

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

138432

RATLARDA SİGARA DUMANI, NİKOTİN VE KARBON
MONOKSİD' İN KAN NİTRİK OKSİT VE ENDOTELİN-1
SEVİYELERİNE ETKİLERİ

TEZ YÖNETİCİSİ
DOĞRUKAĞIÇI
138432

138432

Dr. Lale Nur DANE

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Leyla YILDIZ

Doktora Tezi
Erzurum-2003

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RATLARDA SİGARA DUMANI, NİKOTİN VE KARBON
MONOKSİD' İN KAN NİTRİK OKSİT VE ENDOTELİN
SEVİYELERİNE ETKİLERİ**

Dr. Lale Nur DANE

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24 . 01. 2003

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 07. 03. 2003

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Leyla YILDIZ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ekin ÖNDER

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Sedat AKAR

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fatih AKÇAY

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Adnan TEZEL

Mart 2003

ERZURUM

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
ÖZET.	III
SUMMARY	IV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENELBİLGİLER	4
2.1. Sigara ve Bileşenleri	4
2.1.1. Nikotin	4
2.1.2. Karbo Monoksit	6
2.1.3. Hidrojen Siyanür	8
2.1.4. Nitrik Oksit	9
2.1.5. Karbondisülfid	9
2.1.6. Kadmiyum	9
2.1.7. Katran	9
2.1.8. Benzpiren	10
2.1.9. Oksidan Maddeler	10
2.2. Sigara İçiminin Klinik Etkileri	12
2.2.1. Sigaranın Kardiyovasküler Sisteme Etkileri	12
2.2.2. Sigaraya Bağlı Endotelial Disfonksiyon	16
2.2.3. Sigaranın Solunum Sistemine Etkileri	18
2.2.4. Sigaranın Sinir Sistemine Etkileri	20
2.2.5. Sigaranın Sindirim Sistemine Etkileri	21
2.2.6. Sigara ile Kanseri Gelişimi İlişkisi	21
2.2.7. Sigaranın Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi	22
2.3. Pasif İçicilik	23
2.4. Hamilelikte Sigara İçimi	25
2.5. Nitrik Oksit	26
2.6. Endotelin	33

3. MATERYAL VE METOD	40
3.1. Deney Hayvanları	40
3.2. Uygulanan Maddeler	41
3.3. Kan Alınması ve Saklanması	41
3.4. Nitrik Oksit Tayini	42
3.4.1. Nitrit Tayini	42
3.4.2. Nitrat Tayini	43
3.5. Endotelin Tayini	44
3.5.1. Reaktiflerin Hazırlanması	44
3.5.2. Deneyin Yapılışı	45
3.6. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	48
4.1. Serum Nitrik Oksit Seviyeleri	48
4.2. Plazma Endotelin-1 Seviyeleri	50
4.3. Ağırlık ile Nitrik Oksit ve Endotelin Arasındaki İlişkiler	52
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ	70
7. KAYNAKLAR	72

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sigarada bulunan zararlı bileşiklerin spesifik etkilerini ortaya koymaktır. Bu bileşiklerden en önemli ikisi nikotin ve karbon monoksit (CO)'tir. Bu nedenle deney hayvanlarında pasif sidestream ve mainstream sigara dumanının, düşük ve yüksek doz nikotin ve düşük ve yüksek doz CO'ın serum nitrik oksit (NO) ve plazma endotelin-1 düzeylerine etkileri araştırıldı.

Deney hayvanları kontrol grubu, pasif sidestream dumana maruz kalan grup, pasif mainstream dumana maruz kalan grup, %5 CO grubu, %15 CO grubu, düşük doz ve yüksek doz nikotin grubu olmak üzere 7 gruba ayrıldı.

Yapılan varyans analizinde serum NO seviyesi açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklı bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, sidestream dumana maruz kalan grup, %15 CO grubu, yüksek doz nikotin grubu, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu ve mainstream dumana maruz kalan grup ve kontrol grubu olarak bulundu.

Varyans analizinde plazma endotelin-1 seviyesi açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklı bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, sidestream dumana maruz kalan grup, kontrol grubu, mainstream dumana maruz kalan grup, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu, %15 CO grubu ve yüksek doz nikotin grubu olarak bulundu. Serum NO seviyeleri ile plazma endotelin-1 seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı olmayan negatif korelasyon bulundu.

Bu sonuçlar ışığında pasif sidestream dumana maruz kalan grupta en yüksek olmak üzere NO seviyeleri tüm gruplarda artmaktadır. Plazma endotelin-1 seviyelerinin sidestream dumana maruz kalan grupta yükselmesi sidestream dumanın endotel disfonksiyonu açısından daha zararlı olduğunu gösterir. Nikotin ve CO verilen ratlarda plazma endotelin-1 konsantrasyonlarının azalması bu gruplarda artmış NO konsantrasyonunun cGMP bağımlı mekanizma aracılığıyla endotelin-1 oluşumunu inhibe etmesine bağlanabilir.

Sonuç olarak çevresel sigara dumanının maruz kalan kişileri önemli ölçüde etkilediğini söyleyebiliriz.

IV

SUMMARY

The aim of this study is to investigate the toxic effects of the harmful compounds in cigarette. The most important two of these compounds are nicotine and CO. Therefore, it was assessed the effects of passive sidestream and mainstream smoke; low and high dose nicotine; and low and high dose CO on the levels of serum NO and plasma endothelin-1.

The experimental animals (rats) were separated into seven groups as control, passive sidestream smoke, passive mainstream smoke, 5% CO, 15% CO, low dose nicotine and high dose nicotine.

In the analysis of variance (ANOVA), the difference among groups was statistically significant in terms of serum NO levels. From the highest to the lowest, it was found as sidestream smoke group, 15% CO group, high dose nicotine group, low dose nicotine group, 5% CO group, mainstream smoke group and control group.

In the analysis of variance (ANOVA), the difference among groups was statistically significant in the levels of plasma endothelin-1. From the highest to the lowest, it were found as sidestream smoke group, control group, mainstream smoke group, low dose nicotine group, 5 % CO group, 15% CO group and high dose nicotine group. The negative correlation between plasma endothelin-1 and serum NO levels was found.

In the light of these results, NO levels, the highest in sidestream smoke group, in all groups was higher than in control group. The increased plasma endothelin-1 levels in sidestream smoke group shows that sidestream smoke is hazardous in endothelial function. Decreased plasma endothelin-1 levels in rats administered nicotine and CO may be due to the fact that increased NO concentrations which inhibits endothelin-1 production by cGMP-dependent mechanism.

As a result, we speculated that cigarette smoking affects importantly persons exposed to environmental cigarette smoke.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sigara içmek çeşitli hastalıklara, kansere ve dolayısıyla erken ölümlere sebep olan insanların vazgeçemediği bir alışkanlıktır. Sigara sadece aktif sigara içenlerde değil sigara dumanına maruz kalan pasif içicilere de zarar vermektedir. Sigaranın sistemik zararlı etkileri akut olarak ortaya çıkmamakla birlikte kronik kullanım sonucu kalp damar hastalıkları, akciğer hastalıkları ve kanseri gibi birçok hastalıklara sebep olmaktadır. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar aktif ve pasif sigara içiminin kardiyovasküler hastalıklara, serebrovasküler hastalıklara, akciğer hastalıklarına, kanserlere, gastrointestinal sistem hastalıklarına sebep olduğunu göstermiştir^{1,2}.

Sigaranın önemli bileşenlerinden biri olan nikotine aşırı maruziyet nikotin bağımlılığı geliştirir³. Sigara içimi koroner, serebral ve periferik arterlerde ateroskleroz riskini artırır⁴. Hiperkolesterolemi, hipertansiyon gibi diğer risk faktörleri ile birlikte sigaranın bulunması mortalite üzerine sinerjistik etki gösterir. Sigara içme ve hiperkolesterolemi sinerjistik olarak endotel fonksiyonlarını bozmaktadır⁵. Sigaranın bırakılması koroner kalp hastalığında mortalite riskini azaltır^{3,6,7}. Bu azalma sigarayı kestikten sonra geçen süre, içilen sigaranın miktarı ve kesmeden önceki sigara içme süresi ile ilişkilidir. Miyokard infarktüsü insidansı ve koroner kalp hastalığından ölüm sigara içenlerde içmeyenlere göre %70 daha fazladır¹⁻⁵.

Sigara içimi; koroner vazokonstriksiyon yaparak koroner kan akımını azaltır⁸⁻¹⁰, katekolamin salgısını artırarak kalbin iş yükünü ve dolayısıyla oksijen ihtiyacını artırır¹¹, serbest oksijen radikallerinin üretimini artırır¹² ve vasküler trombozu hızlandırır¹³.

Endotelium derived relaksing factor (EDRF) yani nitrik oksit (NO) L-argininden üretilir¹⁴. NO vazodilatasyon yaparak koroner kan akımını artırır¹⁵. Ayrıca lökosit ile endotel hücresi arasındaki etkileşimi inhibe eder¹⁶ ve serbest oksijen radikallerinin etkilerini azaltır¹⁷. NO ayrıca trombosit agregasyonunu azaltır¹⁸ ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe eder¹⁹. Tüm bu etkiler koroner kan dolaşımı açısından olumlu etkilerdir.

Endotelin ilk defa Yanagisawa ve arkadaşları tarafından 1988 yılında, domuz aort endotel hücrelerinden 21 amino asitli bir peptid olan endotelium-derived contracting factor olarak tanımlanmıştır^{20,21}. Bu peptid angiotensin-II'nin en az 10 katı daha kuvvetli bir vazokonstriktör etkiye sahiptir. Bu peptid endotelin-1 olarak isimlendirilmiş ve daha sonra endotelin izopeptid ailesine dahil olan endotelin-2 ve endotelin-3 bulunmuştur. Endotelin salınımı NO tarafından engellenmektedir²².

Anabilim dalımızda daha önce yapılan iki ayrı çalışmada aktif ve pasif sigara içiminin serum NO²³ ve endotelin-1²⁴ konsantrasyonlarını değiştirdiği ve bu değişimin sigara içme süresi ile içilen sigara sayısına bağlı olduğu saptanmıştı. Serum NO konsantrasyonlarındaki artışın sigara dumanındaki NO'ye bağlı olabileceği iddia edilmiştir, çünkü sigara dumanı gaz fazında oldukça fazla miktarda NO ihtiva etmektedir²⁵. Ancak, sigara içenlerde serum NO artışı vücudun sigaranın zararlı etkilerini azaltan bir savunma mekanizması da olabilir. NO'nin endotelin-1 salınımını engellemesi ise sigara ile endotelin-1 salınımı arasında da bir ilişkinin olabileceği varsayımını akla getirmektedir. Yoğun fakat kısa süreli sigara dumanına maruziyet ile kan NO ve endotelin-1 seviyeleri arasındaki ilişki şu ana kadar çalışılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, sigarada bulunan zararlı bileşiklerin spesifik etkilerini ortaya koymaktır. Bu bileşiklerden en önemli ikisi nikotin ve karbonmonoksit (CO)'tir. Bu nedenle deney hayvanlarında pasif mainstream (üflenene dumanı maruziyet) ve pasif sidestream (yanan sigaranın ucundan çıkan dumanı maruziyet) dumanı maruz kalma, düşük ve yüksek doz nikotin ve düşük ve yüksek doz CO'in serum NO ve plazma endotelin-1 düzeylerine ayrı ayrı etkileri araştırıldı.



2. GENEL BİLGİLER

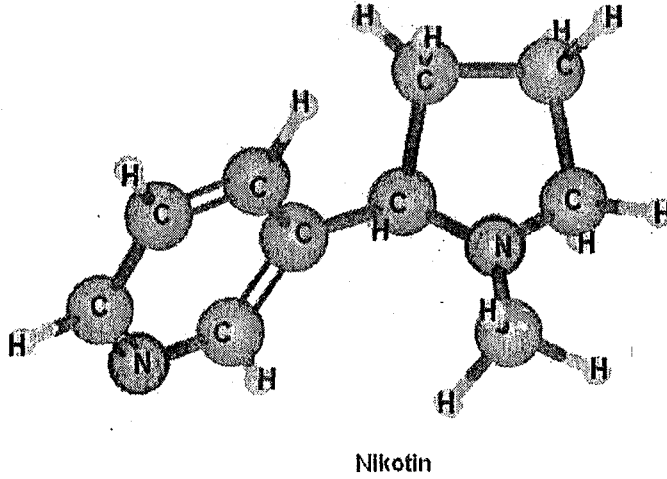
2.1. Sigara ve Bileşenleri

Tütün ilk kez 1492 yılında Amerika kıtasının keşfi ile süs ve şifa bitkisi olarak Avrupa'ya getirilmiş ve daha sonra bütün dünyaya yayılarak insan sağlığını tehdit eden bir ürün haline gelmiştir. Tütün yaprağı ve ekstresi veteriner hekimlikte; hayvansal parazitlere ve tarımda; böceklerle karşı mücadelede, ayrıca kalp hastalıklarına, kulak çınlamalarına ve baş dönmelerine karşı insanlar tarafından folklorik tababette kullanılmıştır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de üretilen tütünün % 90'ı sigara yapımında kullanılmaktadır^{26,27}.

Sigara dumanı gaz ve partikül fazında toksik, siliatoksik ya da kanserojen 4000' den fazla molekül içermektedir. Sigaradaki binlerce kimyasal maddeden damar hastalıklarına sebep olanları nikotin, CO, polisiklik hidrokarbonlar ve glikoproteinlerdir. Sigara dumanının en etkili bileşenleri nikotin, CO ve hidrojen siyaniddir. Tütün, yaprağının yapısında bulunan protein, karbonhidrat ve nikotin içeriğine bağlı olarak değişik özellikler kazanmaktadır²⁷. Nikotin ve katran oranı düşük sigaralar (low yield) bu molekülleri daha fazla bulunduran sigaralar (higher yield)'dan daha az zararlıdır²⁸.

2.1.1. Nikotin

Nikotin, sigara dumanının farmakolojik yönden en önemli ve etkili bileşeni olup bağımlılık yapan ana maddedir³ (Şekil 1). Nikotin zayıf bir bazdır ve pH'ya bağlı olarak biyolojik membranları geçer²⁹. Nikotin alt solunum yolları ve akciğer alveollerinde absorblanır³⁰. Nikotin hızla beyne de ulaşır³⁰. İzole serebral arterlerde nikotine bağlı dilatasyonun NO'e bağlı olduğu gösterilmiştir³¹.



Şekil 1. Nikotinin kimyasal yapısı.

Nikotin adrenerjik sinirler üzerindeki nikotinik reseptörlere etki ederek noradrenalin salınımına neden olur. Ayrıca nitrik oksiderjik sinirlere etki ederek de NO salınımına sebep olur. Sonuç olarak, nikotinin uyardığı NO'e bağlı serebral vazodilatasyon adrenerjik sempatik sinirlere bağımlıdır³¹.

Nikotin orta derecede semptomimetik etkilere sahiptir. Sempatik sinir sistemini aktive eder. Kalp hızını gün boyunca dakikada yaklaşık 7 atım artırır. Her bir sigaradan sonra kan basıncı, kalbin kasılma gücü ve hızındaki artışa bağlı olarak yaklaşık 5 mmHg artar. Bu etkiler miyokard oksijen ihtiyacını ve koroner kan akımı ihtiyacını artırır. Aynı zamanda nikotin koroner damarları daraltır. Bu durum ise ihtiyaç ile kan akımı arasında uyumsuzluğa ve iskemiye sebep olur³.

Farmakolojik olarak nikotin psikomotor bir stimülandır. Diğer ilaç bağımlılıklarına benzer şekilde sigarayı bırakmayı takiben nikotin eksikliğine bağlı yoksunluk belirtileri gelişir. Bunlar irritabilite, huzursuzluk, konsantrasyon

bozukluğu, anksiyete, sinirlilik, kilo alma, uyku bozukluğu, sigaraya aşırı özlem ve uyuşukluktur. Nikotin bu etkileri sebebiyle sigarayı bırakmada replasman tedavisinde kullanılmaktadır³.

Her bir sigaranın dumanıyla yaklaşık 2-3 mg nikotin vücuda girmektedir. Bir sigara içildikten sonra arteriel kandaki nikotin konsantrasyonu 31 ng/ml'den 41 ng/ml'ye ulaşır. Nikotinin absorpsiyonu inhale edilen dumanın miktarına, duman inhalasyonunun derinliğine ve süresine ve dumanın pH'sına bağlı olarak değişmektedir³⁰.

Nikotin damardan verilisini takiben vücut dokularına hızla yayılır. Inhale edilen nikotinin beyne ulaşma süresi emilen nikotinin beyne ulaşma süresinden daha kısadır. Bu özellik nikotinin bağımlılık yapıcı etkisini kuvvetlendirmektedir. Nikotin inhalasyondan 10 saniye sonra beyne geçer. Nikotin konsantrasyonları şahsın sık sigara içmesi sonucu kanda birikir. Devamlı sigara içilmesi ve deney hayvanlarında sabit nikotin infüzyonu beyinde bazı değişiklikler üretir. Örneğin beynin birçok bölgelerinde nikotin reseptörlerinin yoğunluğu artar³.

2.1.2. Karbon Monoksit

CO miyoglobin ve hemoglobinin oksijen bağlanma bölgesine oksijenle yarışarak bağlanmaktadır. Oksijen bağlayan bu iki proteinin CO'e ilgisi oksijene olan ilgilerinden 250 kat fazladır. İzole edilerek sulu bir ortama alınan hem grubunun ise, CO'e olan ilgisi 2500 kat fazla olmaktadır. X ışınlarıyla yapılan kristallografik araştırmalar CO ile hem grubu arasındaki bağ açısının dik olduğunu, miyoglobin ve hemoglobin moleküllerindeki bağın ise hem düzlemi ile 120 derece açı yaparak büküldüğünü ortaya koymuştur. Distal histidinin

etkisiyle bağıın düşey konumdan uzaklaştığı ve serbest hem ile yapılan bağa göre çok daha fazla güçsüz duruma geçtiği belirlenmiştir. Oksijen ile benzer bağlanma şeklinin meydana geldiği gösterilmiştir³².

CO'ın fazla olduğu ortamlarda bulunan kişilerde bifosfogliserat (BPG) konsantrasyonları yüksek olarak bulunmuştur. Akciğerlere giren hava ve oksijen miktarındaki azalmanın BPG düzeyleri artırılarak karşılandığı belirlenmiştir. Bu gibi hipoksi durumlarında BPG konsantrasyonlarını 2 katına artırarak hemoglobinin oksijene ilgisinin azalmasına ve dokuların daha iyi oksijenlenmesine olanak vermektedir³².

CO oksidatif fosforilasyonun bir inhibitörüdür. CO elektron taşınmasının inhibitörleri arasında yer alarak sitokrom oksidazı inhibe etmektedir³².

Her bir sigaranın dumanıyla 20-30 ml CO vücuda girmektedir. İşaretili prekürsörlerle yapılan çalışmalar CO'ın 460 °C ısının üzerinde oluşturulduğunu ve %30'unun tütünün temel ayrışması ile, % 36'sının tütünün yanmasıyla, %23'ünün de karbondioksidin (CO₂) redüksiyonuyla açığa çıktığını göstermektedir²⁶.

Sigarayla maruz kalınan CO'ın sağlık üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Seçilmiş populasyon gruplarındaki araştırma sonuçları CO'ın koroner hastalığı olan bireylerde iskemik epizotlar ve kardiyak semptomları başlatan stres faktörlerine ilave olarak etki ettiğini göstermiştir³³.

Sigaraya maruz bırakılan ratlarda ölçülen karboksihemoglobin (HbCO) seviyeleri sigara içen grupta içmeyenlere kıyasla yüksek olarak bulunmuştur. Ortalama HbCO seviyesi dumana maruz kalan pasif içicilerde %18 olup %12 ile %30 arasında değişir. Bu değerler sigara içen kişilerde biraz daha yüksek

olarak bulunmuştur. HbCO'deki bu artış hipoksiye sebep olmaktadır. Hipoksi ise damarların genişlemesine neden olmaktadır³⁴.

Sigara dumanı içinde %4 oranında bulunduğu tahmin edilen CO eritrositlerdeki hemoglobine bağlanarak hemoglobinin oksijen taşımalarını engellemekte ve hemoglobin oksijen taşımalarını %2.5 oranında azaltmaktadır. Özellikle beynin yeterli oksijen alamaması sonucu düşünme, karar verme, net görme ve işitme gibi önemli motor ve algısal fonksiyonlarda azalmaya sebep olmaktadır³³.

2.1.3. Hidrojen Siyanür (HCN)

Bir sigaranın dumanındaki HCN içeriği 20-480 µgr'dır. HCN respiratuar zincir bileşenlerinin bir inhibitörü olup arteriel duvar ve myokard hücrelerinin metabolizmasını etkiler. Ayrıca güçlü bir siliatoksik ajandır ve solunum sisteminin katran bileşiklerinden temizlenmesi etkinliğini azaltır. Tütündeki nitratlar dumandaki HCN'ün öncül maddeleridir. İlave olarak tütün proteinleri dumandaki HCN'ün öncülleridir. HCN N-heterosiklik ara bileşikler yoluyla ve prolidinden, pirolin ürünlerinin dekarboksilasyonu yoluyla oluşturulmaktadır. HCN piroliz-distilasyon sonunda N-içerikli halkanın açılmasıyla ayrılmaktadır. Dumandaki HCN'ün uzaklaştırılması amacıyla kullanılan kömür içerikli filtre uçları main stream=içe çekilen duman (MS)'dan HCN'yi %70-80 oranında uzaklaştırmaktadır. Ayrıca tütünden protein fraksiyonlarının ekstraksiyonu da HCN'ün selektif olarak azaltılmasına yol açar³³.

2.1.4. Nitrik Oksit (NO)

Sigara dumanı ie çekilen her bir duman soluğunda 10^{14} serbest radikal içerir. Bunların gaz fazındaki bileşeni NO türevi radikallerdir³⁵. Sigara dumanında 500-1000 ppm miktarında NO bulunur. İnsanların maruz kaldığı temel NO kaynağı sigara dumanıdır. NO hem MS hem de side stream=yanan uçtan çıkan duman (SS) bileşendir. Sigara başına MS'de 6-600 μgr kadar NO bulunur³³.

