



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MARAŞ OTU VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDE
SERUM İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN(İMA) DÜZEYLERİ
VE OKSİDATİF STRES**

Zeliha IŞIK AKGÜL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2021

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

MARAŞ OTU VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDE SERUM
İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN(İMA) DÜZEYLERİ VE OKSİDATİF
STRES

Zeliha IŞIK AKGÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

PROF.DR. Fatma İNANÇ TOLUN

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Öznur KÖYLÜ

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Metin KILINÇ

KAHRAMANMARAŞ-2021

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Zeliha IŞIK AKGÜL



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca üzerimde büyük bir emeği olan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN'a,

Her türlü katkı ve desteklerinden dolayı KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Metin KILINÇ' a, KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a, Dr. Öğr. Üyesi Muhammed SEYİTHANOĞLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Filiz ALKAN BAYLAN'a, Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Asistanı Dr. Işıl YAĞMUR'a, KSÜ Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda bilgi ve birikimleriyle destek olan canım ablam Dr. Öğr. Üyesi Kevser IŞIK' a, canım kardeşlerim İbrahim IŞIK' a ve Mehmet IŞIK' a, bana ve kardeşlerime eğitimimiz boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgilerini her daim yüreğimizde hissettiğimiz, bu hayattaki en değerli varlıklarımız olan canım babam Metin IŞIK' a ve canım annem Zehra IŞIK' a, çıktığım bu yolda beni hiçbir zaman yarı yolda bırakmayan her daim desteğini ve sevgisini yüreğimde hissettiğim biricik eşim Mehmet AKGÜL'e sonsuz teşekkür ederim. Canım ailem iyiki varsınız. Sizi çok seviyorum...

Ağustos-2021

Zeliha IŞIK AKGÜL

MARAŞ OTU VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDE SERUM İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN(İMA) DÜZEYLERİ VE OKSİDATİF STRES

Yüksek Lisans Tezi

Zeliha IŞIK AKGÜL

ÖZET

Bu araştırma, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Kahramanmaraş'ta oldukça yaygın bir şekilde kullanılan ve dumansız bir tütün kullanım şekli olan Maraş otunun oksidatif strese neden olup olmadığının saptanması, Maraş otunun serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) düzeylerine etkisi ve bunun sigara içenlerle karşılaştırılması amacıyla yapıldı.

Çalışma, Maraş otu kullanan (Grup I), Sigara kullanan (Grup II, Sigara ve Maraş otu kullanmayan kontrol grubu (Grup III) olmak üzere 3 grup ile yapıldı. Her gruptaki bireyler 25-55 yaş aralığındadır. Bireyden alınan kan örneklerinde İskemi Modifiye Albumin seviyeleri kolorimetrik metodla ölçüldü.

Gruplar arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=.187$). Araştırmaya katılan bireylerden, sigara içenlerin yaş ortalamasının 35.13 ± 5.62 yıl, Maraş otu kullananların 37.62 ± 8.87 yıl, kontrol grubunun ise 34.21 ± 5.53 yıl olduğu belirlendi. İskemi Modifiye Albumin ortalama değerlerinin sigara içenlerde 0.55 ± 0.08 AbsU, Maraş otu kullananlarda 0.47 ± 0.07 AbsU, Kontrol grubunda ise 0.43 ± 0.12 AbsU olarak belirlendi.

Çalışmanın sonucunda Maraş otu ve sigara kullanımının İskemi Modifiye Albümin düzeylerini arttırdığı, İMA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Sonuçların bu tütün kullanım şekillerinin zararlı etkilerini azaltmada faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : İskemi Modifiye Albümin (İMA), Maraş Otu, Nicotiana rustica L., Sigara.

Sayfa : 49

Danışman : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

SERUM ISCHEMIA-MODIFIED ALBUMIN LEVELS AND OXIDATIVE STRESS IN INDIVIDUALS USING WILD TOBACCO AND CIGARETTES

Master Thesis

Zeliha IŞIK AKGÜL

ABSTRACT

This study was carried out in order to determine whether wild tobacco, which is a smokeless tobacco use type and widely used in the Southeast of Turkey and Kahramanmaraş, caused oxidative stress, to identify the effect of wild tobacco on serum Ischemia-Modified Albumin (IMA) levels, and to compare the results with cigarette smokers.

Study was conducted with three groups, which were those using wild tobacco (Group 1), those smoking cigarettes (Group 2), and the control group neither using wild tobacco nor smoking cigarettes (Group 3). The individuals included in the groups were in the 25-55 age range. Ischemia-modified albumin levels in the blood samples taken from individuals were measured through calorimetric method.

No statistically significant difference was found between the groups in terms of mean ages ($p=.187$). It was determined that mean ages of the participants of the study were 35.13 ± 5.62 years in the group smoking cigarettes, 37.62 ± 8.87 years in the group using wild tobacco, and 34.21 ± 5.53 years in the control group. Ischemia-modified albumin mean levels were found to be 0.55 ± 0.08 AbsU in the smoking group, 0.47 ± 0.07 AbsU in the group using wild tobacco, and 0.43 ± 0.12 AbsU in the control group.

As a result of the study, it was determined that use of wild tobacco and cigarettes increased ischemia-modified albumin levels, and that IMA levels of the individuals in Group 1 and 2 were significantly higher compared to the control group. It is believed that the results obtained from the study will be beneficial in reducing the harmful effects of these tobacco use types

Keywords: Ischemia-Modified Albumin (IMA), wild tobacco, *Nicotiana rustica* L., cigarette.

Page Number : 49

Supervisor : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tütün Hakkında Genel Bilgi.....	2
2.2. Başlıca Tütün Alkaloidleri.....	3
2.2.1. Nikotin.....	3
2.2.2. Nornikotin	4
2.2.3. Anabasin (Neonikotin)	4
2.2.4. Anatabin	4
2.2.5. Nikotirin	4
2.2.6. Nikotellin.....	4
2.3. Nikotinin Sağlık Üzerine Etkileri	4
2.3.1. Düz kaslar üzerindeki etkileri	4
2.3.2. Gastrointestinal sisteme etkileri	5
2.3.3. Kalp-damar sistemi üzerine etkileri	5
2.3.4. Merkezi sinir sistemi üzerine etkileri	5
2.3.5. Nikotinin metabolik etkileri	6
2.4. Nicotiana Rustica L.	6
2.4.1. Maraş Otu.....	7
2.5. Dumansız Tütünün İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	9
2.5.1. Dumansız tütün formlarının mutajenik ve genotoksik etkileri.....	10
2.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	10
2.6.1. Reaktif oksijen türleri.....	11
2.6.2. Serbest oksijen radikalleri	12
2.6.3 Serbest radikallerin etkileri	14

2.6.3.1 Proteinlere etkileri	15
2.6.3.2. DNA ve nükleik asitlere etkileri.....	15
2.6.3.3. Karbonhidratlara etkileri.....	15
2.6.3.4. Membran lipitlerine etkileri.....	15
2.7. Lipid Peroksidasyonu	16
2.7.1. Malondialdehit (MDA)	18
2.8.1. Endojen antioksidanlar	20
2.8.1.1. Enzimatik antioksidanlar	20
2.8.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	20
2.8.1.1.2. Katalaz (CAT).....	21
2.8.1.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	21
2.8.1.1.4. Glutasyon redüktaz (GSH)	21
2.8.1.1.5. Glutasyon s transferaz (GST)	22
2.8.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar	22
2.8.2. Eksojen antioksidanlar (91).....	23
2.9. İskemi-Modifiye Albümin (İMA).....	23
2.9.1. Albümin kobalt bağlanma testi (ACB).....	25
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	27
3.1.2. Kullanılan cihazlar ve araç-gereçler.....	28
3.2. Metot.....	28
3.2.1. İskemi Modifiye Albumin (İMA) Tayini	28
3.3. İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
7. KAYNAKLAR.....	35
8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	44
9. TABLOLAR DİZİNİ.....	45
10. EKLER DİZİNİ	46
11.EKLER	47
12. ÖZGEÇMİŞ.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACB	: Albümin Kobalt Bağlanma Testi
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTT	: Ditiotreitol
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
H-	: Hidrojen radikali
İMA	: İskemi Modifiye Albumin
MDA	: Malondialdehid
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrofosfat
O₂	: Oksijen
•O₂	: Oksijen radikal
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH-	: Hidroksil kökü
OH•	: Hidroksil radikali
OS	: Oksidatif Stres
RNA	: Ribonükleik Asit
ROO	: Peroksil Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nicotiana Rustica Linn isimli bitkinin yapraklarının kurutulup, toz haline çevrildikten sonra bir miktar meşe külünün de karıştırılması ile ağız otu elde edilir. Elde edilen bu ot hazırlanmasından sonra, 10 ile 20 gram olacak şekilde küçük poşetlere doldurularak satışa sunulur. Bu ot hazırlandıktan sonra, tütün kağıdına 1 veya 2 gram gelecek şekilde bırakılarak sarılır ve üst ya da alt dudak ile diş arasına koyulup belirli bir süre ağızda kaldıktan sonra tükürülerek atılır. Maraş otuna aynı zamanda Ağız otu da denilmektedir. Nicotiana Rustica Linn bitki türünde, sigaranın üretildiği Nicotiana tabacum'a göre daha fazla nikotin ve tobacco spesifik nitrozamine bulunmaktadır (10).

Kadınların %1.4'ünün, erkeklerin ise %25.1'inin ağız otu kullandığı Kahramanmaraş'ta yapılan bir çalışmada keşfedilmiştir (12). Sigaranın içeriğinde mutajenik ve kanserojenik, ajanlar dumansız tütün ürünlerinde de farklı miktarlarda bulunmaktadır bu ajanların yol açtıkları sağlık problemleri çalışmalarla ortaya koyulmuştur (13). Sigara ve tütün ürünlerinin kullanımı kronik solunum yolu hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kanser gibi insan sağlığını bozan hastalıklara; yaşam kalitesinde bozulmaya ve sağlık giderlerinin maliyetinin artması gibi kişisel ve toplumsal zararlara yol açan önemli bir halk sağlığı sorunudur (14,15).

Yapılan çeşitli çalışmalarda sigaranın sağlığa birçok etkisinin incelendiği, birçok çalışma bulunmasına karşılık, Maraş otu ile ilgili az çalışma mevcuttur. Bu çalışma Kahramanmaraş ilinde epeyce fazla bir biçimde tüketilen Maraş otunun oksidatif strese sebep olup olmadığı, serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) seviyelerine etkisini ve bu düzeyleri sigara kullanan ve kontrol grubundaki kişilerle karşılaştırılması amacıyla yapıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tütün Hakkında Genel Bilgi

Solanaceae familyasının Nicotiana cinsi içerisinde bulunan bitki çeşididir tütün. Bu cinse ait yaklaşık olarak 65 tür bulunmasına rağmen sadece Nicotiana rustica ve Nicotiana tobaccum çeşitlerinin yapraklarından yararlanılarak puro, pipo, sigara ve dumansız tütün elde edilir. Dünyada bulunan tütün miktarının % 90'lık kısmını Burley, Şark(Türk tünleri), Virginia tütün çeşitleri oluşturur (1,2).

Tütün tropikal bir bitkidir buna rağmen farklı 128 ülkede tarımı yapılan en önemli sanayi ürünlerindedir. Katkı maddesi içermediği için kullanımı dünyada ekonomik açıdan da önemli bir bitki olarak dikkatleri üzerine çekmektedir. Yapraklarında nikotin bulundurması tütünü diğer bitkilerden ayıran en önemli özelliktir. Bundan dolayı tütün keyif verici bir madde olarak kullanılmaktadır (3,4).

Tütün Amerika kıtası keşfedildikten ve Avrupa'da tanınmasından belli bir süre sonra Venedikli tüccarlar tarafından 1601-1603 yıllarında ülkemize getirilmiştir. Tütüncülük ülkemizde geleneksel tarım çeşididir ve ülkemizin birçok bölgesinde yapılmaktadır. Ülkemizdeki tütünler; yetiştirildikleri bölgeler, toprak yapısı, barındırdıkları ekolojik faktörler sebebiyle çeşitli özelliği bulunan türler oluşmuştur. Bu sebepten dolayı Türk tütünleri 4 sınıfa ayrılacak şekilde gruplandırılmıştır (5).

Ülkemizde üretimi gerçekleştirilen tütünün %3'lük kısmı Güney Doğu Anadolu bölgesinde, %5'lik kısmı Marmara'da, %14'lük kısmı Karadeniz de, %15'lik kısmı Güneydoğuda, %63'lük kısmı ise Ege bölgesinde yetiştirilmektedir (6). Boyu yaklaşık olarak 0.75m ile 1.5m arasında olan bitkinin gövdesi silindir ve dik şeklinde, yapışkan ve tüylüdür. Yapraklarının tadı acı lezzetli, yapışkan ve tüylü, kısa saplı veya sapsız, büyük oval şeklinde kendine has kokuludur. Tütün yapraklarının içeriğinde zank, nişasta, tanen, reçine ve bunların alkaloidleri bulunmaktadır. (Şekil 1.) (1).



Şekil 1. Tütün yaprağının morfolojik görüntüsü (1).

Nicotiana cinsleri içeriğinde bulunan primer alkaloid tipine göre 4 sınıfa ayrılır (2).

- 1- Nicotiana rustica L. Nicotiana alata L. gibi primer alkaloid olarak nikotin içeren, sekonder alkaloid içermeyen Nicotiana türleri bu grupta yer alır.
- 2- Nicotiana glutinosa L. Nicotiana tomentosa L. gibi primer alkaloidi nornikotin olan, alkaloid içermeyen veya çok az içeren türler bu grupta yer alır.
- 3- Nicotiana tobaccum L., Nicotiana recondal gibi primer alkaloidi nikotin, sekonder alkaloidi nornikotin olan Nicotiana türlerinin yer aldığı gruptur.
- 4- Nicotiana glauca L., Nicotiana debneyi L. gibi primer alkaloidi anabasin olan Nicotiana türleri bu grupta yer alır.

