içe çekişler arasındaki bekleme süresinde tüten duman olup daha düşük ısıdadır 350°C ve çevresel sigara dumanının başlıca kaynağıdır (7).

Pasif içicilerin aldığı yan duman, sigara içenler tarafından doğrudan inhale edilen dumanda tanımlanan tüm karsinojenleri içermekte ve sigara filtresinden de geçmediğinden ana dumandaki karsinojen ağırlığının 100 katı kadarını içinde bulundurmaktadır. Sonuç olarak sigara içmediği halde çevresel sigara içimine maruz kalanların da kan ve idrarlarında sigara metabolitlerine ve karsinojenlere rastlanmaktadır. Bununla birlikte çevresel sigara dumanında hem duman bileşenlerinin konsantrasyonları, hem de zamanla inhale edilen duman bileşenlerinin total miktarı, sigara içen kişi tarafından inhale edilenden çok daha düşüktür (8).

2.1.1. Nikotin: Tütün bitkisinin yapraklarından elde edilen bir alkaloid olup, kurutulmuş tütün yaprağında %0,5-8 oranında bulunur. Alkaloidlerin pek çoğu katı maddeler oldukları halde, nikotin renksiz, uçucu sıvı bir maddedir ve kuvvetli alkali özelliktedir. Yağda çözünen bir molekül olup yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Biyolojik membranları kolaylıkla geçebilir. Nikotin; ağız, farinks mukozalarından ve akciğerlerden absorbe olur. Primer olarak karaciğerde metabolize edilir ve böbreklerden atılır (9). Kimyasal yapısı bakımından asetilkoline yakın bir benzerlik göstermemesine rağmen, asetilkolin gibi otonom sinir sistemi ganglionlarında stimulus iletimini düşük dozlarda uyarır, yüksek dozlarda bloke eder. Nikotin'in metaboliti olan kotinin hem amniyon mayisinde hem de bebek kordon kanında gösterilmesiyle plasental bariyeri geçtiği kanıtlanmıştır (10,11). Ancak fetus üzerine olan olumsuz etkilerinin hangi mekanizmayla gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir. Uterin arterlerde vazokonstriksiyon, direkt toksik etki veya plasental hasarlanmaya bağlı olabileceği yönünde görüşler mevcuttur (10,12).

2.1.2. Karbon monoksit: Sigara dumanının % 3-5'ini oluşturur. Sigara içimi ile de oluşan gazın %1-5'i inhale edilmektedir. İyi havalandırılmayan yerlerde sigara dumanının birikimiyle karbon monoksit seviyeleri de yükselir (13). Karbonmonoksit gazı akciğer

kapillerlerinde, hemoglobinin hem grubundaki demir atomu ile birleşerek karboksihemoglobini oluşturur. Karbonmonoksidin hemoglobine olan afinitesi, oksijenin hemoglobine olan afinitesinden 250 misli daha fazladır. Karboksihemoglobinin disosiasyon hızı ise oksihemoglobine oranla 250 defa daha yavaştır. Karboksihemoglobinin oluşması, oksihemoglobin yapımını da azaltır. Böylece dokulara taşınan oksijen miktarı düşer. Karboksihemoglobin oluşumu geri kalan hemoglobinin oksijene olan afinitesini artırarak (Haldane olayı) oksihemoglobinin disosiyasyon eğrisini sola kaydırır (14).

Eğrinin sola kayması, oksihemoglobinin ancak çok düşük parsiyel oksijen basıncı (PO₂) düzeyinde dokulara oksijen geçişi azalır. 100 ml kandaki 16 gr. hemoglobinin yarısı karboksihemoglobine dönüştüğü zaman ölüm beklenebilir (15).

CO+Hb ↔ COHb reaksiyonu geriye dönebilir. Böylece kandaki karbonmonoksit akciğerler tarafından temizlenir. Eliminasyon hızı, absorpsiyona etki eden faktörler ile orantılıdır. Bazı araştırmacılar; aralıklarla veya sürekli olarak düşük miktarda karbonmonoksit alınması sonucunda kandaki karboksihemoglobinin belirli bir seviyeyi aşması halinde; organizmada karboksihemoglobine karşı bir tolerans oluşabileceğini saptamışlardır. Bunun yanında, solunan havadaki karbonmonoksidin oranı belirli bir seviyenin üzerine çıktığında organizmada bir takım değişiklikler oluşacağından, karbonmonoksit karşı tam bir toleranstan söz edilemeyeceğini belirten araştırmacılar da vardır (16).

Beyin vücudumuzda en fazla oksijen kullanan organdır. Bunun için oksijen eksikliğinde diğer dokulara göre daha çok etkilenir. Erişkinlerde, alınan oksijenin dörtte biri beyin tarafından kullanılır. Yenidoğanda ise beyin, alınan oksijenin yarısını kullanır. Genel olarak kanda karboksihemoglobin seviyesinin yükselmesinin merkezi sinir sisteminde depresyon yaptığı; %10-20 arasında başağrısına, %50-60 arasında koma ve aralıklı konvülsiyonlara, %70-80 arasında ise ölüme neden olduğu bilinmektedir. %10'un altındaki karboksikemoglobin seviyesinin ne gibi patolojik değişiklikler ortaya çıkardığı hakkındaki araştırmalar çok azdır (15,17). Sigara içimi ile inhale edilen karbonmonoksit gazının, kronik fetal hipoksi yaparak fetus üzerine olumsuz etki ettiği düşünülmektedir (14,18,19)

2.2.Gebelik

Hamilelik, embriyo veya fetusun anne vücudunda gelişim sürecidir. Erkek üreme hücresi spermatozoanın dişi üreme hücresi oosit ile birleşerek zigot adı verilen yeni bir canlı oluşturmasıyla başlayan hamilelik süreci yaklaşık 40 hafta sürer. Gebelik her biri yaklaşık 13 hafta süren üç trimestirden oluşmaktadır. İlk trimestirde ektoderm, endoderm ve mezodermden organlar gelişir (organogenez). İkinci trimestirde hızlı bir fetal gelişim gözlenir, üçüncü trimestirde ise fetusun organlarının gelişimi sonlanır ve fetus 2500-3000 gr ağırlığına ve 40-50 cm boyuna ulaşmış olur.

2.2.1. Plasenta

Plasenta gebelik sırasında anne ile bebek arasında besin transferini sağlarken temel bir endokrin organ görevini de görür. Feto-maternal dolaşım anatomik olarak fetal kan, sinsisyum ve anne kanından oluşur.

İnsan plasentası hemokoryoendotelyal tiptedir. İnsan plasantasyonunun önemini anlamak için, hemokoryoendotelyal terimini açıklamak gerekir: Hemo: sinsisyotrofoblastların direkt olarak içinde yüzdükleri anne kanı, koryo: sinsisyotrofoblastlar, endotelyal: intravillöz mesafede fetal kanı sinsisyotrofoblastlardan ayıran fetal kapillerlerdir. Yani sinsisyotrofoblastlar direkt olarak anne kanı ile ilişkidir, fakat kan plasantanın intervillöz bölgesinde fetal kapillerler içinde yer alır. Fetal kan, fetal kapiller duvarları, intravillöz mesafedeki mezenkim ve sitotrofoblastlar tarafından sinsisyotrofoblastlardan ayrılmıştır. Normal şartlar altında fetal ve maternal kan direkt ilişki içerisine girmez. Hemen implantasyon sonrası, trofoblastlar hızla proliferasyon olarak çevredeki dokuya invaze olur. Erken dönemdeki trofoblastlar invaziv ve sitolitik davranışları dolayısıyla koryokarsinomu andırır. Histolojik olarak karakteristik sitoplazmik vakuolizasyon bulunur. Trofoblast invazyonunun desidua tarafından, özellikle büyük granüllü lenfositlerle sınırlandırıldığı düşünülmektedir.

Fertilizasyondan sonra yaklaşık 12'inci günde insan plasentasında primer villuslar ayırt edilebilir. Solid trofoblast sütunlarının mezenkimal hücreler ile invazyonu ile

sekonder villuslar oluşur. Angiogenesis ile birlikte (villusların fetal vaskülarizasyonu) tersiyer villuslar oluşur. Maternal venöz sinüsler implantasyonun erken döneminde açık olmakla birlikte, fertilizasyondan sonra 14-15'inci güne kadar maternal kan intervillöz alana girmez. 17'inci günden itibaren fetal kan damarları fonksiyonel hale gelir ve plasental dolaşım başlar. Fetoplasental dolaşımın tamamlanması ise fertilizasyondan sonra 5'inci haftanın başına rastlar (20).

2.2.2. Fetal Zarlar

Fetal zarlar içten dışa doğru amnion, chorion ve decidua veradan oluşur.

2.2.3. Göbek Kordonu

Fetusu plasentaya bağlayan ortalama 50-60 cm boyunda, 1,5-2cm kalınlığında, mezoblastik bir oluşumdur. Kesitinde, iki arter, bir ven ve damarları çevreleyen bir bağ dokusu görülür (Wharton jeli). Göbek kordonu spiral şekilde bükülür. Plasentaya genellikle santral giriş yapar.

2.3. Placenta ve beslenme

Fetal beslenmede plasentanın rolü oldukça önemlidir. Plasentanın boyutu, yapısı, gelişimi, patolojik lezyonu ve fetus ile metabolik ilişkileri ile plasentanın transport ve metabolik mekanizmaları arasında sıkı bir işbirliği vardır. Bu işbirliği placenta ile fetus arasında gerçekleşen madde alışverişini hem nitelik hem nicelik yönünden etkiler. Plasentanın glukoz uptake'i ve transferi, kolaylaştırıcı taşıyıcı proteinler tarafından yönlendirilir (21). Tüm plasentada, glukozun membranlar arasında iki yönlü transportu mümkündür. Plasentadan fetusa glukoz transferi, fetusa glukoz geçişini artırarak ve fetal glukoz miktarı ile birlikte fetal insülin salınımını artırır. Artmış insülin konsantrasyonu ise fetal glukoz kullanımını ve plazma klirensini artırır ve maternal glukoz düzeyi artar iken fetal glukozun artmasını sınırlar (22). Fetal glukoz/oksijen metabolik oranı 1'den küçüktür. Bu nedenle oksidatif ihtiyaçlar için glukoz dışında laktat ve gluktoz kullanılır. Plasentada

üretilen laktat maternal ve fetal dolaşıma eşit oranlarda geçer, gluktoz ise sadece fetal dolaşıma geçer. Aminoasidler, asetat ve belki yağ asidleri, ketoasidler, oksidasyonda kullanılan diğer karbon ürünlerdir. Maternal dolaşımdan fetal dolaşıma direkt olarak transfer edilen aminoasidler, maternal plazmadan aminoasid taşıyıcı proteinlerle mikro villus membranına taşınırlar ve trofoblastın sitozolünde konsantre edilirler (23). Bu işlem enerji gerektirir.