Gaz fazdaki NO daha reaktif nitrojendioksid (NO_2)'e okside olur. NO_2 direk lipid peroksidasyonuna sebep olur. NO_2 respiratuar ve terminal bronşöller ile alveoler duktusların hasarına sebep olarak pulmoner amfizemin gelişimine katkıda bulunur³³.

2.1.5. Karbondisülfid (CS_2)

Son zamanlarda aterosklerotik hastalıklar için bir risk artırıcı faktör olarak suçlanmaktadır³³.

2.1.6. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyumun yüksek konsantrasyonları böbreklerde birikmektedir. Cd aterogeneizde rol oynar³³.

2.1.7. Katran

Sigaradaki katran miktarı 0.5-30 mgr'dır. Filtreli sigaralarda katran oranı azalmaktadır³³.

2.1.8. Benzpiren

Sigara dumanının içinde yer alan benzpiren bir ksenobiyotiktir. Ksenobiyotikler çok küçük miktarlarda bile toksik olabilirler. Genel olarak doku hücreleri üzerinde 3 tip etki yapmaktadırlar. Bu etkiler arasında hücre hasarı, hücrenin antijenik özelliklerinin değiştirilmesi ve karsinogenez bulunmaktadır. Ksenobiyotiklerin hücre proteinlerine, DNA ve RNA moleküllerine kovalent olarak bağlanması ile ortaya çıkan hücre hasarı hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır. Hücrenin antijenik özelliklerini değiştiren ve haptenler gibi davranan ksenobiyotikler, daha önce sentezlenen antikora bağlanarak hücrenin immünolojik metabolizmasını bozmaktadır. Monooksijenazlar ile aktiflenen benzpiren karsinojenik özellik kazanmaktadır³⁶.

2.1.9. Oksidan Maddeler

Sigara CO gibi toksik ürünlerin yanısıra kardiyovasküler sisteme hasar veren oksidan gazlar içerir^{3,37}. Sigaranın zararlı etkilerinin biyolojik maddeler üzerine oksidatif hasardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Sigara içtiği oksidan maddelerle hem hücre ve dokulardaki oksidatif hasarı indüklemekte hem de reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açan fagositik hücreleri aktive etmektedir. Ateroskleroz, amfizem, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), kanser gibi pek çok hastalığın patogeneğinde sigara içiminin indüklediği oksidatif hasar yer almaktadır³⁸.

Sigara dumanındaki oksidan, prooksidan, serbest radikal ve indirgeyici ajanları içeren 1000 den fazla bileşen tanımlanmıştır. Sigara dumanındaki serbest radikaller gaz fazı ve katran fazı olarak iki gruba ayrılmaktadır.

Katran fazındaki başlıca radikaller kinon(Q)/hidrokinon(QH₂) kompleksinden oluşmaktadır. Q/QH₂ aktif bir redoks sistemidir. Moleküler oksijeni süperoksit ve daha sonra hidrojen peroksit ve hidroksil radikaline indirger. Bu sistem hidrofobik bir çevrede serbest oksijen radikallerinin devamlı bir kaynağını oluşturur. Katrandaki radikaller DNA ile etkileşerek kovalent bağlanmalar yapar. DNA tek sarmalında kırılmalara ve oksidatif DNA hasarına yol açar³⁹.

Gaz fazı küçük oksijen ve karbon merkezli radikalleri içerir. Gaz fazdaki radikaller NO'nin nitrojendioksit (NO₂)'e oksidasyonunda üretilir ve dumandaki izopren gibi reaktif türlerle reaksiyona girer³⁹.

Sigaranın her içe çekilen dumanında (puff)'nda gaz faza ait 10¹⁵ organik radikal bulunmaktadır. Bunlar alkil, alkoksil ve peroksil tipindedir. Bu radikaller çok reaktif olup kısa ömürlüdürler ve dumanda yüksek konsantrasyonda var olan NO'nin NO₂'e oksidasyonunda üretilirler. Pek çok fonksiyonu bulunan NO'nin aşırı oluşumu ile toksik etkiler ortaya çıkar⁴⁰.

NO, süperoksit radikali ile peroksinitrit (ONOO⁻), organik peroksil radikali ile de alkilperoksinitrit (ROONO) vermek üzere reaksiyona girer. Peroksinitrit ve alkil peroksinitrit biyolojik sistemlerde hasar oluşumuna aracılık eden radikallerdir⁴¹.

Sigara süpeoksid anyonu ile NO'yi yıkarak vasodilatasyonu engeller. Süperoksit anyonlarının üretimi artarsa NO hızla inaktive edilir. Bu endotele bağlı damar genişlemesinin bozulmasına katkıda bulunur. Sigara içenler serbest oksijen radikallerinin aktivitelerine özellikle hassastırlar. Bu nedenle de sigara içenlerde lipid peroksidasyonu artmaktadır⁴². Böylece uzun süreli sigara

içimi ile oluşan serbest radikaller koroner endotelial vazodilatatör fonksiyonu bozarlar. Aterosklerotik damar duvar kalınlaşmasına sebep olurlar⁷.

Oksidan gazlar düşük dansiteli lipoproteinler (LDL)'i okside ederler. Onları daha aterojenik hale getirirler ve endotelial hasara sebep olup NO salınımını engellerler. Oksidan gazlar trombositleri etkilerler, hiperkoagulabiliteye sebep olurlar. Bundan dolayı sigara içenlerde trombozlar daha sık görülür³.

2.2. Sigara İçiminin Klinik Etkileri

Sigara dumanına aktif ve pasif maruziyet morbidite ve mortalite sebeplerinden biridir. Amerika Birleşik Devletlerinde yıllık 400.000'den fazla ölüme katkıda bulunduğu saptanmıştır. Amerikan Kalp Cemiyeti pasif sigara içiminin hem erişkinlerde ve hem de çocuklarda kalp hastalıkları için önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir⁶. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar aktif ve pasif sigara içiminin kardiyovasküler hastalıklara, serebrovasküler hastalıklara, akciğer hastalıklarına, kanserlere, gastrointestinal sistem hastalıklarına sebep olduğunu göstermiştir^{1,2}.

2.2.1. Sigaranın Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

Sigara içme ile ateroskleroz arasındaki ilişki bir çok çalışma ile kanıtlanmıştır. Sigara içme koroner, serebral ve periferik arterlerde endotelial disfonksiyon yaparak ateroskleroz riskini artırır^{4,5,7,43,44}. Endotelial disfonksiyon aterogenezin erken bir fenomenidir ve sağlıklı kronik ve pasif içicilerin brakial arterlerinde gösterilmiştir⁴.

Yapılan alışmalar sigara içenlerde akut myokard infarktüsü, anstabil anjina ve ani ölüm riskinin fazla olduğunu göstermiştir. Sigara dumanına sık maruziyet koroner vazokonstruksiyon ve koroner ateroskleroz gelişiminde önemli potansiyel faktör olan intimal hasara yol açar. Sigara içimi akut myokard infarktüsü ve kardiyak ölüme yol açan trombus gelişimini de artırır^{6,43,44}.

Ayrıca sigara içimi periferik damar hastalıklarına da sebep olmaktadır. Aterosklerozis obliterans, periferik damar hastalıklarının %95'ini oluşturur. Hastaların %70'i sigara ienlerdir. Hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi sigara içimine eklenirse risk katlanır. Bypass cerrahisinden sonra sigara içenlerde hastalığın tekrarı daha fazladır. Hızlı ve sık rekurrens olduğundan cerrahlar, hasta sigarayı bırakmadıkça operasyon yapılmak istenmez⁴³.

Tromboanjitiis obliterans (Burger hastalığı) 30-40 yaş arasında genellikle erkek sigara içicilerde görülür. Üst ve alt ekstremitelerin küçük arter ve venlerinde başlayıp büyük damarlara doğru ilerler. Burger hastalığının muhtemel sebebi sigara dumanına bağlı inflamatuvar reaksiyondur⁴³.

Serebrovasküler hastalıklar ile sigara içimi arasında pozitif bir ilişki vardır. Strok ve bununla ilişkili mortalite sigara içenlerde daha yüksektir. Sigara içimi ekstra ve intra kranial karotid arterlerin aterosklerozu için önemli bir risk faktörüdür. Serebrovasküler hastalık gelişiminde tromboz, tromboemboli ve hemoraji önemlidir. Sigaranın bunlara etkisi değişkendir. Serebral tromboz sigara içenlerde 1.5 kat fazladır⁴³.

Uzun süreli sigara içimi koroner damarlarda vazokonstriktör etkiye sahiptir. Anjiyografide normal olmalarına rağmen koroner vasküler rezervi azaltır.

Aterosklerotik kalp hastası sigara içicilerde, sigara içme α -adrenerjik vazokonstriksiyon ve anjinal ağrı eşiğinde azalmaya sebep olur. Sigaraya bağlı bu koroner tonus artışı kalsiyum antagonistleri ve nitrogliserin ile önlenir. Aterosklerotik koroner kalp hastalarında sigara içimi esnasında myokard oksijen ihtiyacı artmasına rağmen, koroner sinus kan akımı azalır veya değişmez. Sigaraya bağlı koroner vazokonstriksiyon α -adrenerjik blokaj ile önlenir ve β adrenerjik blokajla artırılır⁶.

Bir sigara içiminden 5 dakika sonra koroner kan akım hızının %7 azaldığı ve kalp hızı ve ortalama arteriel tansiyon yükselmesine rağmen koroner damar direncinin %21 arttığı bildirilmiştir. Sigara içme proksimal ve distal epikardial koroner arterlerde ani konstruksiyona ve myokard oksijen ihtiyacı artmasına rağmen koroner damar direncinde artışa sebep olmaktadır. İki düşük nikotinli sigara bile arteriel kan nikotin konsantrasyonunu artırmakta ve ileri derecede koroner vazokonstriksiyon oluşturmaktadır. Sigara içme anjinalı hastalarda koroner anjiyografide koroner arterlerin diffüz ve segmental daralmasına sebep olmaktadır. Bu doza bağımlı değildir. Sigara içme koroner tıkanma olmadan vazospastik anjina için de major bir risk faktörüdür⁶. Genç kadınlarda sigara içme ile koroner spazm arasında güçlü bir ilişki vardır^{6,43}.

Sigara içiminin akut etkilerinden biri de hipertansiyondur. Yapılan bir çalışmada sigara içiminden sonra sistemik arterlerde endotele bağlı vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir^{6,7}. Akımla ilişkili dilatasyon istirahat değerine göre hiperemi esnasında arter çapındaki % artış olarak hesaplanmaktadır. Akımla ilişkili dilatasyon endotelden salgılanan NO'ye bağlıdır ve endotelial fonksiyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır^{4,6}.

Kısa süreli sigara içimi sistolik, diastolik kan basınçları ve kalp hızında önemli artışlara sebep olmaktadır. Bu artış sigara içiminden 30 dakika sonra normale dönmekte ve 120 dakika boyunca devam etmektedir. Kısa süreli sigara içmede kalp hızı ve kan basıncındaki artışlar katekolamin salgısındaki artışlara bağlı olabilir. Katekolamin hem dolaşıma hem de lokal olarak salgılanmaktadır. Katekolamin miktarı 10 dakika sonunda maksimumdur, 30 dakika sonra bazal seviyeye düşer⁴.

Sigara içenlerde; tek bir sigara kan basıncında %6, kalp hızında %14 ve kalp indeksinde %16 akut artışa sebep olur. Atım hacmi ve sistemik damar direnci değişmez, kas kan akımı artarken deri kan akımı azalır. Sigara içimi kalp hızı, kan basıncı ve kardiyak outputu artırarak kardiyak iş yükü ve oksijen ihtiyacını artırır. Tek bir sigaradan sonra, sağlıklı genç erkeklerde egzersizde daha yüksek bir kalp hızı ve daha düşük bir atım hacmi ortaya çıkar. Sigara içme ayrıca koroner arterlere zararlı etkisinden bağımsız olarak sol ventrikül diastolik fonksiyon bozukluğuna yol açar. Kalp hastalarında sigara kalp kan pompalama etkinliğini azaltır⁶.

Nikotin sigaranın hemodinamik ve koroner vazokonstruksiyon gibi zararlı etkilerinden sorumludur. Bu etkiler lokal veya sistemik katekolamin salınımına bağlı olabilir. Sigara plazma norepinefrin ve epinefrin miktarlarını artırmaktadır⁶.

Sigara içimine bağlı olarak prostasiklin üretiminde azalma ve trombosit-damar duvarı etkileşmesinde artış tanımlanmıştır^{5,7}. Koroner vazokonstruksiyon nikotine bağlı vasküler endotelial prostasiklin (PGI₂) salgısındaki azalmaya bağlı olabilir. Kronik sigara içicilerde PGI₂ sistemik dolaşımda ve koroner sinusda

azalmıştır. Sonuçta prostasiklin/trombaksan oranı azalmış, katekolamin seviyesi artmıştır^{6,7}.

2.2.2. Sigaraya Bağlı Endotelial Disfonksiyon

Endotel tabakası vasküler tonusu devam ettiren, kan akımının düzenlenmesinde rol alan aktif bir yapıdır. Endotel, damar duvarının luminal tarafında trombosit ve lökosit aktivasyonunu önler. Sağlam bir endotel trombus oluşumunu engeller. Sigara endotel hasarı yaparak endotel disfonksiyonuna sebep olmaktadır⁴⁵.

Sigaranın endotel üzerine zararlı etkilerinden en fazla nikotin ve CO sorumlu tutulur. CO ve nikotin myokardın oksijen ihtiyacı ile koroner kan akımı arasındaki oranı bozarak etkisini gösterir. CO myokardın oksijen muhtevasını azaltır, muhtemelen aterojenik etkileri de vardır. Nikotin ise sistolik kan basıncını yükselterek ve kalp hızını artırarak myokardiyal oksijen ihtiyacını artırır⁴³.

Sigara dumanındaki nikotin trombosit aktivasyonu ve adezyonunu artırır. Sigara dumanındaki nikotin ve CO'nin aterojenik hasar yaparak endotel hasarı yaptığı gösterilmiştir. Endotel hasarı sonucunda monositler ve makrofajlar damar duvarına yapışırlar ve lipoproteinler doku sıvısına geçerler. Endotelial hasardan sonra iyileşme fazında birçok büyüme faktörü aterosklerotik plak gelişimine ve sonuçta damar lümeninin daralmasına sebep olur. Bu olay koroner arterlerde, karotid arterde, aortada ve periferik damarlarda gerçekleşir⁴³.

Sigara içimi kan lipid profiline de zararlı etkilere sahiptir. Total kolesterol, trigliserid, VLDL ve LDL seviyeleri sigara içenlerde daha yüksek, ancak HDL seviyeleri sigara içmeyenlerde daha yüksektir^{6,43,46}. Sigara içimi ve hiperkolesterolemi sinerjistik etki ile endotelial fonksiyonu bozmaktadır. Bunların birlikteliği oksidan LDL'ye karşı otoantikorların plazma seviyelerinin artması ile ilişkilidir. Bu gözlemler uzun süreli sigara içmenin LDL'nin oksidasyonunu artırarak hiperkolesterolemik hastalarda endotelial disfonksiyonu artırdığını göstermiştir⁵.

Koroner kalp hastalığında sigara içiminin primer rolü endotelial hücre disfonksiyonuna yol açarak ve koroner aterosklerozis patogenezini başlatarak direk sitotoksisite ile vasküler hasara sebep olmaktır. Normal vasküler endotel ateroskleroz gelişimini engelleyen birçok önemli fizyolojik özelliklere sahiptir. Aterogenezis kimyasal (tütün dumanı ve hiperlipidemi), biyolojik (klamidya pnömoni enfeksiyonu) ve mekanik hasarlar ile oluşur.

Sağlıklı endotelial hücrelerde homeostatik mekanizmaların kaybı ile karakterize endotelial disfonksiyon ortaya çıkar. Endotelial disfonksiyonun major etkileri; bozulmuş vazoreaktivite, plazma proteinlerine permeabilite artışı, mononükleer lokositlerin adezyonunda artış ve trombogenezin artışıdır. Bu etkilerin tümü ateroskleroz patogenezinde önemli mekanizmalardır. Bu fenotipik değişiklikler pro veya anti-trombotik faktörleri, vasorelaksörleri veya vasokonstriktörleri, büyüme faktörleri veya inhibitörleri ve anti veya proinflamatuar faktörleri kodlayan genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu faktörler: Von Willebrant faktör (vWF)⁴⁷, Endotelin-1 (ET-1)⁴⁸, Doku tipi plazminojen aktivatörü (tPA), Plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1)⁴⁹,

Angiotensin-1 konverting enzim (ACE)⁵⁰, Basic fibroblast growth faktördür⁵¹. Ayrıca vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-1) ve endotelial NO sentaz (eNOS) bu faktörlere ilave edilebilir⁴⁴.

Sigaraya bağlı endotelial hasarın bir diğer muhtemel sebebi de serbest oksijen radikallerindeki artış olabilir. Sigara içenler serbest oksijen radikallerinin aktivitelerine özellikle hassastırlar ve bunlarda lipid peroksidasyonu artmıştır. Böylece uzun süreli sigara içimi ile oluşan serbest radikaller koroner endotelial vazodilatatör fonksiyonu engellerler. Sigara içenlerde süperoksit anyonlarının üretimi artar ve NO hızla inaktive edilir^{23,24}. Bu, endotele bağlı damar genişlemesinin bozulmasına katkıda bulunur^{7,52}.

2.2.3. Sigaranın Solunum Sistemine Etkileri

Sigara dumanı solunum yollarında siliyaların sayısını ve siliyer hareketleri azaltan siliyatoksik maddeler içerir. Mukus salgılayan Goblet hücrelerinin hiperplazisine sebep olur. Bu ise mukosilier temizleme mekanizmasını bozar⁵³.

Sigara içme alt hava yollarında kronik bronşit ve amfizem olmak üzere iki kronik inflamatuvar hastalığa sebep olur. Kronik bronşit kronik mukus hipersekresyonu ve öksürük ile, amfizem ise alveol duvarlarının hasarı ile karakterizedir. Doku hasarı nötrofiller ve monositlerden salınan hasarlayıcı enzimlerin etkisi sonucu oluşur. İnflamatuvar hücrelerden ve dumandaki oksidanlardan kaynaklanan oksidatif hasar sigara ile ilgili hastalıkların patogenezinde rol alır. Sigara içenlerin hava yollarında mukus birikiminin iki

sebebi vardır: silier fonksiyon azalmıştır, goblet hücrelerinden mukus üretimi artmıştır⁵⁴.

Sigara içenlerde kronik bronşit ve amfizeme sebep olan mekanizmalar: fiziksel ve kimyasal hasar, inflamatuvar hasar, oksidatif hasar⁵⁴.

Tütün dumanı bir gaz ortamda submikronik sıvı-katran damlacıkları içerir. Sigara dumanının 1 ml'sinde 3×10^9 partikül vardır. Katran partikülleri nikotin, karsinojenler ve oksidanlar içerir. Sigara dumanının gaz komponenti oda havası, CO ve bazı hidrokarbonlar içerir. Sigara dumanının fiziksel özellikleri alt solunum yollarında partiküllerin birikmesine yol açar. Sigara dumanındaki katran partikülleri santral ve periferik hava yollarında birikir. Bu birikimler inflamatuvar hücrelerin buraya göç etmesine sebep olur. Ayrıca partiküllerdeki oksidanlar direk olarak doku hasarına sebep olurlar⁵⁴.

Inflamatuvar cevap inflamatuvar hücrelerin göçü ile başlar. Proteazlar ve reaktif oksijen radikalleri salınır. Sigara içme inflamatuvar hücrelerin hem göçünü hem de salgı kabiliyetini etkiler. Sigara içimi polimorfo nükleer lökositlerin (PML) ve monositlerin alt solunum yollarına göç etmesine sebep olur. Nötrofiller ayrıca dumandaki katran partiküllerinin epitelial hücreleri hasarlamasına bağlı olarak da akciğerlere göç ederler. Nötrofiller hem savunma hem de harabiyet yaparlar. Nötrofiller normal dokuya zararlı elastaz, kollagenaz, proteinaz-3 ve katepsin G gibi proteazlar içerir. Bu proteolitik enzimlerin hedefleri kollagen, elastin ve proteoglikandır. Bu enzimler α_1 -antitripsin ve α_2 -makroglobulin gibi enzim inhibitörleri ile kontrol edilirler. Sigara içme α_1 -antitripsin' i azaltarak elastin yıkımına sebep olur⁵⁴.

Sigaranın her bir ie ekile dumanın 10^{17} reaktif oksijen radikali vardır^{35,54}. Sigara dumanı şiddetli hava kirliliğinden birkaç yüz daha fazla konsantrasyonda nitrojen oksitleri içerir. Sigarayla oluşan oksidan stres alt solunum yollarında hasara sebep olmaktadır. Sigara içenlerde bronkoalveoler lavaj sıvısında vitamin E seviyelerinin azaldığı bulunmuştur. Sistemik tedavi ile bu seviyeleri artmadığı gsterilmiřtir⁵⁴.

2.2.4. Sigaranın Sinir Sistemine Etkileri

Farmakolojik olarak nikotin psikomotor bir stimülandır. Diğeri ilaç bağımlılıklarına benzer şekilde sigarayı bırakmayı takiben nikotin eksikliğine bağılı yoksunluk belirtileri gelişir. Bunlar; irritabilite, huzursuzluk, konsantrasyon bozukluğu, anksiyete, sinirlilik, kilo alma, uyku bozukluğu, sigaraya aşırı özlem ve uyuřukluktur³.

Nikotin adrenerjik sinirler üzerindeki nikotinik reseptörlere etki ederek noradrenalin salınımına neden olur. Nitrik oksiderjik nöronlara etki ederek NO salınımına sebep olur³¹.

Kısa süreli sigara içme katekolamin salgısında artışlara sebep olmaktadır. Katekolamin hem dolaşıma hem de lokal olarak salgılanmaktadır. Katekolamin miktarı 10 dakika sonunda maksimumdur, 30 dakika sonra bazal seviyeye düşer⁴.