2.2. Başlıca Tütün Alkaloidleri

2.2.1. Nikotin

Nicotiana rustica ve Nicotiana tobaccum çeşitlerinin yapraklarında ve diğer kısımlarında bulunan, bazı Solanaceae bitkilerinde olan alkaloiddir. Uçucu, çok higroskopik, sıvı ve kuvvetli alkalidir. Renksizdir. Işığa ve havaya maruz kalınca rengi sarıya veya kahverengiye dönüşüp viskozitesi yükselir. Tütün bitkisinde nikotin en fazla düzeyde yapraklarda bulunur. Bu oran tütünün çeşidine göre farklılık göstermekle birlikte, tütünün yapraklarındaki nikotin miktarı %0.6 ve %9 oranında değişmektedir. İçeriği bakımından nikotini yaprakları takiben sıra ile kök, gövde ve çiçekler takip eder. Tütün kullanımının sonucunda vücutta tutulan nikotin vücudun bütün organlarına yayılmakta ve zararlı etkiye sahiptir. Nikotin gibi, vücuda alımının ardından oluşan nikotin metabolitlerinin de zararlarının olduğu söylenilmektedir(2,7,8).

2.2.2. Nornikotin

Nornikotin, renksiz bir sıvıdır ve nikotine oranla daha stabil bir alkaloiddir. Uçucu olmamakla birlikte hava ve ışık ile temasında rengi değişim gösteremez. Nikotin gibi organik ve su solventlerin büyük bir çoğunluğunda görünür. Nikotinin parçalanmasıyla ortaya çıkan nornikotin, tütünde doğal olarak bulunur. Nornikotinin insan organizmasında nikotine oranla daha fazla süre kalmakta olup ve tütün tiryakiliğine sebep olduğu varsayılmaktadır (2,7,8).

2.2.3. Anabasin (Neonikotin)

Yapı olarak nikotin ile benzerlik gösteren anabasin renksiz ve viskoz bir alkaloiddir. Hava ile etkileşime girdiği an rengi koyulaşır. Kolay bir şekilde uçmamaktadır, çoğu organik solvent ve suda çözünebilmektedir (2,8).

2.2.4. Anatabin

Anatabin minör bir alkaloiddir ve tütün türlerinin bir kısmında bulunur. Alkali reaksiyon gösteren, renksiz, L-şekli sıvı maddedir. Alkol, benzen, eter ve su gibi maddelerde çözünür (2,8).

2.2.5. Nikotirin

Bir süre bekletildikten sonra rengi koyulaşan nikotirin, renksiz olup minör bir alkaloiddir. Nikotirinin kendine has bir kokusu bulunur, distile asitler, alkol ve suda çözünür (2,8).

2.2.6. Nikotellin

Nikotellin yapı olarak diğer tütün alkaloidlerinden farklıdır ve uçucu bir alkaloid özelliğinde değildir. Sulu çözeltileri nötral reaksiyon oluşturur. Erime ve kaynama noktası diğer alkaloidlere kıyasla yüksek düzeydedir. Sıcak su, alkol, benzen ve kloroformda tamamen; soğuk su, petrol eteri ve eterde kısmen çözünmektedir (2,8).

2.3. Nikotinin Sağlık Üzerine Etkileri

2.3.1. Düz kaslar üzerindeki etkileri

Nikotinin parasempatik ganglionların stimülasyonuna bağlı olarak mesane ve uterus kaslarında konstrüksiyona neden olduğu bildirilmiştir (9). Parasempatik stimülasyona bağlı

olarak bronş düz kaslarında bronko konstrüksiyon oluşturduğu, trakea-bronş sisteminde ise yüksek dozları ile mukosilier hareketi düşürdüğü saptanmıştır (10).

2.3.2. Gastrointestinal sisteme etkileri

Gastrointestinal sistem üzerine etkisine bakıldığında, kardiyovasküler sistemin tersine, parasempatik stimülasyonun hakim olduğu bilinmektedir. Başlangıç olarak midenin boşalma zamanını azalttığı ve asit salgısını yükselttiği, barsak peristaltizmini ve tonusunu artırdığı söylenirken; yüksek dozlardaki barsak tonusunu azalttığı, peristaltik hareketleri engellediği söylenilmiştir (9,10,11,12).

Sigara; peptik ve duodenal ülserlerin tekrarlanma riskini çoğaltan ve bu ülserler ile gastrik ülserin iyileşmesini yavaşlatan oldukça ciddi bir risk etkenidir (13).

Erkek sigara tüketenlerde, sigara tüketmeyenlere oranla peptik ülser hastalığı 2 kat daha fazla görülürken, kadın sigara tüketenlerde ise 1.6 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. Günde yarım paketten daha çok sigara içenler ile sigara içmeyenler arasında peptik ve duodenal ülserlerden kaynaklanan ölüm riskinin 2.5 kat arttığı bulunmuştur (14).

2.3.3. Kalp-damar sistemi üzerine etkileri

Nikotinin kardiyovasküler etkileri karmaşıktır. Kalp atış hızını, sempatik kalp ganglionlarının stimülasyonu veya parasempatik kalp ganglionlarının depresyonu ile hızlandırabilmektedir. Yanı sıra ganglionların üzerinde bütünüyle ters etki yaratarak kalp atış hızını düşürebilmektedir (7). Nikotin, sürrenal medulladan kateşolaminlerin salınmasına sebep olarak kalp atış hızı ve kalp basıncını artırmaktadır. Ek olarak, aortik ve karotik vücut reflekslerinin kemoreseptörlerini harekete geçirerek vazokonstrüksiyon, taşikardi ve bu nedenle kan basıncının artması ile semptomimetik bir reaksiyon meydana getirmektedir (7).

2.3.4. Merkezi sinir sistemi üzerine etkileri

Nikotin merkezi sinir sistemi üzerinde biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonları etkileyen bir sinir düzenleyici olarak bilinmektedir (15).

Sigara içimi esnasında alınan düşük dozdaki nikotinin, santral etkisi ile bazı çizgili kaslarda hafif bir gevşemeye neden olabileceği saptanmıştır. Bu olayın nikotinin α -motor nöronları baskılayan omurilikteki bir kısım hücreleri engellemesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (12,16).

2.3.5. Nikotinin metabolik etkileri

Nikotin glukoz utilizasyonunu azaltmakta, değişken seviyelerde hiperglisemiye sebep olmakta ve muskuler glikojenolizi yükseltmektedir. Kanda bulunan serbest yağ asitlerinin seviyesini arttırdığı da bilinmektedir (10,11). Tütünde bulunan N-nitrozo piridin alkaloitlerinin (tobacco- specific nitrosamines; TSNA) tütünle ilgili kanserlerin oluşumunda özellikle tütün dumanının direkt yolla temas etmediği organlarda etkili bir ajan olduğu kabul edilmektedir. Tütün çiğneme sonucu ağız boşluğu ve yemek borusu kanserlerinin gelişebileceği söylenilmiştir. Hindistan'da yaygın olarak kullanılan betel ile birlikte tütün çiğneyen kişilerin çoğunluğuna ağız kanseri teşhisi konulduğu belirlenmiştir (17,18). Sigara tüketmenin trombositlerin aktivitesini arttırdığı ve trombus oluşumuna zamin hazırladığı bildirilmektedir. Sigara tüketimi, bu etkilerden kısmen trombositlerin aktive edilmesi, kısmen de nikotinin damar çeperinde antiagregan etkili prostasiklin sentezini baskılamasından sorumlu tutulmuştur. Ancak sigaranın prostasiklin sentezini arttırabileceğini de öne süren yayınlar bulunmaktadır (12). İnsanlar üzerinde yapılan birtakım çalışmalarda nikotinin düşük dozlarda öğrenmeyi ve hatırlamayı kolaylaştırdığı belirtilmiştir (12,19). Nikotinin ağrı şiddetini azalttığı ve ağrı eşiğini yükselttiği de bildirilmektedir. Nikotin pozitif pekiştirici yani kişinin kendini iyi hissettiği bir maddedir. Kişide fiziki ve psişik bağımlılık meydana getirebilmektedir. Nikotin bağımlılığında drog özlemi çok yüksektir. Nikotin Yoksunluğu durumunda baş ağrısı, sinirlilik, iştah artması, konstipasyon, bulantı, kusma, amnezi, EEG'de (elektroensefalografi) yavaşlama, psikomotor performansın azalması ve konsantrasyon güçlüğü gibi gastrointestinal sorunlar olabilir. Uzun süre devam eden Nikotin Yoksunluğu belirtileri 24 saat içinde başlamaktadır (12,20).

2.4. *Nicotiana Rustica L.*

Nicotiana bitkisi çeşitli bölgelerde yetiştirilmektedir ve çevreye bağlı olarak değişik kültür formları oluşmuştur. Bu sebeple farklı varyeteler ya da türler tanımlanmıştır (2). *Nicotiana rustica L.* bitkisi ülkemizde Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilmektedir ve yaklaşık olarak 150 cm boyunda tek yıllık bir türüdür. Maraş otu, Hasankeyf tütünü veya deli tütün olarak bilinmesinin yanı sıra bazı bölgelerde Aztek tütünü, Türk tütünü veya Doğu Hindistan tütünü olarak da isimlendirilmektedir. Morfolojik olarak *Nicotiana rustica L.* yaprakları oval-eliptik (30x20 mm), yapışkan salgı tüyleri taşıyan, kaliks tüpü kadeh şeklinde, yaprak sapı stipulasız, korolla yeşilimsi ve huni şeklinde (12-17 mm), kaliks

parçaları eşit olmayan, korolla ağzı 3-7 mm çapta, loplar üçgen şeklinde akut, kapsül küresel ovoid (7-16 mm), loplar kısa küt özelliklerdeki bitki türüdür(1) (Şekil 1.2).



Şekil 2. *Nicotiana rustica* L. Bitkisi (1).

Nicotiana rustica L.'nin yaprakları kurutulmuş sigara, Maraş otu ve tömbeki olarak isimlendirilen dumansız tütün yapımı için kullanılmaktadır. Alkaloid kompozisyonları bakımından karşılaştırıldığında sigaralık kültür tütünü olan *Nicotiana tobaccum* ile *Nicotiana rustica* L. arasında gözle görülür bir farklılık olmadığı belirtilmiştir. *Nicotiana tobaccum*'un içerdiği nitrozanabasin (NAS), nitrozonornikotin (NNN), nitrozamin (TSNA) ve nitrozanabatin (NAT) gibi alkaloidlerin benzer oranlarda *Nicotiana rustica* L. bitkisinde de bulunduğu, ancak *Nicotiana tobaccum*'un nikotin içeriğinin *Nicotiana rustica* L.'den 6-10 kat daha az olduğu belirtilmiştir (21).

2.4.1. Maraş Otu

Halk arasında “Deli tütün” adıyla da bilinen ülkemiz de Türk tütünü, Hasankeyf tütünü veya Doğu Hindistan tütünü olarak da isimlendirilen Maraş otu, *Nicotiana Rustica* Linn isimli bir bitkinin yapraklarından oluşan dumansız bir tütün türüdür. Ülkemizin de Güneydoğu Anadolu, Kahramanmaraş, Gaziantep ve etrafında çok kullanılmaktadır. Bu tütün türünün yaprağı kurutulup toz haline getirilerek asma, ceviz ya da meşe çubuğundan alınan külle 1/2 yada 1/3 miktarda karıştırılıp suyla biraz nemlendirildikten sonra ağız yoluyla kullanılmaktadır. Külün tercih edilmesinin sebebi ise ortamı alkali hale getirerek karışımın ağız mukozasından emilimini rahatlatmasıdır. Ağızda genel olarak 5-10 dakika, bazen ise 1-2 saat tutulup ardından tükürülerek ağızdan atılır ve bu eylem gün içerisinde bireyin alışkanlık seviyesine göre yinelenmektedir (23,24).



Şekil 3. Maraş otunun paketlenmiş görüntüsü (22).



Şekil 4. Maraş otunun kullanıma hazırlanışı (22).

Maraş otunun sigarayla benzer şekilde insan sağlığına zararına ek olarak, fiyat bakımından sigaraya oranla daha ucuzdur. Maraş otunda denetimin gerekli bir biçimde uygulanmadığı da düşünüldüğünde maddi imkanları düşük olan çocukların rahatlıkla ulaşmaları daha mümkün hale gelmektedir. Yapılan bir çalışmada, bu maddenin (dumansız tütün) sigaraya göre daha kolay elde edilebilmesi kullanımına etki ettiği belirtilmektedir (25).



Şekil 5. Maraş otunun kullanıma hazır görüntüsü (22).

2.5. Dumansız Tütünün İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmalar, dumansız tütündeki birtakım katkı maddelerinin kalp ve damar sistemi, merkezi sinir sistemi, diş ve diş eti, boşaltım ve sindirim sistemini negatif yönde etkilediğini bildirilmiştir. Dumansız tütün kullanımının sebep olabileceği sağlık problemleri oldukça çoktur. Bu ürünlerin ağız ve diş sağlığına etkilerine değerlendirildiğinde; diş renginde değişiklik, diş eti çekilmesi, diş eti kanaması, periodontal hastalıklar, dişte aşınma ve çürüme, ağız yaralarının uzun süre iyileşmemesi, aşırı ve uzun süre alımlarında ise koku ve tat duyularında azalma ve oral kavitede ciddi problemler halinde görülebilmektedir (26,27).

Dumansız tütün kullanımında dudak, nasal kavite, oral mukoza, larinks, farinks, özofagus, böbrek, mesane kanserlerinin görülme ihtimalinin yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir (27,28,29).

Dumansız tütün bileşimlerinin içeriğindeki nikotinin merkezi sinir sisteminde biyokimyasal ve fizyolojik işlevleri etkilediği ve stimülasyon oluşturduğu belirlenmiştir. Nikotinin düşük dozda alınmasının, ganglion hücrelerini uyarak impuls iletimini kolaylaştırdığı, yüksek dozda alınmasının ise; impuls iletimini önlediği saptanmıştır (27,30).