Plasentada deaminasyon yolu ile amonyak üretilir. Bu amonyağın bir kısmı uterus dolaşımına salınır; önemli bir kısmı ise fetal karaciğere gider ve hepatik aminoasid ve protein sentezinde kullanılır (24).

Maternal plazmada taşınan ya da dolaşan lipoproteinler plasental lipoprotein lipaz tarafından parçalanır. Açığa çıkan yağ asitleri, monogliseridler ve digliseridler, trofablastın içinde tekrar birleşirler. Maternal diyet ile plasentanın lipid transport ve metabolik kapasitesi, fetal dolaşıma lipid sağlamak üzere birlikte hareket ederler (25).

Plasentanın Oksijen Tüketimi ve Fetusa Oksijen Transferi

Plasentanın metabolik hızı çok yüksektir. Plasentanın aşırı oksijen kullanımı nedeniyle uterus venlerindeki oksijen basıncında düşme izlenir. Uteroplasental doku tarafından oksijen tüketimi fetusun fizyolojik hipoksisinin ana nedenidir. Fetal dokunun hızlı artışına bağlı olarak mutlak fetal oksijen tüketim hızı gebelik boyunca artar.

2.4. Gebelerde Oksidan ve Antioksidan Durum

Normal hücre ve dokularda düşük seviyede oluşan lipid peroksidasyonunun hamilelik sürecinde artmış olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin plasentadaki lipoperoksidatif aktiviteye, total serum lipid ve lipoproteinlerdeki artışa ve uterus ve içeriğinin kütleli olarak artışı sonucunda meydana gelen oksijen ihtiyacındaki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir (26,27). Genelde lipid peroksidasyonunun fetal doku gibi genç hücrelerde ve kanser hücreleri gibi sürekli mitozu uğrayan hücrelerde daha az, fakat matür hücrelerde daha kuvvetli olduğu bilinmektedir (26,28). Dolayısıyla hamilelikte lipid

peroksidasyonunun esas kaynağının fetal doku olmayıp plasenta olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda özellikle hamileliğin erken dönemlerinde plasental dokunun lipid peroksidasyonundaki artışın hamileliğin ileriki dönemlerindeki artışa göre daha az olduğu rapor edilmiştir (26). Fakat bazı araştırmacılara göre de plasental lipid peroksidasyonunun en fazla artışı ilk trimestirde gösterdiği, ikinci trimestirde yavaşça azaldığı ve üçüncü trimestirde ise tamamen azalarak doğumla birlikte minimal seviyeye düştüğü saptanmıştır. Plasental dokudaki lipid peroksidasyonunun erken ya da geç dönemde oluşmasına dair ikilemlerin sebebi, plasentadan maternal dolaşıma geçen serbest radikallerin yeteri kadar detoksifikasyona uğrayıp uğramamasından kaynaklanmaktadır (29).

Hamilelik ile birlikte artan plasental lipid peroksidasyonunun bir göstergesi de yaşlılık pigmenti olan lipofuksin miktarının özellikle hamileliğin son döneminde plasentada artmasıdır (30). Kan lipidlerindeki peroksit düzeylerindeki artışın en önemli sebebi dokulardaki lipid peroksidasyonudur. Peroksidasyona uğrayan lipidler, serbest yada lipoproteine bağlı olarak bulunabilir. Lipoprotein fonksiyonları içinde düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyona karşı oldukça hassastır (26). Bu yüzden yarı ömürleri bir dakikadan bile azdır. Lipoproteinlerin peroksidasyonu sonucunda lipid peroksitler meydana gelir. Normal hamilelik sürecinde total lipid miktarındaki artışa bağlı olarak lipid peroksidasyon ürünlerinde de artış meydana gelir (31). Normal gebeliklerde total serum lipidlerinin artışı malondialdehit (MDA) seviyesini artırır (32). Bu artış lipid peroksit/total lipid oranından bağımsızdır. Yapılan bazı çalışmalarda normal gebeliklerde lipid peroksidasyon ürünlerinin total lipide oranının sabit olduğu gösterilmiştir.

Normal koşullarda oluşan lipid peroksidasyonunda devreye giren antioksidan sistem, hamilelikte de aynı şekilde rol almaktadır (33). Yapılan çoğu çalışmalarda serum antioksidan aktivitesinin lipid peroksidasyonundaki artış oranında arttığı tespit edilmiştir. Hamilelikte antioksidan düzeyinin, hamileliğin ilk trimestirinde yaklaşık % 50, son trimestirinde ise % 80–90 oranında arttığı ve gestasyonel periodun sona ermesiyle birlikte tekrar düşüşe geçtiği görülmüştür.

Demirin okside halde bulunmasını sağlayan seruloplazmin de vücudun önemli bir antioksidan sistem komponenti olup özellikle hamileliğin üçüncü trimestirinde artış gösterir (34,35).

Glutasyon peroksidazın (GPx) kofaktörü olan selenyuma hamilelik ve laktasyonda ihtiyaç artar. Çoğu vücut sıvısında selenyum düzeyi hamileliğin ilerlemesiyle düşüşe geçer. Bunun için hamilelikte selenyumlu besinlerin alınması önem taşımaktadır. Azalan selenyum düzeyine bağlı olarak plazma glutasyon peroksidaz düzeyi özellikle hamileliğin ikinci trimestirinin ortalarından itibaren düşüşe geçer (36). Eritrositlerin yaşam süreleri 120 gün olduğundan eritrosit içi GPx düzeyi üçüncü trimestirin ortalarından itibaren düşüşe geçer. GPx aktivitesindeki azalma plazmada hızlı, eritrositlerde yavaştır. Fakat bazı araştırmacılar ise hamilelikte eritrosit GPx düzeyinin değişmeden kaldığını bildirmişlerdir (35). Oksidatif strese karşı non-spesifik tampon vazifesi gören plazma tiolleri, hamilelik döneminde plazma hacminin artışına bağlı olarak azalabilir (34). Eritrosit lizat tiolleri ise hamilelikle birlikte artışa geçer. GSH (glutasyon) en önemli eritrosit lizat tiolu olup oksidatif strese karşı spesifik bir tampon vazifesi görür. Eritrosit glutasyon düzeyi ilk iki trimestirde değişme göstermeyip hamileliğin son zamanlarında artışa geçer (36). Glutasyon düzeyindeki değişme GPx'dan bağımsızdır (91,92).

Süperoksit dismutazın (SOD) normal hamilelikte arttığı gözlenmiştir. Serum SOD düzeyindeki artış hamileliğin ilk aylarından itibaren başlar (35). SOD'ın özellikle gestasyonun ilk dönemlerinde lipid peroksidasyonuna karşı embriyoyu koruma fonksiyonu vardır (37). Plasental homojenizatta ise SOD seviyesi hamileliğin ilk dönemlerinde düşükken, hamileliğin ilerlemesiyle birlikte 2-3 kat artabilmektedir (32). Plasental SOD düzeyinin gestasyonel dönemde değişiklik göstermesinin nedeni plasental oksijen ihtiyacının hamilelik süresince değişmesinden kaynaklanmaktadır. Plasental patolojilerde ise plasental SOD düzeyi normal hamilelere göre düşüktür (37).

Gerek lipofilik gerekse hidrofilik vitaminler de hamilelik döneminde önemli ölçüde antioksidan özellik gösterirler. Özellikle A, C ve E vitaminleri hamilelik sürecinde lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki gösterirler (38).

Hidrofilik yapıda olan Vitamin C, doku kollojeni, demir emilimi ve folik asit metabolizması için oldukça önem taşımaktadır (39). Maternal C vitamin konsantrasyonu 40. haftada yarıya düşer, göbük kordonundaki konsantrasyon ise anneye göre % 50 daha fazladır (40). Reaktif oksijen radikalleri kollojenolitik enzimleri aktive ederek fetal membrandaki lipidleri peroksidasyona uğratar ve fetusa zarar verir. Yapılan çalışmalar

sonucunda prenatal dönemdeki hamilelere C vitamini takviyesi, postnatal dönemde hem annedeki hem de bebekteki oksidatif stresi önlemektedir (38).

Lipofilik yapıda olan A vitamin ve karotenin serum düzeyleri doğuma doğru gittikçe azalır. A vitamini, plasentayı basit difüzyonla geçer. Fetustaki A vitamininin seviyesi maternal konsantrasyondan fazladır (41). Bir diğer lipofilik yapıda olan antioksidan vitamin ise E vitaminidir. E vitamini serbest radikal tutucu olarak hücre membranının lipid tabakasını peroksidasyona karşı korur (42). Serum E vitamininin düzeyi gebeliğin ilerlemesiyle birlikte artarak doğumdan önce maksimum düzeye çıkar. Ancak gestasyonun son dönemlerinde serum E vitaminindeki artış diğer dönemlere göre daha yavaştır. Kordon kanındaki á-tokoferol düzeyi maternal düzeyin üçte biri kadardır. E vitamini reaktif oksijen türlerinin membran bozucu etkisini yok ederek kollajen sentezini uyarır ve kollajen bütünlüğünü korur (43).

2.5. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen tüm canlılar için vazgeçilmez bir element olup, organik moleküllerin temel yapısal atomlarından birisidir. Bunun yanında, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Yaşamları için mutlak oksijene ihtiyaç duyan canlılarda oksijenin yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde bazı toksik ürünler de ortaya çıkmaktadır. Oksijenin toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir (44):

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Bu mekanizmaya örnek olarak oksijenin, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde GABA düzeyini düşürmesi gösterilmektedir (45).

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (46).

Serbest oksijen radikalleri, en dış elektron yörüngelerinde bir tek çiftleşmemiş elektron bulunduran stabil olmayan kimyasal bileşiklerdir. En dış yörüngede bulunan elektron

çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırmaktadır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektronun, bir orbitali bırakıp diğerine geçmesi veya farklı yönde dönmesi durumunda “singlet oksijen” oluşmaktadır. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilmektedir (46).

2.5.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (47). Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (48,49).

Serbest radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşmaktadır.

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır (48,50).

2. Bir molekülün elektron kaybetmesi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmaktadır (50,51).

3. Bir moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir (50,51).

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif

formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (51).

En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır:

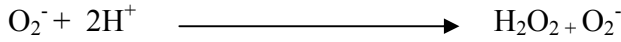
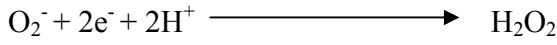
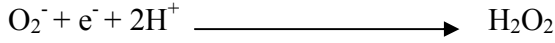
1. O_2^- (Süperoksit) Radikali
2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
3. HO^- (Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen (O_2^-) (50,51).

2.5.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup H_2O_2 kaynağıdır. O_2^{-2} iyonu ya da kovalent bağlı $-O-O-$ grubu içerir. Sodyum metali hava ile teması sonucu peroksit oluşturur. Potasyum ve diğer alkali metaller ise aynı tip tepkime ile süperoksit meydana getirirler. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Bazı biyolojik moleküller aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadırlar. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (52,53). Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (50,51).

