

## STABİL ASTIMLI HASTALARDA SERUMDA LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ

Mukadder ÇALIKOĞLU\*, Ali ÜNLÜ\*\*, Ramazan BİLGİN\*\*\*, Lülüfer TAMER\*\*, Sibel ATIŞ\*, Bahar ULUBAŞ\*, Arzu KANIK\*\*\*\*.

- \* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN.  
\*\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, MERSİN.  
\*\*\* Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA.  
\*\*\*\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, MERSİN.

### ÖZET

*Bu çalışmada hafif, stabil bronşiyal astımlı hastalarda majör intrasellüler antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonunu araştırmayı amaçladık. 40 stabil astımlı hasta ile 33 sağlıklı birey çalışmaya alındı. Hasta grubunun yaş ortalaması 37.95±2.06 yıl; kontrol grubunun yaş ortalaması 33.84±1.06 yıl ve % beklenen FEV<sub>1</sub> değeri ortalaması hasta grubu için 82.35±2.41; sağlıklılar için ise 96.33±1.36 idi. Her iki gruptan süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerinin ve malondialdehit düzeyinin saptanması için venöz kan örnekleri alındı. Serum malondialdehit düzeyleri hastalarda kontrollere göre anlamlı yüksek bulundu (p<0.007). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit katalaz aktivitesi hasta grubunda anlamlı düşük iken (p<0.0001); eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi belirgin yüksek (p<0.0001) bulundu. Verilerimiz, kronik hava yolu inflamasyonu ile karakterize hafif stabil bronşiyal astımlı hastalarda lipid peroksidasyonunun ve antioksidan enzim sistemlerinin etkilendiğini düşündürmektedir.*

**Anahtar kelimeler:** Lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktivitesi, astım

(Solunum 2002:4:458-462)

### SUMMARY

#### LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN THE SERA OF THE PATIENTS WITH MILD STABLE ASTHMA

*In this study, we aimed to investigate the major intracellular enzyme activity and lipid peroxidation in the sera of the patients with mild stable asthma. 40 stable asthma patients and 33 healthy controls were included in this study. The mean age of the patient group and the control group were 37.95±2.06 and 33.84±1.06 years respectively. Expected %FEV<sub>1</sub> values in the patient and the control groups were 82.35±2.41, 96.33±1.36 respectively. In order to determine plasma malondialdehyde (MDA) erythrocyte catalase and superoxide dismutase activities, blood samples from both groups were collected. MDA levels were significantly higher in patients sera than the control group (p<0,007). Superoxide dismutase activities were also higher (p<0,0001) while catalase activities were lower (p<0,0001) in patients erythrocytes compared to the control group's levels. Our results suggest that lipid peroxidation and antioxidant enzyme systems are affected in patients with mild stable asthma characterized by chronic airway inflammation.*

**Key words:** Lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity, asthma

(Solunum 2002:4:458-462)