Dumansız tütünlerin kardiyovasküler sistemde oluşturdukları etkiler oldukça karmaşıktır. Sempatik ganglionların stimülasyonu yada parasempatik kalp ganglionlarının depresyonuyla kalp atış hızını arttırdığı gibi, ganglionlarda zıt etki yaratarak kalp atış hızını azaltabilmektedir. Nikotinin kan basıncını yükselterek hipertansiyona sebep olduğu, kalpte ritim problemlerine sebep olduğunu işaret eden birçok delil mevcuttur (31,32,33).

Tütün ürünlerinin gastrointestinal sisteme etkisinde, parasempatik uyarıların sebep olduğu belirlenmiştir. İlk kullanım dönemlerinde bağırsak hareketlerini ve tonusunu arttırdığı, midenin boşalma zamanını azalttığı ve asit salgısını çoğalttığı izlenmiştir. Yüksek miktarda

alımında ise; peristaltik hareketleri engellediği ve bağırsak tonusunu düşürdüğü saptanmıştır (27).

Nikotin içerikli dumansız tütün formlarının değişken düzeylerde hiperglisemi, kanda kolesterol ve serbest yağ asit oranını arttırdığı, kanda ve beyinde nörotransmitter bileşenlerin serbest hareket etmesini kolaylaştırdığı, hipofiz hormonlar, katekolaminler ve endojen opioid peptidler gibi bazı kimyasalların çoğalmasına neden olarak bazı fizyolojik etkilere yol açtığı belirlenmiştir (15,34).

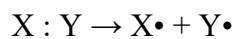
2.5.1. Dumansız tütün formlarının mutajenik ve genotoksik etkileri

Dumansız tütün ürünlerinin genotoksik ve mutajenik etkileriyle ilgili yapılmış araştırmalarda bu tür tütün formlarının Salmonella typhimurium uçlarında mutasyon oluşturduğu, Chinese hamster ovaryum hücrelerinde, fare kemik iliği hücrelerinde, insan periferik lenfositlerinde ve bukkal mukoza hücrelerinde ise genetik zarara sebep olduğu saptanmıştır (35,36,37,38). Shamma (Yemen dumansız tütünü), masher, pan masala ve snus gibi dumansız tütün bileşenlerinin gen mutasyonlarını indükleyici etkisi Ames testiyle belirlenmiştir (35,37,39,40). Gudakhunun fare kemik iliği hücrelerinde SCE, CA (kromozomal aberasyonlar), ve MN oranını çoğalttığı (38), benzer biçimde pan masalanın fare kemik iliği hücrelerinde SCE seviyesini yükselttiği saptanmıştır (41). Ayrıca snus, pan masala yada mava kullanan kişilerin periferik lenfositlerinde SCE ve CA seviyelerinin fazla olduğu kaydedilmiştir (36,37,42) . , Mava, gudakhu, masher veya khaini alan kişilerin yanak mukoza hücrelerinde MN frekansının fazla olduğu saptanmıştır (38,43,44). Bütün bu araştırma raporları, dumansız tütün formlarının genotoksik ve mutajenik etkisinin olduğunu kanıtlayan deliller oluşturmuştur.

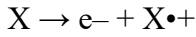
2.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Serbest radikaller; yörüngelerinde bir veya birden fazla sayıda eşleşmemiş elektrona sahip atom ya da atom gruplarıdır (45,46). Serbest radikal molekülü bu eşleşmemiş elektronu nedeniyle kararsız konumdadır ve kararlı bir yapı kazanabilmesi için elektronunu bir başka elektron ile eşleştirmesi gerekir. Bu sebeple serbest radikal yüksek kimyasal aktivite potansiyeline sahiptir (47,48). Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşmaktadır:

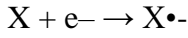
Bir molekülü meydana getiren kovalent bağın hemolitik yarılmaması ve eşleşmiş elektronlardan her birinin farklı parçalarda kalması sonucu:



Bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu:



Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu: (49)



İnsan vücudu fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri doğuştan sahip olduğu oldukça hassas bir donanım ile oksidan-antioksidan denge olarak nitelendirilen bir çizgide tutmaya çalışır (50). Oksidan ürünlerin artması ve bu dengenin bozulması sonucunda hedef moleküller olan glikolipidler, fosfolipidler, doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri oksidatif strese maruz kalırlar (51,52). Sonuç olarak hücre hasarı, metabolik bozukluklar ve hatta ölüme neden olabilirler (53).

2.6.1. Reaktif oksijen türleri

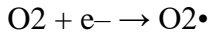
Oksijen 8 atom numarasına sahip doğada dioksijen (O₂) olarak bulunan kararsız yapıda bir elementtir. Bu kararsızlık enerji seviyelerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2p orbitali önemlidir. Bu orbitallerdeki elektronlardan herhangi biri, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde ya da zıt yönde döndüğünde “singlet oksijen” meydana gelir. Orbitallerden birine zıt dönüşlü iki elektron ya da ikisine zıt dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir. Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu sebebiyle oldukça dengesizdir ve hızla ortamdaki uzaklaşır. Bu yüzden bu radikaller başka bir molekülden elektron alıp elektron çifti oluşturabilir (oksidasyon) ya da tek elektronlarını başka bir moleküle verebilirler (redüksiyon). Sonuç olarak nonradikal yapıyı radikal hale getirebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri radikaller ve nonradikaller olarak iki ana başlık altında incelenmektedir (54,55).

Tablo 1. Oksijen türevi bileşikler (56).

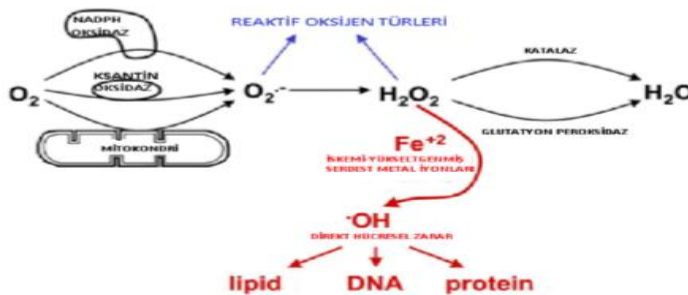
RADİKALLER	RADİKAL OLMAYANLAR
Hidroksil (HO [•])	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO [•])	Singlet oksijen (1O ₂)
Peroksil (ROO [•])	Ozon (O ₃)
Süperoksit (O ₂ ^{•-})	Hipoklorid asit (HOCl)
Nitrik oksit (NO [•])	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ [•])	Peroksinitrit (ONOO [•])

2.6.2. Serbest oksijen radikalleri

Süperoksit Radikali: Oksijenin bir elektron alıp indirgenmesi sonucunda kararsız bir yapı olan süperoksit radikali meydana gelir.

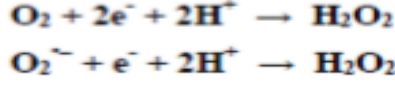


Süperoksit radikali, kendisi zayıf bir serbest oksijen radikali olmakla beraber H₂O₂ 'ninde ana kaynağıdır. Süperoksit radikali oksitleyici ve metal iyonlarını redükleyici etkiye sahiptir. Mitokondride tüketilen oksijenin %1-5'i süperoksit oluşumu ile sonlanmaktadır. Aktive olan fagositik hücrelerde yüksek miktarda süperoksit üretimi gerçekleşmektedir. Antibakteriyel etki için gereken bu radikal, daha reaktif olan radikallerin oluşumunu da tetiklemektedir (57,58). Normal metabolizma sırasında sürekli oluşan süperoksit radikalleri organizmada farklı reaksiyonlara girebilir. Süperoksit dismutaz ile süperoksit radikalleri dismutasyona uğrayarak H₂O₂ oluşturabilir. İki süperoksit radikalının birbiriyle etkileşmesi sonucunda biri yükseltgenip diğeri indirgenerek H₂O₂ ve O₂ meydana gelmektedir. Süperoksit radikalleri ortamdan bir proton almasıyla perhidroksi radikalini (HO₂•) oluşturabilir. Süperoksit radikaline göre perhidroksi radikali çok daha reaktiftir, örneğin membrandaki yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilir. Süperoksit radikali ve H₂O₂ demir iyonu katalizörlüğünde hidroksil radikalini meydana getirebilir ve bu demir katalizörlü Haber-Weiss reaksiyonu olarak tanımlanır. Bu tepkimeler metal şelatörü ajanlar ile inhibe edilebilir. Süperoksit radikalleri nonenzimatik dismutasyon yada Haber-Weiss tepkimesi sırasında singlet oksijen (1O₂) yapımına sebep olabilir. Singlet oksijen süperoksit toksisitesine aracılık edebilmektedir. Süperoksit radikalının nitrik oksit radikaliyle (NO•) tepkimeye girmesi sonucunda peroksinitrit oluşabilir. Peroksinitrit süperoksit radikaline göre çok daha reaktif ve sitotoksik özelliğe sahiptir. Süperoksit radikalleri, fenoksil radikalleriyle tepkimeye girebilir ve proteinin yapısında modifikasyona sebep olabilir. Fenoksil radikali, fenollerin oksidasyonu ile meydana gelir. Organizmada bulunan başlıca fenol kaynakları E vitamini ve tirozindir (59,60).

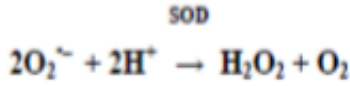


Şekil 6. Oksijen kaynaklı radikal oluşumu (61).

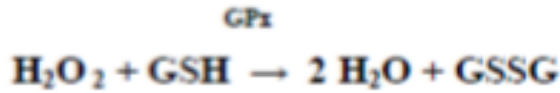
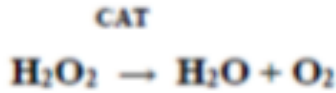
Hidrojen Peroksit: Hidrojen peroksit aslen serbest radikal türü olmasa da; hücrel membranlara kolaylıkla girebilmesi, serbest hidroksil radikali oluşturabilmesi ve serbest elektron içermesi nedeniyle önem kazanmaktadır. Moleküler oksijenin, çevresinde yer alan moleküllerden iki elektron alması ya da $O_2^{\bullet-}$ 'nin bir elektron alması ile peroksit oluşur. Peroksit molekülü ile iki hidrojen atomunun birleşmesiyle H_2O_2 'yi meydana gelir.



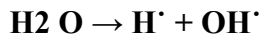
Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi $O_2^{\bullet-}$ 'nin dismutasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu dismutasyon spontane ya da süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile katalizle olabilir.



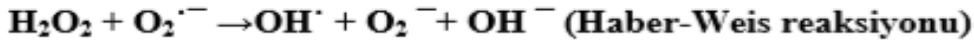
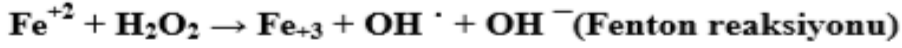
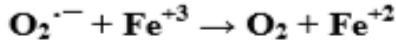
H_2O_2 , geçiş metal iyonlarının varlığında kolay bir şekilde parçalanmasıyla en toksik ve en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmaktadır. H_2O_2 ; OH^{\bullet} üretmesiyle canlı sistemlerde önemli hasarlara neden olduğu için, H_2O_2 akümüülasyonunun kontrolü hücreler için biyolojik olarak önemlidir (57,62). Süper oksit dismutaz aktivitesi ile meydana gelen H_2O_2 ; glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) enzimleri ile oksijen ve suya dönüştürülür.



Hidroksil Radikali: Hidroksil radikali (OH^{\bullet}) başta lipit, protein ve nükleik asitler (RNA ve DNA) olmak üzere neredeyse bütün hücrel moleküller ile reaksiyona girebilmektedirler. Serbest radikaller içinde en kuvvetli olandır. Suyun iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur(57,63).

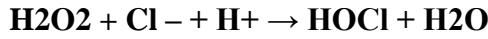


Hidroksil radikalleri, H_2O_2 'nin Fe^{+2} ve diğer geçiş elementleri varlığında (Cu, Co, Mn, Ni, Zn, Cr, Mo) indirgenmesiyle (Fenton tepkimesi), H_2O_2 'nin $O_2^{\bullet-}$ radikaliyle reaksiyona girmesiyle de (Haber-Weis tepkimesi) oluşmaktadır. Haber-Weis reaksiyonu katalizör varlığında veya katalizörsüz gerçekleşebilir. Katalizörsüz tepkime oldukça yavaş ilerlemektedir (56).



Singlet Oksijen: Singlet oksijen (O₂), eşleşmemiş elektronu olmaması nedeniyle nonradikal reaktif bir oksijen molekülüdür. Singlet oksijen serbest radikal tepkimeleri sonucunda olduğu gibi bu tepkimeleri başlatan taraf da olabilir. Diğer moleküller ile etkileştiğinde ya kovalent tepkimelere girer ya da içerdiği enerjiyi transfer eder. Bu tepkimeler özellikle yapısında C=C çift bağı bulunan moleküllerle olur. Bunlardan bazıları; DNA, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), bilirubin, fenoller, tokoferoller, karotenler, triptofan, kolesterol, metionin, histidin ve sisteindir. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan reaksiyona girip peroksil radikalini (ROO) meydana getirir ve lipid peroksidasyonunu başlatabilir (57,64).

Hipokloröz Asit:Enzimatik yollarla nötrofillerce üretilen güçlü bir oksidandır. Aktive olan makrofajlar, eozinofiller ve nötrofiller süperoksit meydana getirirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla süperoksitin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirmesiyle hipokloröz asit (HOCl) oluşur (55).



