

## Sigaranın Karaciğerde Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler Üzerine Melatonin ve C Vitamininin Etkileri

Neriman ÇOLAKOĞLU<sup>a,1</sup>, Enver OZAN<sup>1</sup>, Mehmet Fatih SÖNMEZ<sup>1</sup>, Seval YILMAZ<sup>2</sup>, Gonca OZAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı,

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,

<sup>3</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ELAZIĞ

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada sigara toksikasyonunun karaciğer dokusunda oluşturduğu yapısal ve biyokimyasal değişiklikler üzerine C vitamini ve melatoninin koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada 24 adet Wistar cinsi ergin dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Birinci grup sıçanlar kontrol olarak kullanıldı, ikinci grup sıçanlara sigara inhale ettirildi. Sigara soluyan üçüncü ve dördüncü grup sıçanlara ise her gün sırasıyla melatonin ve C vitamini enjekte edildi. Deneysel sonunda sıçanlardan eter anestezisi altında karaciğer dokuları ve kan örnekleri alındı. Dokuların bir kısmı rutin histolojik prosedürlerden geçirilerek ışık mikroskopunda incelendi. Bir kısmı ise biyokimyasal tetkiklerle incelendi.

**Bulgular:** Işık mikroskopik incelemelerde ikinci gruptaki sıçanların karaciğer dokularında; sinüzoidlerde dilatasyon ve konjesyon, yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu ve karyoreksise giden hepatositler tespit edildi. Sigara ile birlikte uygulanan melatonin ve C vitamininin kısmen koruma sağladığı gözlemlendi. Yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde ikinci gruba ait karaciğer dokularında malondialdehit ve glutatyon düzeyleri ile katalaz aktiviteleri artmış olarak tespit edildi. C vitamini ve melatonin uygulamasının; karaciğer malondialdehit düzeyini anlamlı şekilde düşürdüğü, glutatyon düzeylerini anlamlı bir şekilde artırdığı, katalaz aktivitelerini ise etkilemediği gözlemlendi.

**Sonuç:** Sigara inhalasyonunun, lipid peroksidasyonunu ve antioksidan sistemi artırdığı, karaciğer dokusunda yer yer yapısal değişiklikler oluşturduğu tespit edildi. Bununla birlikte, C vitamini ve melatonin uygulamasının sigara toksikasyonuna karşı karaciğerde kısmi bir koruma sağladığı belirlendi.

©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Anahtar kelimeler:** Karaciğer, sigara, melatonin, c vitamini, ışık mikroskop

### ABSTRACT

#### Effects of Melatonin and Vitamin C on Smoke Induced Structural Changes in Liver

**Objectives:** This study was undertaken to investigate smoke-induced structural and biochemical changes and protective effects of co-administered of melatonin and vitamin C in the liver.

**Materials and Methods:** Twenty-four Wistar adult female rats were used in this study. Animals were divided into four groups. The first group rats used as control. The second group of rats were inhaled cigarette. Cigarette inhaled third and fourth group rats received melatonin and vitamin C respectively. End of experimental study liver tissues and blood samples were taken under the ether anesthesia. Tissues were prepared and examined by light microscopy. And biochemically, malondialdehyde and glutatyon levels and catalase activity were determined.

**Results:** In the light microscopic observation, sinusoidal dilatation and congestion, mononuclear cell infiltration in some area and karyorectic hepatocytes were detected in the groupe II. In the cigarette inhaled third and fourth group rats received melatonin and vitamin C respectively liver tissues were protected against smoke relatively. Biochemical examination showed us malondialdehyde and glutatyon levels and catalase activity in the group II higher than group I. While malaondialdehyde levels were decreased by melatonin and vitamin C glutatyon levels were increased. Catalase activity did not change in these groups.

**Conclusion:** As a result, it was determined that cigarette inhalation increased lipid peroxidation and antioxidant system and caused structural changes in the liver. However, it was determined that administration of melatonin and vitamin C provided relative protection against smoke intoxication.

©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Key words:** Liver, cigarette, melatonin, vitamin c, light microscope

Sigara günümüzün en önemli halk sağlığı problemlerinin başında gelmektedir. Sigara 4700 tanımlanmış bileşeniyle kompleks bir karışımdır. Sigara içimi sırasında çok sayıda serbest radikal ve reaktif oksijen ürünleri açığa çıkmaktadır (1). Sigaranın akciğer, larinks, orofarinks, böbrek, mesane, testis ve meme kanserlerine neden olduğu rapor edilmiştir (2-5). Sigaranın toksik bileşenlerinden en önemlisi nikotindir.