Nikotinik reseptörleri olan asetil kolin nöronları kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgısını artırır. Bundan dolayı sigara içenlerde kortizol salgısı artmaktadır⁵⁵. Sigara içimi ayrıca anterior ve posterior hipofiz hormonlarını da artırmaktadır⁵⁶.

2.2.5. Sigaranın Sindirim Sistemine Etkileri

Sigara içiminin peptik ülser oluşumuna katkıda bulunduğu gastrik ve duodenal ülserlerin iyileşme hızında azalmaya ve duodenal ülserlerin rekürrens hızında artışa sebep olduğu bildirilmiştir⁵⁷.

Deney hayvanlarında sigara ve nikotin gastrik mukozal hasarı artırmaktadır. Ayrıca uzun süreli intramusküler nikotin verilmesi histamine bağlı gastrik ülserleri artırmaktadır. Nonülserojenik dozlarda sürekli subkutan nikotin verilmesi ratlarda pentagastrin ve karbakol ile uyarılan gastrik ülser oluşumuna sebep olmaktadır. İntravenöz nikotin veya sigara içimi gastrik mukozal hasara yol açmaktadır. Uzun süreli ağızdan nikotin verilmesi kanayan mide ülserlerine sebep olmakta, gastrik mukozal hasarı artırmaktadır⁵⁷.

Sigara mide asit ve pepsinojen salgılarını da artırmaktadır. Sigaranın mide mukozası koruyucu faktörlerinden olan prostaglandin salgısını azalttığı bulunmuştur⁵⁷.

Sigara barsak savunma mekanizmalarını etkiler. Sigara içenlerde intestinal mukus üretimi içmeyenlere kıyasla önemli derecede azalır. Bu etkisine ilaveten sigara, intestinal permeabiliteyi, rektal kan akımını, immünglobulin salgısını, prostaglandin üretimini, serbest radikal ve antioksidan enzim aktivitelerini de etkiler⁵⁸.

2.2.6. Sigara İle Kanseri Gelişimi İlişkisi

Sigara dumanı; benzipiren, dibenzantresen, 5-metilkrysen ve diğer poliaromatik hidrokarbonlar gibi birçok karsinogen madde içermektedir⁵⁹. Sigara organ kanserleri riskini artırmaktadır. Sigara ile ağız içi, larinks, özefagus,

pankreas, mesane, akciğer ve endometrium kanserleri arasında ilişki vardır^{60,61}. Sigara akciğer, baş ve boyun, üriner sistem, pankreas ve mesane kanserlerinden ölüm riskini artırır⁶⁰.

Sigaranın akciğer kanseri ile yakın ilişkisi vardır. Amerikada akciğer kanseri mortalitesi yüksektir. Akciğer kanserinden ölümlerin %80-85'i direk sigaraya bağlıdır. Birçok çalışma sigara ile akciğer kanseri arasında güçlü bir ilişkinin varlığını ispatlamaktadır. Sigarayı bırakanlarda akciğer kanseri mortalitesi sigaranın kesilmesinden sonraki yılların sayısı ile ilişkilidir. Son 5 yıl sigara içmemiş bir kişi şu anda sigara içen kişinin %40'ı kadar mortaliteye sahiptir. On beş yıldır sigara içmeyen kişi normal kişilerden hafif fazla mortalite riskine sahiptir¹.

Birçok çalışma sigara içimi ile larinks kanseri arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Erkekler arasında yapılan bir çalışmada larinks kanserlerinin %84'ü sigaraya bağlanmıştır. Larinks kanseri erkekleri daha çok etkiler. Alkol ile sigaranın birlikte kullanılması sinerjistik bir etki yaratır¹.

Ağız kanserleriyle sigara içimi arasında yakın ilişki gösterilmiştir. Tütün ve pipo içicileri sigara içenlere benzer oral kanser riskine sahiptirler¹. Kadın sigara içicilerde safra kesesi kanserleri sigara sayısı ile ilişkili olarak erkek sigara içicilerden daha fazla görülmektedir⁶².

2.2.7. Sigaranın Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi

Sigara yara iyileşmesini geciktirmektedir. Ameliyat sonrası yara nekrozunun sigara içimi ile ilişkili olduğu bir çok klinik çalışma ile gösterilmiştir. Sigara içimi yara enfeksiyonu, deri flap nekrozu ve epidermolizis için önemli bir

risk faktörüdür. Doku hasarı ile oluşan postoperatif doku hipoksisi yara iyileşmesinin gecikmesi, doku nekrozu ve yara enfeksiyonunun önemli sebeplerinden biridir. Dumandaki CO hemoglobine oksijenden daha sıkı bağlanır ve hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini azaltmakta ve perifere ulaşan oksijen miktarını düşürmektedir. Böylece hipoksi oluşmakta ve yara iyileşmesi azalmaktadır⁶³.

Sigara içimi doku kan akımı ve doku oksijen parsiyel basıncında akut azalma sebebidir. Sigara daha yavaş olarak da vasküler sistem, hücresel immün ve inflammatuar sistemleri bozarak yara iyileşmesini engeller⁶³.

Alt ekstremitte amputasyon yaralarında sigara içimine bağlı düşük oksijen parsiyel basıncı önemli bir risk taşır. Sigara içenlerde amputasyon yaralarında daha yüksek yara enfeksiyon hızı gösterilmiştir⁶³.

2.3. Pasif İçicilik

Pasif içicilik sigara içmeyen kişilerin sigara içilen ortamdaki dumanı solumasına denir. Çevresel sigara dumanı (ETS) yanan tütünün ucundan ortama yayılan sigara içmeyenler tarafından inhale edilen duman ürünlerini anlatan bir terimdir. Çevresel sigara dumanının iki kaynağı vardır. Birisi içe çekilen (mainstream) dumanın dışarı üflenmesi, diğeri ise yanan sigara ucundan çıkan (sidestream) dumandır. Mainstream duman sigara içen kişinin akciğerlerine ulaşır ve tekrar havaya geri verilir. Mainstream dumanın parçacıkları akciğerlerin büyük hava yollarında biriktirilir. Sigara dumanında 4000'den fazla zararlı bileşen vardır. Bunların çoğu karsinojen maddelerdir. Sidestream duman direk olarak yanan sigaranın ucundan havaya verilir. Yüksek

konsantrasyonda amonyak, benzen, nikotin, CO ve birçok karsinojen içerir. Mainstream dumana göre daha küçük parçacıklardan oluştuğu için akciğerlerin daha küçük hava yollarına kadar ulaşır. Sidestream duman, mainstream dumandan kimyasal olarak farklı yapıdadır ve ondan daha kirlidir. Bu farklılık eksik yanmadan kaynaklanır. N-nitrozaminler, benzo-(a)-pren, CO, nikotin, ağır metaller sidestream dumanda daha fazla bulunur. Örneğin, CO mainstream dumanda %5 bulunurken, sidestream dumanda %15 oranında bulunur^{1,33,64}.

Ev ve işyerinde pasif sigaraya maruziyetin prevalansı Avrupa'da hayli yüksektir. Çocukluk döneminde pasif sigaraya maruziyet ile solunum hastalıkları arasında kesin bir ilişki kurulmuştur. Sigara içen ailelerin çocukları daha fazla solunum enfeksiyonlarına yakalanırlar. Bu çocuklar bronşit ve pnömoniden daha fazla hastaneye yatarlar. Erişkinlerde de çevresel sigara dumanına kronik maruziyet ile astma ve kronik bronşit gelişmektedir. Çevresel sigara dumanına maruziyetin akut etkileri, baş ağrısı, bulantı, kusma, konjoktivit ve nazal mukoza irritasyonudur^{64,65}.

Sigara dumanına maruziyet solunum yolu hastalıkları için hazırlayıcı, kolaylaştırıcı bir faktördür. Çevresel sigara dumanı 43 bilinen karsinojen maddeden başka binlerce zararlı kimyasal madde içerir. Pasif içiciliğin en önemli sağlık etkilerinden biri sigara içmeyenlerde akciğer kanseridir. Çevresel sigara dumanının oluşturduğu akciğer kanserinin genetik sebeplerini anlamak için çalışmalar devam etmektedir⁶⁶.

Çevresel sigara dumanı ve pasif içicilik erişkin ve çocuklarda kalp hastalıkları için önemli bir risk faktörüdür. Çevresel sigara dumanı yıllık 53000 kalp hastalığına bağlı ölümlerin 37000'ine sebep olur. Pasif sigara içimi aktif

sigara içimi ve alkolden sonra önlenabilir ölüm sebeplerinin üçüncüsüdür. Çevresel sigara dumanına maruziyet doza bağımlı olarak myokarda infarkt alanında artışa sebep olmaktadır. Pasif sigara koroner vazokonstruksiyonu artırarak ve koroner kan akımını azaltarak, katekolamin salgısını artırarak, myokardda oksijen ihtiyacını artırarak, trombozu artırarak myokardiyal iskemiği ağırlaştırır⁸.

Pasif olarak sigara dumanına maruz kalma sonucu kanın kalbe oksijen taşıma yeteneğinde azalma olurken myokardiyumun ATP sentezlemek için oksijen kullanma yeteneği de sınırlanmaktadır. Bu değişikliklerin temelinde CO'in hemoglobine bağlanmada oksijen ile yarışması ve sonuçta kan COHb seviyelerinin artması, artan 2-3 difosfogliserat seviyesinin hemoglobinden oksijen ayrılmasını kolaylaştırması ve kalp kasında anaerobik metabolizmayı artırması yer almaktadır. Pasif sigara içimi ile platelet aktivitesinde artma, aterosklerotik olaylarda hızlanma doku hasarını takiben iskemi ve myokardial infarktüs görülmektedir. Platelet aktivitesindeki artmanın muhtemel sebebi sigara dumanındaki toksinlerin platelet aktive edici faktörü nötralize eden asetil hidrolaz enzim aktivitesini azaltmasıdır^{13,67-70}.

2.4. Hamilelikte Sigara İçimi

Annenin hamilelikte sigara içimi ile fetal gelişme geriliği arasında ilişki vardır⁷¹. Sigara içen annelerde düşük doğum ağırlıklı bebek oranı iki kat fazladır ve bebeklerdeki kilo eksikliği yaklaşık 200 gr'dır. Doza bağlı olarak yenidoğanın kilo boy ve baş çevresi azalmaktadır. Gebelik esnasında sigaranın azaltılması veya bırakılması doğum kilosunun iyileşmesine sebep olur. Sigara içen

annelerin bebeklerinin doğum kilosundaki azalma temel olarak vücut kitle indeksindeki azalmaya bağlıdır. Subkutan yağ dokusu özellikle etkilenir. Bazı çalışmalar sigaraya bağlı doğum kilosundaki azalmanın annenin sigaraya bağlı beslenme eksikliğine ve kilo alamamasına bağlı olduğunu göstermiştir^{1,71}.

Sigaranın fetus üzerine direk toksik etkisi fetusa oksijen sağlanmasını azaltan metabolik değişikliklere yol açar. Hamilelikte sigara içimi hem maternal ve hem de fetal kanda COHb seviyesini, oksijen bağlama kapasitesini ve dokulara taşınan oksijen miktarını azaltarak fetal hipoksiye sebep olur^{1,71,72}.

2.5. Nitrik Oksit

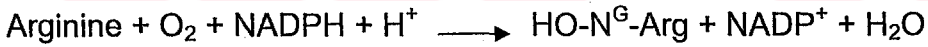
NO, küçük molekül ağırlıklı, toksik ve serbest radikal bir gazdır. Organizmada bir çok fizyolojik ve patolojik olayda rol alır. Hemen hemen her hücre tarafından üretilir ve her hücre üzerine etki gösterir. Bu nedenle NO genel aracı bir moleküldür⁷³.

Diğer serbest oksijen radikalleri her konsantrasyonda zararlı iken, NO düşük konsantrasyonlarda kan basıncı ve sindirim sisteminin düzenlenmesinden, konak savunması ve nonspesifik immüniteye kadar bir çok önemli fizyolojik olayın düzenlenmesinde rol alır. Ancak uygunsuz yerde ve aşırı miktarda üretildiğinde bir çok patolojik durumun ortaya çıkmasına da neden olur⁷³.

NO 1980 yılında Furchgott ve Zawadski tarafından keşfedildi ve endotelden kaynaklanan damar genişletici olduğu için de endotelium derived relaksing factor (EDRF) diye adlandırıldı^{74,75}.

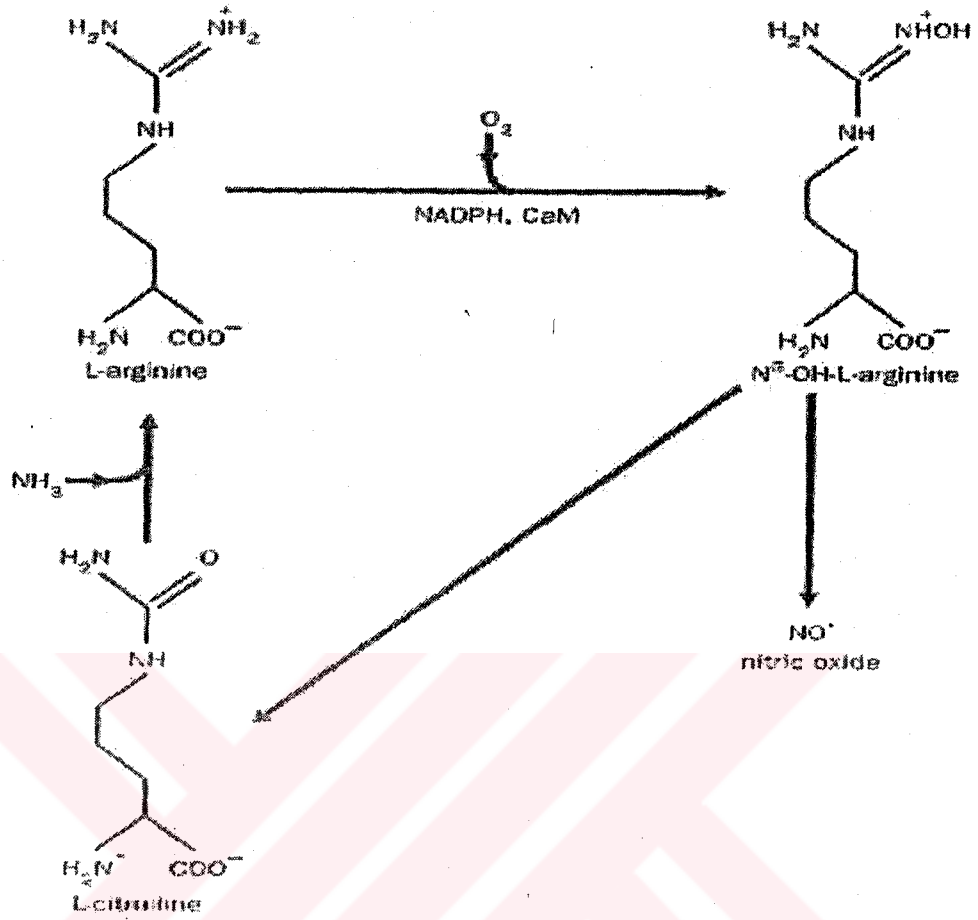
Lipid ve suda çözünen serbest radikal bir gaz olan NO, NO₂ gibi diğer radikaller NO₂⁻ gibi orta derecede stabil anyonlar, NO₃ gibi dayanıklı anyonların yanında, N₂O₃ gibi dayanıksız oksitler ve ONOO⁻ gibi dayanıksız peroksitler oluşturur. Düşük pH'da biriken nitrit (NO₂⁻) proton kazanarak nitroz aside ve daha sonra dismutasyonla NO'e dönüşür. NO tiollerle reaksiyona girerek RSNO gibi depo formlar oluşturur. Bu depo formların bir elektron kaybetmesiyle sülfhidrifilik reaktanlar, nitrosonium (NO⁺) oluşur. Bu formların birçoğu biyolojik olarak birkaç saniye gibi kısa bir sürede oluşmaktadır⁷³.

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesi tarafından, bir amino asit olan L-arginin'in terminal guanidin grubunun NO'e çevrilmesiyle üretilir. Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile, kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NADP), NADPH, flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH₄)'e ihtiyaç vardır.



Bu şekilde üretilen NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötralize edilir veya 10 saniye içinde nitrat veya nitritlere dönüştürülür⁷⁴ (Şekil 2).

NOS, fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre konstitutif ve indüklenabilir olmak üzere iki gruba ayrılır. NOS'ları sentezleyen 3 gen vardır. Bu genlerden herbiri bir NOS izoformunu oluşturur (NOS₁, NOS₂, NOS₃)⁷³.



Şekil 2. L-arginin'den NO biyosentezi⁷⁴.

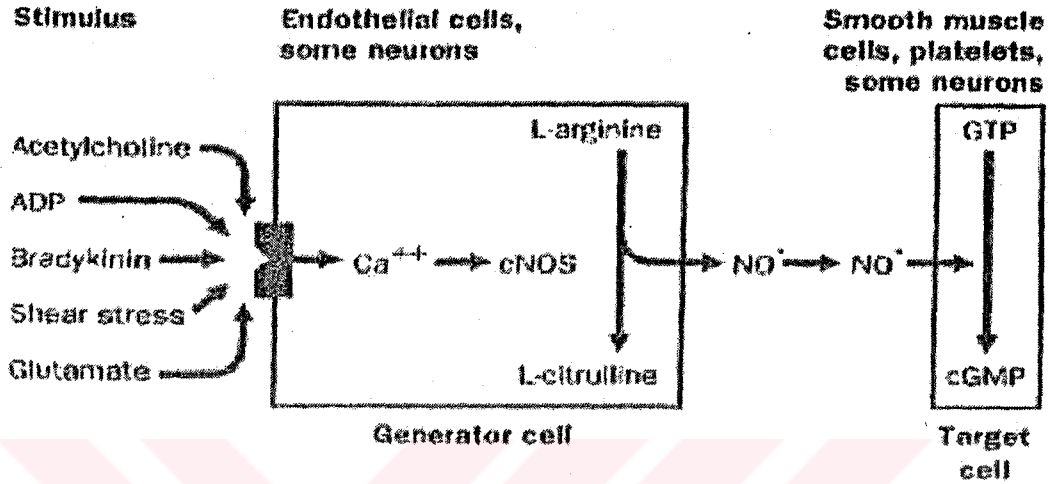
Sırasıyla kromozom 12 ve 16 tarafından kodlanan NOS₁ ve NOS₃ fizyolojik şartlarda ilgili reseptörlerin uyarılmasına cevap olarak aktif hale geçerler. Nöronal NOS (nNOS) ve endotelial NOS (eNOS) olarak da bilinen NOS₁ ve NOS₃ aktif hale gelmek için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Bu nedenle konstitutif NOS olarak adlandırılırlar. Nöronlardan ve endotelial hücrelerden izole edilen konstitutif NOS'ın sentez süresi kısa ve üretilen NO miktarı çok düşüktür. Bunun sebebi hücre iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif duruma geçmesidir. Diğerlerinin aksine hücre içinde bulunmayan NOS₂ kromozom 7 tarafından kodlanır. Endotoksin ve

değişik sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılmasıyla Ca^{++} 'dan bağımsız olarak salgılanan ve normal şartlarda gösterilemeyen NO 'ye indüklenebilen (iNOS) adı verilir. Bu izoforma ayrıca immünolojik NOS'da denilmektedir. Özellikle bakteri lipopolisakkaridleri ve interferon- γ ile uyarılan makrofajlar bol miktarda NO üretirler. Bu şekilde iNOS ile üretilen NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir. NO 'in üretilmesi için L-arginin/ NO yolu L-L-monometil-L-arginin (L-NMMA), L-NA, L-NAA, 7-NI, L-NIO gibi L-arginin analogları ve L-arginin'in guanidium kısmına benzeyen bir çok amino asit tarafından inhibe edilir. NO 'i inhibe eden bir diğer madde grubu da glukokortikoidlerdir⁷³⁻⁷⁷.

Normal sağlam endotel vazorelaktan, vazokonstriktör, antikoagulan ve prokoagulan maddeleri salgılayan önemli bir endokrin bez olarak düşünülebilir. Endotelin yüzey alanı yaklaşık bir futbol sahasına eşittir. 10^{13} hücre içerir ve 1,5 kg ağırlığı vardır. Epitelin içerdiği vasorelaksanlar NO ve prostasiklidir⁷⁴.

Nitrik oksit sentezini asetil kolin, substans-P, bradikinin ve kalsiyum iyonofor A23187 uyarır. NO ayrıca trombin, adenin nükleotidler, tromboksan A_2 , peptidölökotrienler, histamin, endotelin ve çökelen trombositlerin uyarması sonucu da üretilmektedir (Şekil 3). NO guanilat siklazı uyarır ve vasküler düz kaslarda cGMP'nin birikmesine yol açarak damarların genişlemesine sebep olur. NO damar lümeninin içine, damar düz kaslarına salgılanır ve damar düz kaslarında ani gevşemeye yol açar. NO 'in bazal miktarlarda bir üretimi vardır. Vazokonstriktör stimuluslar ve akımın uyardığı değişiklikler NO salgısını artırır. NO salınımı kan akımındaki akut veya kronik değişikliklere cevap

olarak hızla değişir. Endotel hücreleri güçlü akım sensörleri olarak görev yaparlar ve NO üretimine yol açan biyokimyasal şelaleye sinyal taşırlar^{45,78,79}.



Şekil 3. NO salınımı ve uyaran faktörler⁷⁴.

NO ve prostasiklin trombosit agregasyon ve adezyonunun güçlü inhibitörleridir. Bunlar trombosit agregasyonunun inhibisyonunda sinerjistik etki gösterirler. NO daralmış koroner arterlerde trombosit agregasyonunu inhibe eder. Trombosit agregasyonu NO salınımını stimüle ederek sağlam endotelli kan damarlarının genişlemesine sebep olur. Bu etki agrege olan trombositlerden salınan adenin nükleotidleri tarafından oluşturulur^{45,78,79}.