Nitrik Oksit: Nitrik oksit önemli biyolojik işlevleri gerçekleştirmek amacıyla üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Eşleşmemiş elektron aslen Nitrojen atomuna ait olmasına rağmen, bu elektronun hem oksijen hem de nitrojen atomu üzerinde delokalize olmasından dolayı tam olarak radikal özelliği taşımaz (58). Nitrik oksitin kimyasal aktivitesi yüksek değildir fakat belli şartlarda oldukça toksik ürünler meydana getirebilir. Süperoksit ile NO'nun tepkimeye girmesi ile güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit, direkt olarak proteinleri hasara uğratar ve OH•, nitronyum iyonu (NO₂⁺) ve azot dioksit (NO₂•) gibi toksik ürünlere dönüşür(65).

2.6.3 Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücrelerin protein, lipid, deoksiribonükleik asit (DNA), karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederek yapılarında bozulmalara sebep olurlar (66).

2.6.3.1 Proteinlere etkileri

Proteinler, radikallere karşı lipitlere göre daha az hassasiyet gösterir ve aminoasitlerin diziliş şekline bağlı olarak etkilenirler. Yapısında özellikle doymamış bağ ve tiyol barındıran moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu sebeple tirozin, triptofan, fenilalanin, metionin, sistein ve histidin aminoasitleri serbest radikal hasarına karşı daha duyarlıdır. Yapısında ya da katalitik aktivitesinde bu aminoasitlerin bulunduğu enzimler radikal etkisiyle inhibe olurlar. Ayrıca radikal etkisiyle sitoplazmik ve membran proteinlerinde agregat oluşumu ve çapraz bağlanmalar gözlenir. Normal demodifikasyonlara dirençli olan lizin, prolin gibi aminoasitler, O_2^{\cdot} , H_2O_2 ve OH^{\cdot} radikallerinin etkisiyle nonenzimatik olarak hidroksilasyona uğrayabilirler (67).

2.6.3.2. DNA ve nükleik asitlere etkileri

İyonize edici radyasyona maruz kalınması sonucunda meydana gelen serbest radikallerin DNA'yı etkilemesiyle hücrede mutasyon gerçekleşir. Sitotoksik etki, yüksek oranda nükleik asit-baz modifikasyonlarından kaynaklı kromozom değişikliklerine ya da DNA'daki başka değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girme özelliğine sahiptir. Hidrojen peroksit zarlardan kolay bir şekilde geçerek hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hücrede ciddi derecede fonksiyon bozukluklarına ve hatta hücre ölümlerine sebep olabilir (68).

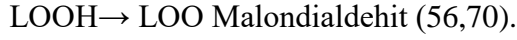
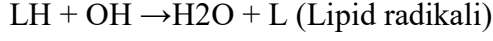
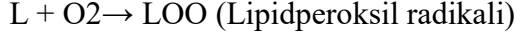
2.6.3.3. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin oksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit gibi peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler, protein, ribonükleik asit, DNA gibi yapılara bağlanabilir ve çapraz bağ oluşturabilirler. Serbest radikaller bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asit ile etkileşerek bağ dokusunun durağanlığının bozulmasına ve sıvı akışkanlığının kaybolmasına sebep olur (67).

2.6.3.4. Membran lipitlerine etkileri

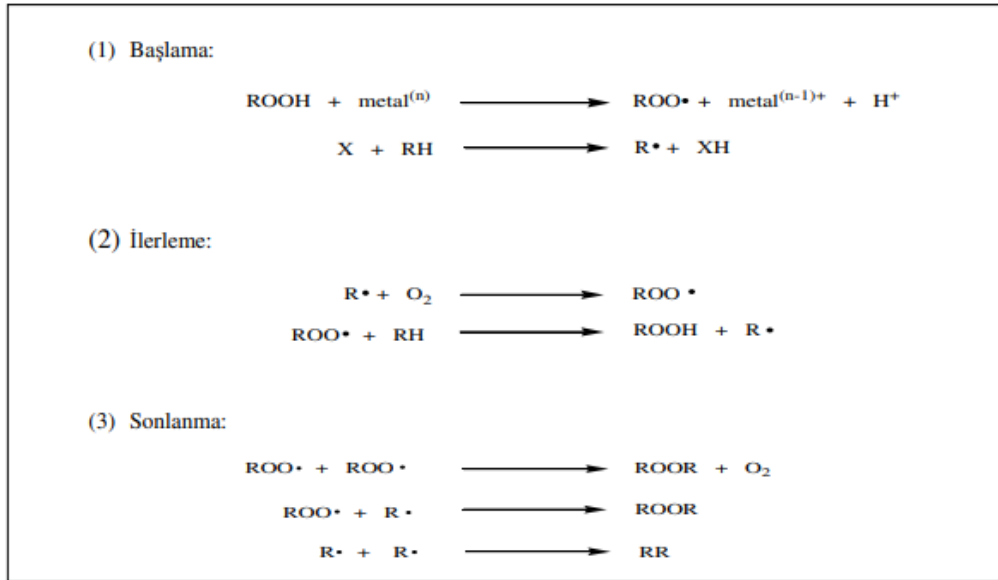
Lipitler, biyolojik yapılar içinde reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkilerine en duyarlı yapılardır. Özellikle hücre zarında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri serbest oksijen ürünleri ile yüksek oranda tepkimeye girer ve peroksidasyon meydana gelir. Bu peroksidasyon kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve geri dönüşü olmayan hücre zararı hasarına yol açar. Lipid peroksidasyonu esnasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan malondialdehit

(MDA) oluşur (69). MDA oldukça reaktif bir aldehit türevidir olup proteinlerin serbest amino grupları, fosfolipidler veya nükleik asitlerle reaksiyona girerek biyolojik moleküllerde yapısal modifikasyonlara neden olur. Membranların yapıları bozulur, geçirgenlikleri değişir, iyon transportu ve enzimatik aktiviteler gibi fonksiyonlar etkilenir (70).



2.7. Lipid Peroksidasyonu

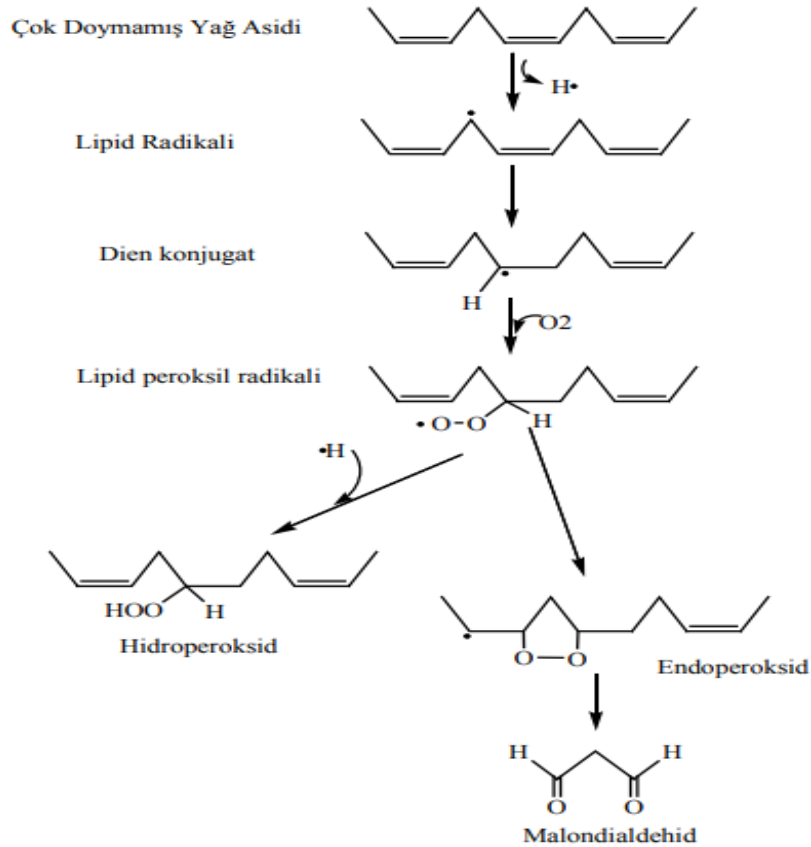
Lipid peroksidasyonu, zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece zar lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (71). Lipid peroksidasyonu kimyasal bir proses olup serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlar (72). Lipid peroksidasyonu bir zincir tepkimesi şeklinde başlayıp, daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için kesintisiz bir kaynak oluşturur. Kendi kendini devam ettiren bu zincir reaksiyonların hücre membranına hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarının tamamı Şekil 7’de özetlenmiştir (73).



Şekil 7. Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonları (73).

Lipid peroksidasyonu tepkimeleri serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asiti zincirinin α metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaştırması ile başlamaktadır. Uzaklaşan

hidrojen atomu sebebiyle karbon atomu üzerinde bir adet elektron kalır ki bu da yağ asiti zincirinin radikal olmasına neden olur. Oluşan lipid radikali kararsız bir bileşiktir. Molekül stabil duruma gelebilmek için molekül içi bağlarını tekrar düzenler ve konjuge dien yapısına dönüşür. Reaksiyon moleküler oksijenin lipid radikali ile etkileşmesi ve lipid peroksi radikalinin oluşmasıyla devam eder. Lipid peroksi radikali, membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asidi zincirlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açarken, kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksite dönüşmüş olur. Böylece tek bir substrat radikal diğer yağ asitlerini tetikleyerek birden çok lipid hidroperoksit oluşmasına sebebiyet verir. Bu tetikleme olayının ne zaman sona ereceği ortamda bulunan oksijen ve antioksidan miktarına bağlıdır. Hidroperoksitler oldukça stabil moleküller olup yapıları ancak yüksek sıcaklıkla veya demir, bakır gibi geçiş metallerine maruz kalmakla bozulabilir (74). Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile son bulur (71). Oluşan son ürünlerden birisi de kan plazmasında kolaylıkla teşhis edilebilen ve oksidatif stres ölçümlerinde kullanılan MDA molekülüdür (72).



Şekil.8. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (73).

Lipid peroksidasyonu tepkimeleri sonucunda başta aldehitler olmak üzere çok sayıda ürün oluşmaktadır. Oluşan bu aldehitler oksidatif hasarı artırmaktadırlar. Lipid peroksidasyonunun başlıca ürünü olan MDA uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyo-moleküle etki ederek geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır (75).

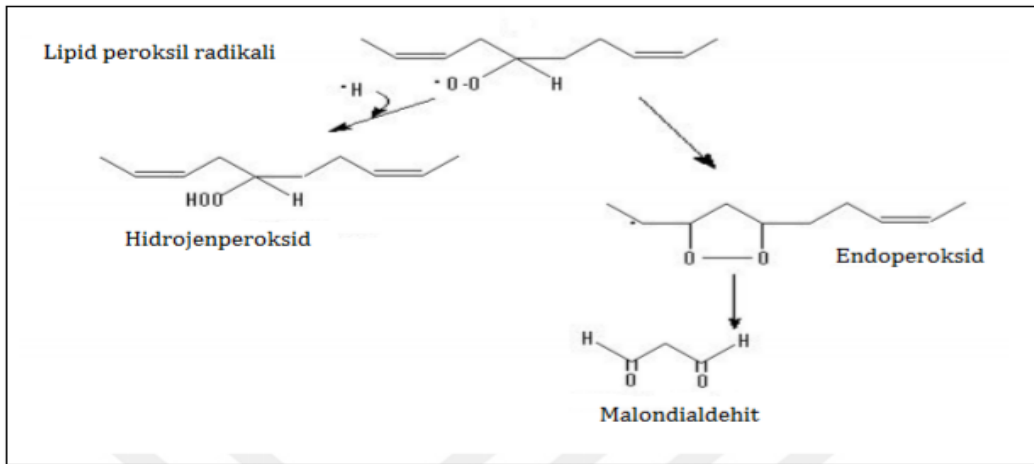
Dokularda MDA seviyesinin artmasının koroner arter hastalığına (76), akciğer kanseri ile diğer akciğer hastalıklarına, DNA'ya bağlanarak mutasyonlara ve iltihaplanmalara yol açtığı bildirilmektedir (77).

2.7.1. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin oluşumu ve nötralizasyonu arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkan oksidatif stresin sebep olduğu en önemli hasarlardan biri, aşırı miktarda hidroksil radikali ve peroksinitrit aracılığıyla gerçekleşen lipid peroksidasyonudur. Radikal bir zincir reaksiyonu olan lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bileşiklerden en toksik olanları aldehitlerdir. Reaksiyon başladıktan sonra hızla yayılır ve diğer hücre bölümlerinde de hasara sebep olabilmektedirler (79).

Bu reaksiyon sonucu sitotoksik ve mutajenik olan MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) oluşur.(şekil.10)

Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. MDA, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipitlere ve nükleik asitlere bağlanarak toksik etki gösterir. Membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olur. Hücre membranlarından kolaylıkla difüze olarak, DNA'nın yapısında olan nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bu yüzden mutajen, hücre kültürleri için karsinojen ve genotoksik etki gösterir (74).



Şekil 9. Malondialdehit (MDA) oluşumu (74).

2.8. Antioksidanlar

Antioksidanlar, aktif oksijenin oluşmasına engel olarak veya oluşmuş olan aktif oksijenleri tutarak, oksitlenmenin sebep olduğu hasarlara hücresele seviyede engel olup dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadırlar. Antioksidanların kanser, solunum yolu hastalıkları, romatizma, kalp damar hastalıkları, parkinson gibi birçok hastalığın iyileştirilmesi üzerine etkilerinin olduğunu savunan birçok çalışma bulunmaktadır (80).

Antioksidanlar değişik etki mekanizmalarına sahiptirler:

- Onarıcı etkisiyle serbest radikallerin meydana getirdikleri hasarın tamiri: Lipit, DNA ve protein gibi yapılarda meydana gelen biyolojik moleküler hasarı tamir etme,
- Zincir kırıcı etkisiyle serbest oksijen radikallerini bağlamak; zincirleri kırarak işlevlerine engel olma ve serbest radikal üreten kimyasal tepkimeleri engelleme,
- Baskılayıcı etkisiyle serbest oksijen radikalleri ile etkileşerek onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma ya da inaktif hale getirme; tepkime hızını azaltma,
- Temizleme etkisi oksidanları tutarak zayıf bir molekül haline getirme şeklinde gerçekleştirilir ve enzimler aracılığıyla yapılır (80).