Nikotin doku ve serumda kolesterol, fosfolipid, trigliserid ve trigliseritten zengin lipoprotein sentezini artırmaktadır. Nikotinin lipoprotein metabolizmasını etkileyerek ateroskleroza yol açtığı bildirilmektedir (6). Sigaranın içinde bulunan ve oldukça toksik maddelerden biri de kadmiyumdur. Uzun süreli kadmiyum maruziyeti bu metalin karaciğer ve böbrekte birikmesine neden olurken akut maruziyeti

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. Neriman Çolakoğlu, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 23119 ELAZIĞ

\* Bu Çalışma VII. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi 18-21 Mayıs Mersin'de sunulmuştur.

Tel: 0424 2370000

e-mail: nerimancozakoglu@hotmail.com

karaciğerde birikmesine neden olmaktadır. Kadmiyum uygulaması karaciğerde apoptozisi indüklemektedir (7). Bu bağlamda sigara dumanının uzun süre inhalasyonu karaciğer dokusunu etkilemektedir. Ratlarda yapılan deneyler sonucunda sigaraya bağlı olarak hepatositlerde lipid tanecikleri, sinüzoidlerde genişleme ve düzensizlik meydana geldiği saptanmıştır (8).

Melatonin yaşlanma-karşıtı, kimyasal karsinogenlere karşı DNA'yı koruyucu etkisi olan ve pineal bezden salgılanan bir hormondur. Antioksidan aktivitesi reaktif serbest radikallere karşı direk kovucu etkisinden daha çok antioksidatif enzimleri sitümlü etme yeteneği ile ortaya çıkmaktadır (9). C vitamini kollagen, karnitin ve nörotransmitterlerin biyosentezi için gerekli olan suda çözünebilir önemli vitaminlerden biridir. Diyetle alınan askorbik asit kalp hastalıklarından dolayı olabilecek ölüm insidansını azaltmaktadır. Stres, sigara, alkol, ateş ve viral enfeksiyonlar kan-askorbik asit düzeyinin hızla düşmesine neden olurlar (10).

Bu çalışmada bir çok organda kanserojenik etkisi olduğu bilinen sigaranın, karaciğer dokusunda oluşturduğu hasara karşı uygulanan melatonin ve C vitamininin koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmayla ilgili olarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı ve "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uyularak hayvan haklarının korunmasıyla ilgili gereken titizlik gösterildi. Bu çalışmada 24 adet Wistar cinsi ergin dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol; ikinci grup 3 ay boyunca günde iki kez 1'er saat ikişer adet sigara (Birinci-Tekel) soluyan; üçüncü grup 3 ay boyunca günde iki kez 1'er saat ikişer adet sigara soluyan ve 4mg/kg intraperitoneal melatonin enjekte edilen; dördüncü grup ise 3 ay boyunca günde iki kez 1'er saat ikişer adet sigara soluyan ve 40mg/kg intraperitoneal C vitamini enjekte edilen sıçanlardan oluşturuldu. Sıçanlara sigara solutmak için ebatları 50x35x36 cm, kalınlığı 0.5 mm ve iç hacmi yaklaşık 0.060m<sup>3</sup> olan cam kabin hazırlanarak silikon ile izole edildi. Kabin içine bir ucu dışarıda akvaryum motoruna bağlı olan plastik boru yerleştirildi. Sigara soluyacak olan sıçanlar cam kabin içine alındı.

Plastik borunun kabin içindeki ucuna her uygulamada iki adet yanan sigara takılıp motor ile püflandı. Deney sonunda, sıçanlardan eter anestezisi altında karaciğer dokuları alındı. Karaciğer dokularının bir kısmı serum fizyolojik (% 0,9'lük NaCl) ile yıkandıktan sonra % 1,15 KCl ile 1:10 oranda sulandırılarak homojenize edildi. Homojenat soğutmalı santrifüjde (Sorvall RC-5B) 1.000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant alındı. MDA düzeyi Ohkawa ve ark. (11)'nin modifiye ettiği yöntemle göre saptandı. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okunmaktadır.