NO ve prostasiklin damar duvarına lökosit adezyonunu inhibe eder. Bu nedenle lökositler sağlam endotele bağlanamazlar. Lökositler NO salınımına sebep olarak damarları genişletirler. Bununla birlikte platelet activating faktör, endotoksin ve sitokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin varlığında bir çok adezyon molekülleri endotel hücreleri ve lökositler üzerine etkilidir. Bunlar lökosit kemotaksisine, endotel yüzeyinden lökosit geçişine ve lökosit

aktivasyonuna sebep olur. Aktif lökositler proteolitik enzimler salgılayarak oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürürler. Sonuçta H_2O_2 , OH radikalleri ve diğer toksik ürünler ortaya çıkar. Bu toksik maddelerin üretimi kalp ve diğer organlara reperfüzyon hasarının oluşmasına sebep olabilir. Süperoksit radikalleri NO'ı inaktive ederek vazorelaksasyonu azaltırlar^{45,75,78}.

Hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara içme ve diyabet gibi ateroskleroza zemin hazırlayan faktörlerin tümü anormal endotel fonksiyonları ve biyoaktif NO seviyelerinde azalma ile birlikte. Bu, NO'nın gerçek eksikliğine veya oksijen derivesi serbest radikallerle reaksiyona girerek inaktive olmasına bağlıdır⁷³.

Sinir sisteminde major izoform olan nNOS tarafından sentez edilen ve merkezi ve periferik sinir sisteminde de aracı madde olarak görev yapan NO nörokimyasal sistemin önemli bir parçasıdır. NO, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, sinirsel aktiviteler, serebral kan akımının koordinasyonu ve ağrının hafifletilmesi gibi bir çok fonksiyonda aracı madde olarak rol alır. Ayrıca hafıza ve öğrenme fonksiyonuyla da ilgili olduğuna dair bir çok delil vardır. Bunun dışında koku alma ve görme işlevinde de rol aldığı tesbit edilmiştir. Endokrin sistem üzerine yapılan birçok çalışma NO'nın hipotalamik-pitüiter aksda hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir⁷³. Günümüzde artık, nörojenik vazodilatasyonun bazı formlarına aracılık eden gastrointestinal ve genitoüriner fonksiyonları düzenleyen ve önceden nonadrenerjik nonkolinerjik (NANC) olarak bilinen periferik sinir sisteminde yaygın olarak yerleşmiş bazı sinir ağlarının (nitrik oksiderjik sinirler) NO salgıladıkları bilinmektedir. NOS gastrointestinal sistemde mezenterik pleksustaki nöronlarda bulunmaktadır. NO hayvanlarda mide içi basınca karşı mideyi dilate ederek yeni duruma uyum sağlamaktadır.

Ayrıca gastrointestinal sistemin sfinkterlerinde gevşemeye yol açarak bu organların fizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. NOS'ın pelvik pleksus, kavernosol sinir, derin kavernosol arterlerin adventisyası ve penis sinüsoidlerinde yüksek konsantrasyonlarda olduğu, NO'nin penis ereksiyonu sağlayan dokularda NANC nörotransmitter olarak görev yaptığı tesbit edilmiştir. Bu yüzden erektil impotans tedavisinde NO'nin penil ereksiyon yapıcı etkisinden yararlanılmaktadır. Son çalışmalar serebral kan akımını düzenleyen NO'nin hem endotelial hücrelerde hem de adventisya içindeki otonomik sinirlerden salgılandığını göstermiştir^{73,76}.

Sinir sisteminde nNOS'un yanısıra enfektif ve toksik etkilere karşı oluşan glial aktivasyon durumunda oluşan iNOS'un ürettiği NO'nin enfeksiyon ajanlarına karşı mücadelede önemli bir fizyolojik rol oynadığı tesbit edilmiştir. NOS aktivasyonuna bağlı olarak oluşan NO'nin ayrıca Parkinson, Alzheimer hastalığı ve multiple sklerozun patogeneğinde rol oynayabildiği düşünülmektedir. Menenjitte artan NO üretiminin de nörolojik sekellere katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir⁷³.

Yüksek konsantrasyondaki NO nörotoksik bir döngüyü başlatır. Fokal iskemide, strokta, Alzheimer ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda NO'nin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerine etkileyerek ortaya çıkardığı aşırı miktarda glutamatın hücre ölümünde etkili olduğunu gösteren deliller vardır. NMDA'nın aktivasyonu muhtemelen intrasellüler kalsiyumda artışa neden olmakta bu da glutamat nörotoksitesini başlatmaktadır. NO merkezi sinir sisteminde oksijen nörotoksitesini, AIDS demansındaki nörotoksitelere de kısmen aracılık etmektedir⁷³.

Ayrıca NO miyelin üreten oligodendrositlere de direk toksik etki yaparak merkezi sinir sisteminin inflamatuvar hastalıklarında rol oynar. Yapılan bir çalışmada migrenlilerin de NO'e aşırı hassas oldukları gösterilmiştir⁷³.

INOS vasıtasıyla üretilen makrofaj kaynaklı NO bakteri, parazit, tümör hücreleri üzerine sitotoksik etki yapar ve DNA ve RNA virüslerinin bazılarının yayılmasını önler. NO bu etkilerini bazı enzimlerdeki duyarlı demir gruplarına bağlanarak, çoğalmayı sağlayan anahtar metabolik yolların blokajına yol açarak ve oksijen ile birleşip, güçlü hücresel toksinler olan hidroksil radikali ve antioksidanları ortaya çıkararak gösterir. Hücrelerin doğrudan öldürülmesini sağlayan ve intrasellüler viral replikasyonu inhibe edebilen önemli bir aracı madde olması sebebiyle NO'ı doğrudan birincil savunma sistemi olarak kabul edebiliriz. Retiküloendotelial sistemle birlikte dolaşımın immünolojik filtreleri gibi görev yapan karaciğer ve akciğer hücrelerinde de makrofaj aktivasyonu ve NO sentezi ile doğrudan bağlantılı ve kansere karşı direnci artıran nonspesifik immün olaylar mevcuttur. NO'nun lupus, romatoid artrit, osteoartrit gibi vaskülit ve romatizmal hastalıklarda da aşırı miktarda üretildiği saptanmıştır⁷³.

2.6. Endotelin

Yanagisawa ve arkadaşları 1988 yılında domuz aortik endotel hücrelerinden 21 amino asitli bir peptid olan endotelium-derived kontrakting faktör diye adlandırılan endotelin-1'i tanımladılar^{20,21}. Bu peptid angiotensin II'nin en az 10 katı kadar daha kuvvetli bir vasokonstriktör etkiye sahiptir. Tanımlanan ilk peptid endotelin-1 olarak isimlendirildi ve daha sonra endotelin izopeptid ailesine dahil olan endotelin-2 ve endotelin-3 bulundu ve insan genomundan klonlandılar⁸⁰. Endotelin sistemi tüm memelilerde, balıkta ve

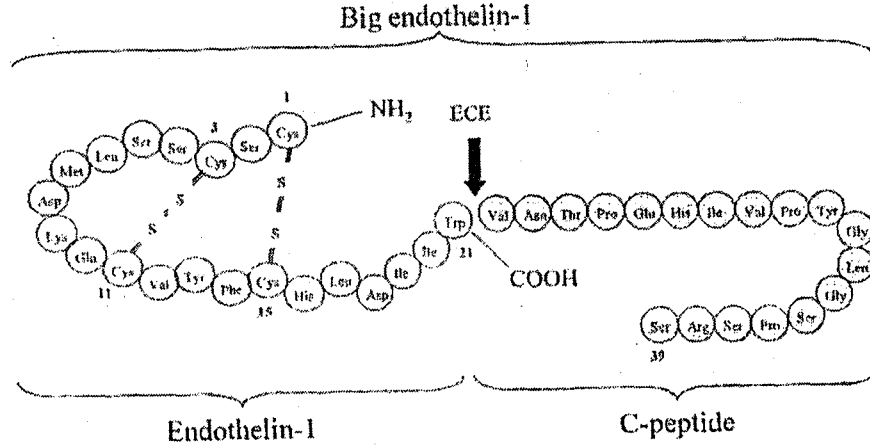
vertebrasız canlılarda vardır. Endotelin-1 temel olarak damar endotelinde üretilir ve damar tonusunun düzenlenmesi için salgılanır⁸¹. Endotelin-2 barsakta, endotelin-3 akciğer ve santral sinir sistemi ve barsakta bulunur. Endotelin-1 endotelden başka damar düz kas hücreleri, mukoza epitel, makrofajlar, mast hücreleri, kalp kası hücreleri, nöronlar, trakea epitel, renal medulla, hepatik sinüzoidler ve kupffer hücrelerinde de üretilir²¹.

İnsan plazma ve dokularında en çok endotelin-1 bulunur. Endotelin-1 önce 212 amino asit (domuzda 203 amino asit) içeren bir prepropeptid olarak sentez edilir. Prepropeptid endopeptidazlar ile parçalanarak 38 amino asitli bir peptid olan proendotelin-1 (big endotelin-1) üretilir (Şekil 4). Proendotelin-1 endotelin-1' den daha zayıf olmak üzere vazokonstriktör etkiye sahiptir. Bir çinko metalloproteaz olan endotelin-konverting enzim pro endotelin-1' parçalayarak endotelin-1 ve inaktif C-peptid oluşur. Endotelin-konverting enzim' in 3 izoformu vardır ve farklı propeptidlere selektif etkilidirler⁸². Endotelin salgılanması için endoteli uyaran faktörler; stres, hipoksi, endotoksin, tümör nekrozis faktör α (TNF- α), interleükin-1, transforming growth faktör- β , adrenalin, trombin ve angiotensin-II'dir. Endotelde endotelin-1 salınımını engelleyen faktörler ise; prostasiklin, nitrik oksit²², atrial natriüretik peptid, heparin'dir²⁰.

Endotelin-1' in plazma yarılanma ömrü hem insan hem de domuzda 1-2 dakikadır. Ayrıca plazmadan tamamen kaybolması için gereken ikinci yarı ömrü ise insanda ve domuzda yaklaşık 35 dakikadır. Pulmoner damar yatağı endotelin-1' in en önemli plazma klirens yeridir, ancak karaciğer ve böbreklerin de bu plazma endotelin-1 klirensine katkıları vardır²⁰.

Normal koşullar altında, endotelin-1' in parakrin mediatör olarak fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. Etkilerini ET_A ve endotelin ET_B diye iki tip reseptör vasıtasıyla gerçekleştirir. Bunlar G-protenine bağlı reseptörlerdir, klonlanmışlardır ve özellikleri saptanmıştır. Endotelin ET_A reseptörünün endotelin-1 ve endotelin-2' ye endotelin-3' den daha fazla affinitesi varken, endotelin ET_B reseptörünün 3 izopeptid için eşit affinitesi vardır. Endotelin ET_B reseptörünün endotelin ET_{B1} ve endotelin ET_{B2} diye iki alt tipi tanımlanmıştır. Endotelin ET_{B1} daha çok endotelde, endotelin ET_{B2} daha çok düz kas hücrelerinde bulunur. Düz kas hücrelerinde bulunan ET_A reseptörü, ET_{B2} ile birlikte kontraksiyona sebep olurken, endotelin ET_{B1} reseptör aktivasyonu nitrik oksit ve prostasiklin salınımı yoluyla gevşemeye sebep olur. Endotelin ET_{B1} reseptörlerine atfedilen diğer fonksiyonlar ise prepro endotelin-1 transkripsiyonunun otoindüksiyonu ve plazma endotelin klirensidir. Bu fonksiyonların reseptörün bir varyantı tarafından gerçekleştirildiği iddia edilmiştir. Endotelin reseptörlerinin çeşitli agonist ve antagonistlere duyarlılıklarına göre ayrılması gerektiği de iddia edilmiştir. Endotelin ET_A reseptör antagonizmi esnasında ET_B reseptör sensitivitesi artar. Bu nedenlerle endotelin reseptör aktivasyonuna fizyolojik cevaplar karışık ve lokal reseptör dağılımına göre değişmektedir^{20,83}.

Endotelin reseptör stimülasyonu intrasellüler ikinci habercilerin aktivasyonuna yol açar (Şekil 5). Aktif endotelin reseptör-ligant kompleksleri hızla endositozla hücre içine alınır ve saatlerce kompleks şeklinde kalarak uzun süreli vaskonstruksiyona sebep olur. Reseptörler daha sonra tekrar hücre

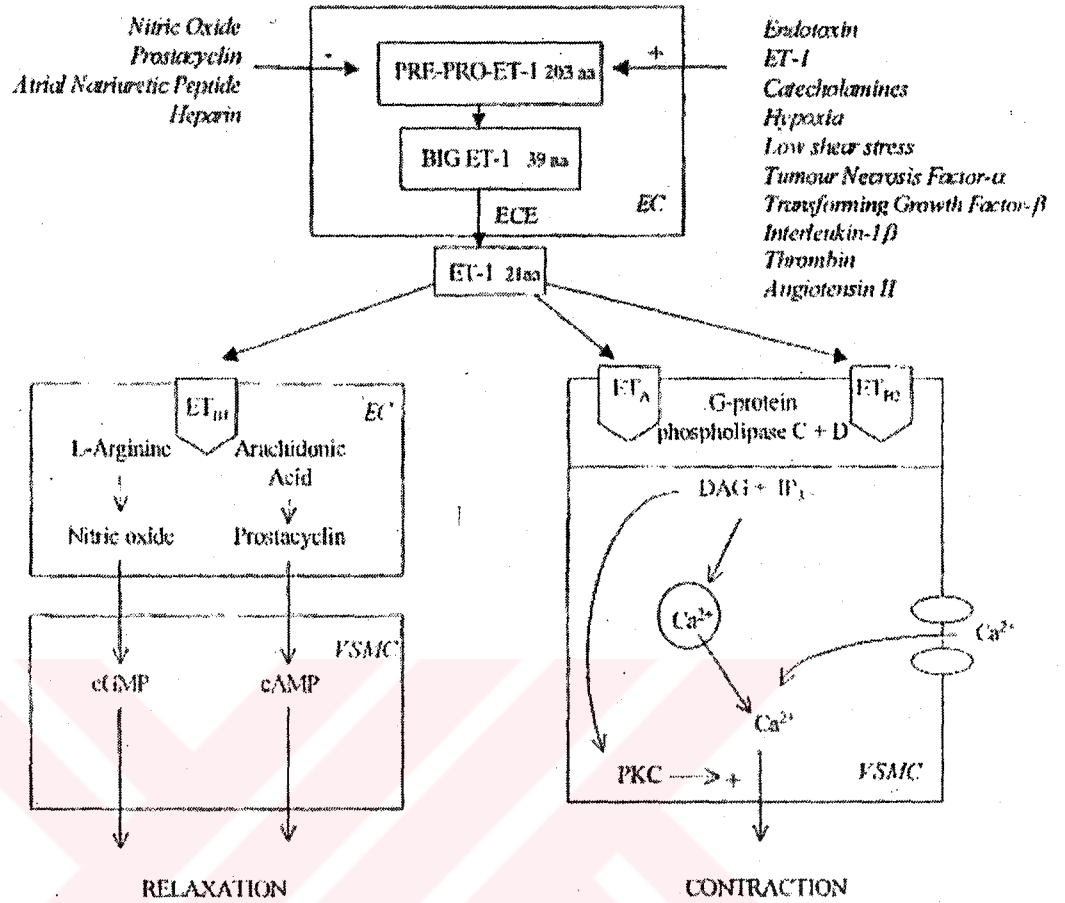


Şekil 4. Big endotelin-1 (proendothelin-1)'in amino asit dizilimi.

zarına eksterne edilirler. Invitro olarak endotelinin bir metalloendopeptidaz olan nötral endopeptidaz 24.11 tarafından parçalandığı gösterilmekle birlikte, invivo olarak bu peptidazın görev yaptığı şüphelidir²⁰.

Endotelinin keşfinden kısa bir süre geçmiş olmasına rağmen endotelin ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu büyük oranda spesifik endotelin reseptör agonist ve antagonistlerinin keşfedilebilmesine bağlıdır. Bu gün 80' den fazla antagonist bilinmektedir ve bunların bir kısmı klinik denemelere geçmiştir²⁰.

Endotelin myokard infarktüsü⁸⁴, Reynaud hastalığı⁸⁵, bronşial astma⁸⁶, pulmoner hipertansiyon⁸⁷, böbrek yetmezliği⁸⁸, gastrik ülserasyon⁸⁹ ve subaraknoid kanamayı takiben oluşan serebral vazospazm⁹⁰ gibi bir çok hastalığın patogenezinde rol almaktadır. Endotelin inhibisyonunun hipertansiyon⁹¹ ve şiddetli kalp yetmezliğinin⁹² tedavisinde etkili olduğu ispatlanmıştır. Sepsiste endotelinin plazma seviyelerinin arttığı bulunmuştur⁹³. Plazma endotelin seviyesi ile septik hastalardaki mortalite ve morbidite arasında ilişki vardır. Endotoksinler endotelin-1 seviyelerini artırmaktadır⁹⁴. Endotelin-1



Şekil 5. Endotelin sisteminin şematik görünümü. (aa=amino asit, DAG=diasilgliserol, EC=endotel hücresi, ECE=Endotelin Konverting Enzim, IP₃=inozitoltrifosfat, PKC=Protein Kinaz C, VSMC=damar düz kas hücresi).

kardiyak outputu azaltır ve pulmoner, renal, splanknik dolaşımda vazokonstruksiyona sebep olur. Splanknik endotelin-1 septik şokta bazı hayati organlarda disfonksiyona sebep olur²⁰.

Kalpde endotelin-1 masif koroner damar daralmasına, kardiyak outputun azalmasına ve aritmilere sebep olur. Endotelinin pozitif kronotropik ve pozitif inotropik etkileri vardır²⁰.

Endotelin-1 pulmoner vasküler tonusta önemli rol oynar. Akciğer dokusu vasküler endotele lokalize endotelin-1 den zengindir. Akciğerler kalbe gelen tüm venöz kanı alırlar. Venöz kanda inflamasyonda görev alan toksinler, inflamatuvar hücreler ve inflamatuvar mediatörler bulunur. Sepsis esnasında pulmoner hipertansiyon, hipoksemi ve akut solunumsal distres sendromu oluşur. Bu durumda mortalite %50 civarındadır. Akciğerler bu olay sırasında aşırı endotelin-1 salgırlar. Endotelin-1 akciğerlerde ödem sebebidir. Ayrıca endotelin-1 nötrofil adeziv moleküllerin miktarını ve alveollere lökosit göçünü artırır²⁰.

Endotelin-1 infüzyonu splanknik vazokonstriksiyon oluşturur. Ve mukozal lezyonların patogeneğinde rol alır. Lokal endotelin-1 uygulaması ülserasyonlara sebep olur⁹⁵. Endotelin inhibisyonu HCl, indometazin, iskemi/reperfüzyon ve hemorajik şoka bağlı mukozal ülserasyonu önler. Hipoksiye cevap olarak kolon endotelial ve epitelial endotelin-1 seviyelerinin arttığı bildirilmiştir²⁰.

Portal vene endotelin-1 infüzyonu sinüzoidal kan akımını azaltır. Endotoksinler portal venlerin endotelin-1'e kontraktıl cevabını artırır ve dolayısıyla endotelin-1 karaciğer kan akımı açısından önemlidir²⁰.

Endotelinin renal fonksiyonlar üzerine bir çok etkisi vardır. Endotelin-1 diüretik olmakla birlikte, glomeruler filtrasyon hızı ve renal kan akımını azaltır. Endotelin-1 afferent arteriollerini daraltır ve akut renal yetmezlik oluşumunda rol oynar²⁰.

Endotelin-1 kanama ve pıhtılaşma zamanını kısaltır, parsiyel tromboplastin zamanını uzatır⁹⁶. Zedelenmiş endotel hücrelerinden salgılanan

endotelin-1 ve bigendotelin vazospazm yaparak dissemine intravasküler koagulasyonu artırır, intravasküler mikrotrombusların oluşumuna ve iskemik end organ disfonksiyonuna sebep olur²⁰.

Plasental iskemi maternal vasküler endotelin aktivasyonuna sebep olur ve endotelin-1 ve tromboksan üretimi artar. Angiotensin-II'ye hassasiyet artar ve NO ve prostasiklin gibi vazodilatatörlerin üretimi azalır. Sonuçta annedeki tüm organların kan akımı azalır⁹⁷.

Endotelin-1 en güçlü endojen vazokonstriktördür. Sigara içiminin dolaşımdaki veya çeşitli dokulardaki endotelin-1 seviyelerine etkisi hakkındaki çalışmalar sınırlıdır. Aktif sigara içiminin ilk 10 dakikasında endotelin-1 seviyeleri yükselmekte, daha sonraki sürede ise düşmektedir⁹⁸. Yıldız ve arkadaşları özellikle uzun süreli ve aşırı sigara içenlerde endotelin-1 seviyelerinin arttığını buldular²⁴.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Sprague-Dawley türü 70 sıçan (rat)'da yapıldı. Sıçanlar en az 5, en çok 8 aylık idi. Ortalama ağırlıkları 230.59 ± 36.89 gram idi. Sıçanlar 7 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol Grubu (n=10): Bu gruptaki deney hayvanlarına herhangi bir uygulama yapılmadı.
2. Grup: Pasif mainstream (içe çekilip üflenene) dumana maruz kalan (n=10): Bu gruptaki deney hayvanları 10 gün süreyle gece saat 11.00 ile sabah 7.00 arası hariç her saat başı deneyi yapan kişinin üflediği dumana maruz bırakıldı. Hayvanlar sigara içen kişiden yaklaşık 1.5-2 m uzak tutuldu. Deney yaklaşık 10 m²'lik küçük bir odada yapıldı.
3. Grup: Pasif sidestream (yanan sigaranın ucundan yayılan) dumana maruz kalan (n=10): Bu gruptaki deney hayvanları 10 gün süreyle gece saat 11.00 ile sabah 7.00 arası hariç her saat başı yanan sigaranın ucundan yayılan dumana maruz bırakıldı. Her saat başı 10 adet sigara yakılı vaziyette kafes içine bırakıldı ve dumanın hayvanlar tarafından teneffüs edilmesi sağlandı.
4. Grup: %5 CO Grubu (n=9): Bu gruptaki deney hayvanlarına 10 gün süreyle biri sabah saat yaklaşık 9:00 ve biri öğleden sonra saat yaklaşık 5:00 olmak üzere günde iki kez ve her seferinde 30 dakika süreyle %5 CO gazı içeren atmosfer havasına maruz bırakıldı.
5. Grup: %15 CO Grubu (n=11): Bu gruptaki deney hayvanlarına 10 gün süreyle biri sabah saat yaklaşık 9:00 ve biri öğleden sonra saat yaklaşık

5:00 olmak üzere günde iki kez ve her seferinde 30 dakika süreyle %15 CO gazı içeren atmosfer havasına maruz bırakıldı.