**Yazışma Adresi:** Mukadder ÇALIKOĞLU, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN.

Tlf: 0324 337 43 00 / Fax: 0324 337 4305

e mail: mcalikoglu@hotmail .com

## GİRİŞ

Astım hava yollarına inflamatuvar hücre akımı sonucu gelişen kronik inflamasyon ve reversibl hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Bu hücrelerin immünolojik ya da nonimmünolojik olarak uyarılması, süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi ile sonlanır (1). SOR vücutta fizyolojik olarak oluşabilen ve eşleşmemiş bir elektron içeren reaktif moleküllerdir (2). Bunların düzeyi, vücudun antioksidan savunma sistemleri tarafından nötralize edilerek dengede tutulur. Bu dengenin SOR lehine bozulması protein, lipid, nükleik asit gibi önemli moleküllerde yıkıcı reaksiyonları başlatabilir (2). SOR astımla ilişkili bir çok patofizyolojik süreçte rol alabilir (3,4,5). Oksidan/antioksidan dengedeki, oksidanlar lehine bir bozulma direk olarak akciğer ve hava yolu epitel hücreleri üzerinde hasara neden olabilir (6). SOR'ne bağlı doku hasarı oluşumunda en önemli mekanizma hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğramasıdır (2). Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarının bir göstergesi olarak kullanılabilir. Lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinden biri malondialdehittir (MDA). Bu molekül oksijen redüksiyonu yaparak süperoksit anyon ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur, bu ürünler de hücre ve dokulara hasarlayıcı etki yaparlar (2). Nötrofiller tarafından üretilen bu radikaller vücutta kan ve doku antioksidanları tarafından ortadan kaldırılır (7). Akciğerler hem intraselüler hem de ekstraselüler düzeyde, solunum sistemi hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan yaygın ve güçlü bir antioksidan sisteme sahiptir (7). Bu sistem süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri (7) ve askorbik asit, tokoferoller ve karoten gibi antioksidan molekülleri içerir (8). Bu enzimlerin aktiviteleri hücrelerin serbest radikallere maruziyetinin derecesini yansıtabilir. Dolayısıyla, onların vücuttaki aktivitelerinin belirlenmesi doku dejenerasyonu hakkında önemli bilgiler verebilir (9). Bu çalışmada kronik hava yolu inflamasyonu ile seyreden bronş astımında majör intrasellüler antioksidan enzimler olan SOD ve katalaz aktiviteleri ve lipid peroksidasyon ürünü MDA'in serum düzeylerini araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniğine ardışık olarak başvuran 13'ü erkek 40 stabil astımlı ve ek hastalığı olmayan olgu üzerinde yapıldı. Kontrol grubu olarak 19'u erkek 33 sağlıklı gönüllü çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan tüm olgular anamnez, fizik muayene, akciğer radyogramı, hemogram, rutin biyokimya tetkikleri, sigara içme ve atopi öyküleri, solunum fonksiyon (SFT) ve prick cilt testleri ile değerlendirildi. Solunum fonksiyon testleri için Vmax 22 Sensormedix cihazı kullanıldı ve üstüste yapılan üç ölçümden en iyisi seçilerek sonuç bildirildi. Atopi, 13 adet standart aeroallerjen (D. farinei, D. Pteronyssinus, Çim polenleri, Tahıl polenleri, Ağaç polenleri, Yabani ot polenleri, Küf mantarları, Hayvan epitelleri) kullanılarak prick yöntemi ile yapılan deri testleri ile değerlendirildi (Stallergenes S.A.-Pasteur Fransa). Tüm hastaların astım tanıları, var olan astım semptomlarının ve öykülerinin Amerikan Toraks Topluluğu'nun (ATS) belirlediği kriterlere uygunluğu ile konuldu (10). Hastaların son bir aydır sistemik steroid kullanmamaları, son üç aydır astım atağına girmemiş olmaları; tüm olgular için ise son üç aydır herhangi bir enfeksiyon geçirmemeleri dikkate alındı. 16 hasta iki aydır düzenli olarak 400µg/gün inhale steroid kullanıyordu. Her iki gruptan sabah aç karnına venöz kan örnekleri alındı ve santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Eritrosit katalaz aktivitesinin ölçümü: Eritrosit katalaz aktivitesi, katalaz tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yıkımının 230 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (11).

Eritrosit SOD aktivitesinin ölçümü: SOD enzim aktivitesi Marklund ve Roth tarafından önerilen yöntemle çalışılmıştır (12, 13).

Serum Lipid Peroksidasyon Ölçümü: Serum lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ölçümü, MDA'nın thiobarbituric acid (TBA) ile yapmış olduğu pembe renkli kompleksin 412 nm de ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (14).

İstatistiksel değerlendirme: MDA bakımından grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Katalaz ve SOD için ANOVA kullanıldı. Yaş kovaryant değişken olarak alındı. Grup cinsiyet, grup sigara interaksyonları incelendi. FEV1 düzeyi ile antioksidan enzimler ve MDA arasında ilişki olup olmadığı Pearson korelasyon analizi ile araştırıldı. Ortalamalar standart hataları ile birlikte verildi. Hesaplamalarda SPSS 10 istatistik paket programı kullanıldı. İstatistik yorumlamalarda maksimum 1. tip hata %5 olarak alındı (p<0.05).

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 40 stabil astımlı hastanın yaş aralığı 14-60; 33 sağlıklı kontrolün yaş aralığı ise 23-52 yıl idi. Hasta ve kontrol gruplarının her birinde 9 kişi sigara içiyordu. Hastaların ortalama FEV<sub>1</sub> (beklenen %) değerleri 82.35±2.41, kontrol grubunun ortalama FEV<sub>1</sub> (beklenen %) değerleri 96.33 0±1.36 bulundu. Gruplar arasında yaş, cinsiyet, sigara kullanımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05). Hastaların 20'sinde prick testi pozitifliği, 20'sinde allerjik rinit, 22'sinde %3'ün üzerinde periferik eozinofili vardı ve 16 hasta 400 µgr/gün şeklinde inhale steroid kullanıyordu. Sonuçlar Tablo I'de gösterilmiştir.