2.5.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

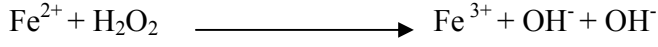
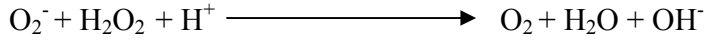
Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksidlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır.



Hidrojen peroksit (H₂O₂) soluk mavi renkte; sulandırıldığında ise renksiz hale gelen bir bileşiktir. Çok güçsüz bir asit olan bileşik; özellikle kâğıt sanayinde kâğıtlara beyaz renk vermek için üretilmektedir. Bileşik ayrıca dezenfektasyon, oksitleme, antiseptik üretimi ve roket yakıtı üretiminde de kullanılmaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasındandır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (50,51,54).

2.5.1.3. Hidroksil Radikali (OH[•])

Hidroksil radikali (OH[•]), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

Fenton Reaksiyonu:**Haber Weiss Reaksiyonu:**

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir (50, 51, 55, 56).

Dokular γ radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H_2O_2 'nin UV ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. (49,51,57). Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (50, 51).

2.5.1.4. Singlet Oksijen (O_2^{-2})

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (51). Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (58,50,51).

2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir. $\text{Cu}^{+2}/\text{Fe}^{+2}$ ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, $\text{Fe}^{(+3)}$ 'in $\text{Fe}^{(+2)}$ 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (51,58).

2.5.2.1. Membranların Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (51,59). Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A_2 'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (59,60). Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksiradikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksiradikal, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid

peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir (50,51,53,55,60). Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{+2} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelektazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açabilmektedir (49,51,60).

Peroksiradikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri MDA (malondialdehit) ve 4 hidroksi alkenaldir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır (50). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (50,61). Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkilemektedirler. Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır (51).

Lipid hidroperoksidleri ve lipidhidroperoksi radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücrenel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler. Bu etkiler: membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi bazı özelliklerini değiştirebilmektedir. Transmembran iyon gradientini bozarak, Ca^{+2} gibi iyonlara karşı spesifik olmayan geçirgenliği

arttırabilmektedirler. Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Subsellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açabilirler.

2.5.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (51).

Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (62):

- 1) Aminoasitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmantasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmantasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler.

Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler (51).

Serbest radikallerin etkisiyle, IgG ve albuminin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır. Yine bir protein olan α -1 Proteinaz İnhibitörünün, oksijen radikalleri tarafından inhibisyonu amfizem gelişimiyle sonuçlanmaktadır (60).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görebilmektedir. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O_2 veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (51).

2.5.2.3. DNA Hasarı

Nükleik asitler, serbest radikallere bağılı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir (48,50,58).

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde yüksek olduğu bildirilmektedir (51,58).

2.5.2.4. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (51). Enflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden extrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂, buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (51).

2.5.2.5. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler Lökomalazi, travmatik beyin hasarı ve beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına; böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı

patogenezinde rol oynamakta; ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadırlar (51,54).

2.6. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

2.6.1. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (63,64).

Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler. Bilirubin bu tarz antioksidan etkisi de vardır (51,65).

Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (51,66,67).

Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (51,68,69).

2.6.2. Antioksidan Sistemler.

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (48,70).

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (48,51,60).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (71, 72).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenzin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (48,51). Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (73). Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır.

Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır.

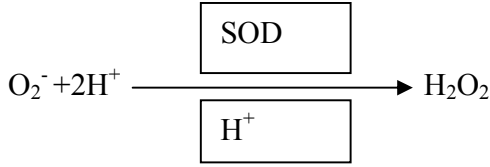
Pürin metabolizması sonucu oluşan hipoksantin, ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (74).

Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimleri de bu grupta yer almaktadırlar.

2.6.3. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir.

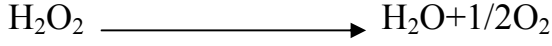


Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü, süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (50,51). Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (51).

2.6.3.2. Katalaz (CAT)

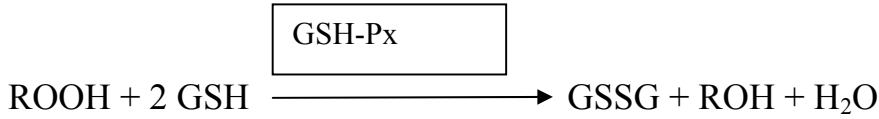
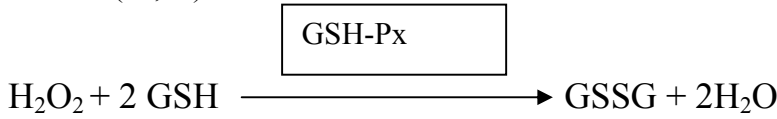
Katalaz peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırıştırılmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik

iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (48,75).



2.6.3.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Glutasyon peroksidaz (glutasyon:H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (55,75).

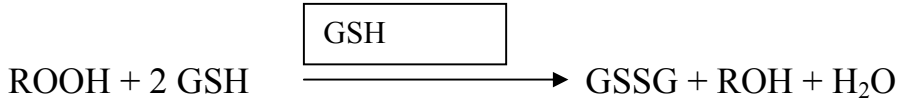


Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (51).

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (76).

2.6.3.4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

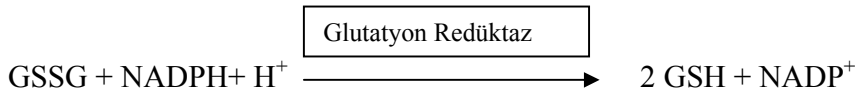
Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı glutasyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler (51).



Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (51).

2.6.3.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (51).



2.6.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (51).

2.6.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile m¼cadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. V¼cudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını s¼rd¼rebilmesinde kan ¼ok ¼nemlidir. ¼¼nk¼ kan antioksidanların v¼cudun t¼m b¼l¼mlerine taşınmasını ve dağıtımını ger¼ekleřtirmektedir (52).

Total antioksidan kapasiteye en b¼y¼k katkı plazmadaki antioksidan molek¼llerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ¼rik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır (67,78).

Albumin, ¼rik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşurmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ¼rik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en ¼nemli bileşenlerini bilirubin ve ¼rik asit oluşurmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, s¼lfhidril grupları, C vitamini, E vitamini) ¼zellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme ¼nemli katkıda bulunmaktadır (77,78,79,80).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim i¼inde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak ¼alıřmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme ¼rnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferol¼n yeniden aktifleşmesini sağlaması g¼sterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. ¼rneęin yenidoğanda postnatal d¼nemde fizyolojik şartlarda plazmada ¼rik asit, C vitamini ve s¼lfhidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini d¼zeyleri artmaktadır. Total antioksidan kapasitenin ¼l¼¼m¼, antioksidanların tek tek ¼l¼¼m¼nden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu y¼zden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan ¼ok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ¼l¼¼m¼ yaygınlaşmaktadır (81,82).

Hasta yenidoğanlarda plazma antioksidan kapasitesi hastalıktan veya tedavi yöntemlerinden etkilenebilmektedir. Örneğin hemoliz ile plazma bilirubin düzeyinin yükselmesi ve fototerapi ile azalması, anüri ile ürik asit seviyesinin artması ve diüretikler ile düşmesi gibi nedenlerle antioksidan kapasitede değişiklikler oluşabilmektedir (79).

Beslenme şekli de antioksidan konsantrasyonu etkileyebilmektedir. Örneğin anne sütü ile beslenen bebeklerde, antioksidan birer madde olan bilirubin ve karotenoidler, formüle mama ile beslenen bebeklerden daha yüksek olarak saptanmaktadır (58,79).

Bilirubin, fizyolojik sarılıkta plazmada önemli bir antioksidan role sahiptir. Sarılıklı yenidoğanlarda plazma total antioksidan kapasitenin, esas olarak bilirubinle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bilirubinin değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda yükselmesinin organizmayı koruyucu bir reaksiyon olduğu öne sürülmektedir (78,79).

2.6.5.Vücutta Serbest Radikallere Karşı Savunma Gelişmesi

Hamileliğin geç dönemlerinde fetusun akciğerlerinde antioksidan enzim miktarının artış gösterdiği bildirilmektedir. Farelerde, tavşanlarda, ratlarda, SOD, GPx ve CAT enzimlerinin hamileliğin son döneminde arttığı bilinmektedir (84).

Yenidoğanlar göreceli olarak oksijen toksisitesine daha dirençli görünmektedir. Fakat özellikle antioksidan sistem komponentlerinin eksik olması nedeniyle, prematürelere oksijen toksisitesine çok duyarlıdır. Gestasyonun geç dönemlerinde artan SOD, GPx, CAT, E vitamini, seruloplazmin ve transferrin miktarının prematürite nedeniyle düşük olduğu tespit edilmiştir (80,84).

3. MATERYAL VE METOD

Mart 2008 ile Haziran 2008 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Şanlıurfa Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi'ne başvuran sağlıklı, hamileliğinde veya daha öncesinde herhangi bir hastalığı olmayan, normal spontan vajinal doğum yapan altmış anne ve bebekleri çalışmaya alındı. Anneleri sigara maruziyetine göre, anne ve bebekler üç gruba ayrıldı. Her gün en az bir sigara içen gebeler aktif içici, kendisi içmediği halde çevresel sigara dumanına maruz kalanlar (Günde en az 1 adet sigara dumanına maruz kalan veya en az 2 saat süreyle çevresel sigara dumanına maruziyet) pasif içici, hiç sigara içmeyen ve çevresel sigara dumanına maruz kalmayanlar ise kontrol grubu olarak kabul edildi. Anneleri aktif olarak sigara içen 19 bebek, anneleri pasif olarak sigaraya maruz kalan 19 bebek ve anneleri sigaraya maruz kalmayan 22 bebek çalışmaya alındı. Gruplardaki annelerin yaş ortalaması aktif içici grupta $26,57 \pm 5,92$ yıl, pasif içici grupta $24,68 \pm 4,85$ yıl ve kontrol grupta $29,13 \pm 6,59$ yıl idi. Bebeklerin doğum kilo tespiti için 10 gram hassasiyeti olan MedikaPlus marka bebek terazisi kullanıldı. Bebeklerin baş çevresi ve boy uzunluklarının ölçümü için 0,5 cm hassasiyeti olan esneme özelliği olmayan mezürü kullanıldı.

Akciğer hastalığı astım vb. kalp hastalığı olan, gebelik döneminde diyabet saptanan, preeklampsi tanısı ile izlenen, anemisi olan, sistemik veya ilave enfeksiyon gibi serbest radikal oluşumuna neden olabilecek hastalık bulguları saptanan gebeler ve bebekler çalışmaya alınmadı. Çalışma kontrollü, kesitsel olarak planlandı ve Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındıktan sonra yapıldı. Çalışmaya alınan gebelerden bilgilendirilmiş onam alındı.