6. Grup: Nikotin (0.2 mg/Kg) Grubu (n=12): Bu gruptaki deney hayvanlarına 10 gün süreyle günde bir kez sabahları 0.2 mg/Kg dozunda intraperitoneal nikotin enjeksiyonu yapıldı. Her enjeksiyondan önce hayvanlar tartılarak doz hesaplaması günlük olarak yapıldı.
7. Grup: Nikotin (0.4 mg/Kg) Grubu (n=8): Bu gruptaki deney hayvanlarına 10 gün süreyle günde bir kez sabahları 0.4 mg/Kg dozunda intraperitoneal nikotin enjeksiyonu yapıldı. Her enjeksiyondan önce hayvanlar tartılarak doz hesaplaması günlük olarak yapıldı.

3.2. Uygulanan Maddeler

Nikotin: Sigma kataloğu (Kat no: N 3876) yardımıyla toz nikotin satın alındı. Serum fizyolojik ile uygun şekilde karıştırıldı. Elde edilen karışımın pH' ı 7.4 olacak şekilde HCl ve NaOH damlatılarak ve dijital pHmetre kullanılarak ayarlandı.

CO: Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünden temin edildi. Basınç ölçen dedantörler kullanılarak gazın basıncı ayarlandı. Deney hayvanlarına verilen gazın basıncı atmosfer basıncının %5 ve %15 olacak şekilde ayarlandı.

Sigara: Piyasadan satın alınan Maltepe sigarası kullanıldı.

3.3. Kan Alınması ve Saklanması

Tüm uygulamalar bittikten sonra ratlar 25 mg/Kg thiopental sodium ile anesteziye edildi ve göğüs kafesi açıldı. Kan alınması için enjektörle sol

ventriküle girildi. Her hayvandan yaklaşık 10 ml kan alındı. Kanın yaklaşık yarısı serum elde edilmek üzere vakumlu jelli tüplere, yaklaşık yarısı ise plazma elde edilmek üzere EDTA içeren tüplere alındı. Kanlar santrifüj (3500 devirde 10 dakika) edildikten sonra elde edilen plazma ve serumlar tüplere konularak -20 °C'de saklandı.

3.4. Nitrik Oksit Tayini

Oldukça kısa ömürlü bir radikal olan NO hızla NO₂ ve NO₃'a okside olmaktadır. Bu nedenle NO miktarı belirlenirken NO₂ ve NO₃ miktarları ölçülmektedir. Özellikle NO₂'in Griess reaktifiyle etkileşmesi sonucunda oluşan rengin absorbansının belirlenmesi oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Mevcut NO₃'a ya kadmiyum kolonu, yada nitrat redüktazla NO₂'e indirgendikten sonra ölçülmektedir⁸⁶.

3.4.1. Nitrit Tayini

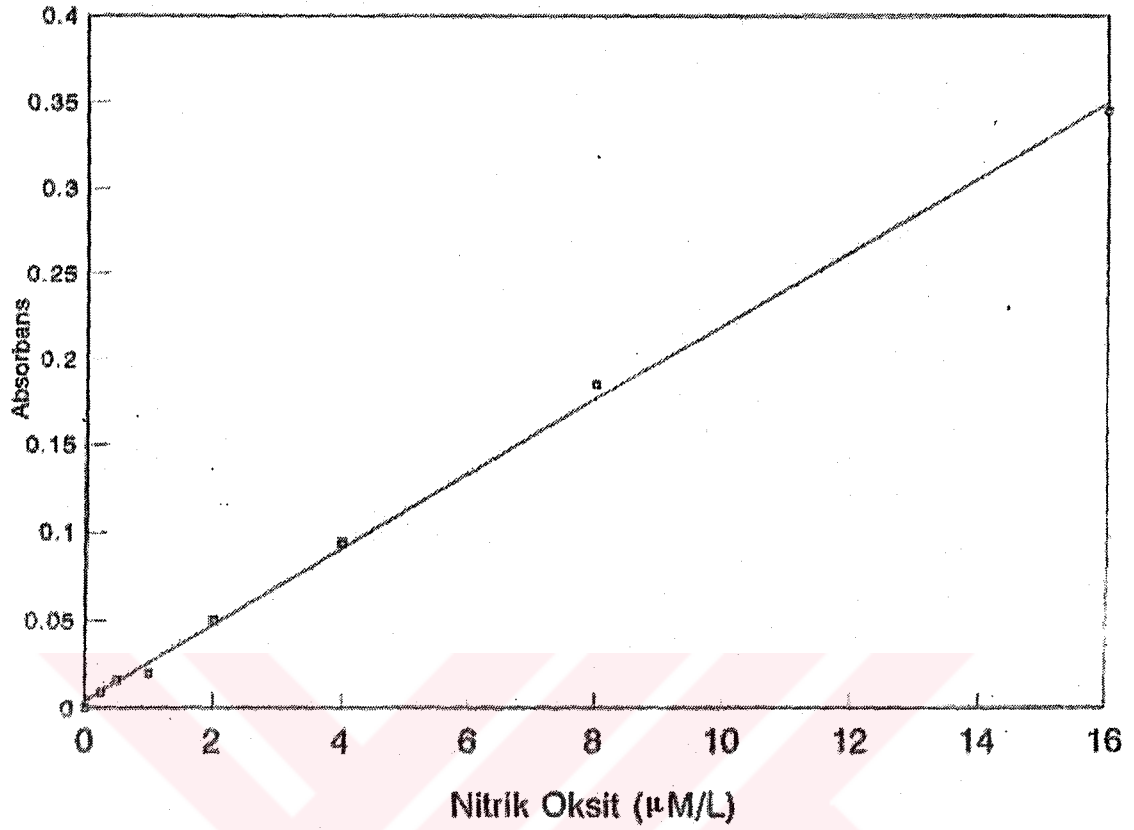
Nitrit Griess reaksiyonu kullanılarak tayin edilir. Serum örneği (100 µL) distile su (400 µL) ile 4 kat dilüe edildi. Buna 1/20 oranında 300 gr/L'lik çinko sülfat ilave edilerek deproteinize edildi. Karışım 1000g'de 15 dakika santrifüj edildi. 100 µL süpernatant alındı ve 100 µL Griess reaktantı (1 gr/L sülfanilamid, 25 gr/L fosforik asit ve 0.1 gr/L N-1 naftiletilediamin) ilave edildi. On dakika oda ısısında renk oluşumu için bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbans okundu⁹⁹.

3.4.2. Nitrat Tayini

Nitrat önce nitrat redüktaz (EC 1.6.6.1.: Boehringer Mannheim 20 U cat. no. 981249) ile nitrite enzimatik olarak dönüştürüldü. Bunun için serum örneği (100 µL) distile su (400 µL) ile 4 kat dilüe edildi. Buna 1/20 oranında 30 gr/L'lik çinko sülfat ilave edilerek deproteinize edildi.

Karışım 1000g'de 15 dakika santrifuj edildi. 100 µL süpernatant alındı ve 50 µmol/L'lik NADPH'dan 100 µL, 5 µmol/L'lik FAD'den 100 µL ve 200 U/L'lik nitrat redüktazdan 20 µL ilave edildi. Elde edilen örnekler 37 °C'de 20 dakika saklandı. Daha sonra 10 mg/L'lik laktat dehidrogenazdan 10 µL, 10 mmol/L'lik sodyum piruvattan 10 µL karıştırıldı ve 37 °C'de 5 dakika bekletildi. Her bir örnek iki kez çalışıldı. 100 µL Griess reaktantı (1 gr/L sülfanilamid, 25 gr/L fosforik asit ve 0.1 gr/L N-1 naftiletilendiamin) ilave edildi. On dakika oda ısısında renk oluşumu için bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbans okundu. Bu şekilde total nitrit, yani başlangıçtaki nitrit ve nitratın indirgenmesiyle oluşan nitritin toplamı ölçülmüş oldu. Total nitrat+nitrit konsantrasyonlarından nitrit konsantrasyonu çıkarılarak nitrat seviyesi bulundu. Daha sonra nitrit ve nitrat seviyeleri toplanarak nitrik oksit seviyesi elde edildi⁹⁹.

Standart eğrileri distile suda sodyum nitrit ve potasyum nitrat kullanılarak elde edildi. 80 mM'lük potasyum nitrat stok standart solüsyonu hazırlandı. Öncelikle bu solüsyon 80µM/L'ye dilüe edildi. Bu standart solüsyonundan kademeli dilüsyonlarla sırasıyla 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 µM/L'lik standartlar hazırlandı (Şekil 6).



Şekil 6. Serum NO standart eğrisi.

3.5. Endotelin-1 Tayini

Endotelin-1 tayininde Atatürk Üniversitesi araştırma Fonuna sunulan proje ile satın alınan kit (Cayman Chemical-Endothelin-1 Enzyme Immuneassay Kit, Cat. no: 583151) kullanıldı. Endotelin-1 tayini iki aşamada gerçekleştirildi.

3.5.1. Reaktiflerin Hazırlanması

1-EIA tamponu: Kit içinde bulunan EIA Buffer Concantrate (4 nolu şişe) 90 mL ultrasaf su ile karıştırılarak hazırlandı.

2-Yıkama tamponu: Kit içinde bulunan Wash Buffer Concantrate (5 nolu şişe) toplam 2 L olacak şekilde ultrasaf su ile karıştırıldı ve 1 mL Tween 20 (5a nolu şişe) ilave edildi.

3-Endotelin standardı: Endotelin standardı (3 nolu şişe) 1 mL EIA tamponu ile dilüe edildi (5000 pg/mL). Daha sonra 8 adet temiz tüp alınarak 1'den 8'e kadar numaralandırıldı. Daha sonra 1 nolu tüpe standart solüsyondan 200 µL alındı ve bu Sample Matrix Blank (SMB) (12 nolu şişe) ile 1mL'ye tamamlandı (1000 pg/mL). Daha sonra 2'den 8'e kadar tüplere 500 µL SMB eklendi. Daha sonra 1 nolu tüpten 500 µL alınarak 2 nolu tüpe eklendi (500 pg/mL) ve karıştırıldı. Bu işlemle 7 nolu tüpe kadar dilüsyon yapıldı. Böylece 8 nolu tüpe sadece SMB konulmuş oldu.

4-Asetilkolinesteraz: Endotelin Fab' Konjugatı: Konjugat (2 nolu şişe) 10 mL EIA tamponu ile karıştırıldı.

5-Ellman raktifi: Ellman reactifi (8 nolu şişe) 20 mL ultrapür su ile karıştırıldı. Bu işlem kullanımdan hemen önce yapıldı ve ışıktan uzak tutuldu.

3.5.2. Deneyin Yapılışı

1-Plate çıkarıldı ve well (kuyucuk)'ler yıkama tamponu ile yıkandı ve daha sonra sıvı kalmayacak şekilde döküldü.

2-Sekiz standart tüp alındı ve 1'den 8'e kadar numaralandırıldı. Daha önceden hazırlanmış standartlardan her birine 100 µL eklendi. Burada aynı numaralı standart aynı numaralı tüpe alındı. Standartlar çift (8x2=16 tüp) çalışıldı.

3-Numune plazmaların her birinden 100 μ L alınarak sırayla welllere kondu.

4-Blank welli hariç herbir welle 100 μ L Asetilkolinesteraz: Endotelin Fab' Konjugatı konuldu.

5-Platein üzeri filmle kapatıldı ve bir gece boyunca +4 °C'de inkübe edildi.

6-Ertesi gün weller boşaltıldı ve yıkama tamponu ile 5-6 kez yıkandı. Welllerde sıvı kalmayacak şekilde döküldü.

7-Her bir welle 200 μ L Ellman reaktifi kondu. Bu reaktif renk oluşturmak amacıyla ilave edilmektedir.

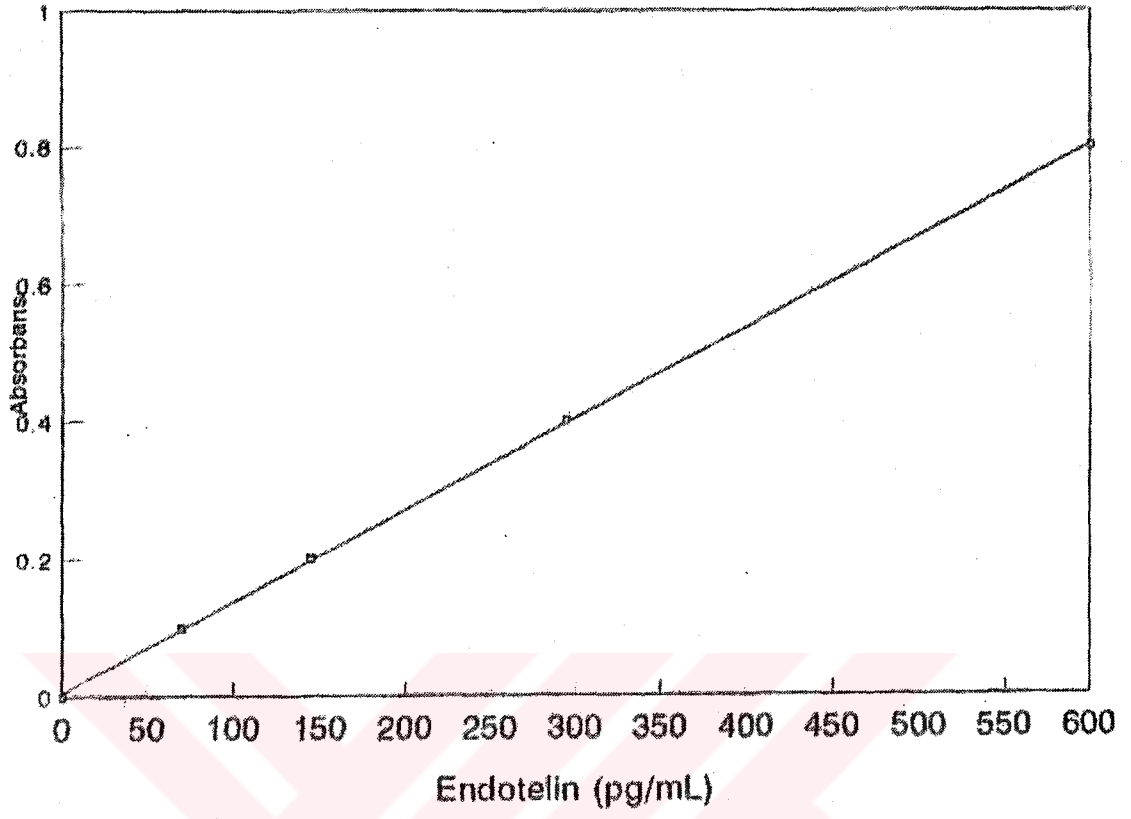
8-Plate yaklaşık 0.5 saat karanlıkta ve shakerda tutularak iyi renk oluşumu amaçlandı.

9-405 nm'de wellerin absorbansları okundu.

10-Standart absorbans eğrisi çizildi (Şekil 7). Bu eğri yardımıyla numunelerin absorbanslarından endotelin konsantrasyonu tayin edildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için windows altında çalışan SPSS 7.5 bilgisayar programı kullanıldı. Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular istatistiki olarak değerlendirildi; aritmetik ortalamaları ($\bar{x}$) ve standart sapmaladı (SD) bulundu. Bu programdaki varyans analizi (ANOVA) ve LSD testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin 0.05 ten düşük olması arandı.



Şekil 7. Plasma endotelin-1 standart eğrisi.

4. BULGULAR

4.1. Serum Nitrik Oksit Seviyeleri

Serum NO konsantrasyonları kontrol grubunda $5.68 \pm 1.29 \mu\text{M/L}$, pasif mainstream dumana maruz kalan grupta $7.29 \pm 1.79 \mu\text{M/L}$, pasif sidestream dumana maruz kalan grupta $9.56 \pm 2.45 \mu\text{M/L}$, %5 CO grubunda $7.61 \pm 2.69 \mu\text{M/L}$, %15 CO grubunda $8.16 \pm 3.35 \mu\text{M/L}$, düşük doz nikotin (0.2 mg/Kg) grubunda $7.78 \pm 2.38 \mu\text{M/L}$, yüksek doz nikotin grubu (0.4 mg/Kg) nda ise $7.94 \pm 1.91 \mu\text{M/L}$ olarak bulundu (Tablo 1). Bu gruplar arası fark tek yönlü varyans analizi (ANOVA)'ne göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($F=2.36$, $p=0.04$). Total örneklemdaki serum NO değerleri ise 8.00 ± 3.33 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre serum NO seviyesi en düşük grup kontrol grubu idi. Diğer gruplarda NO seviyeleri artmış bulundu. En yüksek NO seviyeleri pasif sidestream dumana maruz kalan grupta bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, pasif sidestream dumana maruz kalan grup, %15 CO grubu, yüksek doz nikotin grubu, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu ve pasif mainstream dumana maruz kalan grup ve kontrol grubu olarak bulundu (Şekil 8).

Daha sonra ikili gruplar arasında LSD fark testi yapıldı. LSD testine göre kontrol grubu serum NO değerleri sidestream dumana maruz kalan grup, %15 CO grubu, düşük doz nikotin grubu ve yüksek doz nikotin grubu değerlerinden istatistiksel anlamlı daha düşük bulundu (Sırasıyla, $\text{Fark}=3.88 \pm 1.06$, $p=0.001$; $\text{Fark}=2.48 \pm 1.04$, $p=0.02$; $\text{Fark}=2.09 \pm 1.02$, $p=0.04$; $\text{Fark}=2.26 \pm 1.13$, $p=0.05$). LSD testine göre mainstream dumana maruz kalan grup değerleri sidestream dumana maruz kalan grup değerlerinden istatistiksel anlamlı düşük bulundu

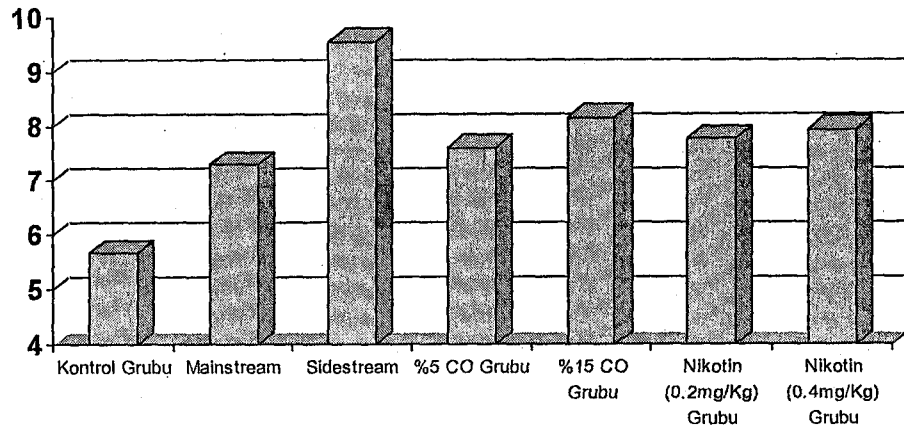
(Fark=2.27±1.06, p=0.04). Yüzde 5 CO grubunun hiçbir gruptan anlamlı farklı değerlere sahip olmadığı bulundu.

Tablo 1. Deney hayvanlarının kontrol grubu ve uygulama gruplarında serum NO seviyelerine ait istatistiksel sonuçlar.

GRUPLAR	N	Ortalama (µM/L)	Standart Sapma
Kontrol Grubu	10	5.68	1.29
Pasif Mainstream Dumana Maruz Kalan Grub**	10	7.29	1.79
Pasif Sidestream Dumana Maruz Kalan Grub	10	9.56	2.45
%5 CO Grubu	9	7.61	2.69
%15 CO Grubu	11	8.16	3.35
Nikotin (0.2 mg/Kg) Grubu	12	7.78	2.38
Nikotin (0.4 mg/Kg) Grubu	8	7.94	1.91
Total Örneklem	70	8.00	3.33

*Sidestream dumana maruz kalan gruba göre: p=0.001, % 15 CO grubuna göre: p=0.02, Nikotin (0.2 mg/Kg) grubuna göre: p=0.04, Nikotin (0.4 mg/Kg) grubuna göre: p=0.05,

**Sidestream dumana maruz kalan gruba göre: p=0.04



Şekil 8. Deney hayvanlarının kontrol grubu ve uygulama gruplarında serum NO seviyeleri

4.2. Plazma Endotelin-1 Seviyeleri

Plazma endotelin-1 değerleri kontrol grubunda 147.1 ± 19.05 pg/mL, pasif mainstream dumana maruz kalan grubda 145.7 ± 7.48 pg/mL, pasif sidestream dumana maruz kalan grupta 158.75 ± 21.42 pg/mL, %5 CO grubunda 141.11 ± 18.84 pg/mL, %15 CO grubunda 136.46 ± 17.21 pg/mL, düşük doz nikotin (0.2 mg/Kg) grubunda 143.75 ± 12.27 , yüksek doz nikotin grubu (0.4mg/Kg)'nda ise 126.25 ± 4.23 pg/mL olarak bulundu (Tablo 2). Bu gruplar arası fark tek yönlü varyans analizi (ANOVA)'ne göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($F=3.71$, $p=0.003$). Total örneklemdaki plazma endotelin-1 değerleri ise 143.16 ± 17.43 pg/mL olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre plazma endotelin-1 seviyesi en yüksek olan grup pasif sidestream dumana maruz kalan grup idi. Daha sonra en yüksek olan grup ise kontrol grubu idi. Diğer gruplarda endotelin seviyeleri azalmış bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, sidestream dumana maruz kalan grup, kontrol grubu, pasif mainstream dumana maruz kalan grup, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu, %15 CO grubu ve yüksek doz nikotin grubu olarak bulundu (Şekil 9).