Tablo 2. Endojen ve Ekzojen Kaynaklı Antioksidanlar (80).

ANTIOKSİDANLAR	
1-Endojen Antioksidanlar	
Enzimatik Olanlar	Enzimatik Olmayanlar
<ul style="list-style-type: none">• Süperoksit dismutaz (SOD)• Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)• Katalaz (CAT)• Glutasyon S-transferaz (GST)• Fosfolipit hidroperoksi glutasyon peroksidaz	<ul style="list-style-type: none">• A, C, E vitaminleri• Hemoglobin, miyoglobin• Transferin, sistein, albumin• Ürat, serüloplazmin, laktoferrin• Paraoksonaz• Glutasyon• Sitokinler, bilirubin
2-Ekzojen Antioksidanlar	
<ul style="list-style-type: none">• Enzim inhibitörleri<ul style="list-style-type: none">-Ksantin oksidaz inhibitörleri (tungsten, allopurinol, pterin aldehit)• Rekombinant süperoksit dismutaz• C ve E vitamin analogları• NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestetikler, Ca kanal blokerleri, NSAİ ilaçlar, iodyum, setidil, adenosin, difenilin) (Özkan 2011).	

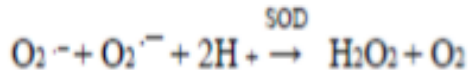
2.8.1. Endojen antioksidanlar

- Enzimatik Antioksidanlar (SüperoksitDismutaz(SOD), Katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S transferaz (GST), glutatyonredüktaz (GSH)).
- Enzimatik Olmayan Antioksidanlar (β karoten, vitamin E, vitamin C, melatonin, seruloplazmin, sistein, transferin, miyoglobin, laktoferrin, bilirubin, albümin ve glutatyon)

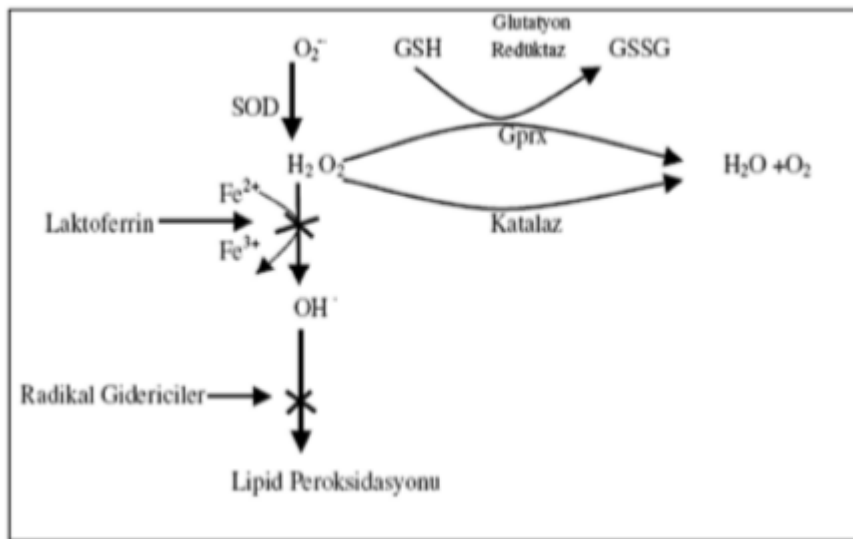
2.8.1.1. Enzimatik antioksidanlar

2.8.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), bir metalloenzimdir. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde mevcuttur ve süperoksidin hidrojen perokside dönüşümü tepkimesini katalizler (81).



SOD oksijen radikalleri ile oluşan hasara karşı, glutatyon ve katalaz enzim sistemiyle beraber çalışan bir savunma mekanizmasıdır. Böylece meydana gelen hidrojen peroksit, glutatyon peroksidaz veya katalaz enzimleri aracılığıyla oksijen ve suya indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu sonucu oluşan H₂O₂ doku için biyolojik avantaj sağlar (82).



Şekil 10. Antioksidan savunma mekanizması (83).

Süperoksit dismutazın bu tepkimesi oksidatif strese karşı ilk savunma olarak da nitelendirilebilir. Çünkü süperoksit zincirleme radikal tepkimelerinin güçlü bir

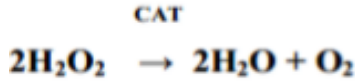
başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit seviyeleri kontrol altında tutulur. Bütün canlılardaki SOD, kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre dört izoenzim halinde sınıflandırılabilir.

1. Cu/Zn-SOD: Sitozolik SOD ve vasküler endotele bağlı bulunan ekstrasellüler SOD'un kofaktörleri bakır ve çinkodur. Bu enzimlerin stabilitelelerinden çinko aktivitelelerinden bakır sorumludur.
2. Mn-SOD: Mitokondrial SOD'ın kofaktörü mangandır.
3. Fe-SOD: Bazı bakterilerde saptanmıştır.
- 1- 4.Ni-SOD: Bazı bakterilerde bulunur. Aminoasit kompozisyonu diğer izoenzimlerden farklıdır.

İnsanlarda SOD enzimi: Mitokondrial Mn-SOD; sitozolik Cu/Zn-SOD; sinoviyal, lenf ve plazma sıvılarda bulunan ekstrasellüler SOD olmak üzere 3 formda bulunur (83,84).

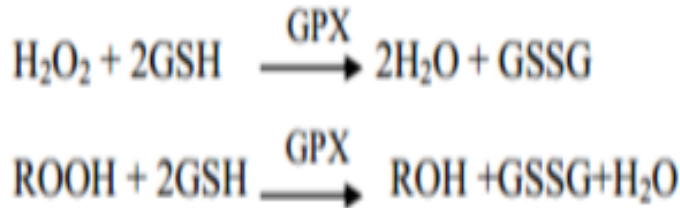
2.8.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz glikoprotein yapıda bir hemoproteindir. H₂O₂'nin yüksek yoğunlukta olduğu durumlarda yüksek aktivite gösterir ve hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalayan tepkimeyi kataliz etmektedir (83).



2.8.1.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

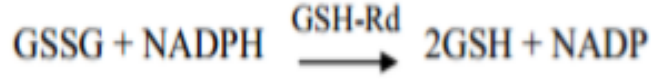
Glutasyon peroksidaz organik hidroperoksitlerin (DNA ve lipit hidroperoksitler) ya da hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi reaksiyonunu katalizler (63).



2.8.1.1.4. Glutasyon redüktaz (GSH)

Glutasyon redüktaz enzimi, flavinadenin dinükleotid (FAD) içeren bir flavoproteindir. Yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG) disülfid bağlarına NADPH'nin bir elektronunu aktarması ile indirgenmiş GSH'a dönüştürür. NADPH serbest radikal hasarını engellemek amacıyla gereklidir ve en önemli kaynağı heksozmonofosfat (pentoz fosfat)

yoludur. Organizmada GSH/GSSG oranının yüksek olması antioksidan kapasite açısından önemlidir (85).



2.8.1.1.5. Glutasyon s transferaz (GST)

Glutasyon-S-transferazlar, hüresel detoksifikasyon ve transporttan sorumlu iki protein alt birimden oluşan multifonksiyonel protein ailesidir. Genellikle üç sitozolik bir mikrozomal olarak dört ana gruba ayrılır. GST ailesi hepatositlerdeki birincil detoksifiye edici sistemdir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başlıca lineolat hidroperoksitleri ve araşidonik asit olmak üzere lipit peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizmasını meydana getirirler. Glutasyon-S-transferazlar, glutasyonun reaktif metabolitlerle konjugasyonunu sağlayarak organizmadan uzaklaşmasını sağlamaktadır (86).

GST



2.8.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

E ve C vitamini: Yağda çözünebilen vitaminler arasında önemli yere sahip vitamin E, özellikle lipoprotein ve membran bileşenleri üzerinde zincir kırıcı antioksidan etkiye sahiptir. Alfatokoferol vitamin E türevleri içinde en aktif bileşiktir ve zincir reaksiyonları ile alakalı peroksil radikalini temizlemesiyle lipit peroksidasyonuna engel olur (87).

Karotenoidler: Karotenoidler (Likopen, β-karoten, Zeaksantin, Violaksantin, Lutein), organizmada singlet oksijeni baskılama, triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme vb koruyucu etkileri vardır. Bununla beraber lipit membranlarına lokalize olup membranların oksidatif strese karşı hassasiyetini azaltır. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremedikleri için bu bileşikler diyetle alırlar(88).

Transferin ve Laktoferrin: Demiri bağlaması sonucunda demirin Haber-Weiss reaksiyonlarına katılımını ve lipid peroksidasyonu durdurur ya da yavaşlatır (89).

Albümin: Albümin zayıf bir şekilde demiri, kuvvetli bir şekilde de bakırı bağlar. Albümin yüzeyinde oluşacak OH⁻ radikali albümin tarafınca temizlenir. Bunun yanı sıra myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'yi hızlı bir şekilde temizler (89).

Seruloplazmin: Bakır ve demir bağımlı lipid peroksidasyonu redükler. Daha az önemli olmakla beraber süperoksit radikali ile tepkimeye de girer (89).

Polifenoller: Fenoller, aromatik halkada OH grubu barındıran etkili antioksidanlardır (89).

Ürik Asit: Kuvvetli olarak bakır ve demir bağlama yeteneği, antioksidan rolünün önemli bir parçasıdır. Lipid peroksidasyonunu redükte etme ve radikalleri temizleme görevine sahiptir(89).

Bilirubin: Yağ asitlerini peroksidasyona karşı koruma görevine sahiptir (89).

Glutatyon (GSH): Sistein içeren bir tripeptit yapısında olup, ince bağırsaktan emilebilen ve in vivo sentezlenebilen eksojen ve endojen bir antioksidandır. Peroksidazlar için substrat görevi görebilen GSH, antioksidan etkili E ve C vitaminleri üzerinde de orta seviyede koruyucu etkisi vardır (90).

2.8.2. Eksojen antioksidanlar (91)

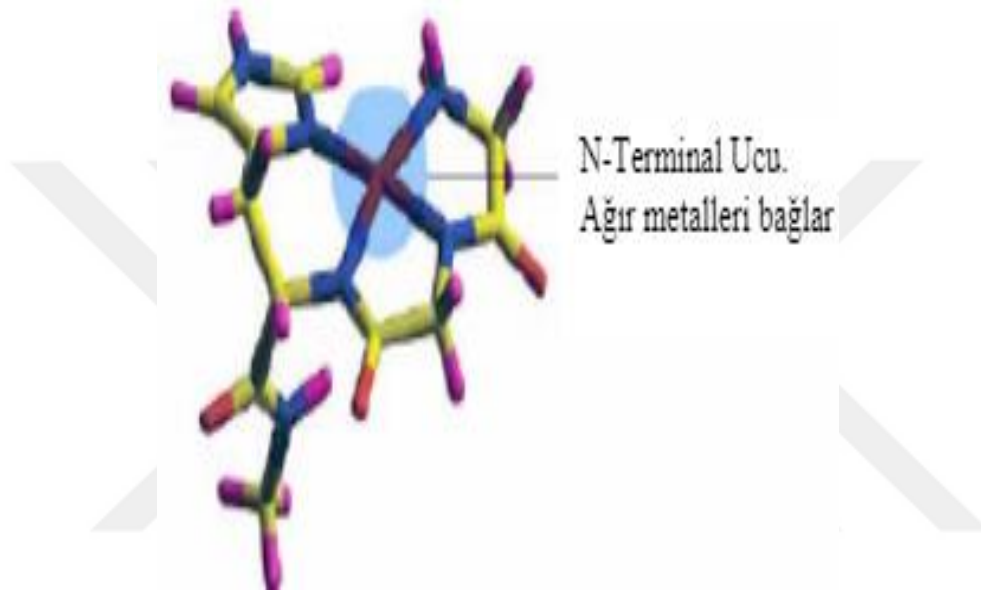
- ✓ Ksantinoksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol)
- ✓ Kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, nifedipin)
- ✓ NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler)
- ✓ Besinlerdeki doğal antioksidanlar. A, C, E vitamini ve β karoten
- ✓ Nötrofil adezyon inhibitörleri
- ✓ Asetilsistein, mannitol
- ✓ Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (ibuprofen)
- ✓ Demir tutucuları (desferroksamin, EDTA)
- ✓ Rekombinant SOD (r-SOD)
- ✓ Melatonin

2.9. İskemi-Modifiye Albümin (IMA)

Albumin, insanlarda kan plazması içinde önemli ve en çok bulunan proteindir. Moleküler ağırlığı 66.5 kDa olan serum albumin konsantrasyonu 3.5-5.3 g/dL ve yarı ömrü 19-20 gündür (92). Albumin molekülünün amino ucu (N terminal) özellikle aspartil-alanil-histidil-lizin amino asit dizisi cobalt (Co+2), nikel (Ni+2), bakır (Cu+2) gibi geçişli metal iyonlarının primer bağlanma bölgesidir (93). Albuminin yapısındaki son aminoasit terminalinin, ağır metalleri (bakır, nikel, kobalt) bağlama kapasitesi vardır. İskemide görülen serbest radikal hasarı, hipoksi ve asidoz gibi sebepler, bu metallerin albuminin N-

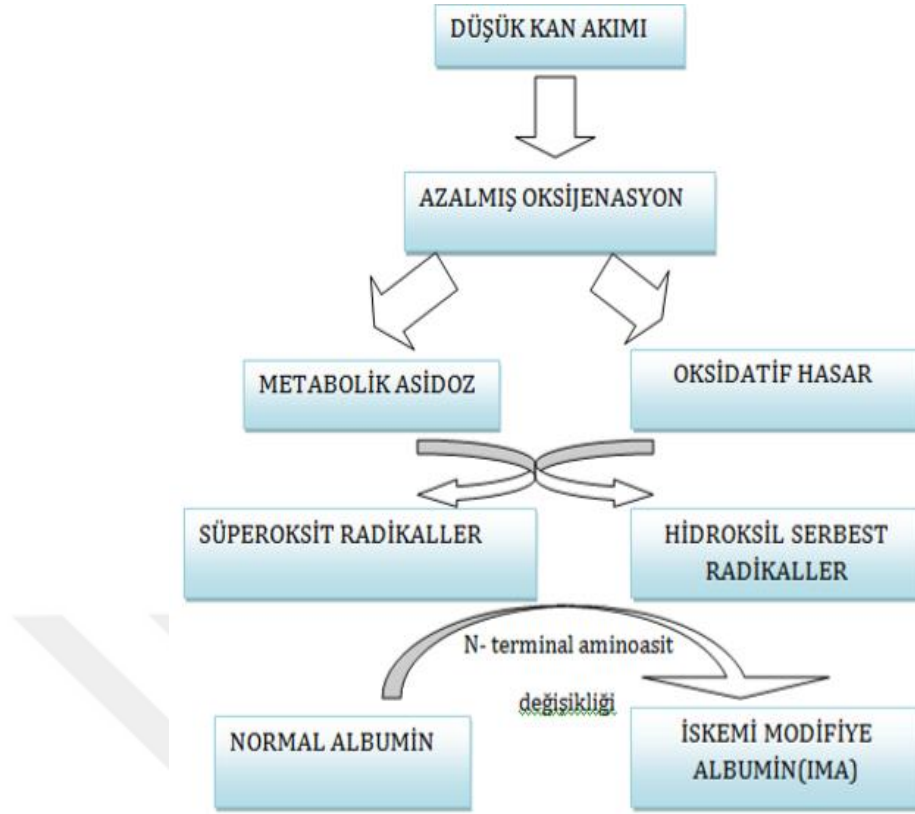
terminaline bağlanmalarını düşürür. Albuminin yapısındaki bu değişikliğe iskemik modifiye albümin (IMA) adı verilmektedir (94). 585 aminoasit kalıntısından oluşan ve karaciğerde sentezlenen bu proteinin çeşitli görevleri vardır.