**Tablo I:** Hasta ve kontrol gruplarının özellikleri.

	Hasta (n:40)	Kontrol (n:33)	p
Yaş (yıl)	37.95±2.06	33.84±1.06	>0.05
Cins( E/K)	13/27	19/14	>0.05
Sigara (+/-) (%)	9/31	9/24	>0.05
FEV <sub>1</sub> (beklenen %)	82.35±2.41	96.33±1.36	
Atopi (+/-)	20/20		
Allerjik rinit (+/-)	20/20		
Periferik eozinofili (+/-)	22/18		
İnhale. steroid (+/-)	16/24		

FEV<sub>1</sub>: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar hacim, n: olgu sayısı

İstatistiksel anlamlılık: p<0.05

Serum MDA düzeyi, eritrosit SOD ve katalaz aktiviteleri hasta grubunda kontrol grubundan istatistiksel önemli derecede farklı bulundu. Veriler Tablo II'de izlenmektedir.

**Tablo II:** Hasta ve kontrol gruplarının MDA, SOD ve katalaz aktiviteleri.

İnceleme	Hasta (n=40)	Kontrol (n:33)	p
*MDA (nmol/ml)	4.95 (3.7-7.77)	3.67 (2.63-4.85)	<0.007
**SOD (U/grHb)	3954.7 5±116.13	2735.93±75.89	<0.0001
**Katalaz (U/grHb)	(6.15±0.26)x10 <sup>4</sup>	(1.7±0.6)x10 <sup>4</sup>	<0.0001

MDA: malondialdehit, SOD: süperoksit dismutaz

\*Sonuçlar ortalama ve alt %25-üst %75 değerler olarak verilmiştir.

\*\*Sonuçlar ortalama ve standart hata olarak verilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık: p<0.05

Hasta grubunda MDA düzeyi ile FEV<sub>1</sub> (r=-0.208, p>0.05), SOD aktivitesi ile FEV<sub>1</sub> (r=-0.112, p>0.05) ve katalaz aktivitesi ile FEV<sub>1</sub> (r=0.142, p>0.05) arasında bir korelasyon saptanmadı. Aynı grupta MDA ile SOD

(r=-0.002, p>0.05) ve MDA ile katalaz (r=-0.069, p>0.05) arasında bir ilişki bulunmadı.

Hastalar cilt testi pozitifliği, periferik eozinofili varlığı (%3'ün üzeri), allerjik rinitin eşlik edip etmemesi, inhale steroid kullanma durumlarına göre değerlendirildiklerinde gruplar arasında MDA, SOD, katalaz aktivitesi bakımından fark yoktu (p>0.05). Sigara kullanımı bakımından değerlendirildiğinde de gruplar arasında fark bulunmadı (p>0.05). Sonuçlar Tablo III ve IV'de izlenmektedir.

**Tablo III:** Hasta grubunda prick test pozitifliği, allerjik rinit ve periferik kan eozinofili varlığına göre MDA, katalaz ve SOD aktiviteleri.

	Prick (+) n:20	Prick (-) n:20	Eo (+) n:22	Eo (-) n:18	A.Rinit (+) n:20	A.Rinit (-) n:20
SOD	3874±179	4035±149	3877±164	4048±163	3918±176	694±155
Katalaz	(6.2±0.4) x10 <sup>4</sup>	(6±0.3) x10 <sup>4</sup>	(6.2±0.3) x10 <sup>4</sup>	(1.5±0.3) x10 <sup>4</sup>	(6.2±0.4) x10 <sup>4</sup>	(6±0.3) x10 <sup>4</sup>
MDA	6.2±1	6.5±1	5.8±1	7±1.1	6.2±1.2	6.5±0.9

A.rinit: Allerjik rinit, Eo: eozinofil, n: olgu sayısı

SOD: süperoksit dismutaz, MDA: malondialdehit.

\*İstatistiksel anlamlılık=p<0.05

**Tablo IV:** Hasta grubunda inhale steroid kullanımı ve sigara içimine göre MDA, katalaz ve SOD aktiviteleri.

	Sigara (+) n:9	Sigara (-) n:31	İnh.steroid (+) n:16	İnh.steroid (-) n:24
SOD	3881±237	3976±134	4044±149	3894±167
Katalaz	(5.6±0.4) x10 <sup>4</sup>	(6.2±0.3) x10 <sup>4</sup>	(5.3±0.3) x10 <sup>4</sup>	(6.6±0.3) x10 <sup>4</sup>
MDA	5.1±0.6	6.8±0.9	6.6±1.5	6.25±0.8

SOD: süperoksit dismutaz, MDA: malondialdehit.