Daha sonra ikili gruplar arasında LSD fark testi yapıldı. LSD testine göre kontrol grubu plazma endotelin değerleri yüksek doz nikotin grubu değerlerinden istatistiksel anlamlı daha yüksek bulundu ($Fark=20.85 \pm 7.44$, $p=0.007$). LSD testine göre pasif mainstream dumana maruz kalan grup değerleri yüksek doz nikotin grubu değerlerinden anlamlı yüksek bulundu ($Fark=19.45 \pm 7.44$, $p=0.01$). Pasif sidestream dumana maruz kalan grup değerleri %5 CO grubu, %15 CO grubu, düşük doz nikotin grubu ve yüksek doz

nikotin grubu değerlerinden istatistiksel anlamlı daha yüksek bulundu (Sırasıyla, Fark=17.64±7.2, p=0.02; Fark=22.29±6.85, p=0.002; Fark=15±6.71, p=0.03; Fark=32.5±7.44, p=0.00). Düşük doz nikotin grubu değerleri yüksek doz nikotin grubu değerlerinden istatistiksel anlamlı daha yüksek bulundu (Fark=17.5±7.16, p=0.02).

Tablo 2. Deney hayvanlarının kontrol grubu ve uygulama gruplarında plazma endotelin-1 seviyelerine ait istatistiksel sonuçlar.

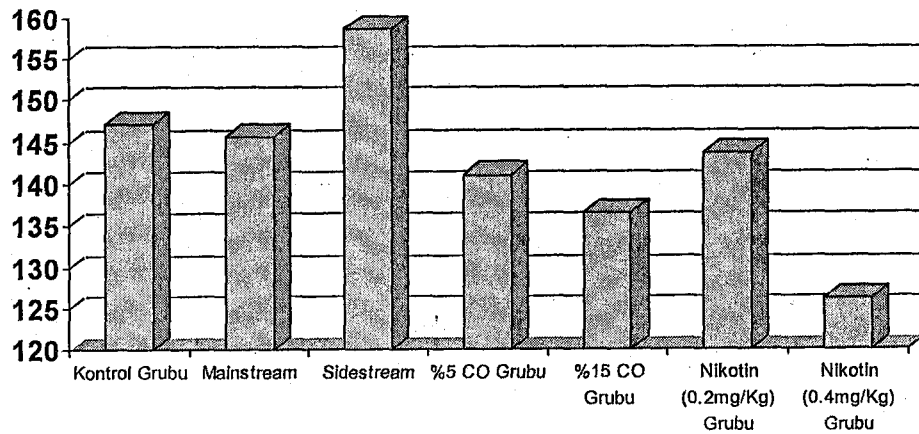
GRUPLAR	N	Ortalama (pg/mL)	Standart Sapma
Kontrol Grubu*	10	147.1	19.05
Pasif Mainstream Dumana Maruz Kalan Grup**	10	145.7	7.48
Pasif Sidestream Dumana Maruz Kalan Grup***	10	158.75	21.42
%5 CO Grubu	9	141.11	18.84
%15 CO Grubu	11	136.46	17.21
Nikotin (0.2 mg/Kg) Grubu****	12	143.75	12.27
Nikotin (0.4 mg/Kg) Grubu	8	126.25	4.23
Total Örneklem	70	143.16	17.43

* Nikotin (0.4 mg/Kg) grubuna göre: p=0.007

** Nikotin (0.4 mg/Kg) grubuna göre: p=0.01

*** %5 CO grubuna göre: p=0.02, %15 CO grubuna göre: p=0.002, Nikotin (0.2 mg/Kg) grubuna göre: p=0.03, Nikotin (0.4 mg/Kg) grubuna göre: p=0.00

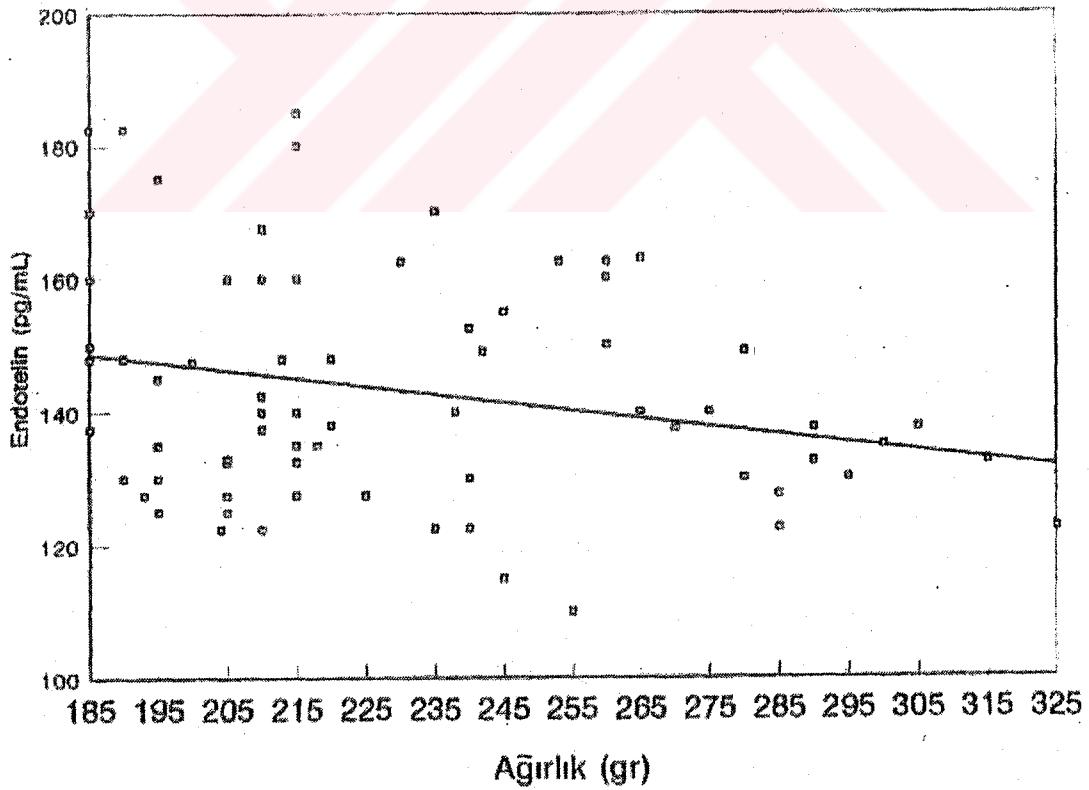
**** Nikotin (0.4 mg/Kg) grubuna göre: p=0.02



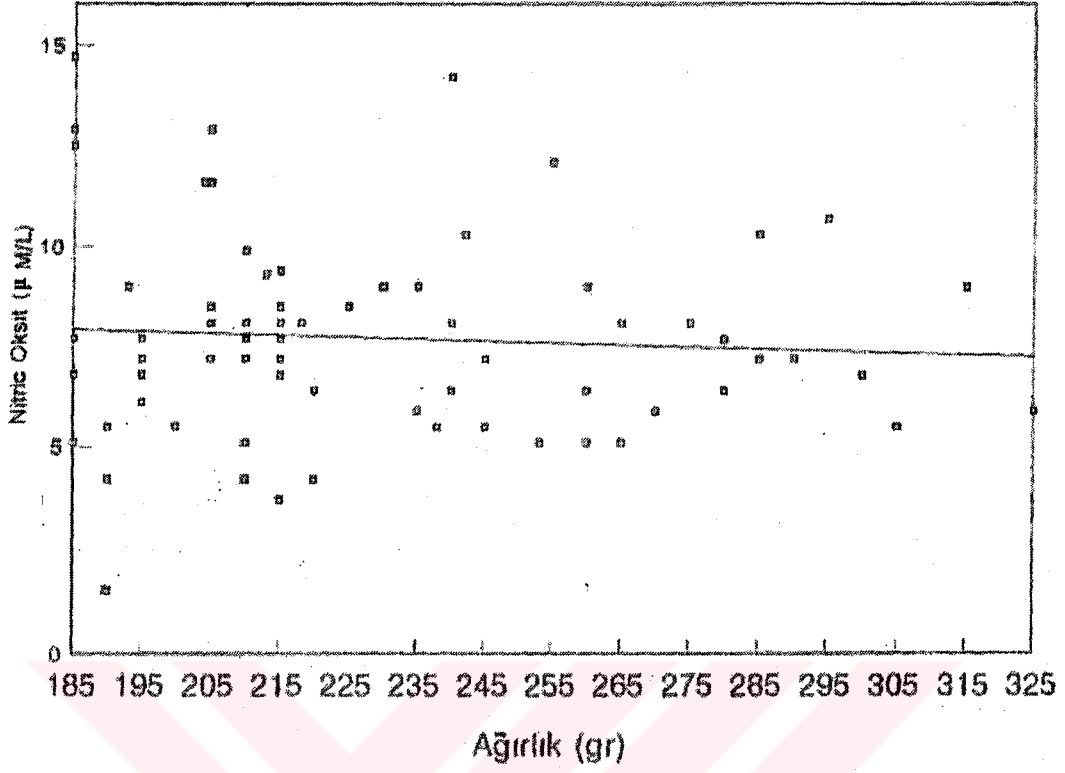
Şekil 9. Deney hayvanlarının kontrol grubu ve uygulama gruplarında plazma endotelin-1 seviyeleri (pg/ml).

4.3. Ağırlık İle NO ve Endotelin-1 Arasındaki İlişkiler

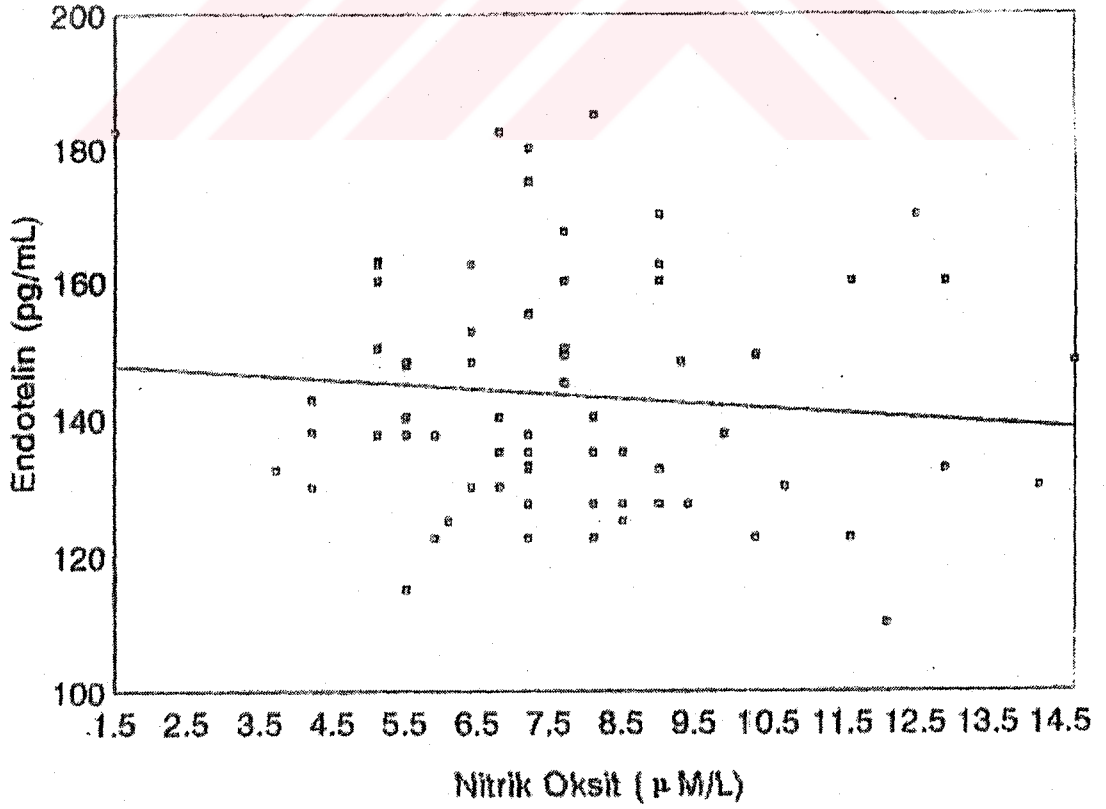
Bu çalışmada hayvanların vücut ağırlığı ile serum NO ve plazma endotelin-1 seviyeleri arasındaki ilişkiler de araştırıldı. Vücut ağırlığı arttıkça plazma endotelin-1 seviyelerinin azaldığı ve bu ilişkinin Pearson Korelasyon Analizine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($r=-0.26$, $p=0.03$) (Şekil 10). Ancak Vücut ağırlığı ile serum NO seviyeleri arasında herhangi bir anlamlı korelasyonun olmadığı bulundu ($r=-0.07$, $p=0.57$) (Şekil 11). Ayrıca serum NO seviyeleri ile plazma endotelin-1 seviyeleri arasında da korelasyon arandı. Tüm gruplarda negatif bir ilişkinin varlığı göze çarpmasına rağmen, bu negatif ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($r=-0.10$, $p=0.41$) (Şekil 12).



Şekil 10. Vücut ağırlığı ile plazma endotelin-1 seviyeleri arasındaki ilişki.



Şekil 11. Vücut ağırlığı ile serum NO seviyeleri arasındaki ilişki.



Şekil 12. Serum NO ile plazma endotelin-1 seviyeleri arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Sigara içmek çeşitli hastalıklara, kansere ve dolayısıyla erken ölümlere sebep olan insanların vazgeçemediği bir alışkanlıktır. Sigara sadece aktif sigara içenlerde değil sigara dumanına maruz kalan pasif içicilere de zarar vermektedir. Sigaranın sistemik zararlı etkileri akut olarak ortaya çıkmamakla birlikte kronik kullanım sonucu kalp damar hastalıkları, akciğer hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar aktif ve pasif sigara içiminin kardiyovasküler hastalıklara, serebrovasküler hastalıklara, akciğer hastalıklarına, kanserlere, gastrointestinal sistem hastalıklarına sebep olduğunu göstermiştir^{1,2}.

Sigaranın önemli bileşenlerinden biri olan nikotine aşırı maruziyet nikotin bağımlılığı geliştirir³. Sigara içimi koroner, serebral ve periferik arterlerde ateroskleroz riskini artırır⁴. Hiperkolesterolemi, hipertansiyon gibi diğer risk faktörleri ile birlikte sigaranın bulunması mortalite üzerine sinerjistik etki gösterir. Sigara içme ve hiperkolesterolemi sinerjistik olarak endotel fonksiyonlarını bozmaktadır⁵. Sigaranın bırakılması koroner kalp hastalığında mortalite riskini azaltır^{3,6,7}. Bu azalma sigarayı kestikten sonra geçen süre, içilen sigaranın miktarı ve kesmeden önceki sigara içme süresi ile ilişkilidir. Miyokard infarktüsü insidansı ve koroner kalp hastalığından ölüm sigara içenlerde içmeyenlere göre % 70 daha fazladır¹⁻⁵.

Sigara ayrıca ülkelerin ve şahısların ekonomilerine de önemli ölçüde zararlar vermektedir. Amerikada sigaraya bağlı direk sağlık harcamaları milyarlarca doları bulmaktadır. Sigara milyarlarca dolarlık indirek üretim ve kazanç kayıplarına da sebep olmaktadır. Sigara içenlerin sağlık sigorta

primlerinin daha fazla olması da epeyce ekonomik maliyet oluşturmaktadır. Sigaraya bağlı ev ve orman yangınlarının sonucunda bir çok ölümler ve yaralanmalar ortaya çıkmaktadır. Bunların sağlık harcamaları ve yangınlara bağlı maddi zararlar milyarlarca doları bulmaktadır¹.

Ev ve işyerinde pasif sigaraya maruziyetin prevalansı Avrupa'da hayli yüksektir. Çocukluk döneminde pasif sigaraya maruziyet ile solunum hastalıkları arasında kesin bir ilişki kurulmuştur. Sigara içen ailelerin çocukları daha fazla solunum enfeksiyonlarına yakalanırlar. Bu çocuklar bronşit ve pnömoniden daha fazla hastaneye yatarlar. Erişkinlerde de çevresel sigara dumanına kronik maruziyet ile astma ve kronik bronşit gelişmektedir. Çevresel sigara dumanına maruziyetin akut etkileri, baş ağrısı, bulantı, kusma, konjoktivit ve nazal mukoza irritasyonudur^{64,65}.

Sigara dumanına maruziyet solunum yolu hastalıkları için hazırlayıcı, kolaylaştırıcı bir faktördür. Çevresel sigara dumanı 43 bilinen karsinojen maddeden başka binlerce zararlı kimyasal madde içerir. Pasif içiciliğin en önemli sağlık etkilerinden biri sigara içmeyenlerde akciğer kanseridir. Çevresel sigara dumanının oluşturduğu akciğer kanserinin genetik sebeplerini anlamak için çalışmalar devam etmektedir⁶⁶.

Çevresel sigara dumanı ve pasif içicilik erişkin ve çocuklarda kalp hastalıkları için önemli bir risk faktörüdür. Çevresel sigara dumanı bir yılda kalp hastalığına bağlı 53000 ölümden 37000'ine sebep olur. Pasif sigara içimi aktif sigara içimi ve alkolden sonra önlenabilir ölüm sebeplerinin üçüncüsüdür. Çevresel sigara dumanına maruziyet doza bağımlı olarak myokarda infarkt alanında artışa sebep olmaktadır. Pasif sigara koroner vazokonstruksiyonu

artırarak ve koroner kan akımını azaltarak, katekolamin salgısını artırarak, myokardda oksijen ihtiyacını artırarak, trombozu artırarak myokardiyal iskemiye ağırlaştırır⁸.

Sigara dumanı nikotin, CO, katran, NO'ten üretilen serbest radikaller ve çok miktarda oksijen serbest radikalleri içermektedir. Bu maddeler direkt veya indirek olarak endotel fonksiyonlarını bozarlar. Nikotin damarsal hasarın mediatörü olarak düşünülen dumanın en önemli bileşenidir¹⁰⁰.

Sigara dumanına bağlı endotel hasarının fizyopatolojisi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Sigaraya bağlı endotelal hasar endotelin fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasına sebep olan bir çok faktörün etkisiyle ortaya çıkabilir^{7,34,37,101}. Endotel hasarı en çok sigara dumanında bulunan nikotin ve CO'e bağlanmaktadır⁴³. Ancak bu hasar tek başına nikotine mi, tek başına CO'e mi, ikisinin birlikte sinerjistik etkisine mi yoksa sigara dumanında bulunan NO ve radikallerine mi¹⁰⁰ ve hatta serbest oksijen radikallerine^{7,100} mi bağlı olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada sağlık ve ekonomik maliyeti çok yüksek olan sigara dumanına bağlı endotel hasarının dumanında bulunan nikotin ve CO gibi maddelerin kan NO ve endotelin-1 düzeylerine spesifik etkileri araştırıldı.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda L-arginin verilmesinin NO salgısını artırarak ateroskleroz, hiperkolesterolemi, aterogenezis, endotelial disfonksiyon üzerine faydalı etkiler meydana getirdiği bildirilmiştir^{8,17-19,102,103}. NO molekülünün prekürsörü olan L-arginin çevresel sigara dumanına maruz kalan ratlarda çevresel sigara dumanının endotel hücrelerine zararlı etkilerini önlediği,

bu etkinin de NO'nin serbest radikal hasarına karşı koruyucu etkisi ile ilgili olduğu bildirilmiştir⁸.

Bu çalışmada pasif mainstream ve sidestream dumana, yüksek ve düşük doz intraperitoneal nikotin enjeksiyonlarına ve düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CO gazına maruz kalan ratlarda NO ve endotelin-1 seviyeleri bakıldı. Deney hayvanları aktif sigara içimine maruz bırakılamadıkları için aktif sigara içiminin etkileri araştırılmadı.

NO endotel ve sinir hücrelerinde sinyal taşıyan bir mediatör, aktif immün sistem hücreleri tarafından kullanılan toksik etkili bir molekül ve inhalasyon yoluyla verilen bir ilaç olarak da tarif edilebilir⁷⁴. Serum NO konsantrasyonları açısından çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Serum NO seviyesi kontrol grubunda en düşük idi. Diğer gruplarda %5 CO gazına maruz kalan grup hariç NO seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış bulundu. %5 CO gazına maruz kalan deney grubunda da NO seviyeleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlamlı bulunmadı. En yüksek NO seviyeleri pasif sidestream dumana maruz kalan grupta bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, pasif sidestream dumana maruz kalan grup, %15 CO grubu, yüksek doz nikotin grubu, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu ve pasif mainstream dumana maruz kalan grup ve kontrol grubu olarak bulundu.

Bu çalışmada en yüksek NO seviyeleri pasif sidestream dumana maruz kalan ratlarda idi. Bu sonuçlar yakın zamanda yapılan bazı çalışmalar ile uyumlu ve onların sonuçlarını desteklemektedir^{23,34,104,105}. Nene ve arkadaşları³⁴ sigara dumanına maruz bırakılan ratlarda NO seviyelerinin anlamlı olarak yükseldiğini rapor etmişler ve NO ile arteriel duvar arasındaki etkileşimin

bozulduğunu öne sürmüşlerdir. Sarkar ve arkadaşları¹⁰⁴ sigara dumanına maruz kalan ratlarda endotel rejenerasyonunun arttığını ve bu artışa bağlı olarak NO seviyelerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Petrik ve arkadaşları¹⁰⁶ da sigaraya bağlı endotelde intimal hiperplazi olduğunu göstermişlerdir. Reendotelizasyonun artması⁸ sigara ve bileşenlerinin zararlı etkilerine karşı adaptasyon ve kompanzasyon mekanizmalarının çalıştığını düşündürmektedir. Anabilim Dalımızda yapılan bir yüksek lisans tezinde de çok sigara içenlerde, az sigara içenlerde ve pasif sigara içenlerde NO seviyelerinin arttığı bildirilmiştir²³. NO Sigara dumanına maruz kalmaya bağlı olarak serum NO seviyelerindeki bu artış iki faktörden kaynaklanabilir. Bu faktörlerden biri sigara dumanında yüksek oranda bulunan NO'in kana geçmesi ile oluşan egzojen NO, diğeri de sigaranın endoteli uyarması sonucu endotelden kana salgılanan endojen NO olabilir. Sarkar ve arkadaşları¹⁰⁴ sigaraya bağlı NO artışını endojen kaynaklı olduğunu iddia etmişlerdir.