- ✓ Kan pH'sının ayarlanmasında tampon görevi,
- ✓ Karaciğerde protein sentez aktivitesini desteklemek,
- ✓ Aminoasit deposu gibi görevleri vardır. Bunlardan farklı olarak plazma onkotik basıncının ayarlanmasında da önemi vardır ve insan serum albuminin biyokimyasal yapısı şekil 2.8.'de gösterilmiştir (94).



Şekil 11. İnsan Serum Albümin (HSA: Human Serum Albümin)'in biyokimyasal yapısı (95).

İskemik modifiye albümin oksidatif hasardan kaynaklanır. Albüminin N-terminal bölgesi, kobalt, bakır ve nikel gibi geçiş metalik iyonları için bağlayıcı bir bölgedir. Normal albüminin metal bağlama kapasitesi yüksektir. Normal serum albümini iskemik kalp dokusunda birikir. İskemik sırasında kan akış hızının azalması, dokuya yeterli oksijen aktarılmaz ve olması gerekenden daha düşük bir pH'da olması da süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit oluşumunu hızlandırır. Bakır veya demir gibi metallerin varlığında hidrojen peroksit, hidroksil serbest radikalleri oluşturan Fenton reaksiyonuna girer. Hidroksil serbest radikaller epoksi reaktiftir ve albümin moleküllerinin amino terminal ucunun (N-terminali) amino asitlerini değiştirebilirler. Böylece iskemik dokularda IMA oluşumu gerçekleşir (96).



Şekil 12. İskemik dokularda İMA oluşumu (97).

Serbest radikallerce oluşan doku hasarında iskemik modifiye albumin dakikalar içinde artmakta ve 6-12 saat yüksek düzeyde kaldıktan sonra 24 saat içinde tekrar normal değerlerine gelmektedir (98). Farklı iskemi reperfüzyon çeşitlerinde oksidatif stres durumu, sadece miyokardı değil diğer organları da etkiler. İMA ile yapılan çalışmalar sonucu açığa çıkan bilgiler karaciğer, beyin, böbrek ve bağırsak iskemisinde de yüksek olduğunu göstermektedir (99,100). İMA; başta akut koroner sendrom (ACS) olmak üzere karaciğer sirozu, akut enfeksiyonlar ve astım gibi serbest radikallerin üretildiği durumlarda yükseliş göstermektedir (101). Akut koroner sendroma sahip olan hastaların serumundaki insan serum albumininin, ekzojen kobaltı (Co(II)) bağlamasında eksilme oluştuğunun saptanmasıyla tanımlanan bu metabolik varyant, Albümin Kobalt Bağlama (ACB) testi ile kolorimetrik olarak belirlenebilir duruma getirilmiştir (94). Ancak son yıllarda yapılan İMA çalışmalarında, ACB yönteminden farklı olarak ELISA yöntemiyle de ölçüm yapılmaya başlanmıştır (102,103).

2.9.1. Albümin kobalt bağlanma testi (ACB)

Serum numunelerinde İMA'nın dolaylı bir şekilde ortaya çıkarılmasını ilk olarak, Bar-Or ve arkadaşları geliştirdi (104,105). Kanda İMA tayini kobaltın albumine azalan bağlanma

kapasitesinin kolorimetrik yöntemle ölçümü yöntemine dayanmakta ve bu yöntem Albumin- Kobalt Bağlanma (ACB: Albumin- Cobalt Binding) testi olarak isimlendirilmektedir (106). Seruma kobaltın bilinen miktarı ilave edilerek bağlanmayan kobalt, ditiotreitolla (DTT) bağlanarak kolorimetrik olarak ölçüldükten sonra ortaya çıkan sonuç absorbans ünitesi (ABSU) yada U/ml olarak kaydedilir. Albümine bağlı Co⁺² düzeyi ve renk oluşumu arasında ters bir ilişki bulunmaktadır (94). İMA'nın stabilitesi, 4°C ve 20°C' de 2 saat olup ölçüm sırasında dilüsyondan kaçınılmalıdır. -20°C' de saklandığında değerler sabittir ancak taze serumla karşılaştırıldığında az miktarda artar. 2000'li yıllarda Bar-Or ve arkadaşlarının bulduğu hızlı ve kolorimetrik bir test olan, ACB testi ortaya çıkmıştır (107). İMA'nın referans aralığı 52.76-116.56 U/ml olarak saptanmıştır. İMA'nın serum yoğunluğu yaş ve cinsiyetle bağlantı belirtmez. Patolojik olmayan durumlarda İMA total albüminin oranı %1-%2 arasında iken iskemik durumlarda %6 veya %8'dir (93).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma, Maraş otu kullanıcılarında oksidan ve antioksidan serum düzeylerinin belirlenmesi, Maraş otunun oksidatif strese neden olup olmadığının saptanması, Maraş otunun serum iskemi modifiye albumin (İMA) düzeylerine etkisi ve bunu sigara içenlerle karşılaştırılması, amacıyla yapıldı.

Maraş otu kullanan kişilerden, sigara içen ve de kontrol grubunu oluşturan kişilerden kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri KSÜ Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Polikliniğine başvuran ve burada sistemik muayeneleri yapılan kişilerden alınmıştır. Bu kişilerin bilinen bir sağlık problemlerinin bulunmamasına, sürekli bir ilaç kullanımlarının, hatta örneğin alınmasından önceki üç gün içerisinde de ilaç kullanmamış olmalarına dikkat edilmiştir. Çalışma için KSÜ Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan izin alınmıştır.

Maraş otu kullanan grupta sigara kullanmayan, sigara kullanan grupta da Maraş otu kullanmayan kişiler bulunurken, kontrol grubunda ise sigara ve Maraş otu kullanmayan sağlıklı kişiler yer almıştır.

Çalışmada yer alan bireylerin hepsi erkek olup; 25–55 yaş aralığındadırlar. Bu kişilerden 8–12 saatlik açlık sonrası kan örnekleri alınıp, İMA tayini için serum örnekleri kullanılmıştır. Ayrılan serumlar çalışılincaya kadar -80°C 'de derin dondurucuda bekletilmiştir.

Çalışmada yer alan bireylerin gruplandırılması;

Grup I: Maraş Otu Kullanan

Grup II: Sigara İçen

Grup III: Kontrol Grubu

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

- ✓ Distile su
- ✓ Kobalt Klorid($\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$)
- ✓ Dithiothreitol(DTT)
- ✓ Sodyum Klorür(NaCl)

3.1.2. Kullanılan cihazlar ve araç-gereçler

- ✓ Ayarlanabilir otomatik mikropipetler
- ✓ ependorflar
- ✓ santrifüj cihazı
- ✓ Hassas terazi
- ✓ Spektrofotometre
- ✓ Vorteks
- ✓ Pastör pipet
- ✓ Derin dondurucu

3.2. Metot

3.2.1. İskemi Modifiye Albumin (İMA) Tayini

İskemi Modifiye Albumin (İMA) seviyelerini ölçmek için albümin kobalt bağlama testi kullanıldı. Bu kolorimetrik ölçüm yöntemi, Kobalt bağlanmasından sonra mevcut olan serbest kobaltın kantitatif ölçüm prensibine dayanmaktadır. Başka bir deyişle bilinen bir miktarda ekzojen Co (II)'yi bir plazma örneğine ilave ederek ve ditiyotreitol (DTT) kullanarak spektrofotometrik olarak bağlanmamış Co (II)'yi ölçmeye dayanır.

200 µl hasta serumuna 50 µl % 0,1'lik Kobalt klorid çözeltisi eklendi. Sonra karışım, hafifçe vortekslenerek 10 dakika boyunca oda sıcaklığında yeterli kobalt-albümin bağlanmasını sağlamak için inkübe edildi. Daha sonra, renklendirici bir ajan olarak 50 µl 1,5 mg / ml ditiyotreitol (DTT) ilave edildi ve karıştırıldı. 2 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra, Kobalt ve albümin arasındaki bağı durdurmak için 1 ml % 0,9 NaCl eklendi. Tüm basamaklar eş zamanlı olarak DTT içermeyen distile su kullanılarak hazırlanan numune körü için de uygulandı. Örnek absorpsiyonları 470 nm'deki bir spektrofotometrede analiz edildi. Reaksiyonların sonunda örnekler ile numune körlerinin 470 nm'deki absorbans değerlerinin farkları İMA olarak kaydedildi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Araştırma verilerinin analizi SPSS (Statistical Program in Social Sciences) 22.0 programı ile gerçekleştirildi. Karşılaştırma testleri için anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı. Demografik değişkene ait sonuç (yaş) ortalama, standart sapma olarak verildi. Gruplarda İMA değerleri açısından fark olup olmadığını karşılaştırmak için ANOVA testi kullanıldı.

Levene testi ile varyans homojenliği kontrol edilerek homojenlik sağlanamayan gruplarda Tamhane T2 testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.



4. BULGULAR

Tablo 3. Katılımcıların Yaş ve İMA Ortalamaları.

Özellik	Sigara İçen (n=37)	Maraş Otu Kullanan (n=37)	Kontrol grubu (n=37)
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss
Yaş (yıl)	35.13±5.62	37.62±8.87	34.21±5.53
İMA	0.55 ± 0.08	0.47 ± 0.07	0.43 ± 0.12

Araştırmaya katılan gruplar arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.187$). Araştırmaya katılan bireylerden, sigara içenlerin yaş ortalamasının 35.13 ± 5.62 yıl, Maraş otu kullananların 37.62 ± 8.87 yıl, kontrol grubunun ise 34.21 ± 5.53 yıl olduğu belirlendi. İskemi Modifiye Albümin (İMA) ortalamalarının ise sigara içenlerde 0.55 ± 0.08 AbsU, Maraş otu kullananlarda 0.47 ± 0.07 AbsU, kontrol grubunda ise 0.43 ± 0.12 AbsU olduğu belirlendi (Tablo 3).



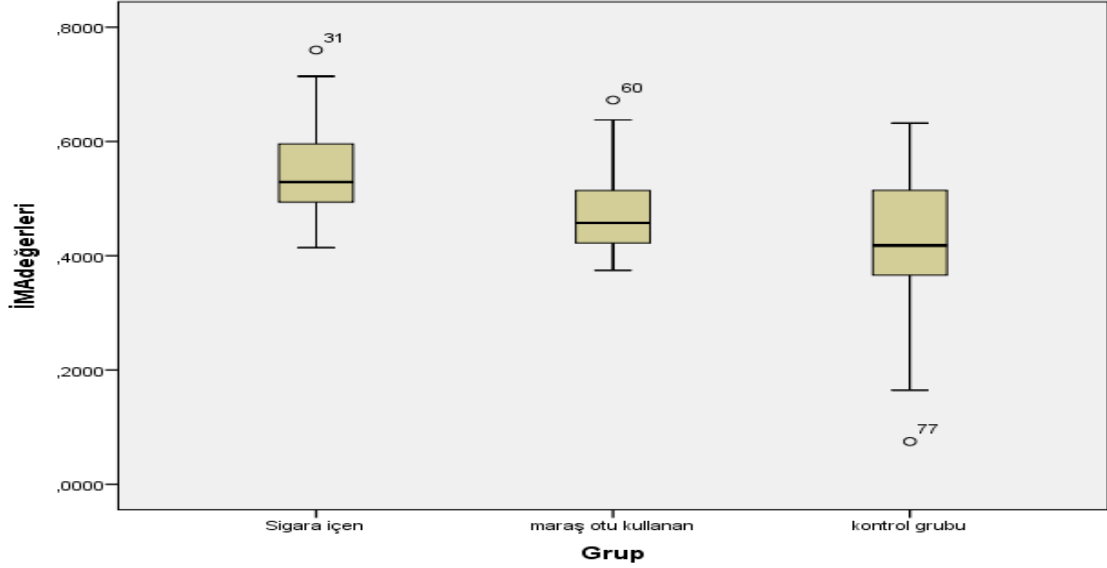
Şekil 13. Grupların yaş ve İMA ortalamaları.