Her gebenin periferik venöz kanı ve bebeklerin kord kanından bir kez vakumlu vacutainer tüplere 5 cc kan alındı. Kan örnekleri oda ısısında bekletilmeden Hettich marka santrifüj cihazında 3000 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Total antioksidan kapasite (TAS), total oksidant seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) çalışılabilmesi amacıyla kanların serumları -80 derecede depolanarak muhafaza edildi. Çalışmanın yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirildikten sonra çalışıldı.

Plasenta doku homojenatı hazırlanması:

Plasenta dokusu doğumdan hemen sonra nekrotik olmayan bir alandan alındı. Doku örneklerinin analizinden önce, bütün doku örnekleri tartıldı ve boş çalışma tüplerine yerleştirildi. Daha sonra 1 gram plasenta doku parçası küçük parçalara mekanik olarak ayrılarak tüplere konuldu. Üzerine her bir 1 gram doku için, dilüsyon 1:10 olacak şekilde 140 mM KCl solüsyonu eklendi. Daha sonra bütün dokular mekanik karıştırıcıda homojenize edildi. Homojenat 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatantın Toplam oksidatif seviyesi (TOS), Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ölçüldü (103, 104, 105, 106). Sonuçlar; Total Antioksidan Status için mmol Trolox Eqv./gr/protein, Total Oksidan Status için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./gr/protein ve OSİ değerleri için Arbitrary unit (AU) olarak verildi.

3.1.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan kapasite Erel yöntemi ile ölçüldü (101). Bu ölçüm yönteminde 2,2' - azinobis -3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Bu renk değişikliği, absorbans değeri 660 nm'de ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır. Bu ölçüm metodunun prensibi hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS^+ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. 30 mmol/L asetat tamponu ve pH: 3,6'da koyu yeşil renkte olan radikalın, asetat tamponu 0,4 mol/L, pH: 5,8 olduğunda rengi açılmaktadır. Renk değişimi ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunmaktadır. Reaksiyon hızı standart yöntem olan Trolox ile kalibre edilmektedir.

Birimi: Trolox equivalent/L (101).

Reaktiflerin hazırlanması:

Reaktif I: 32,8 gr CH_3COONa 'nın 1000 ml distile su içinde eritilmesi ile 0,4 mol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 5,8 olacak şekilde) oluşturuldu. 22,8 ml asetik asit, 1000 ml su ile seyreltilerek, 0,4 mol/L konsantrasyona getirildi. 940 ml sodyum asetat solüsyonu ile 60 ml asetik asit solüsyonu karıştırıldı.

Reaktif 2: 2,46 gr CH_3COONa , 1000 ml distile suda eritilerek 30 mmol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 3,6) hazırlandı. 1,705 ml Asetik asit 1000 ml distile su ile seyreltilerek, 30 mmol/L konsantrasyonda karışım elde edildi. 75 ml sodyum asetat solüsyonu, 925 ml asetik asit solüsyonu ile karıştırıldı. pH:3,6 olacak şekilde ayarlandı. Sonra 278 μl H_2O_2 solüsyonu, 1000 ml tampon solüsyonu ile seyreltilerek 2 mmol/L konsantrasyona getirildi. Daha sonra 0,549 gr ABTS radikali, 100 ml hazırlanan solüsyonda eritilerek 10 mmol/L konsantrasyona getirildi. Bir saat oda ısısında bekletildi ve karakteristik ABTS renginin oluşması sağlandı.

Spektrofotometrik ayarlardan sonra Aeroset otomatik analizatöre (Abott Aeroset® C8000™ cihazına) uygulandı. Ölçüm formatı aşağıda verilmiştir.

| | |
|-------------------|---|
| 1. reaktif volümü | 200 μl (asetat tamponu 0,4 mmol/L, pH 5,8) |
| Örnek volümü | 5 μl (serum ya da diğer sıvılar, saf antioksidan solüsyonu) |
| 2. reaktif volümü | 20 μl (2. radikal: 30 mmol/L, pH 3,6 içinde ABTS) |
| Dalga boyu | 660 nm (ya da 420 ve 740 nm aralığı) |
| Değerlendirme | İlk ölçüm R1 ile R2 karışımı anında ve son ölçüm karıştırılmadan 5 dakika sonra |
| Kalibrasyon şekli | Doğrusal |

3.2.Total Oksidant Seviye (TOS)

Total oksidan kapasite Erel yöntemi ile ölçüldü (85, 86).

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

Birim: µmol H₂O₂ Eqv. / L.

3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidan Seviye (TOS) / Total Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı.

Birim: AU

3.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 11.5 (SPSS for Windows, 11.5 SPSS Inc., USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Her gruptaki değişkenlerin dağılımlarının normal olup olmadığı Kolmogorov-Simironov analizi ile gerçekleştirildi. Değişkenlerin dağılımlarının normal sınırlarda olduğu görüldü ($p>0.05$). Gruplar arası değişkenlerin karşılaştırması tek yönlü varyans analizi (Oneway-ANOVA) ve Tukey HSD posthoc testi, değişkenler arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi, cinsiyet oranları ise Ki-kare testleri ile araştırıldı.

$p < 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya miadında doğan toplam altmış bebek alındı. Bebekler, anneleri gebelikteki sigara maruziyetine göre üç gruba ayrıldı. Anneleri sigara maruziyeti olmayan grupta toplam 22 bebek, 10'u kız (%45,2) ve 12 'si erkek (%54,8), anneleri pasif sigara maruziyeti olan grupta toplam 19 bebek, 10 'u kız (52,6) ve 9'u erkek (%47,4), anneleri aktif olarak sigara içen grupta toplam 19 bebek, 10'u kız (%52,6) ve 9'u erkek (%47,4) olmak üzere çalışmaya alındı. Gruplar arasındaki bebeklerin cinsiyet oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çalışmaya alınan bebeklerin tamamı değerlendirildiğinde 30'u (% 50) kız, 30 (% 50) erkek olup her iki cinsiyetinde ortalama doğum yaşı $38,08 \pm 0,38$ hafta idi. Çalışmaya alınan bebekler, annesi aktif sigara içen bebeklerin ortalama doğum haftası $38 \pm 0,2$ hafta, annesi sigaraya pasif maruz kalan bebeklerin ortalama doğum haftası $38 \pm 0,5$ hafta ve sigara maruziyeti olmayan bebeklerin ortalama doğum haftası $38 \pm 0,2$ hafta idi.

Grupların ortalama boyları arasında fark olmayıp, kilo ve baş çevresi ortalamaları aktif içici grupta anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0,030$). Tablo 1'de çalışmadaki bebeklerin ortalama doğum haftası, ortalama ağırlık, boy ve baş çevrelerinin karşılaştırılması gösterilmektedir.

Tablo 1. Çalışmadaki bebeklerin ortalama doğum haftası, ortalama ağırlık, boy ve baş çevrelerinin karşılaştırılması.

| | Annesi Aktif İçici Bebekler n=19 | Annesi Pasif İçici Bebekler n=19 | Kontrol n=22 | <i>P</i> |
|------------------|--|--|-----------------|----------|
| Doğum Haftası | 38± 0,2 | 38± 0,5 | 38,2 ± 0,2 | >0,05 |
| Kız/Erkek (n) | 10/9 | 10/9 | 10/9 | >0,05 |
| Kilo (gram) | 3210± 280* | 3600± 220 | 3460± 250 | <0,05 |
| Boy (cm) | 49,5± 1,2 | 49,1± 1,2 | 50,3± 1,42 | >0,05 |
| Baş Çevresi (cm) | 37,2± 0,9* | 37,3± 0,9 | 38,03± 0,98 | <0,03 |

*Anlamlı derecede farklı olan grup.

Bebeklerin annelerine gebeliğin herhangi bir döneminde vitamin veya demir desteğinin verilip verilmediği soruldu. Aktif olarak sigara içen gruptaki annelerin 8'i (%42), pasif olarak sigaraya maruz kalan grupta 6'sı (%31,6) ve sigaraya maruz kalmayan grupta 9'ü (%41) vitamin veya demir desteği aldığı öğrenildi. Vitamin veya demir desteği açısından gruplar arasında istatistiksel anlam olarak fark saptanmadı.

Sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı ile bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanındaki ortalama TOS, TAS ve OSI değerleri karşılaştırmalı olarak Tablo 2' de görülmektedir. Anne kanlarındaki ortalama TOS düzey yönünden aktif içici annelerin ortalama değerleri hem pasif içici annelerden ($p=0,025$) hem de kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,001$). Plasenta dokusundaki TOS düzeyleri yönünden aktif içici annelerin bebeklerinin ortalama değerleri hem pasif içici anne-bebeklerinden ($p=0,034$) hem de kontrol grubundan ($p=0,001$) daha yüksekti. Kord kanındaki TOS düzeyleri yönünden aktif içici anne-bebeklerinin ortalama değerleri hem pasif içici anne-bebeklerinden ($p=0,044$) hem de kontrol grubundan ($p<0,001$) daha yüksekti.

Anne kanlarındaki ortalama TAS düzey yönünden aktif içici annelerin ortalama değerleri pasif içici ve kontrol grubundan ($p<0,001$) daha düşük, pasif içici grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark saptanmadı. Plasenta dokusundaki TAS düzeyleri yönünden aktif içici anne-bebeklerinin ortalama değerleri pasif içici anne-bebekleri ($p=0,143$) ile istatistiksel fark olmayıp; aktif ve pasif içici anne-bebeklerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü ($p=0,001$). Kord kanındaki ortalama TAS düzey yönünden pasif içici anne-bebekleri ile ($p<0,066$) aktif içici anne-bebekleri ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark olmayıp; aktif içici anne-bebekleri ile kontrol grubu arasında belirgin fark saptandı ($p<0,001$).

Anne kanlarındaki ortalama OSI düzey yönünden aktif içici annelerin ortalama değerleri hem pasif içici annelerden ($p=0,025$) hem de kontrol grubundan ($p<0,001$) istatistiksel olarak daha yüksek saptandı. Plasenta dokusundaki OSI düzeyleri yönünden aktif içici anne-bebeklerinin ortalama değerleri hem pasif içici anne-bebeklerinden ($p=0,001$) hem de kontrol grubundan daha yüksekti ($p=0,022$).

Kord kanındaki OSI düzeyleri yönünden aktif içici anne-bebeklerinin ortalama değerleri hem pasif içici anne-bebeklerden ($P=0,001$) hem de kontrol grubundan ($P<0,031$) daha yüksekti.

Aktif içici annelerin günlük sigara âdeti ile OSI düzeyleri arasındaki ilişki Pearson Korelasyon testi ile analiz edildi. Aktif içilen sigara adeti ile OSI düzeyleri arasında anlamlı derecede korelasyon saptandı. Buna göre aktif içilen sigara adeti ile plasenta, kord kanı ve annenin periferik venöz kanındaki OSI düzeyleri arasındaki korelasyon değerleri sırası ile $r=0,356$ ($p=0,005$), $r= 0,560$ ($p<0,001$) ve $r=0,517$ ($p<0,001$) olarak bulundu.