Alving ve arkadaşları²⁵ dumandaki NO konsantrasyonları ile pulmoner ve bronşial dolaşımda ortaya çıkan vazodilatasyon arasında ilişkiye bakmışlar ve dumandaki NO konsantrasyonu arttıkça ortaya çıkan vazodilatasyon miktarının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Zeher ve arkadaşları⁷ sigara içenlerde uzun süreli sigara içiminin endotele bağlı koroner arterlerin vazodilatasyonunda bozulmalara yol açtığını, yani sigaranın vazodilatasyonu engellediğini bildirmişlerdir. Bu bozulmanın aterosklerotik plak varlığı veya yokluğu ile ilişkisinin bulunmadığını rapor etmişlerdir. Vazodilatasyondaki bozulmayı da sigaranın L-argininden NO sentezini engelleyerek NO konsantrasyonlarını azaltarak ortaya çıkabileceğini

iddia etmişlerdir. Ancak sigaraya bağlı NO seviyelerindeki değişiklikleri ölçmeyip hemodinamik çalışma ile bu sonuçlara ulaşmışlardır. Nene ve arkadaşları³⁴ ise Zeiher ve arkadaşlarının⁷ aksine pasif sigara içiminin doza bağımlı olarak rat koroner arterlerinde endotelden kaynaklanan vazodilatasyonu arttığını rapor etmişlerdir. Sigara içimine bağlı arteriel vazodilatasyonda, sigara içiminin sebep olduğu NO salınımındaki artışın etkili olabileceği iddia edilmiştir³⁴.

Ayrıca McVeigh ve arkadaşları¹⁰⁷ da uzun süreli sigara içiminin insanlarda endotele bağlı yani NO salınımına bağlı vazodilatasyonu azalttığını iddia etmektedirler¹⁰⁷. Sigara içen ve içmeyen insanlara NO inhibitörü L-NMMA vererek ön kol kan akımındaki azalmanın miktarını ölçerek sigara içenlerde içmeyenlere göre kan akımında daha fazla azalma olduğunu tesbit etmişlerdir. Yılda içilen paket sigara sayısı arttıkça ön koldaki kan akımının azaldığını bildirmişlerdir ve bunun NO salınımının sigara içenlerde daha az olduğunu gösterdiğini iddia etmişlerdir. Bu sonuçlar da NO seviyesi ölçülmeden kan akım hızı ölçülerek elde edilmiştir.

Bir başka çalışmada da kronik sigara içicilerin ön kol damarlarında endotelium bağımlı vazodilatasyonun sağlıklı kontrol grubuna göre azaldığı bulunmuş ve bu fonksiyon bozukluğunun, sebebinin multifaktöriyel olduğu ifade edilmiştir³⁷.

Kiowski ve arkadaşları¹⁰⁸ klinik olarak sağlıklı sigara içicilere NO inhibitörü olan L-NMMA ve endotelin-1 vermişler. Sigara içenlerde NO inhibisyonuna damar cevabının daha az olduğunu ve endotelin-1'e bağlı vazokonstriksiyon cevabının ise arttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ayrıca pasif mainstream dumana maruz kalan hayvanlardaki NO konsantrasyonları pasif sidestream dumana maruz kalan hayvanların NO konsantrasyonlarına göre anlamlı daha düşük olarak bulundu. Literatür taramamıza göre böyle bir farkın varlığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Bu farkın sebebi sidestream dumanda bulunan NO miktarının mainstream dumana göre 4-10 kat daha fazla olmasına bağlı olabilir¹⁰⁹. Bu sonuca göre sigara dumanına maruz kalmaya bağlı serum NO konsantrasyonlarındaki artış sadece endojen olmayıp aynı zamanda egzogen kaynaklıdır denilebilir. Sigara dumanında bulunan egzogen NO'ye bağlı serum NO konsantrasyonlarında artış olup olmadığını anlamak için NO filtereleri kullanarak aynı deneyler tekrarlanabilir. Çünkü nikotin ve CO endotelial disfonksiyona ve doku hipoksisine sebep olmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre pasif mainstream dumana ve düşük doz CO'ye maruz kalan gruplarda serum NO seviyeleri kontrol grubundan daha yüksek ama farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. Bu bulgular mainstream duman ve CO'nin NO üzerine etkisinin daha zayıf olduğunu göstermektedir. CO mainstream dumanda %5 oranda bulunurken, sidestream dumanda %15 oranında bulunmaktadır¹. Bizim çalışmamızda da düşük doz CO'nin oranı %5 olarak tutulmuştu. Bu oran yaklaşık mainstream dumanın içerdiği CO oranı ile aynıdır. CO HbCO'de artışa ve bu yolla hipoksiye sebep olmaktadır. Hipoksi ise damarların genişlemesine neden olmaktadır³⁴. Hipoksi, bradikinin ve asetil kolin salgılanması NO salgılatarak vazodilatasyona sebep olmaktadır³⁴. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ancak yüksek doz CO'ye maruz kalan gruptaki NO seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek

bulundu. Bu sonuçlar ışığında, CO direk olarak değil indirek olarak yani hipoksi oluşturarak NO salınımına sebep oluyor denilebilir.

Bu çalışmada, hem düşük doz hem de yüksek doz nikotin uygulanan gruplarda serum NO düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. Bu bulgu nikotinin düşük dozlarda bile NO salınımını artırdığını göstermektedir. Nikotin eNOS ekspresyonunu artırarak⁴⁴ NO sentezinin artmasına yol açar. Nikotin adrenerjik sinirler üzerindeki nikotinik reseptörlere etki ederek noradrenalin salınımına neden olur. Ayrıca nitrik oksiderjik sinirlere etki ederek de NO salınımına sebep olur³¹. Bu sonuçlar nikotinin doğrudan NO salınımını artırarak yüksek NO seviyelerine sebep olduğunu göstermektedir. Sigara içenlerde sigarayı bırakmak için 7 gün boyunca nikotin burun spreylerinin (0.5 mg/gün) kullanılmasının da aynı sigara kullanımı gibi serum NO seviyelerindeki artışa sebep olduğu bildirilmiştir. Sigaradan bağımsız olarak, tek başına nazal nikotin uygulanmasının endotel üzerine etki ederek NO salınımını artırdığı ifade edilmiştir¹⁰⁵.

Deneysel çalışmalar domuz baziler arterlerinde nikotin ve transmural sinir uyarısı ile relaksasyon olduğunu ve bu relaksasyonun nörojenik tabiatla olup NO aracılığı ile ortaya çıktığını göstermiştir³¹. Çalışmamızda da nikotin verilen gruplarda NO konsantrasyonlarının artışı bu çalışmaların sonuçları ile uyumludur.

Akut sigara içiminin endotele bağlı arteriel dilatasyonun bozulmasına sebep olduğu, sigara içenlerde tolerans geliştiği tanımlanmıştır. Özellikle tekrarlayıcı maruziyette nikotin ürünlerinin daha az etkili olduğu bildirilmiştir.

Akut uygulamadaki etkinin elde edilebilmesi için daha yüksek doza ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır⁴.

Çalışmamızda özellikle CO ve nikotinin doza bağımlı endotelial fonksiyona etkisi istatistiksel açıdan anlamlı farklı bulunmuştur. Sidestream dumanın gerek NO gerekse endotelin-1 konsantrasyonlarını mainstream dumana nazaran anlamlı derecede yükselttiği gözlenmiştir. Bu bulgularımızı destekleyen veya reddeden herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak sidestream dumanın inhalasyonunda yavru horozlarda aterosklerotik plak gelişiminin daha hızlı olduğu bildirilmiştir¹¹⁰.

Çalışmamızda ayrıca kontrol ve çalışma gruplarında plazma endotelin-1 seviyeleri araştırıldı. Çalışma grupları arasında varyans analizine göre istatistiksel anlamlı fark bulundu. Bu sonuçlara göre plazma endotelin-1 seviyesi pasif sidestream dumana maruz kalan grupta en yüksek idi. Daha sonra en yüksek olan grup ise kontrol grubu idi. Diğer gruplarda endotelin-1 seviyeleri azalmış bulundu. Yüksekten düşüğe göre sıralanırsa, sidestream dumana maruz kalan grup, kontrol grubu, pasif mainstream dumana maruz kalan grub, düşük doz nikotin grubu, %5 CO grubu, %15 CO grubu ve yüksek doz nikotin grubu olarak bulundu.

Bu çalışmada en yüksek endotelin-1 seviyelerinin sidestream dumana maruz kalan ratlarda olduğu bulundu. Bu grup hayvanlardaki endotelin-1 seviyeleri kontrol grubu endotelin-1 seviyelerine göre anlamlı daha yüksek idi. Bu sidestream dumanın endotelial hasarda etkili olduğunu göstermektedir. Endotelin angiotensin ve vazopressinin vazokonstriktör etkileri ile yarışabilecek 21 amino asitli büyük bir peptiddir. Endotelin çok küçük düzeylerde bile

vazokonstriktör etki oluşturabilir ve endotel hücreleri ile hemen hemen tüm kan hücrelerinde bulunmaktadır. Endotelin salınmasının doğal stimülatörü dokularda meydana gelen ezilme veya travmatize edici kimyasal bir maddenin enjeksiyonu ile oluşan endotel hücre hasarıdır. Kan damarında meydana gelen ciddi bir hasarı izleyerek lokal olarak salınan endotelin vazokonstriksiyona neden olur¹¹¹.

Bu çalışmada sidestream dumana maruz kalan ratlarda plazma endotelin-1 seviyelerinin %5 CO grubu, %15 CO grubu, düşük ve yüksek doz nikotin gruplarının plazma endotelin-1 seviyelerinden daha yüksek olduğu bulundu. Bu bulgular ışığında eğer tek başına uygulanırsa CO ve nikotin plazma endotelin-1 seviyelerini artırmamakta olduğu söylenebilir. Bu bulgu muhtemelen tek başına CO ve nikotin uygulamasının endotelde zedelenme oluşturmadığı varsayımına yol açmaktadır.

Bu çalışmada mainstrem dumana maruz kalan gruptaki plazma endotelin-1 seviyelerinin yüksek doz nikotin grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Ayrıca yüksek doz nikotin grubu plazma endotelin-1 seviyeleri kontrol grubuna göre de anlamlı daha düşük olarak bulundu. Bu bulgular nikotinin endotelden endotelin-1 salgılanmasını azalttığı sonucuna sebep olmaktadır. Ancak nikotin direk olarak mı yoksa indirek olarak mı endotelin-1 salgısını azaltmaktadır sorusu akla gelmektedir. Çünkü NO'nin endotelden endotelin-1 salınımını azalttığı bilinmektedir²². Endotelde endotelin-1 salınımını engelleyen faktörler; prostasiklin, nitrik oksit²², atrial natriüretik peptid, heparin'dir²⁰. Yukarıda tartışıldığı üzere bu çalışmanın sonuçlarına göre nikotin gruplarında kontrol grubuna göre serum NO seviyelerinin arttığı bulunmuştu. Nikotine bağlı serum NO salgısındaki artış endotelin-1 salınımını engelleyerek

plazma endotelin-1 seviyelerinin azlığına sebep olabilir. Bu durum tamamen vücudun sigara dumanında bulunan nikotinin yaptığı başta hipoksi olmak üzere zararlı etkilerine karşı bir savunma mekanizması bir homeostasis olarak değerlendirilebilir. Yani nikotininin oluşturduğu hipoksi, NO salınımı artırılarak ve endotelin-1 salınımı azaltılarak bertaraf ediliyor olabilir.

Yüksek doz nikotin grubundaki plazma endotelin-1 seviyeleri düşük doz grubuna göre anlamlı daha düşük olarak bulundu. Bu bulgu nikotinin plazma endotelin-1 seviyelerine olan etkisinin doza bağımlı olarak değiştiğini ima etmektedir.

Çalışmamızda açısından ayrıca yüksek doz ve düşük doz CO'e maruz kalan hayvanlarda kontrol grubuna göre daha düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan plazma endotelin-1 seviyeleri bulundu. Sigaradaki CO'nin temel etkisi hipoksidir. Vasodilatasyon kan akımının damarsal ağla düzenlendiği temel bir olaydır. Bunu etkileyen birkaç ajan vardır. Bunlar hipoksi, bradikinin ve asetil kolin'dir. Endotele bağlı vazodilatasyon endotele uygulanan bir stimulus NO ürettiği zaman ortaya çıkar³⁴. Bizim çalışmamızda da muhtemelen CO uygulaması hipoksiye sebep olarak önce NO salınımına sebep olmakta ve daha sonrada indirek olarak endotelin-1 salınımını azaltmaktadır. Bu olayı yine sigarada bulunan CO'nin oluşturduğu hipoksiye karşı vücudun bir savunma mekanizması olarak yorumlamak mümkündür.

Sigaraya maruz bırakılan ratlarda ölçülen karboksihemoglobin (HbCO) seviyeleri sigara içen grupta içmeyenlere kıyasla yüksek olarak bulunmuştur. Ortalama HbCO seviyesi dumana maruz kalan pasif içicilerde ortalama %18 olup %12 ile %30 arasında değişir. Bu değerler sigara içen kişilerde biraz daha

yüksek olarak bulunmuştur. HbCO'deki bu artış hipoksiye sebep olmaktadır. Hipoksi ise damarların genişlemesine neden olmaktadır³⁴. Sigara dumanı içinde %4 oranında bulunduğu tahmin edilen CO eritrositlerdeki hemoglobine bağlanarak hemoglobinin oksijen taşımamasını engellemekte ve hemoglobin oksijen taşımamasını %2.5 oranında azaltmaktadır.

Çalışmamızda sidestream dumana maruz kalan ratlarda hem NO ve hem de endotelin-1 seviyelerinin çok yüksek olarak ortaya çıktığı gözlemlendi. Bu bize sadece bu grupta endotel hasarı oluşturacak kadar bir etkinin varlığını düşündürmektedir. Sidestream dumanda sadece nikotin ve CO değil ilave olarak çok sayıda serbest oksijen radikalleri de bulunmaktadır. Bu zararlı bileşikler daima sidestream dumanda mainstream dumana göre daha fazla oranlarda bulunmaktadırlar¹⁰⁹.

Yıldız ve arkadaşları²⁴ tarafından hafif ve ağır sigara içiciler ve sigara içmeyenlerde yapılan bir çalışmada plazma endotelin-1 seviyelerinin en düşük sigara içmeyenlerde, en yüksek ise ağır sigara içicilerde olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu bizim sonuçlarımız ile uyumludur. Bizim çalışmamızda da en zararlı dumana (sidestream) maruz kalan ratlarda kontrol grubuna göre yüksek plazma endotelin-1 seviyeleri bulunmuştu.

Barua ve arkadaşları⁹⁸ hafif ve ağır sigara içicilerde serum kotinin, endotele bağlı vazorelaksasyon, basal ve stimüle edilmiş NO üretimi, eNOS proteini ve eNOS aktivitesini karşılaştırmışlar. Serum kotinin seviyelerinin hafif sigara içicilerinde ağır içicilere göre anlamlı düşük olduğunu, ancak endotele bağlı vazorelaksasyon, bazal ve stimüle edilmiş NO üretimi eNOS proteini ve eNOS aktivitesi açısından hafif sigara içicilerle ağır sigara içicileri arasında

herhangi fark olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca nitrogliserine bağlı vasodilatasyon ve invitro endotelin-1 üretiminin hafif ve ağır sigara içicilerde farklı olmadığını bildirmişlerdir.

Sigara dumanı ve ürünlerinin dolaşımdaki veya çeşitli dokulardaki endotelin-1 seviyelerine etkileri konusunda sınırlı sayıda çalışma vardır. Daha önce yapılan çalışmalar göstermiştir ki aktif sigara içiminin ilk 10 dakikası içinde plazma veya serum endotelin-1 seviyelerinde bir artış olmakta ve daha sonra bunu bir azalma takip etmektedir^{112,113}. Yakın zamanda yapılan invivo bir rat çalışmasında akut sigara dumanına maruziyetin kalp ve akciğer dokularında endotelin-1 mRNA ekspresyonunu artırdığı, fakat kronik sigara dumanına maruziyetin kardiyovasküler dokularda endotelin-1 mRNA üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir¹¹⁴.

Benzer şekilde Barbea ve arkadaşları¹¹⁴ pulmoner arterlerde endotelin-1 ekspresyonunun ve akciğer doku ekstraktlarında endotelin-1 miktarlarının sigara içenler ve içmeyenler arasında farksız olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda serum NO konsantrasyonları ile plazma endotelin-1 konsantrasyonları arasında negatif ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan korelasyon bulundu. NO'nin cGMP bağımlı mekanizma aracılığıyla endotelin-1 oluşumunu inhibe etmesi²²; NO seviyesi arttıkça endotelin-1 seviyesinin azalmasını izah edebilir. Bu korelasyonun sidestream grubunda olmaması sidestream dumanında NO ve endotel hasarlayıcı maddelerin daha fazla bulunması ile ilişkili olabilir. Muhtemelen sidestream dumana maruz kalan grupta endotel hasarı olmakta ve buna bağlı olarak aşırı endotelin-1 salgılanmaktadır.

Ratları sigara dumanına maruz bırakarak yapılan bazı çalışmalarda serum NO seviyeleri yüksek bulunmuştur³⁴. Yapılan pek çok çalışmada sigaranın endotel hasarı yaparak vazodilatasyonu bozduğu ifade edilmiştir. Fakat çalışmaların çoğunda direk NO bakılmamış olup sadece endotel disfonksiyonu NO eksikliğine bağlanmıştır^{7,107,108}. Sigaranın yaptığı endotelial bozukluk pek çok faktöre bağlı olabilir³⁷. Uzun süreli sigara içimi trombozu uyarmaktadır⁶⁹. NO normal veya fazla üretilmesine rağmen NO aktivitesi süperoksit radikallerinin aşırı miktarda üretilmesine bağlı olarak da azalmış olabilir. Kronik ve ağır sigara içicilerde endotelin-1 seviyesinin artmış olması²⁴ bununla uyumludur. Bizim çalışmamızda da sidestream dumana maruz kalan ratlarda plazma endotelin-1 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu endotel hasarının oluştuğunu göstermektedir. Ratlarda NO seviyelerinin de yüksek olması egzojen kaynaklı NO'e bağlı olabilir. Nitekim Nene ve arkadaşları da sigara içenlerde NO artışının egzojen olabileceğini söylemektedirler³⁴.

Endotel vazomotor tonusun regülasyonunda, damar duvarı inflamasyonunda ve lümen-duvar etkileşiminde trombotik/trombolitik faktörlerin dengelenmesinde görev almaktadır. NO endotel hücrelerinden salgılanan güçlü bir vasodilatatör maddedir ve endotelial fonksiyonun tüm komponentlerinin regülasyonunda öncü rol oynar. Endotelin-1 endotel hücreleri tarafından salınan güçlü bir vazokonstriktördür ve etkileri NO'in etkilerine zıttır. NO konsantrasyonlarındaki bir azalma veya endotelin-1 konsantrasyonlarındaki bir artma kardiyovasküler patolojilere katkıda bulunan lümen-duvar etkileşiminde uygun olmayan bir atmosfer oluşturabilir.

Barua ve arkadaşlarının⁹⁸ çalışmasında sadece endotel hücrelerine spesifik endotelin-1 ölçülmüştür. Halbuki dolaşımdaki endotelin-1 seviyelerine damar düz kas hücrelerinden salgılanan endotelin-1 de katkıda bulunmaktadır. Barua ve arkadaşlarının sonuçlarına göre hafif ve ağır sigara içimi in vivo aynı derecede endotelial disfonksiyona sebep olmakta ve NO üretiminde, eNOS proteini ve onun aktivitesinde aynı derecede değişikliklere sebep olmaktadır. Sonuç olarak az miktarda sigara kullanımı bile kardiyovasküler sistemlere zararlı etkilere sahiptir.

Çalışmamızda ratların vücut ağırlığı ile plazma endotelin seviyeleri arasında negatif bir ilişkinin varlığı, ancak vücut ağırlığı ile NO konsantrasyonları arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı bulundu. Daha önceki çalışmalarda vücut ağırlığı ile endotelin-1 ve NO konsantrasyonları arasındaki ilişkilere ait çalışmalara rastlanmadı. Vücut ağırlığı azaldıkça endotelin salınımının artışı veya diğer bir deyişle vücut ağırlığı arttıkça endotelin salınımının az olması bize vücut ağırlığı ile kardiyovasküler patolojiler arasında ilişkilerin olabileceğini ima etmektedir. Sigara içimi ile kilo kaybı olduğu bilinmektedir. Muhtemelen sigara içimi arttıkça hem kilo kaybı ortaya çıkmakta ve hem de endotelin salınımı artmaktadır denilebilir. Sigara içenlerde kilo kaybına rağmen kardiyovasküler patolojilere daha sık rastlanması da bu çalışmanın bulguları ile uyumludur.

Sonuç olarak endoteliumda belirgin morfolojik endotelial değişiklikler ortaya çıkmadan NO üretimi veya salınımı endoteliumdaki fonksiyonel değişikliklerin erken göstergesi olarak kullanılabilir. Sigara içimi vazodilatatör molekül olan NO ile vazokonstriktör bir madde olan endotelin-1 arasındaki

dengeyi bozarak endotelial korunma sisteminin zayıflamasına yol açar. Ayrıca, sigaranın sadece aktif içicileri değil çevresel sigara dumanına maruz kalan kişileri de önemli ölçüde etkilediğini söyleyebiliriz.