\*İstatistiksel anlamlılık=p<0.05

## TARTIŞMA

Çalışmamızda kronik hava yolu inflamasyonu ile karakterize bronşiyal astımın stabil dönemlerinde serumda MDA seviyelerinin ve SOD aktivitesinin arttığı, katalaz aktivitesinin ise azaldığı görüldü. MDA'deki yükselme, hastalığın temelinde yatan kronik inflamasyonun oluşturduğu serbest radikal artışı ile hava yollarında oluşan lipid peroksidasyonunun bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir. Astımlı hastalarda MDA seviyesinde artma oksidatif aşım yükün antioksidan savunma kapasitesini aştığının bir göstergesi olabilir. Rahman ve ark.'nın çalışmasında (7) özellikle akut astım atağında sağlıklılara göre belirgin yüksek

olan plazma MDA düzeyleri, stabil astım hastalarında da sağlıklılara göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Serbest radikal metabolizmasında rol alan ve toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dönüşümünü sağlayan SOD aktivitesindeki artış, kronik inflamasyon sürecinde artan serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmaya yönelik bir koruyucu cevap şekli olabilir. SOD aracılığı ile oluşan hidrojen peroksit vücutta katalaz tarafından moleküler oksijen ve suya dönüştürülür. Böylece zararlı serbest radikaller vücudun enzimatik antioksidan savunması ile zararsız hale getirilir. Antioksidan bir enzim olan katalaz aktivitesinin hasta grubunda düşük bulunması ise bu enzimin serbest radikallerin metabolize edilmesi sırasında tüketilebileceğini akla getirmektedir.

Literatürde stabil astımlı hastalarda antioksidan enzim aktiviteleri hakkında değişik sonuçlara rastlanmaktadır. Tekin ve ark. (15) asemptomatik hafif astımlı hastalarda serumda eritrosit SOD aktivitesini düşük bulurken, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinde sağlıklı kontrollere göre anlamlı fark bulmadıklarını bildirmişlerdir. Onlar azalmış SOD aktivitesini, hastalığa bağlı olarak artan serbest oksijen radikallerini temizleme sırasında bu enzimin harcanmış olabileceğine bağlamışlardır. Bir başka çalışmada astımlı hastalarda eritrosit SOD aktivitesi kontrollere karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmektedir (16). Filip ve ark. (17) ise astımlı hastaların serumlarında SOD, katalaz ve SOD/katalaz oranını araştırdıkları çalışmalarında, hasta grubunda katalaz aktivitesinde %32 oranında artma ve SOD aktivitesinde ise %34 oranında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Astımda lokal antioksidan savunma mekanizmalarını araştırmayı amaçlayan çalışmalarda da bu enzimlerin aktiviteleri hakkında değişik veriler sunulmaktadır. Örneğin hafif astımlı hastalarda bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) katalaza ait bir aktivite saptamazken, SOD aktivitesinde hasta ve kontrol grupları anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir (18). Smith ve ark. (19) ise BAL ve bronşiyal fırçalama ile elde ettikleri hücrelerde SOD aktivitesinde anlamlı azalma bulurken, katalaz aktivitesinde ise kontrollere göre değişiklik olmadığını bildirmişlerdir.

Hasta grubunda MDA, antioksidan enzim aktiviteleri ve FEV<sub>1</sub> arasındaki ilişki araştırıldığında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Literatürde sağlıklı bireylerde yaş (20) ve sigara (20,7,21) içiminin MDA düzeylerinde artma ve antioksidan kapasitede azalmaya sebep olduğu bildirilmektedir (20). Bir çalışmada plazma antioksidan kapasitesinin sigara içmeyen sağlıklılarda içenlere göre anlamlı yüksek olduğu halde, sigarayı bırakanlarla

halen içenler arasında bir fark olmadığı bildirilmiştir (8). Biz hasta ve kontrol gruplarında sigara içimi, yaş ve cinsiyetin MDA düzeyi, SOD ve katalaz aktivitesini etkilemediğini bulduk. Demir ve ark. (22) sigara içiminin sağlıklılarda oksidatif strese yol açarak serum MDA düzeylerini arttırdığını bildirmişlerdir. Onların çalışmasında sigara içmeme kriteri olarak herhangi bir süre belirtilmemiş olmakla beraber, bu çalışmada antioksidan enzimler ve MDA düzeyinin sigaradan etkilenmemesinin nedeni, her iki grupta da ortalama bir ay önce sigarayı bırakanların da sigara içmeyenler arasında değerlendirilmesine bağlı olabilir. Ayrıca Duthi ve ark.'nın iki farklı araştırmasında (23, 24) da sigara içimi ile MDA düzeylerinin değişmediği bildirilmiştir. Hasta grubunda astıma allerjik rinitin eşlik etmesi, atopi varlığı, inhale steroid kullanımı ve periferik eozinofil yükseklığının de bu moleküllerin aktivitelerini etkilemediğini saptadık. Rahman ve ark. (8) da inhale steroid kullanımının antioksidan kapasiteyi etkilemediğini bildirmişlerdir.