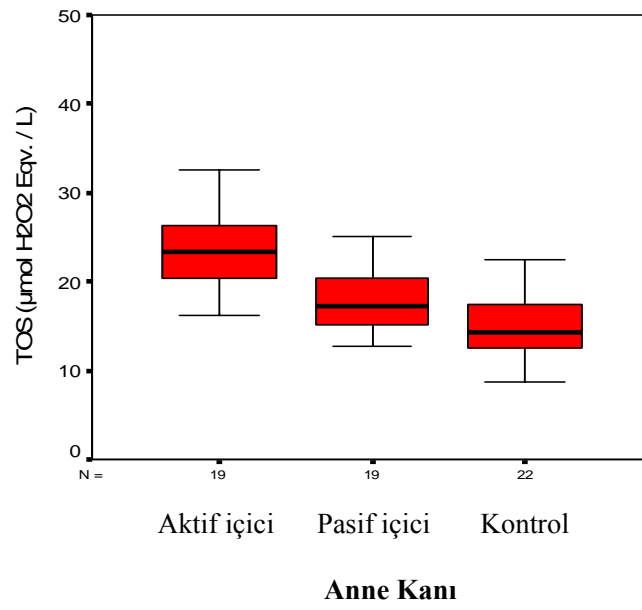
Tablo 2. Grupların Totak Oksidan Seviye, Total Aantioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeks düzeyleri.

| | | Aktif İçici n=19 | Pasif İçici n=19 | Kontrol n=22 | P^a | Posthoc* |
|--|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------|
| TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. / L) | Anne Kanı | 23,20 \pm 4,23 | 18,69 \pm 5,97 | 14,74 \pm 3,64 | <0,001 | Tümü |
| | Plasenta Dokusu | 396,96 \pm 121,4 | 358,08 \pm 102,96 | 273,90 \pm 86,66 | =0,001 | Tümü |
| | Kord Kanı | 22,32 \pm 5,39 | 15,78 \pm 3,98 | 12,76 \pm 1,83 | <0,001 | Tümü |
| TAS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. / L) | Anne Kanı | 0,87 \pm 0,16 | 1,0 \pm 0,16 | 1,12 \pm 0,17 | <0,001 | ASİ ve K |
| | Plasenta Dokusu | 2,25 \pm 0,47 | 2,64 \pm 0,58 | 3,36 \pm 0,76 | <0,001 | ASİ ve K |
| | Kord Kanı | 1,0 \pm 0,13 | 1,14 \pm 0,21 | 1,25 \pm 0,19 | <0,001 | ASİ ve K |
| OSI (AU) | Anne Kanı | 2,75 \pm 0,74 | 1,88 \pm 0,62 | 1,34 \pm 0,40 | <0,001 | Tümü |
| | Plasenta Dokusu | 18,32 \pm 7,89 | 13,89 \pm 4,41 | 9,10 \pm 3,74 | <0,001 | Tümü |
| | Kord Kanı | 2,26 \pm 0,65 | 1,44 \pm 0,48 | 1,04 \pm 0,26 | <0,001 | Tümü |

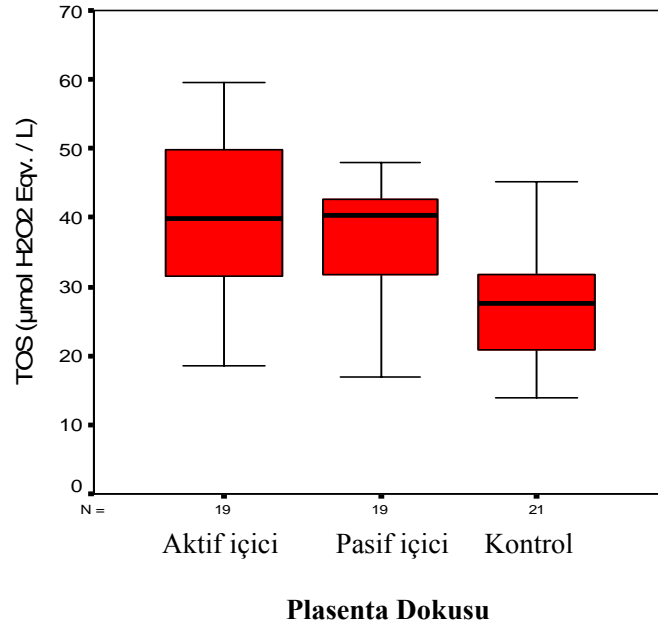
^a Tek yönlü varyans analizi ve Tukey HSD posthoc test.

*Anlamlı derecede farklı olan grup ($p<0,05$).

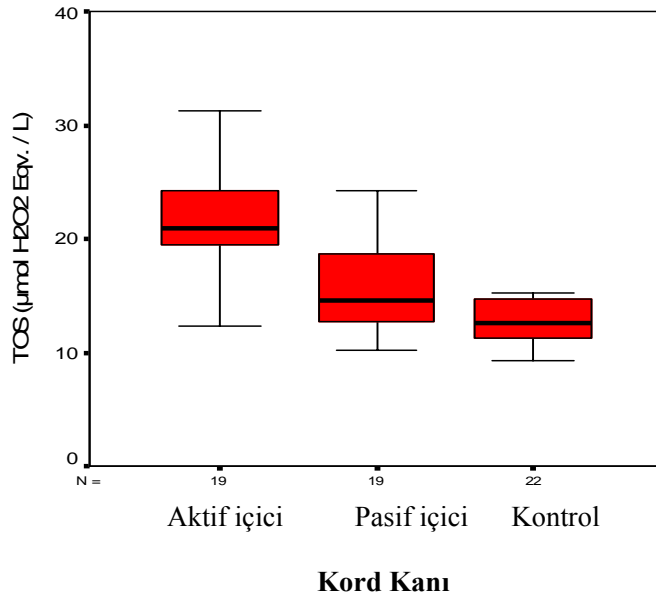
Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında TOS düzeyleri Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3'te gösterilmiştir.



Grafik 1. Sigaraya maruz kalmaya göre annelerin kanlarındaki total oksidan seviyeleri.

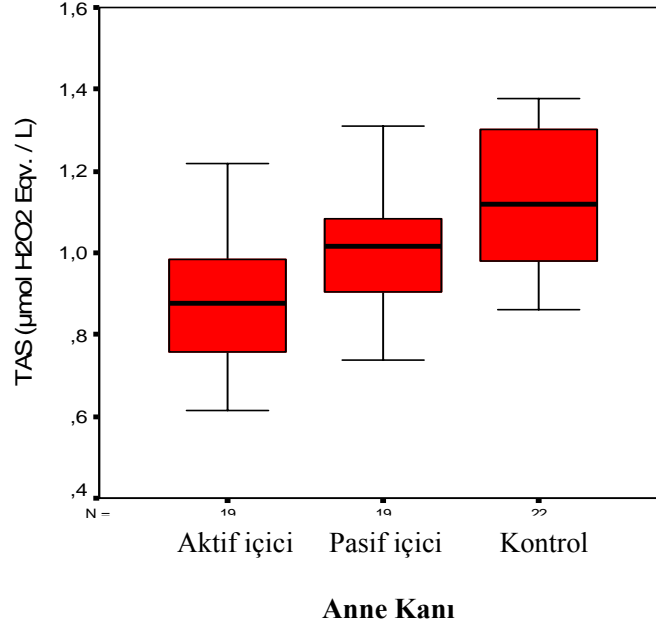


Grafik 2. Annelerinin sigara maruziyetine göre bebeklerin plasenta dokusunda total oksidan seviyeleri.

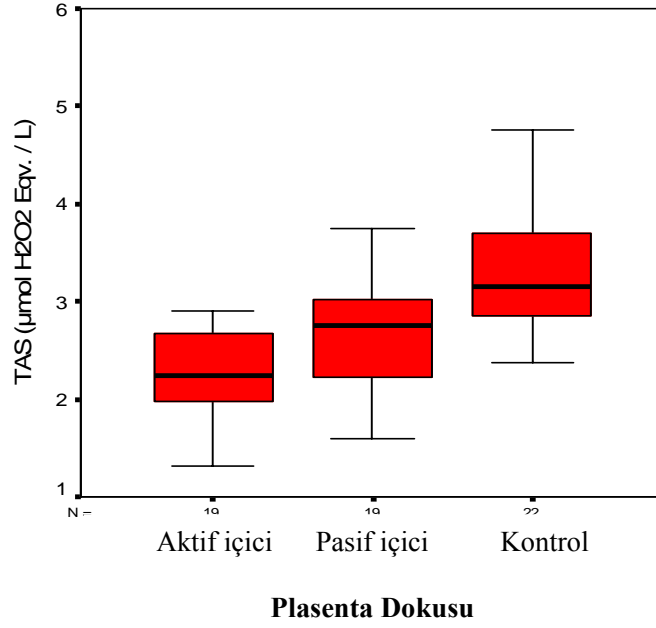


Grafik 3. Annelerin sigaraya maruziyetine göre bebeklerin kord kanında total oksidan seviyeleri.

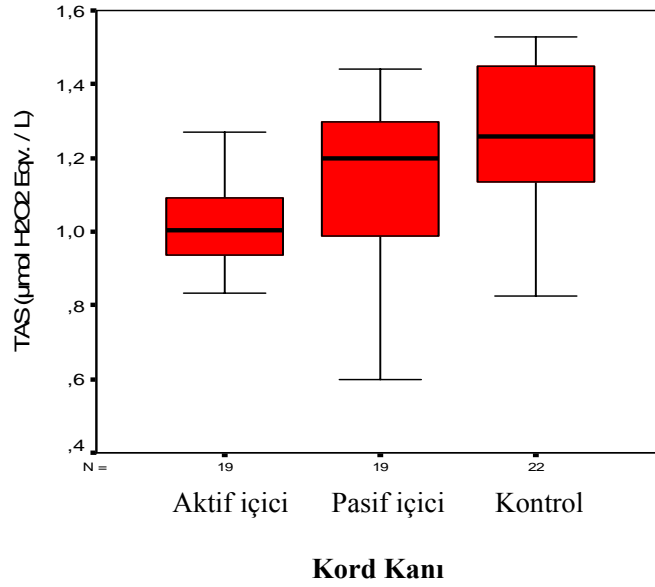
Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında TAS düzeyleri Grafik 4, Grafik 5 ve Grafik 6'da gösterilmiştir.



Grafik 4. Sigaraya maruz kalmaya göre annelerin periferik venöz kanında total antioksidan seviyeleri.