Tablo 4. İMA Değerlerine Göre Gruplar Arası Karşılaştırmalar.

Grup	Ort ± ss	F Değeri	p Değeri	Levene Testi p Değeri
Sigara içen	0,55 ± 0,08			
Maraş otu	0,47 ± 0,07	17,175	<0,001*	0,022**
Kontrol grubu	0,43 ± 0,12			

Ort; ortalama, ss; standart sapma, F; ANOVA testi F değeri, p; istatistiksel anlamlılık değeri, * $p<0,05$; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır, ** $p<0,05$; varyanslar homojen değildir.

Çalışmaya dahil edilen katılımcıların İMA değerlerine göre gruplar (sigara içen, maraş otu kullanan ve kontrol grubu) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$, Tablo 4). Varyanslar homojen olmadığı ($p<0.05$) için ikili karşılaştırmalarda Tamhane T2 testi kullanılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalara ait test sonuçları Tablo 5’te verilmiştir.



Şekil 14. Grupların İMA ortalamalarının karşılaştırılması.

Tablo 5. İMA Değerlerine Göre Grup İçi İkili Karşılaştırmalar.

Değişken 1	Değişken 2	Mean Difference (I-J)	p Değeri	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Sigara içen	Maraş otu	0,080	<0,001*	0,036	0,120
	Kontrol grubu	0,120	<0,001*	0,065	0,179
Maraş Otu	Kontrol grubu	0,440	0,154	-0,011	0,099

p; istatistiksel anlamlılık değeri, * $p<0.05$; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Sigara içenlerin, Maraş otu kullananlardan yüksek İMA değeri ortalamasına sahip olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$, Tablo 5).

Sigara içenlerin, kontrol grubundan yüksek İMA değeri ortalamasına sahip olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$, Tablo 5).

Maraş otu kullananların, kontrol grubundan yüksek İMA değeri ortalamasına sahip olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$, Tablo 5).

5. TARTIŞMA

Yapılan çeşitli çalışmalarda sigaranın sağlığa birçok etkisinin incelendiği, birçok çalışma bulunmasına karşılık, Maraş otu ile ilgili az çalışma mevcuttur. Bu çalışma Kahramanmaraş ilinde oldukça fazla bir biçimde tüketilen Maraş otunun oksidatif strese sebep olup olmadığı, serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) seviyelerine etkisini ve bu düzeyleri sigara kullanan ve kontrol grubundaki kişilerle karşılaştırılması amacıyla yapıldı.

Ülkemizin Şanlıurfa, Gaziantep ve Adıyaman gibi güney illeri ile birlikte İlimiz Kahramanmaraş'ta da bir dumansız tütün formu olan "Maraş otu" birçok kişi tarafından sıklıkla sigaraya alternatif olarak veya sigarayı bırakma amaçlı kullanılmaktadır. Maraş otu genellikle sigaraya alternatif ya da sigarayı bırakma amacıyla kullanılmakta olan bir dumansız tütün formu olup, insan sağlığı üzerine birçok olumsuz etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Maraş otu kullanımının sigara gibi bağımlılık yapıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Sigarada bulunan kanser ve mutasyona yol açabilecek çok sayıda zararlı katkı maddesi değişik miktarlarda dumansız tütün ürünüde de bulunmaktadır (108,109,110,111) ve yol açtıkları sağlık problemleri birçok çalışmada ortaya konmuştur.

Dumansız tütün ürünleri arasında en çok kullanım alanına sahip olan Maraş otunun da kanserojenik, genotoksik etkileri ile özellikle oral, özefageal, pankreas kanseri oluşumunda baş aktör olduğu (112,113,114,115) yine solunum sistemi, kardiyovasküler sistem ile immünolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine de olumsuz etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur (116,117,118). Kahramanmaraş ilinde yapılan toplum tabanlı bir çalışmada bireylerin %16,8'inin Maraş otu kullandığı belirlenmiştir. Erkeklerin %25,1'i, kadınların %1,4'ü Maraş otu kullandığını ifade etmiştir (119).

Birçok çalışmada sigaraya bağlı serbest oksijen radikallerindeki artışın hücre lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu yıkıcı etkilerin sonucu olarak sigara yaklaşık 50 kronik hastalığın ve 20'ye yakın ölümcül hastalığın nedeni durumundadır(120).

Sigaranın içerdiği kanserojenik, mutajenik ajanlar değişik oranlarda dumansız tütün ürünlerinde de mevcuttur (121) ve neden oldukları sağlık sorunları çalışmalarda gösterilmiştir. Diş çürükleri, diş eti ve periodontal hastalıklara yol açarak ağız sağlığını bozduğu, oral mukoza kanseri, dudak kanseri, farenks, larenks, özefagus kanseri, nasal kavite, mide, pankreas, böbrek ve mesane kanseri görülme riskini artırdığı, merkezi sinir sistemini etkilediği, kalp damar hastalıklarına neden olduğu saptanmıştır (122).

Bu önemli ve kronik hastalıkların patogeneğinde vücuttaki oksidatif stres artışının önemli rolü bulunmaktadır.

Tütün ürünleri kullanımının oksidatif stres üzerine etkisini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Maraş otu kullanımının oksidatif stres üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada, hücreleri oksidatif hasarlardan koruyan enzimlerden bazıları olan SOD, CAT, MDA ve GP6D'in seviyeleri ölçülmüştür. Maraş otu kullanımıyla bu enzimlerin seviyelerinde azalma görüldüğü bildirilmiştir (123).

İMA üretiminin en önemli nedeni reaktif oksijen radikalleridir. Sigara kullanımı reaktif oksijen radikallerinin arttırmakta ve bu radikallerde İMA düzeyinde artışa neden olmaktadır (124).

Bizim çalışmamızda sigara içen ve dumansız tütün kullanan grupta İMA aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Battal ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada İMA düzeyinin sigara içen bireylerde içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu ancak gruplararası farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır (125).

Altuntaş ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise sigara kullanan ve kullanmayan hasta grupları ve sağlıklı bireylerden oluşan 3 grup arasında İMA ortalamalarının sigara içen hasta grupta diğer gruplardan daha yüksek olduğu ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı belirlenmiştir (126).

Sigara içimi İMA aktivitesini artırırken dumansız tütün kullanımı İMA aktivitesini azaltmaktadır. Artan oksidatif stres ile beraber İMA aktivitesinin azaldığı kabul edilmektedir. Bu çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, İMA aktivitesinin düşük olmasının sebeplerinden birinin de yükselen oksidatif stres olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmaya katılanların hepsi erkek olup, 25–55 yaş aralığındadırlar. Toplam 111 kişiden oluşan 3 çalışma grubu oluşturulmuştur. Maraş otu kullanan grupta sigara kullanmayan, sigara kullanan grupta da Maraş otu kullanmayan kişiler yer alırken, kontrol grubunda ise sigara ve Maraş otu kullanmayan sağlıklı kişiler yer almıştır.

Toplanan kan serumu örneklerinde Spektrofotometrik olarak albumin kobalt bağlama testi (ACB) ölçüm yöntemiyle İMA düzeyleri çalışılmıştır.

Sigara içen, Maraş otu kullanan ve kontrol grupları arasında İskemi Modifiye Albümin (İMA) değerlerinin karşılaştırıldığı çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmada sigara içen ve dumansız tütün kullanan grupta İMA aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamda daha yüksek olduğu belirlendi. Sigara içimi İMA aktivitesini artırırken dumansız tütün kullanımı İMA aktivitesini azaltmaktadır. Bu çalışmada ortaya çıkan sonuçlar sigara ve Maraş otunun halk sağlığına etkilerinin değerlendirmede faydalı olacaktır. Diğer taraftan, bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmamızın sonraki araştırmalara da katkısı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Davis PH. Flora of Turkey. p. 572, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1982.
2. Davis DL. Nielson MT. Tobacco: production, chemistry and technology. p. 467, Blackwell Science Ltd, Oxford, 1999.
3. Karaconj LB. Facts about nicotine toxicity. Arhivza Higijenu Radai Toksikologiju, 2005; 56: 363-371.
4. Graul AI. Prous JR. Executive summary: nicotine addiction. Drugs of Today Barcelona, 2005; 41: 419-425.
5. Gökpinar E. Maraş otu (ağız otu) tükürük total sialik asit, ksantin oksidaz, adenozin deaminaz ve malondialdehit düzeylerine etkisi araştırılması. Kahramanmaraş sütçü imam Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2008.
6. Çıkın A, Işıklı E. Türkiye’de tütün tarımı, Türkiye’nin uzun vadeli tütün politikası. İktisadi Araştırmalar Vakfı, 1990; 78.
7. Pelletier SW. Alkaloids, chemical and biological perspectives. p. 320, John Wiley and Sons, New York, 1985.
8. Cordell G. The alkaloids: chemistry and biology. San Diego, Elsevier, 2001; 57: 291.
9. Lewis JJ. An Introduction to pharmacology. p. 13013, E-S Livingstone Ltd, Edinburg, 1964.
10. Karczmar AG. International encyclopedia of pharmacology and therapeutics. Pergaman Pres, Oxford, 1966; 1: 18-22.
11. Kaymakçalan Ş. Tütünün farmakolojisi ve toksikolojisi. Ankara Tıp Mecmuası, 1980; 33: 497-506.
12. Kayaalp SO. 1986. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ulucan Matbaası, 1986; 3: 2137-2149.
13. Endoh K, Leung FW. Effects of smoking and nicotine on the gastric mucosa:a reviwier of clinical and experimental evidence. Gastroenterology, 1994; 107: 864-878.
14. Fielding JE. Smoking: Health effects and control. new england. Journal of Medicine, 1985; 8: 491-498
15. Seyler LE, Fertig J, Pomerlau O, Hujnt D, Parker K. The Effects of smoking and cortisol secretion. Life Sciences, 1984; 34: 57-65.

16. Paton WDM, Payne JP. Pharmacological principles and practise. p. 18-35. J-A Churchill Lth, London, 1968.
17. Hecht SS, Chen C.B, Hoffman D. Tobacco-specific nitrosamines: occurrence, formation, carcinogenicity and metabolism. Accounts of Chemical Research, 1979; 12: 92–97.
18. Reynolds JEF, Parfitt K, Parson AV, Sweetman SC. Martindale, the Extra Pharmacopoeia. pp. 1594- 1595, The Pharmaceutical Press, London, 1989.
19. Warburton DM, Wesnes K, Shergold K. Facilitation of learning and state dependency with nicotine. Psychopharmacol, 1986; 89: 55-59.
20. Godmann GA, Goodman LS, Rall TW. The Pharmacological Basis of Therapeutics. pp. 217-218, Mc Millan Publishing Computer, New York. 7th Edition, 1985.
21. Saitoh F, Noma M, Kawashima N. The Alkaloid contents of sixty nicotiana species. Phytochemistry, 1985; 24: 477-480.
22. www.google.com.tr
23. Erenmemioğlu A, Tekol Y, Kartal M, Kurucu S. The use of smokeless tobacco in our country “Maras Powder”. Turk J Med Sci 1992; 16: 567-76.
24. Büyükbese MA, Köksal N, Güven A, Çetinkaya A. Effects of smokeless tobacco “Maras Powder” use on respiratory function. Tohoku J Exp Med 2004; 204:173-8.
25. Rozi S, Akhtar S. 2007. Prevalence and predictors of smokeless tobacco use among high-school males in karachi, Pakistan. Eastern Mediterranean Health Journal, 2007; 4: 916-924.
26. Wolfe MD, Carlos JP. Oral Health Effects of Smokeless Tobacco Use in Navajo Indian Adolescents. Community Dentistry and Oral Epidemiology, 1987; 22: 158-164.
27. Çok I. Dumansız tütün kullanımının insan sağlığı üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri, 1998; 18: 24-29.
28. Mattson ME, Winn DM. Smokeless Tobacco Association with increased Cancer Risk, National Cancer Institute Monographs, 1989; 20: 89-92.
29. Rodu B, Jansson C. Smokeless tobacco and oral cancer: a review of the risk and determinants. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine, 2004; 21:156-157.
30. Pomerleau O, Arbor A. Nicotine and central nervous system: biobehavioral effects of cigarette smoking. The American Journal of Medicine, 1992; 9:2-7.
31. Schroder KL, Chen MS. Smokeless tobacco and blood pressure. The New England Journal of Medicine, 1981; 312: 919.

32. Allen SS, Hatsukami D, Jensen J, Grillo M, Bliss R. Effects of treatment on cardiovascular risk among smokeless tobacco users. *Preventive Medicine Bulletin*, 2002; 6: 242-245.
33. Asplund K. 2003. Smokeless tobacco and cardiovascular disease. *Mutation Research*, 2003; 36: 124-128.
34. Tucker LA. Use of smokeless tobacco, cigarette smoking and hyper cholesterolemia. *American Journal of Public Health*, 1989; 79:1048-1050.
35. Hannan MA, El-Yazığı A, Paul M, Gipson DP, Philips, R.L. Genotoxicity of 'shamma', a chewing material suspected of causing oral cancer in Saudi Arabia. *Mutation Research*, 1986; 169: 41-46.
36. Adhvaryu SG, Dave BJ, Trivedi AH. Cytogenetic surveillance of tobaccoarea nut (mava) chewers, including patients with oral cancers and premalignant conditions. *Mutation Research*, 1991; 261:41-49.
37. Jansson T, Romert L, Magnusson J, Jenssen D. Genotoxicity testing of extracts of a swedish moist oral snuff. *Mutation Research*, 1991; 261:101-115.
38. Das RK, Dash BC. Genotoxicity of 'Gudakhu', A Tobacco Preparation. In *Habitual Users. Food and Chemical Toxicology*, 1992; 30: 1045-1049.
39. Bagwe AN, Ganu UK, Gökale SV, Bhisey RA. Evaluation of the Mutagenicity of 'Pan Masala', A Chewing Substitute Widely Used in India. *Mutation Research*, 1990; 241: 349-354.
40. Niphadkar MP, Bagve AN, Bhisey RA. Mutagenic potential of indian tobacco products. *Mutagenesis*, 1996; 11:151-154.
41. Mukherjee A, Giri AK. Sister chromatid exchange induced by 'Pan Masala' (A Betel Quid Ingredient) in male mice in vivo. *Food and Chemical Toxicology*, 1991; 29:401-403.
42. Dave BJ, Trivedi AH, Adhvaryu SG. Cytogenetic Studies Reveal Increased Genomic Damage Among "Pan Masala" Consumers. *Mutagenesis*, 1991; 6:159-63.
43. Stich HF, Curtis JR, Parida BB. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *International Journal of Cancer*, 1982; 30:553-559.
44. Kayal JJ, Trivedi AH, Dave BJ, Nair J, Nair UJ, Bhide SV, et al. 1993. Incidence of Micronuclei in Oral Mucosa of Users of Tobacco Products Singly or in Various Combinations. *Mutagenesis*, 8:31-33.