Sonuçta, hafif astımlı stabil hastalarda MDA serum düzeylerinde ve eritrosit SOD aktivitesinde artışla birlikte, eritrosit katalaz aktivitesinde anlamlı azalma saptadık. Görülmektedir ki, astımlı hastalardaki SOD ve katalazın hem sistemik hem de lokal ölçümlerinde değişik sonuçlara rastlanmaktadır. Bu farklılıklar antioksidan savunma sistemlerinin astımdaki yeri konusunun henüz yeterince açıklığa kavuşmadığını ve bu konunun aydınlanmasının astım tedavisinde yeni ufuklar açabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Misso NLA, Powers KA, Gillon RL et al. Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients. *Clin Experimental Allergy* 1995; 26:838-847.
2. Şahin Ü, Tahan V, Akkaya A ve ark. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1999;47:31-35.
3. Kanazawa H, Kurihara N, Hirata K, Takeda T. The role of free radicals in airway obstruction in asthmatic patients. *Chest* 1991;100:1319-1322.
4. Barnes PJ. Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Radic Biol Med* 1990;9:235-243.
5. Tonel AB, Wallarent B. Oxidants and bronchial inflammatory processes. *Eur Respir J* 1990;3:987-988.
6. Lanan S, Donaldson K, Brown D, McNeer W. Effects of cigarette smoke and its condensate on alveolar cell injury in vitro. *Am J Physiol* 1994;266:92-100.
7. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, McNeer W. Systemic

- oxidative stress in asthma, COPD, and smoker. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1055-1060.
8. Rahman I, Swarska E, Henry M et al. Is there any relationship between plasma antioxidant capacity and lung function in smokers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease? *Thorax* 2000;55:189-193.
  9. Yıldırım Z, Hasanođlu CH, Kóksal N ve ark. Kayısı kükürtlemesinde çalışan işçilerde kükürt dioksit maruziyetine bağlı lipid peroksidasyonunun neden olduğu bronkokontraksiyon. *Solunum* 1999;1:11-16.
  10. American Thoracic Society. Standarts for diagnosis of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:225-244.
  11. Chance, B. Catalase and peroxidases, partII. Special methods. *Methods Biochem Anal* 1995;41:408-424.
  12. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974;47:469-474.
  13. Roth EF, Gilbert HS. The pyrogallol assay for superoxide dismutase: absence of a glutathione artifact. *Annal Biochem* 1984;137:150.
  14. Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Armstrong D, ed. *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. New York, Plenum Press, 1994:1-15.
  15. Tekin D, Sin BA, Mungan D et al. The oxidative defense in asthma. *J Asthma* 2000;37:59-63.
  16. Akkaya A, Şahin Ü, Ünlu M et al. Investigation of the levels of erithrocyte SOD and plasma MDA in patients with asthma. 1997;10:P1563.
  17. Filip F, Branisteanu D, Popovici I et al. *Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi* 1999;103:153-157.
  18. Smith LJ, Houston M, Anderson J. Increased levels of glutathione in bronchoalveolar lavage fluid from patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1461-1464.
  19. Smith LJ, Shamsuddin M, Sporn PH et al. Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma. *Free Radic Biol Med* 1997;22:1301-1307.
  20. Bridges AM, Scott NA, Parry GJ, Belch JJ. Age, sex, cigarette smoking and indices of free radical activity in healthy humans. *Eur J Med* 1993;2:205-208.
  21. Morrov JD, Frei B, Longmire AW et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers: smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995; 332:1198-1203.
  22. Demir S, Özkurt S, Köseođlu M ve ark. Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu. *Solunum* 2001;3:57-59.
  23. Duthie GG, Arthur JR, James WPT, Vint HM. Effect of vitamin E supplementation. *Ann NY Acad Sci* 1989;570:435-438.
  24. Duthie GG, Arthur JR, James WPT. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 1991;53 (suppl 4):1061-1063.