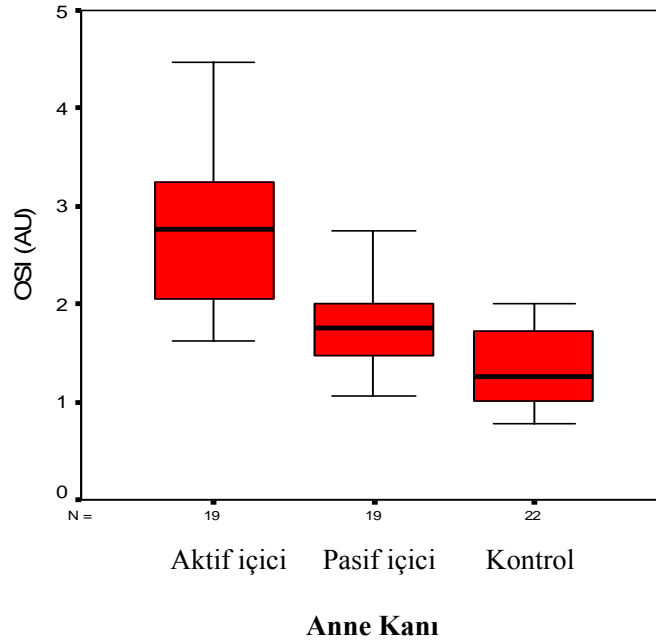
Grafik 5. Annelerin sigara maruziyetine göre bebeklerin plasenta dokusunda total antioksidan seviyeleri.



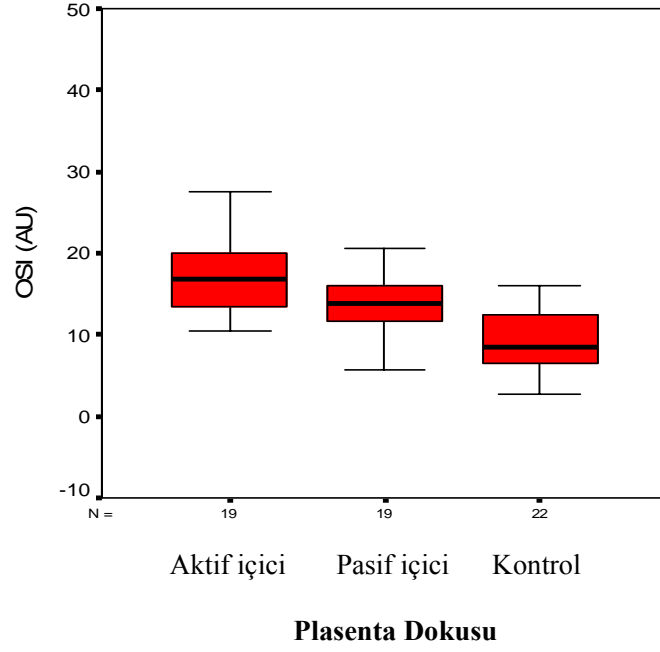
Grafik 6. Annelerin sigara maruziyetine kalan bebeklerin kord kanında total antioksidatif seviyeleri.

Grupların oksidatif stres indeksi (OSİ) değerlerine göre incelendiğinde oksidatif stres indeksinin aktif içici grupta en yüksek olduğu, daha az yüksek olmakla birlikte pasif sigara maruziyeti olan grupta da kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yüksek olduğu gözlemlendi.

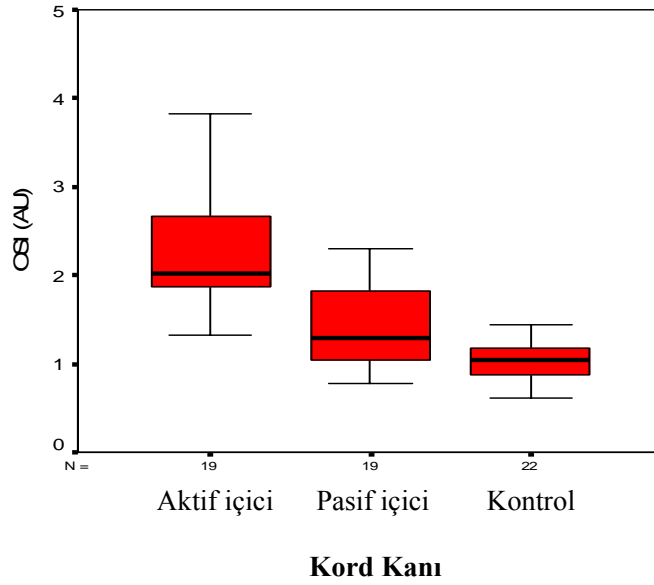
Grupların sigara maruziyetine göre annelerin periferik venöz kanı, bebeklerin plasenta dokusu ve kord kanında OSİ düzeyleri Grafik 7, Grafik 8 ve Grafik 9’da gösterilmiştir.



Grafik 7. Sigaraya maruz kalmaya göre annelerin periferik venöz kanında oksidatif stres index seviyeleri.



Grafik 8. Annelerin sigara maruziyetine göre bebeklerin plasenta dokusunda oksidatif stres indeks seviyeleri.



Grafik 9. Annelerin sigara maruziyetine göre bebeklerin kord kanında oksidatif stres indeks seviyeleri.

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda kordon kanı, plasenta dokusu ve anne periferik kanında ortalama TOS düzeylerinin hem aktif içici ve hem de pasif sigaraya maruz kalan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ve TAS düzeylerinin ise düşük olduğu saptandı. Bu çalışma, annesi sigaraya maruz kalan bebeklerin plasenta dokusunda yapılmış TOS ve TAS'ı içeren ilk oksidatif stres çalışmasıdır.

Sigara dumanından kaynaklanan birçok çeşit oksidan ve serbest radikalın oksidatif hasarı başlattığı veya artırdığı ve kanser dâhil çeşitli dejeneratif hastalıklar, akciğer ve kalp-damar hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (87,88). Sigara dumanı ile ilişkili artmış reaktif oksijen türlerinin üretimi oksidan savunma sistem kapasitesini aşarak proteinler, lipitler ve DNA'ya oksidatif hasarla sonuçlandığı bilinmektedir (88,89,90). Her ne kadar sigara içimi ile ilgili patolojilerde görevli altta yatan mekanizmalar hakkında tam bir fikir birliği olmasada sigara içimiyle ilgili bozukların birçoğunun patogenezinde serbest radikallerce oluşturulmuş oksidatif hasarın rolü olduğu öngörülmüştür (91).

Gebelik sürecinde oksidatif stres artmaktadır. Ayçiçek ve ark. (102), pasif sigaraya maruz kalan bebeklerin annelerinin periferik venöz kanında oksidatif stresin arttığını bulmuşlardır. Oksidatif hasar interlökin-6, tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve IL-1 inflamatuvar sitokinler üretiminde artışa neden olmaktadır (92,93). Artan sitokinle de birçok hastalığın patogenezinin başlamasına neden olabilmektedir. Çalışmamız literatürü destekler sonuçlar elde edilmiş olup; aktif içici annelerin pasif içici konumundaki annelere göre yüksek ve pasif olarak sigaraya maruz kalan grupta ise kontrol grubuna göre periferik venöz kanda oksidatif stresin yüksek olduğu saptandı.

Oksidatif stresin en önemli kaynağı lipid peroksidasyonudur. Hamilelikte lipid peroksidasyonunun esas kaynağının fetal doku olmayıp plasenta olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda özellikle hamileliğin erken dönemlerinde plasental dokunun lipid peroksidasyonundaki artışın hamileliğin ileriki dönemlerindeki artışa göre daha az olduğu rapor edilmiştir (26). Fakat bazı araştırmacılara göre de plasental lipid peroksidasyonunun en fazla artışı ilk trimesterde gösterdiği, ikinci trimesterde yavaşça azaldığı ve üçüncü

trimestirde ise tamamen azalarak doğumla birlikte minimal seviyeye düştüğü saptanmıştır. Plasental dokudaki lipid peroksidasyonunun erken ya da geç dönemde oluşmasına dair ikilemlerin sebebi, plasentadan maternal dolaşıma geçen serbest radikallerin yeteri kadar detoksifikasyona uğrayıp uğramamasından kaynaklanmaktadır (29). Placenta dokusunda aktif ve pasif içici annelerin TOS düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin yüksek saptanması, sigaraya maruziyet plasentada oksidatif seviyeyinin daha da arttığı çalışmamız göstermiştir.

Literatürde gebelerin sigara maruziyeti sonucu bebeklerin kord kanında oksidatif durum ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır. Ayçiçek ve ark. yaptıkları çalışmada pasif sigara içiciliğine maruz kalan annelerin kord kanında oksidatif stresin arttığı göstermişlerdir (94). Kord kanında sigara maruziyeti ile oksidatif stresin artması pulmoner, kardiyovasküler sistem hastalıklarının ortaya çıkmasına zemin hazırlar (95,96). Bizim çalışmamızda aktif veya pasif sigara maruziyeti olan gruptaki bebeklerde kontrol grubuna göre oksidatif stresin arttığı saptanmış olup, konunun daha aydınlanması için prospektif çalışmalar gereklidir.

Tüm oksidan maddeler direk ve indirekt olarak serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Güçlü oksidan seviyenin olması düşük antioksidan seviyelere neden olur. Düşük antioksidan seviyenin oluşması birçok hastalığın oluş patogenezinde rol oynamaktadır. Ayçiçek ve ark. (97) pasif sigara içici konumundakilerin anneler ile onların bebeklerinde total antioksidan seviyenin düşük olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda aktif sigara maruziyeti olan grupta, pasif ve kontrol grubuna göre TAS düzeyi belirgin düşük saptandı. Pasif sigara maruziyeti olan grup ile kontrol grubu arasında belirgin fark saptanmadı.

Literatürde doku düzeyinde sigaraya maruziyet ile ilgili çok az çalışma mevcuttur. Florek ve ark. 21 gün süreyle sigara dumanına maruz bıraktıkları ratların kalp, karaciğer, plasenta ve böbrek dokularında antioksidatif aktivitenin azaldığını bulmuşlardır(97). Çalışmamızda plasenta dokusunda TAS düzeyleri aktif içici ve pasif içici grupta, kontrol grubuna göre belirgin düşük olarak tespit edildi. Antioksidan seviyenin düşük olması yüksek saptanan oksidatif seviyeye bağlandı.