45. Bennet JE. Antimicrobial agents. pp. 1175-1190. Molinioff PB, Ruddon RW. (eds). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of therapeutics (9th). Mc Graw – Hill New York 1996.
46. Coşkun O, Armutçu F, Kanter M, Kuzey GM. Protection of endotoxin-induced oxidative renal tissue damage of rats by vitamin E or/and EGb 761 treatment. J Appl Toxicol. 2005; 1:8-12.
47. Serarslan G, Altug E, Kontaş T, Atik E, Avcı G. Caffeic acid phenethyl ester accelerates cutaneous wound healing in a rat model and decreases oxidative stress. Clin Exp Dermatol 2007; 6:709-15.
48. Zhu YJ, Zeng T, Zhu YB, Yu SF, Wang QS, Zhang LP et al. Effects of Acrylamide on the Nervous Tissue Antioxidant System and Sciatic Nerve Electrophysiology in the Rat. Neurochem Res 2008; 8;10-14.
49. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med. 1991; 91: 14-22.
50. Kaynak K. Akciğer Kanserinde Oksidatif Hasarın Rolü. Solunum, 2002; 4;468-473
51. Maher P, Schubert D. Signaling by reactive oxigen species in the nervous system. Cell Mol Life Sci 2000; 57:1287-1305.
52. Gilbert DL, Colton CA. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Inter disciplinary Approach. Mc Graw –Hill New York, 2002; 856-867.
53. Boyunaga H, Çelik C. Serbest radikaller ve hücre sel denge. Bilim Teknik Dergisi, 1996; 347:98-100.
54. Meister A. Glutathione Ascorbate and cellcycle regulation. FEBBS letters. 1994; 1-4.
55. Southorn P, Powis G. Free radical in medecine I. Chemical nature and bidogical reactions. J Mayo Clin Proc. 1988; 63: 381–8.
56. Dilmen Bayar B. Servikal Disk Herni Tanısı Konmuş Hastalarda Total Oksidatif Stres ve Antioksidan Statü İle Eritrosit Ve Trombosit İndekslerinin Araştırılması. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 2013.
57. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya Mimoza Yayınları, 1. Baskı, 1995; 1-84.
58. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi, 2002; 33:2,110-8.
59. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. Arch Biochem Biophys. 1986; 246: 501–514.

60. Winterbourn CC, Kettle AJ. Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 305: 729–736.
61. Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovascular Research*, 2004; 61:461–470
62. Mccord JM. The evolution of free radicals and oxidative stres. *Am J Med*. 2000; 108: 652–659.
63. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
64. Sies H. Oxidative stress. from basic research to clinical application. *Am J Med*, 1991; 91: 3, 31-38.
65. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *Lancet*. 1994; 344: 721–724.
66. Kuyvenhoven JP. Meindersae. oxidative stres and diabetes mellitus, pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Medicine* 1999; 10: 9-19.
67. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom*. 2000; 9: 31–9.
68. Özkan A, Fışkın K. Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 2004; 14: 52-60
69. De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and inhumans. *Free Radic Biol Med.*, 1999; 26:202-226.
70. Aviram M. Malondialdehit affects the physico-chemical and biological charesteristics of oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 1990; 34: 141-143.
71. Esterbauer H, Wa G, Pulh H. Lipid peroxidation. *Br Med Bul*, 1993; 49: 566-576
72. Thomas JA. Including glutathione, a peptide for cellular defense against oxidative stres,1999; 594.
73. Canoruç N, Çiçek R, Atamer A, Dursun M, Turgut C, Güneli E, Canoruç F. 2001. Protective effects of vitamin E selenium and allopurinol against stres-induced ulcer formation in rats. *Turk J med Sci*, 2001;31:199-203.
74. Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW. Fiziyojik öneme sahip lipidler. s. 913, N. Dikmen, T. Özgünen. (ed.), Harper'in Biyokimyası, 24. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 1996.
75. Soderger E. Lipid peroxidation in vivo. Uppsala University. *Acta Universitatis Upsaliensis Uppsala*, 2000.

76. Rio DD, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease*, 2005; 15:316-328.
77. El-Yassin HD, Hasso NMA, Al-Rubayi HA. Lipid profile and lipid peroxidation pattern pre and post exercise in coronary artery disease. *Turk J Med Sci*, 2005; 35:223-228.
78. Uzun K, Vural H, Öztürk T, Özer F, İmecik İ. Diagnostic value of lipid peroxidation in lung cancer. *Eastern Journal of Medicine*, 2000; 2:48-51.
79. Kabel, A.M. (2014). Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2(3):35-38.
80. Baş S. Gebelerde Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Seviye, Oksidatif Stres İndeksi ve Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi. *Karabük Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Karabük*, 2018.
81. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969; 244(22): 6049–55.
82. Karabiga M. Aprotinin'in deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarı üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi, Isparta*, 2006.
83. Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience*. 1999; 4: 339–345.
84. Whittaker M, Whittaker JW. A glutamate bridge is essential for dimer stability and metal selectivity in manganese superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1998; 273: 22188–22193.
85. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010; 3(1):91-100.
86. Shidhu P. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *ChemicoBiological Interactions*. 2004; 150: 199–209.
87. Steinberg D. Is there a potential therapeutic role for vitamin E or other antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipitol*. 2000; 116: 603–7.
88. Gruszecki WI, Strzalka K. Carotenoids as modulators of lipid membrane physical properties. *Biochim Biophys Acta*, 2005; 30: 108–15.
89. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 47: 119-29.

90. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, Oxidative Damage And Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann Bot (Lond)* 2003; 9.
91. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*, 1984; 15: 1-15.
92. Chawla R, Goyal N, Calton R, Goyal S. Ischemia modified albumin: A novel marker for acute coronary syndrome. *Indian J Clin Biochem*, 2006; 1:77-82.
93. Sbarouni E, Georgiadou P, Voudris V. Ischemia modified albumin changes review and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*, 2011; 2:177-184.
94. Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M. Ischemia-modified albumin level in type 2 diabetes mellitus - Preliminary report. *Disease Markers*, 2008; 6:311-317.
95. Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR. The role of albumin in critical illness. *Br J Anaesth*, 2000; 85: 599-610.
96. Çetinkaya Y. Koroner arter hastalığı tanısında efor testi ve iskemi-modifiye albüminin birlikte kullanımı. Erciyes Üniversitesi, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi. Kayseri, 2006.
97. Dursun A, Okumuş N, Zenciroglu A. Ischemia-modified albumin (IMA): could it be useful to predict perinatal asphyxia?. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2012; 11:2401–2405.
98. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P. Current role of ischemia-modified albumin in routine clinical practice. *Biomarkers*, 2010; 8: 655–662.
99. Sbarouni E, Georgiadou P, Kremastinos DT, Voudris, V. Ischemia Modified Albumin: Is This Marker of Ischemia Ready for Prime Time Use? *Hellenic Journal of Cardiology*, 2008; 49: 260-266.
100. Dündar ZD, Cander B, Gül M, Karabulut K, Girişgin S. Serum ischemia-modified albumin levels in an experimental acute mesenteric ischemia model. *Academic Emergency Medicine* 2010; 17:1233–1238.
101. Gaze DC. Biomarkers of Cardiac Ischemia. *Intech*. 2013; 1-10.
102. Ahmad A, Manjrekar P, Yadav C. Evaluation of Ischemia-Modified Albumin, Malondialdehyde, and Advanced Oxidative Protein Products as Markers of Vascular Injury in Diabetic Nephropathy. *Biomarker Insights*, 2016; 11:63–68.
103. Kaplan M, Yüksel M, Ateş İ, Kılıç ZMY, Kılıç H, Kuzu UB, ve ark. Is ischemia modified albumin a disease activity marker for inflammatory bowel diseases? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2016; 31:1120–1125.
104. Bar-Or DLE. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *Emerg Med J*, 2000; 311-315.

105. Bar-Or DWJ. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: A preliminary comparison to creatinekinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*, 2001; 141:985-91.
106. Bhagavan NV, Lai Me, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, Honda SA, Rios CN, Sugiyama CE, Ha CE. Evaluation of Human Serum Albumin Cobalt Binding Assay for the Assessment of Myocardial Ischemia and Myocardial Infarction. *Clin Chem*, 2003; 49:581- 585.
107. Eom JE, L. E. Development of an albumin copper binding (ACuB) assay to detect ischemia modified albumin. *Anal Sci*, 2014; 30:985-90.
108. Stanbury JB. Scriver CR. Disorder of proline and hydroxyproline metabolism. In the metabolic basis of inherited disease. 4th ed. 1978; 336-361.
109. Myara I. Plasma prolidase activity. A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem*. 1984; 30: 211-15.
110. Berardesca E, Fidell D. Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol*. 1992; 126: 193-95. 19.
111. World Health Organization. History of Tobacco. <http://www.who.int/tobacco/en/atlas2.pdf> erişim tarihi: 09.08.2021.
112. Gür M. Genel tütüncülük ders notları. ss. 2-5, İstanbul Üniversitesi Tütün Ekspertleri Yüksek okulu Yayınları, İstanbul, 1979.
113. Uzunca G. Tütünün tarihi: Sigara ve sağlık, s. 22-29, Bursa, 2002.
114. Sapan H. Türk tütününde fiyatlandırma politikası. Trakya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 1997
115. Yılmaz F. Tütünün macerası. *Tombak Dergisi* 2000; 33: 83-7.
116. Barış İ. Tütün kullanımının tarihçesi. Toraks Derneği Merkezi Kursları: Tütün Kontrol Uzmanlığı, Ankara, 2003.
117. Peçevi İ. Peçevi tarihi. s.196-7, (Çeviri: Uraz M). Neşriyat Yurdu Yayınları, İstanbul, 1968.
118. Yılmaz F. Tütünün macerası II. *Tombak Dergisi*, 2000; 34: 24-30.
119. Asut A. Sigara ve hekim. *Türk Tabipleri Birliği Yayınları*, Ankara, 1993.
120. Akçay Ş. Tütün Kontrolü. *Türk Toraks Derneği VI. Kış Okulu* 2007; 105.
121. Köksal N, İnanç F, Kılınç M. Sigara ve dumanlı tütün (Maraş otu) kullananlarda serum adenozin deaminaz düzeyleri. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 2004;2;7-11.

122. Nağaş S. Maraş otu kullanımının mikronükleus düzeyine etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 2006.
123. Kılınc M, Okur E, Kurutas EB, Güler FI, Yıldırım, I. The effects of Maras powder (smokeless tobacco) on oxidative stress in users. *Cell Biochem Funct* 2004; 4:233-236.
124. Akgöl E, Abusoglu S, Akarca FK, Ellidag HY, Arslan B, Ustuner F. (2016). Smoking is not Associated with Increased Ischemia-Modified Albumin Levels in Acute Coronary Syndrome. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 2016; 1: 18-22.
125. Battal F, Tekin M, Aylanç H, Yıldırım Ş, Türkön H, Binnetoğlu FK, Topaloğlu N. Serum ischemia-modified albumin levels in adolescent smokers. *International Journal of Adolescent Medicine and Health*, 2018; 1: 1-5.
126. Altuntaş E, Bengü AŞ, Kiraz ZK, Mertoğlu C, Dalar L, Usalp S, Çiftçi Ç. Yeni Tespit Esansiyel Hipertansiyon ile Sigara, Asimetrik Dimetil Arginin ve İskemik Modifiye Albumin Arasındaki İlişki. *Istanbul Medical Journal*, 2017; 2: 86-90.

8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Tütün yaprağının morfolojik görüntüsü	3
Şekil 2. Nicotiana rustica L. Bitkisi.....	7
Şekil 3. Maraş otunun paketlenmiş görüntüsü	8
Şekil 4. Maraş otunun kullanıma hazırlanışı	8
Şekil 5. Maraş otunun kullanıma hazır görüntüsü.....	9
Şekil 6. Oksijen kaynaklı radikal oluşumu	12
Şekil 7. Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonları	16
Şekil.8. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu	17
Şekil 9. Malondialdehit (MDA) oluşumu	18
2.8. Antioksidanlar	19
Şekil 10. Antioksidan savunma mekanizması	20
Şekil 11. İnsan Serum Albümin (HSA: Human Serum Albümin)'in biyokimyasal yapısı	24
Şekil 12. İskemik dokularda İMA oluşumu	25
Şekil 13. Grupların yaş ve İMA ortalamaları	30
Şekil 14. Grupların İMA ortalamalarının karşılaştırılması.....	31

9. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Oksijen türevi bileşikler	11
Tablo 2. Endojen ve Ekzojen Kaynaklı Antioksidanlar	19
Tablo 3. Katılımcıların Yaş ve İMA Ortalamaları	30
Tablo 4. İMA Değerlerine Göre Gruplar Arası Karşılaştırmalar	30
Tablo 5. İMA Değerlerine Göre Grup İçi İkili Karşılaştırmalar	31



10. EKLER DİZİNİ

Sayfa No

EK 1: Etik Kurul Karar Formu 47



11.EKLER

EK 1: Etik Kurul Karar Formu