6. SONUÇ

Çalışmamızda, kontrol grubu, pasif sidestream ve pasif mainstream dumana maruz kalan, yüksek ve düşük doz CO verilen ve yüksek ve düşük doz nikotin enjeksiyonu yapılan ratlarda serum NO ve plazma endotelin-1 konsantrasyonları karşılaştırıldı. Bulgular ışığında aşağıdaki sonuçlara varıldı.

1-Serum NO konsantrasyonları sidestream dumana maruz kalan grupta en yüksek olmak üzere tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek idi. Bu yükseklik egzojen kaynaklı olabileceği gibi sidestream dumanda zararlı maddelerin yüksek oranda bulunmasına bağlı da olabilir. Bu artış vücudun dumanın zararlı etkilerine karşı bir savunma mekanizması olarak yorumlanabilir. CO ve nikotin uygulamaları da tek başlarına serum NO seviyelerini artırmaktadırlar. Bu etkiler doza bağımlı olarak ortaya çıkmaktadır.

2-Sidestream dumana maruz kalan grupta plazma endotelin-1 konsantrasyonları artmış olmasına rağmen nikotin gruplarında plazma endotelin seviyelerinin azaldığı bulundu. Bu azalma serum NO konsantrasyonlarındaki artışa bağlandı. Çünkü NO endotelin-1 üretimini engellemektedir. Sidestream dumana maruz kalan grupta NO konsantrasyonları fazla olmasına rağmen plazma endotelin-1 seviyelerinin yüksekliği sadece bu grupta endotelial hasar gerçekleşmesi olasılığına bağlanabilir.

3-Ayrıca hasara uğramamış endotelde NO sentezinin artırılarak endotelial korunma sisteminin güçlenmesini sağladığını söyleyebiliriz.

4-Serum NO konsantrasyonları ile plazma endotelin-1 konsantrasyonları arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon bulundu. Bunun sebebi NO'nin endotelin-1 sentezini azaltması olabilir.

5-Vücut ağırlığı azaldıkça endotelin seviyelerinin arttığı bulundu. Bu anlamlı negatif korelasyon sigaranın doza bağlı olarak hem vücut ağırlığını azalttığı hem de endotelin seviyelerini artırdığı fikrine sebep olmaktadır. Bu bulgu sigara içenlerde vücut ağırlığında azalma olmasına rağmen kardiyovasküler hastalık riskinde artma olması ile uyumludur.

6-Belirgin morfolojik endotelial değişiklikler ortaya çıkmadan endoteliumda NO üretimi ve salınımı dolayısıyla serum NO konsantrasyonu endotelial fonksiyondaki değişikliklerin erken göstergesi olarak kullanılabilir.

Sigara ve bileşenleri yukarıda sayılan etkilerini bir çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkarır. Bu faktörler şunlardır:

-Vazoaktif moleküller olan NO ve/veya endotelin-1 sentezinin artırılması ve/veya azaltılması,

-NO ve endotelin-1'in parçalanma hızlarının artırılması ve/veya azaltılması,

-Vasküler düz kaslarda nonspesifik vazodilatatör ve/veya vazokonstriktör kapasitenin bozulmasıdır.

Çalışmamızda sigara dumanının önemli bileşenlerinden olan nikotin ve CO'in serum NO ve endotelin-1 konsantrasyonlarında değişikliğe yol açtığı, ancak ikisinin bir arada bulunduğu dumandaki etkilerinin daha fazla olduğunu söyleyebiliriz.

7. KAYNAKLAR

1. Fielding JE. Smoking: Health effects and control. *N Engl J Med* 1985; 313: 491-498.
2. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease: epidemiology, physiology, and biochemistry. *Circulation* 1991; 83:1-12.
3. Balfour D, Benowitz N, Fagerstrom K, Kunze M, Keil U. Diagnosis and treatment of nicotine dependence with emphasis on nicotine replacement therapy. *Eur Heart J* 2000; 21: 438-445.
4. Lekakis J, Papamichael C, Vemmos C, Stamatelopoulos K, Voutsas A, Stamatelopoulos S. Effects of acute cigarette smoking on endothelium-dependent arterial dilatation in normal subjects. *Am J Cardiol*, 1998; 81: 1225-1228.
5. Heitzer T, Yla-Herttuala S, Juoma J, Kurz S, Münzel T, Just H, Olschewsky M, Drexler H. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. *Circulation*, 1996; 93: 1346-1353.
6. Zhu B, Parmley WW. Hemodynamic and vascular effects of active and passive smoking. *Am Heart J*, 1995; 130: 1270-1275.
7. Zeiher AM, Schachinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation*, 1995; 92: 1094-1100.
8. Zhu B, Sun Y, Sievers RE, Shuman JL, Glantz SA, Chatterjee K, Parmley WW, Wolfe CL. L-Arginine decreases infarct size in rats exposed to environmental tobacco smoke. *Am Heart J*, 1996; 132: 91-100.

9. Brown RE, Nahser PJ, Rossen JD, Winniford MD. Vasoconstriction of coronary stenoses from exposure to environmental tobacco smoke. *J Am Coll Cardiol*, 1994; Feb: 107A.
10. Taylor AE, Johnson DC, Kazemi H. Environmental tobacco smoke and cardiovascular disease: a position paper from the Council on Cardiopulmonary and Critical Care, American Heart Association. *Circulation*, 1992; 86: 1-4.
11. Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shah SD. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med*, 1976; 295: 573-577.
12. van Jaarsveld H, Kuyl JM, Alberts DV. Exposure of rats to low concentration of cigarette smoke increases myocardial sensitivity to ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol*, 1992; 87: 393-399.
13. Davis JW, Shelton L, Watanabe IS, Armond J. Passive smoking affects endothelium and platelets. *Arch Intern Med*, 1989; 149: 386-389.
14. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333:664-666.
15. Drexler H, Hablawetz E, Lu W, Riede U, Christes A. Effects of inhibition of nitric oxide formation on regional blood flow in experimental myocardial infarction. *Circulation* 1992; 86:255-62.
16. Johnson G, Tsao PS, Malloy D, Leffer AM. Cardioprotective effects of acidified sodium nitrite in myocardial ischemia with reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther*, 1990; 252: 35-41.

17. Sorrentino MJ. Oral L-arginine for improving vascular function in hypercholesterolemia, PVD, and atherosclerotic heart disease. *Altern Med Alert*, 1999.
18. Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P, Rowan RA, Billingham ME. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest*, 1992; 90:1168-1172.
19. Tsao PS, McEvoy LM, Drexler H, Butcher EC, Cooke JP. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*, 1994; 89:2176-2182.
20. Wanecek M, Weitzberg E, Rudehill A, Oldner A. The endothelin system in septic and endotoxic shock. *Eur J Pharm*, 2000; 1-15.
21. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988; 332: 411-415.
22. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest*, 1990; 85: 587-590.
23. Kılıç H. Aktif ve pasif sigara içiminin serum NO konsantrasyonuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi. 1997.
24. Yıldız L, Akçay F, Kaynar H, Bakan N. Increased plasma endothelin-1 in heavy and light smokers. *Gun Chem* 1996; 42: 483-484.
25. Alving K, Fornhem C, Weitzberg E, Lundberg JM. Nitric oxide mediates cigarette smoke-induced vasodilatory responses in the lung. *Acta Physiol Scand* 1992; 146:407-408.
26. Yıldız L, Kılıç H. Sigaranın klinik ve biyokimyasal etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 2000; 20: 306-312.

27. Yetkin Y. Fizyolojik çevrenin korunması ve sigara içimi ile tütün üretimi ve biyoloji eğitimi arasındaki ilişki. SBAD 1992; 3: 99-110.
28. Benowitz NL. Health and public policy implications of the "low yield" cigarette. N Eng J Med, 1989; 320: 1619-1621.
29. Armitage AK, Turner DM. Absorption of nicotine in cigarette and cigar smoke through the oral mucosa. Nature, 1970; 226: 1231-1232.
30. Benowitz NL. Clinical pharmacology of nicotine. Annu Rev Med, 1986; 37: 21-32.
31. Zhang W, Edvinsson L, Lee TJF. Mechanism of nicotine-induced relaxation in the porcine basilar artery. J Pharmacol Exp Ther, 1998; 284: 790-797.
32. Nişli N. Myoglobin ve hemoglobin. Onat T, Emerk K. (editörler) Temel Biyokimya, 1996; cilt: 1; 237.
33. Kayaoğlu N. Aktif ve pasif sigara içiminin eritrosit içi antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi. 1999.
34. Nene S, Gelabert H, Moore W, Quinones-Baldrich W, Santibanez-Gallerani A, Ignarro L. Cigarette smoking increases endothelial-derived vasorelaxation in the rat carotid artery in a dose-dependent manner. J Surg Res, 1997; 71: 101-106.
35. Church DF, Pryor WA. The oxidative stress placed on the lung by cigarette smoke. In: Crystal RG, West JB. Eds. The Lung. Scientific foundations. New York: Raven Press, 1991; 1975-1980.
36. Doğan P. Detoksifikasyon. Onat T, Emerk K. (editörler) Temel Biyokimya, 1996; cilt: 1; 404.

37. Heitzer T, Just H, Münzel T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation*, 1996; 94: 6-9.
38. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂-isoprostanes) in smokers. *N Engl J Med*, 1995; 332: 1198-1203.
39. Abdalla MY. Cigarette smoking and DNA damage. Free Radical and Radiation Biology Program, The University of Iowa, Iowa City; 2001, 1-10.
40. Pryor WA, Prierd G, Church F. Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ Health Perspect*, 1983; 47:345-355.
41. Cueto R, Pryor WA. Cigarette smoke chemistry: conversion of nitric oxide to nitrogen dioxide and reactions of nitrogen oxides with other smoke components as studied by fourier transform infrared spectroscopy. *Vib Spectrosc*, 1994; 7: 97-111.
42. Altuntaş, Dane S, Gümüştekin K. Effects of cigarette smoking on lipid peroxidation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2002; 13: 69-72.
43. Lakier JB, Ridge P. Smoking and cardiovascular disease. *Am J Med*, 1992; 93: 1A 8-11.
44. Zhang S, Day I, Ye S. Nicotine induced changes in gene expression by human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2001; 154: 277-283.
45. Mehta JL, Gainesville F. Endothelium, coronary vasodilatation and organic nitrates. *Am Heart J*, 1995; 129: 382-391.
46. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentration: an analysis of published data. *Br Med J* 1989;

298: 784-788.

47. Price JF, Mowbray PI, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease. *Eur Heart J*, 1999; 20: 344-353.

48. Letizia C, Cerci S, Subioli S, Scuro L, Clemente G. Increased plasma endothelin-1 after nicotine consumption in non-smokers. *Clin Chem*, 1997; 43: 2440-2441.

49. Zidovetz R, Chen P, Fisher M, Hoffman FM, Faraci FM. Nicotine increases plasminogen activator inhibitor-1 production by human brain endothelial cells via protein kinase C-associated pathway. *Stroke*, 1999; 30: 651-655.

50. Challon S, Moreno H, Hoffman BB, Blaschke TF. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves venous endothelial dysfunction in chronic smokers. *Clin Pharmacol Ther*, 1999; 65: 295-303.

51. Cucina A, Corvino V, Sapienza P, et al. Nicotine regulates basic fibroblastic growth factor and transforming growth factor beta 1 production in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999; 257: 316-312.

52. Raj L, DeMaster EG, Jaimes EA. Cigarette smoke-induced endothelium dysfunction: role superoxide anion. *J Hypertension*, 2001; 19: 891-897.

53. Richardson MA. Upper airway complications of cigarette smoking. *J Allergy Clin Immunol*, 1988; 81: 1032-1035.

54. McCusker K. Mechanism of respiratory tissue injury from cigarette smoking. *Am J Med*, 1992; 93: 1A 18-21.

55. Seyler LE, Fertig J, Pomerleau O, Hunt D, Parker K. The effects of smoking

on cortisol secretion. *Life Sci*, 1983; 34: 57-65.

56. Seyler LE, Pomerleau OF, Fertig JB, Hunt D, Parker K. Pituitary hormone response to cigarette smoking. *Pharmacol Biochem Behav*, 1986; 24: 159-162.

57. Endoh K, Leung FW. Effects of smoking and nicotine on the gastric mucosa: a review of clinical and experimental evidence. *Gastroenterology*, 1994; 107: 864-878.

58. Cope GF, Heatley RV. Cigarette smoking and intestinal defences. *Gut*, 1992, 33: 721-723.

59. Kaufman OW, Palmer JR, Rosenberg L, et al. Tar content of cigarettes in relation to lung cancer. *Am J Epidemiol* 1989; 129: 703-711.

60. Carbone D. Smoking and cancer. *Am J Med*, 1992; 93 (1A): 13-17.

61. Lesko SM, Rosenberg L, Kaufman OW. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 593-596.

62. Bosch X. Bladder cancer risk higher for women smokers. *J Natl Cancer Inst*, 2001; 93: 538-545.

63. Sorensen LT, Horby J, Friis E, Pilsgaard D, Jorgensen T. Smoking as a risk factor for wound healing and infection in breast cancer surgery. *Eur J Surg Oncology*, 2002; 28: 815-820.

64. Eriksen MP, LeMaistre CA, Newell GR. Health hazard of passive smoking. *Annu Rev Public Health*, 1988; 9: 47-70.

65. Radon K, Busching K, Heinrich J, Wichmann HE et al. Passive smoking exposure: a risk factor for chronic bronchitis and asthma in adults. *Chest*, 2002; 122: 1086-1090.

66. Brownson RC, Figgs LW, Caisley LE. Epidemiology of environmental

tobacco smoke exposure. *Oncogene*, 2002; 21: 7341-7348.

67. Glantz SA, Palmley WW. Passive smoking and heart disease mechanisms and risk. *JAMA* 1995; 273: 1047-1053.

68. Steenland K. Passive smoking and the risk of heart disease. *JAMA* 1992; 267: 94-99.

69. Ichiki K, Ikeda H, Haramaki N, Ueno T, Imaizumi T. Long-term smoking impairs platelet-derived nitric oxide release. *Circulation*, 1996; 94: 3109-3114.

70. Ikeda H, Takajo Y, Murohara T, Ichiki K, Adachi H, Haramaki N, Katoh A, Imaizumi T. Platelet-derived nitric oxide and coronary risk factors. *Hypertension*, 2000; 35: 904-907.

71. Zaren B, Lindmark G, Gebre-Methin M. Maternal smoking and body composition of the newborn. *Acta Paediatr*, 1996; 85: 213-219.

72. Pickett KE, Wakschlag LS, Dai L, Leventhal BL. Fluctuations of maternal smoking during pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2003; 101: 140-147.

73. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol IH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *T Klin J Med Sci*, 2000, 20: 107-111.

74. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine. *Lancet*, 1994; 343: 1199-1206.

75. Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *CMLS*, 1999; 55: 1078-1087.

76. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*, 1993; 329: 2002-2012.

77. Kinz J. Initial lesions of vascular aging disease (arteriosclerosis). *Gerontology*, 2000; 46: 295-300.
78. Schindler TH, Magosaki N, Jesrich M, Olscewski M, Nitzsche E, Holubarsch C, Solzbach U, Just H. Effect of ascorbic acid on endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in chronic smokers assessed by cold pressor testing. *Cardiology*, 2000; 94: 239-246.
79. Cheng JWM, Balwin SN. L-Arginin in the management of cardiovascular disease. *Ann Pharmacother*, 2001; 35: 755-764.
80. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacological distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci*, 1989; 86: 2863-2867.
81. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet*, 1994; 344: 852-854.
82. Xu D, Emoto N, Giaid A et al. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 1994; 78: 473-485.
83. Ozaki S, Ohwaki K, Ihara M et al. Coexpression studies with endothelin receptor subtypes indicate the existence of intracellular cross-talk between ET(A) and ET(B) receptors. *J Biochem* 1997; 121: 440-447.
84. Tomoda H. Plasma endothelin-1 in acute myocardial infarction with heart failure. *Am Heart J*, 1993; 125: 667-672.
85. Cimminiello C, Milani M, Uberti T, Arpaia G, Perolini S, Bonfardeci G. Endothelin vasoconstriction and endothelial damage in Raynaud's phenomenon. *Lancet*, 1991; 337: 114-115.

86. Mattoli S, Soloperto M, Marini M, Fasoli A. Levels of endothelin in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with symptomatic asthma and reversible airflow obstruction. *J Allergy Clin Immunol*, 1991; 88: 376-384.
87. Giaid A, Yanigisawa M, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*, 1993; 328: 1732-1739.
88. Benigni A, Zoja C, Corna D, Orisio S, Longaretti L, Bertanite T, Remuzzi G. A specific endothelin subtype A receptor antagonist protects against injury in renal disease progression. *Kidney Int*, 1993; 44: 440-444.
89. Matsumaru K, Kashimura H, Hassan M, et al. Bosentan, a novel synthetic mixed-type endothelin receptor antagonist attenuates acute gastric mucosal lesions induced by indomethacine HCl in the rat: role of endogenous endothelin-1. *J Gastroenterol*, 1997; 32: 164-170.
90. Clozel M, Watanabe H. Bq-123, a peptidic endothelin ET_A receptor antagonist, prevents the early cerebral, vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intra cisternal but not intravenous injections. *Life Sci*, 1993; 52: 825-834.
91. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1998; 338: 784-790.
92. Sutsch G, Kiowsky W, Yan XW, Hunziker P, Christen S, Strobel W, Kim JH, Rickenbacher P, Bertel O. Short-term oral endothelin-receptor antagonist therapy in conventionally treated patients with symptomatic severe chronic heart failure. *Circulation*, 1998; 98: 2262-2268.

93. Battistini B, Forget AM, Laight D. Potential roles for endothelins in systemic inflammatory response syndrome with a particular relation to cytokines. *Shock* 1996; 5: 167-183.
94. Kaszaki J, Wolfard A, Boros M, Baranyi L, Okada H, Nagy S. Effects of antiendothelin treatment on the early hemodynamic changes in hyperdynamic endotoxemia. *Acta Chir Acad Sci Hung*, 1997; 36: 152-153.
95. Lazaratos S, Kashimura H, Nakahara A, Fukutomi H, Osuga T, Urushidani T, Miayuchi T, Goto K. Gastric ulcer induced by submucosal injection of ET-1: role of potent vasoconstriction and intraluminal acid. *Am J Physiol*, 1993; 265: G 491-498.
96. Pietraszek M, Chabielska E, Azzadin A, Pawlak R, Buczek W. Effect of endothelin-1 on some hemostatic parameters in normotensive rats. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, 1996; 84: 329-330.
97. Slowinski T, Neumayar HH, Stolze T, Gossing G, Halle H, Hoher B. Endothelin system in normal and hypertensive pregnancy. *Clinical Science*, 2002; 103: 4465-4495.
98. Barua RS, Ambrose A, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC. Heavy and light cigarette smokers have similar dysfunction of endothelial vasoregulatory activity. *J Am Coll Cardiol*, 2002; 39: 1758-1763.
99. Moshage H, Kok B, Hulzenga JR, Jansen PLM. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41: 892-896.
100. Török J, Gvozdjakova A, Kucharska J, Balazovjech I, Kysela S, Simko F, Gvozdjak J. Passive smoking impairs endothelium dependent relaxation of isolated rabbit arteries. *Physiol Res*, 2000; 49:135-141.

101. Migliacci R, Gresele P. Smoking and impaired endothelium-dependent dilatation. *N Engl J Med*, 1996; 1674.
102. Wu G, Meininger CJ. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr*, 2000; 130: 2626-2629.
103. Hutchison SJ, Sudhir K, Sievers RE, Zhu BQ et al. Effects of L-arginine on atherogenesis and endothelial dysfunction due to second hand smoke. *Hypertension*, 1999; 34: 44-53.
104. Sarkar R, Gelabert HA, Mohiuddin KR, Thakor DK, Santibanez-Gallerani AS. Effect of cigarette smoke on endothelial regeneration in vivo and nitric oxide levels. *J Surg Res*, 1999; 82: 43-47.
105. Miller WM, Lewis DA, Rud KS, Offord KP, Croghan IT, Hurt RD. Plasma nitric oxide before and after smoking cessation with nicotine nasal spray. *J Clin Pharmacol*, 1998, 38: 22-27.
106. Petrik PV, Gelabert HA, Moore WS, Quinones-Baldrich W, Law MM. Cigarette smoking accelerates carotid artery intimal hyperplasia in a dose-dependent manner. *Stroke*, 1995; 26: 1409-1414.
107. McVeigh GE, Lemay L, Morgan D, Cohn JN. Effects of long-term cigarette smoking on endothelium-dependent responses in humans. *Am J Cardiol*, 1996; 78: 668-672.
108. Kiowski W, Linder L, Stoschitzky K, Pfisterer M, Burckhardt D, Burkart F, Bühler FR. Diminished vascular response to inhibition of endothelium-derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. *Circulation*, 1994; 90: 27-34.
109. Sezer E. Sigarada bulunan zararlı maddeler. *Sigara Alarmı*, 1992; 2: 7-8.

110. Zhu BQ, Sun YP, Sievers RE, Isenberg WM, Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking increases atherosclerosis in cholesterol-feed rabbits. *J Am Coll Cardiol*, 1993; 21: 225-232.
111. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 1996, 206.
112. Haak T, Jungmann E, Raab C, Usadel KH. Elevated endothelin-1 levels after cigarette smoking. *Metabolism*, 1994; 43: 267-269.
113. Goerre S, Staehli C, Shaw S, Luscher TF. Effect of cigarette smoking and nicotine on plasma endothelin-1 levels. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995; 26: 236-238.
114. Adachi C, Naruse M, Ishihara Y et al. Effects of acute and chronic cigarette smoking on the expression of endothelin-1 mRNA of the cardiovascular tissues in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000; 36: 198-200.
115. Barbera JA, Peinado VI, Santos S, Ramirez J, Roca J, Rodriguez-Roissin R. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in pulmonary arteries of smokers. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 164: 709-713.