Plazmada birçok antioksidan madde bulunmaktadır. Katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler; A vitamini (retinoik asit), E vitamini (alfa-tokoferol), C

vitamini (askorbik asit), ürik asit ve glutatyondan albumin, ürik asit, bilirubin ve askorbik asit ve demir en önemli antioksidanlardır. TAS'ın bu antioksidanların hepsini temsil ettiği bildirilmiştir (95,96). Normal koşullarda oluşan lipid peroksidasyonunda devreye giren antioksidan sistem, hamilelikte de aynı şekilde rol almaktadır (33). Oksidatif stresin fazla artması antioksidan sistemleri baskılamaktadır. Pasif sigara içici infantlarda antioksidan defans sisteminin birçok bileşeninin maruz kalmayanlara göre bozulmuş olduğu bildirilmiştir (98). Bolisetty ve ark. sigaraya maruz kalan infantlarda düşük vitamin seviyeleri tespit etmişlerdir (99). Ayçiçek ve ark. yaptığı çalışmada pasif sigara içiciliğine maruz kalan infant ve onların annelerinde oksidatif stresin arttığı ve total antioksidan kapasitenin de azaldığı gösterilmiştir (97). Fayol ve çalışma arkadaşları pasif sigaraya maruz kalan infantların kord kanında güçlü antioksidan olan ürik asit seviyelerinin kontrollerinkine göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (100). Chelchowska ve çalışma arkadaşları TAS seviyelerinin sigara içen annelerin yenidoğanlarının kord kanında anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir (101). Fayol ve çalışma arkadaşları da annelerinin pasif sigara içicisi olan infantların kord kanında TAS seviyelerinin düşük olduğunu tespit etmişlerdir; buna karşılık aktif içicilerin infantlarında böyle bir düşüklük olmadığını görmüşlerdir (100). Bu sonuç infantında etkilenmemesi için kord, plasenta dokusunun koruyucu görev yaptığını gösterebilir. Literatürde antioksidan seviyenin azalması yüksek oranda oksidatif stresin oluşumuna bağlamışlardır. Çalışmamızda da aktif sigara içen, pasid olarak sigaraya maruz kalan ve kontrol grubu arasında belirgin fark saptanmamasına rağmen, TAS düzeyleri belirgin düşük değerler tespit edildi.

TOS/TAS değeri OSI olarak değerlendirildi. Aktif sigara içen bebeklerin annelerinin periferik venöz kan, plasenta dokusu ve kord kanında OSİ seviyeleri değerlendirildiğinde; pasif sigaraya maruziyeti olan gruba ve pasif sigaraya maruz kalan grubun kontrol grubuna göre OSİ değerleri yüksek saptandı. OSİ her üç grupta yüksek oranda saptanması artan TOS düzeyine bağlandı.

Sigaranın gebelik dönemindeki zararlı etkileri gebenin içtiği sigaradan kaynaklandığı gibi, aynı ortamı paylaşırken yanındaki kişilerin sigara dumanına maruziyeti sonucunda da kaynaklanabilmektedir (107, 108). Gebelik döneminde aktif olarak sigara

kullanmak ya da pasif sigara maruziyeti göbek kordonu ve plasentada değişiklikler, plasenta previa, plasenta dekolmanı, dış gebelik, bebekte gelime geriliği, abortus, erken doğum, düşük doğum ağırlığı, idrar yolları anomalikleri, bebekte doğum öncesi ve sonrası ani ölüm gibi önemli hastalık ve durumların riskini artırmaktadır. (107, 109,110). Çevresel sigara dumanına maruz kalma çocukluk çağı astımının hem sıklığını, hem de şiddetini artırır. Sigara dumanı sinüzit, rinit, kistik fibroz ve bronşit ataklarını alevlendirir. Çocuklarda soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı sıklığını da artırır. İki yaş altındaki çocuklarda bronşit ve bronkopnömoni olasılığını artırır (111,112). Ayrıca anneleri sigara içen çocuklarda cilt testlerinde allerji daha sık saptanır. Ebeveynleri sigara içen çocukların kan IgE ve eozinofil düzeyleri daha yüksek bulunur (113,114,115). Gebelik döneminde sigaraya maruz kalan bebeklerde hiperaktivite, dikkat eksikliği, heceleme, okuma ve matematik problemlerinin öğrenilmesinde zorlukları gibi entellektüel gelişimlerinde yetersizlikler görülür (116). Bu çocuklar stres ile başa çıkmada daha çok sorun yaşamakta, daha az uyumakta, daha sık solukalıp vermekte, sıklıkla beslenme sorunları yaşamakta, daha çok terlemekte ve daha sık ateşlenmektedirler (117,118,119).

Büyük bir halk sağlığı problemi olan gebelik döneminde sigara kullanma alışkanlığı ya da sigara dumanına maruz kalmak sadece kadının sağlığına zarar vermekle kalmaz, aynı zamanda gebelik komplikasyonlarına ve yenidoğanda ciddi sağlık problemlerine de yol açar. Sigaranın toplum sağlığına verdiği zararın büyüklüğü, buna karşılık sigaraya karşı yapılması gerekli mücadelenin zorluğu ve çok kapsamlı oluşu, özellikle gebelik gibi çok özel olan bu dönemde ve gebelik öncesinde anneler doktoru ve hemşiresi tarafından bilgilenip bilinçlendirilerek sigara kullanımı kontrol altına alınabilir.

5. SONUÇ

Çalışmamız aktif sigara maruziyeti olan gebelerde oksidatif stres düzeyinin pasif sigara maruziyeti olan gruba göre yüksek ve sigara maruziyeti olmayan gruba göre belirgin yüksek göstermiştir. Serbest oksijen radikallerinin artışının organizmada uzun dönemde solunum sistemi, immün sistem, dolaşım sistemi üzerine etkileri düşünüldüğünde annelerin gebelikleri süresince sigara içmemeleri ve pasif sigara dumanına maruz kalmamaları için gerekli eğitim çalışmalarının artırılması ve gebelik sırasında güçlü antioksidan ilaçlarla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. www.who.int/entity/tobacco/en/atlas_6.pdf.
2. Kesim MD. Sigara ve Gebelik. Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni. 2004; 38 (2): 7- 14.
3. Demir R, Demir AY, Yinanç M: Structural changes in placental barrier of smoking mother. Path Res Pract 1994; 190: 656–67.
4. Alp H, Selimoğlu MA, Yaman S, Energin M, Altınkaynak S, Orbak Z: Gebelikte sigara kullanımının fetusa etkileri. İst Çocuk Klin Derg 1995; 30: 80–83.
5. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General–2004. Centers for Disease Control and Prevention, Office on Smoking and Health, Atlanta Georgia, May 2004.
6. Hasan SU. ATS statement-cigarette smoking and health. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154: 1579- 80.
7. Postmus PE: Epidemiology of Lung Cancer in: Fishmans Pulmonary Diseases and Disorders. 3th ed. (Ed: Fishman AP. Elias JA. Fishman JA. Grippi MA. Kaiser LR. Senior RM) USA. The McGraw-Hill Companies, 1998; 1706- 25
8. Burns DM: Cigarette smoking. Thoracic Oncology. 1997; 51- 55.
9. Koren G:Fetal toxicology of environmental tobacco smoke. Curr Opin Pediatr. 1995; 7: 128 –31.
10. Lambers DS, Clark KE: The maternal and fetal physiologic effects of nicotine. Semin Perinatol. 1996; 20(2): 115–26.
11. Mercelina-Roumans PE, Schouten H, Ubachs JM, van Wersch JW: Cotinine concentrations in plasma of smoking pregnant women and their infants. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1996; 34: 525– 28.
12. Pastrakuljic A, Schwartz R, Simone C et al. Transplacental Transfer And Biotransformation Studies Of Nicotine In The Human Placental Cotyledon Perfused In Vltro. Life Sciences, 1998; 63(24), 2333- 42.

13. Berlin I, Radzius A, Henningfield JE, Moolchan ET: Correlates of expired air carbon monoxide: effect of ethnicity and relationship with saliva cotinine and nicotine. *Nicotine Tob Res.* 2001; 3(4): 325–31.
14. Bush PG, Mayhew TM, Abramovich DR, et al.: A quantitative study on the effects of maternal smoking on placental morphology and cadmium concentration. *Placenta.* 2000; 21(2–3): 247–56.
15. Kao LW, Nanagas KA: Carbon monoxide poisoning. *Emerg Med Clin North Am.* 2004; 22(4): 985–1018.
16. Kaye S: Some usual and unusual poisonings due to carbon monoxide, *Bol Asoc Med P R.* 2003; 95(6): 21–25.
17. Steiner S, Larsen JK, Donath A, Pauli HG: Renal function and protein elimination of human subjects during carbonmonoxide exposure. *Helv Med Acta.* 1971; 36(1): 39–42.
18. Habek D: Effect of smoking on the feto-placental unit. *Lijec Vjesn.* 1998; 120(7–8): 215–19.
19. Hrubá D, Kachlik P: Influence of maternal active and passive smoking during pregnancy on birthweight in newborns. *Cent Eur J Public Health.* 2000; 8(4): 249–52.
20. Kaufmann P, Castellucci M: *Obstetrical and Gynecological Pathology.* Fox H (ed) Vol:2, 4th ed. 1995; Chapter 46,
21. Smith CH, Moe AJ, Ganapathy V: Nutrient transport pathways across the epithelium of the placenta. *Annual Review Of Nutrition,* 1992; 12: 183–206
22. Hay WW Jr, Sparks JW, Battaglia FC, Meschia G: Maternal-fetal glucose Exchange: necessity of a three pool model. *Am J Phys.* 1984; 246: 528–34;
23. Hay WW Jr: Current topic: Metabolic interrelationships of placenta and fetus: *Placenta.* 1995; 16: 19–30.
24. Holzman IR: Ammonia production by the pregnant uterus. *Proceedings of the Society for Experimental biology and Medicine.*; 1977; 156: 27-30.
25. Knopp RH, Bonet B, Lasuncion MA, et al: Lipoprotein metabolism in pregnancy. In *Perinatal Biochemistry.*(Ed)Herrera E, Knopp RH. 1992; 19–54
26. Myatt L, Cui XL. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 369–82.

27. Wang J, Mimuro S, Lahoud R, Trudinger B, Wang XL. Elevated levels of lipoprotein(a) in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1998; (178):146–49.
28. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reprod Toxicol* 1999; 13: 347–52.
29. Poranen AK, Ekblad U, Uotila P, et al. Lipid peroxidation and antioxidants in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Placenta* 1996; 17: 401–5.
30. Pentieva K, Ivanova L, Petrova S, Ovcharova D, Vatrlova K, Angelova K. Changes in the level of lipid peroxidation in healthy pregnant women. *Akush Ginekol* 1995; 34: 19–21.
31. Wang Y, Walsh SW, Kay HH. Placental tissue levels of nonesterified polyunsaturated fatty acids in normal and preeclamptic pregnancies. *Hypertens Pregnancy* 2005; 24: 235–45.
32. Walsh SW, Wang Y. Secretion of lipid peroxides by the human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1462–6.
33. Wisdom SJ, Wilson R, McKillop JH, Walker JJ. Antioxidant systems in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:1701–4.
34. Walsh SW, Wang Y. Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1456–61.
35. Wang YP, Walsh SW. Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas *J Soc Gynecol Invest* 1996; 3: 179–84
36. Mihailovic M, Cvetkovic M, Ljubic A, et al. Selenium and malondialdehyde content and glutathione peroxidase activity in maternal and umbilical cord blood and amniotic fluid. *Biol Trace Elem Res* 2000; 73: 47–54.
37. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222–35.
38. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 1997; 46: 14-8.

39. Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, et al. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 777–84.
40. Ahn YM, Kim YJ, Park H, et al. Prenatal vitamin C status is associated with placental apoptosis in normal-term human pregnancies. *Placenta* 2007; 28: 31–38.
41. Cueto SM, Romney AD, Wang YP, et al. Beta-carotene attenuates peroxide-induced vasoconstriction in the human placenta *J Soc Gynecol Invest* 1997; 4: 64–71.
42. Holles SM, Wang YP, Romney A, et al. Vitamin E attenuates peroxide-induced vasoconstriction in the human placenta *Hypertens Pregnancy* 1997; 16: 389–401.
43. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y et al: Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research*, 2004; 5: 16.
44. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y et al: Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research*, 2004; 5: 16.
45. Koretzky ED, Moller JH, Korn ME et al. Congenital pulmonary stenosis resulting from dysplasia of valve. *Circulation* 1969; 40(1): 43- 53.
46. Lima CO, Sahn DJ, Valdes-Cruz LM et al. Noninvasive prediction of transvalvular pressure gradient in patients with pulmonary stenosis by quantitative two-dimensional echocardiographic Doppler studies. *Circulation* 1983; 67(4): 866- 71.
47. Rao PS. Evaluation of cardiac murmurs in children. *Indian J Pediatr* 1991; 58(4): 471-91.
48. Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 2002; 27: 483- 86.
49. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y et al: Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research*, 2004; 5: 16.
50. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33: 110- 18.
51. Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri., Konya; Mimoza yayınları. 1995.
52. Myatt L, Cui XL. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 369-82.
53. Wang J, Mimuro S, Lahoud R, Trudinger B, Wang XL. Elevated levels of lipoprotein(a) in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 146-49.

54. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 2003; 666- 667: 387–92.
55. Yiğit S, Yurdakök M, Kilin K ve ark. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 1997; 39: 749- 65.
56. Aver'yanov AA, Lapikova VP, Pasechnik TD. Active oxygen: A possible role for rice resistance to blast. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 15(3): 103- 106.
57. Demple B. Radical Ideas: genetic responses to oxidative stress. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1999; 26: 64- 68.
58. Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact*, 2001; 137: 59- 74.
59. Buonocore G, Perrone S, Longini M et al. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res*, 2000; 47: 221- 24.
60. Cros CE, Halliwell B, Borish E et al. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann. Intern. Med.*, 1987; 107: 526 – 45.
61. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*, 1993; 26: 351- 57.
62. Cros CE, Halliwell B, Borish E et al. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann. Intern. Med.* 1987; 107: 526 – 45.
63. Otani K, Shimizu S, Chijiwa K et al. Increased Urinary Excretion of Bilirubin Oxidative Metabolites in Septic Patients: A New Marker for Oxidative Stress in Vivo. *Journal of Surgical Research*, 2001; 96: 44–49.
64. Minetti M, Mallozzi C, Michela AM et al: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352(2): 165-74.
65. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol*, 1994; 14: 296- 300.
66. Stocker R: Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004; 6: 841-49.

67. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987; 235: 1043- 46.
68. Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD et al. Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Letters*, 1994; 349: 197- 200.
69. Lindeman JH, Lentjes EG, Houdkamp E et al. Effect of an exchange transfusion on plasma antioxidants in the newborn, 1992; 90: 200- 03.
70. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol*, 2000; 35(1):17- 20.
71. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate*, 2001; 79: 180- 86.
72. Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol*, 2003; 189: 181- 88.
73. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 1990; 280: 1- 8
74. Tomaro ML, Battle AMC. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2002; 34: 216–20.
75. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS*, 2000; 25: 502- 07.
76. Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev*, 2004; 77: 89- 98.
77. Qanungo S, Sen A, Mukherjea M. Antioxidant status and lipid peroxidation in human fetoplacental unit. *Clin Chim Acta*, 1999; 285: 1- 12.
78. Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF et al. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr*, 1999; 53: 861-64.
79. Korkmaz A, Yurdakök M, Yiğit Ş ve ark. Hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2001; 44: 338- 41.

80. Bolisetty S, Naidoo D, Lui K et al. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant vitamins and the influence of smoking. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 2002; 86: 36- 40.
81. Romay C, Pascual C, Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz J Med Biol Res*, 1996; 29: 175- 83
82. Stocker R, Peterhans E. Synergistic interaction between vitamin E and the bile pigments bilirubin and biliverdin. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 1002: 238–44.
83. Sommerburg O, Meissner K, Nelle M et al. Carotenoid supply in breast-fed and formula-fed neonates. *Eur J Pediatr*, 2000; 159: 86–90.
84. Warner B, Wispe J. Free radical-mediated diseases in Pediatrics, *Seminars in Perinatology*. 1992; 19: 47–57.
85. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 2004; 37: 277–85.
86. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J.Clinical Biochemistry*, 2005; 47: 119–29.
87. Kim DH, Suh YS, Mun KC. Tissue levels of malondialdehyde after passive smoke exposure of rats for a 24-week period. *Nicotine Tob Res* 6: 2004; 1039–42
88. Schwertner HA. Association of smoking and low serum bilirubin antioxidant *Atherosclerosis*, 1998; 136: 383–87.
89. Cross CE, O'Neill CA, Reznick AZ, Hu ML, Marcocci L, Packer L, Frei B. Cigarette smoke oxidation of human plasma constituents. *Ann N Y Acad Sci*, 1993; 686: 72.
90. Yoshie Y, Ohshima H. Synergistic induction of DNA strand breakage by cigarette tar and nitric oxide. *Carcinogenesis*, 1997; 8: 1359.
91. Rahman I, MacNee W. Oxidant/antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. 1996; 51: 348.
92. Zhang J, Liu Y, Shi J, Larson DF, Watson RR. Side-stream cigarette smoke induces dose–response in systemic inflammatory cytokine production and oxidative stress. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 2002; 227: 823–29.

93. Puranik R, Celermajer DS. Smoking and endothelial function. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2003; 45: 443–58.
94. Aycicek A, Ipek A. Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in cord blood. *Eur J Pediatr*, 2008; 167: 81–85.
95. Kelly G. The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part III: Ascorbic acid. *Altern Med Rev*, 2003; 8: 43–54.
96. Schwertner HA. Association of smoking and low serum bilirubin antioxidant, 1998;10.
97. Ayçiçek A, Özcan E, Kocyğıt A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. *Pediatrics International*, 2005; 47: 635–39.
98. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly*, 2003; 133: 563–66.
99. Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh TH, Watson D, Montgomery R, Whitehall J. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant vitamins and the influence of smoking. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2002; 86: F36–F40.
100. Fayol L, Gulian JM, Dalmaso C, Calaf R, Simeoni U, Millet V. Antioxidant status of neonates exposed in utero to tobacco smoke. *Biol Neonate*, 2005; 87: 121–26.
101. Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Leibschang J. The effect of tobacco smoking during pregnancy on concentration of malondialdehyde in blood of mothers and in umbilical cord blood. *Ginekol Pol*, 2005; 76: 960-65.
102. Ali Aycicek, Ozcan Erel, Abdurrahim Kocyigit. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. *Eur J Pediatr*, 2005; 164: 775–78
103. Rabus M, Demirbag R, Yildiz A, Tezcan O, Yilmaz R, Ocak AR, Alp M, Erel O, Aksoy N, Yakut C. Association of prolidase activity, oxidative parameters, and presence of atrial fibrillation in patients with mitral stenosis. *Arch Med Res.* 2008 Jul; 39(5): 519-24. Epub 2008 Apr 28.
104. Kiliç A, Selek S, Erel O, Aksoy N. Protective effects of melatonin on oxidative-antioxidative balance and cataract formation in rats. *Ann Ophthalmol (Skokie).* 2008; 40(1): 22-27.

105. Kaya M, Boleken ME, Zeyrek F, Ozardali I, Kanmaz T, Erel O, Yücesan S. Oxidative and antioxidative status in the testes of rats with acute epididymitis. *Urol Int.* 2006;76(4):353-58.
106. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. *Urol Res.* 2002 Jul;30(3):190-94. Epub 2002 May 22.
107. Chatenoud L, Parazzini F, di Cintio E, Zanconato G, Benzi G, Bortolus R, La Vecchia C. Paternal and maternal smoking habits before conception and during the first trimester: relation to spontaneous abortion. *Ann Epidemiol.* 1998; 8(8): 520-26.
108. Dowling O, Rochelson B, Way K, Al-Abed Y, Metz CN. Nicotine inhibits cytokine production by placenta cells via NFkappaB: potential role in pregnancy-induced hypertension. *Mol Med.* 2007; 13: 576-83.
109. Correia S, Nascimento C, Gouveia R, Martins S, Sandes AR, Figueira J, Valente S, Rocha E, Da Silva L. Pregnancy and smoking: an opportunity to change behaviours. *Acta Med Port.* 2007; 20(3): 201-07.
110. Kaminsky LM, Ananth CV, Prasad V, Nath C, Vintzileos AM; New Jersey Placental Abruption Study Investigators. The influence of maternal cigarette smoking on placental pathology in pregnancies complicated by abruption. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 197(3): 275.
111. Jaakkola JJ, Gissler M. Maternal smoking in pregnancy, fetal development and childhood asthma. *Am J Public Health.* 2004; 94: 136-40.
112. Goel P, Radotra A, Singh I, Aggarwal A, Dua D. Effects of passive smoking on outcome in pregnancy. *J Postgrad Med.* 2004; 50(1): 12–16.
113. Horak E, Morass B, Ulmer H. Association between environmental tobacco smoke exposure and wheezing disorders in Austrian preschool children. *Swiss Med Wkly.* 2007; 3(137): 608–13.
114. Prietsch SO, Fischer GB, Cesar JA, Fabris AR, Mehanna H, Ferreira TH, Scheifer LA. Acute disease of the lower airways in children under five years of age: role of domestic environment and maternal cigarette smoking. *J Pediatr (Rio J).* 2002; 78: 415-22.

115. Petrou S, Hockley C, Mehta Z, Goldacre M. The association between smoking during pregnancy and hospital inpatient costs in childhood. *Soc Sci Med*. 2005; 60: 1071-85.
116. Gray RF, Indurkha A, McCormick MC. Prevalence, stability, and predictors of clinically significant behavior problems in low birth weight children at 3, 5, and 8 years of age. *Pediatrics*. 2004; 114: 736-43.
117. Fowler PA, Cassie S, Rhind SM, Brewer MJ, Collinson JM, Lea RG, Baker PJ, Bhattacharya S, O'Shaughnessy PJ. Maternal smoking during pregnancy specifically reduces human fetal Desert hedgehog gene expression during testis development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 97: 13.
118. Kaminsky LM, Ananth CV, Prasad V, Nath C, Vintzileos AM; New Jersey Placental Abruption Study Investigators. The influence of maternal cigarette smoking on placental pathology in pregnancies complicated by abruption. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 197(3): 275.
119. Drews CD, Murphy CC, Yeargin-Allsopp M, Decoufle P. The relationship between idiopathic mental retardation and maternal smoking during pregnancy. *Pediatrics*. 1996; 97: 547-53.