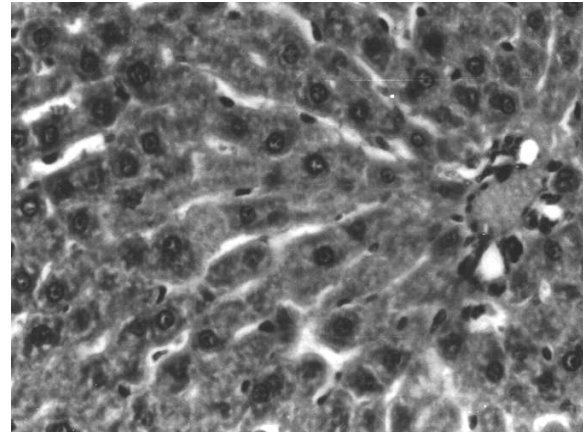
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in katalaz tarafından yıkım hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak Aebi (12) yöntemi ile ölçüldü. Glutatyon (GSH) düzeyi Elman yöntemine göre tayin edildi (13).

Sonuçlar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Gruplar arası farklılıklar için p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

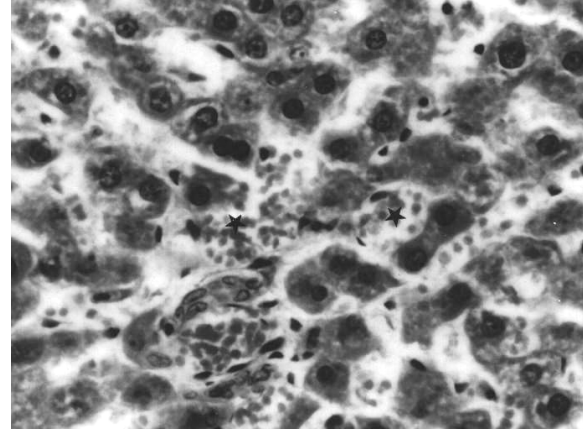
Dokuların bir kısmı ise %10'luk formaldehit ile 24 saat süreyle tespit edildi. Takiben 24 saat boyunca musluk suyunda yıkanan dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon sağlandı. Dokular ksilolde şeffaflaştırıldı ve parafin infiltrasyonu yapıldıktan sonra bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5µm (mikrometre) kesitler Hematoksilin-Eozin ve Masson'un üçlü boyası ile boyandı ve Olympus BH2 fotomikroskopla incelenerek fotoğraflar elde edildi.

## BULGULAR

Çalışmamızda ışık mikroskopik incelemelerde kontrol grubuna ait karaciğer dokuları normal olarak gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Grup I. Portal alan, sinüzoidler ve hepatositler normal yapıda izlenmekte. H&E X 240

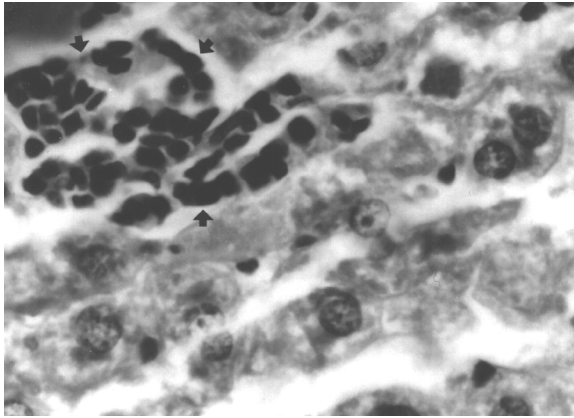
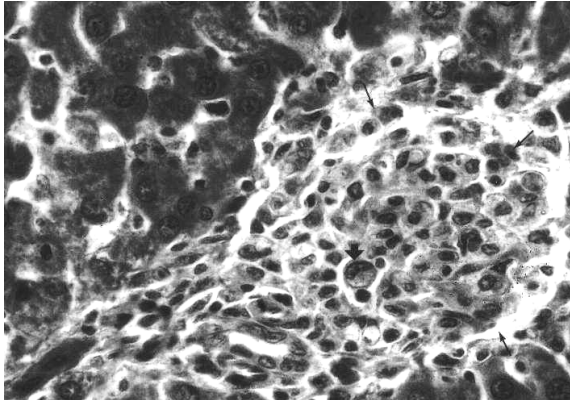


Şekil 2. Grup II. Sinüzoidlerde dilatasyon ve konjesyon gözlenmekte (\*). H&E X 240

Deney süresince sadece sigara soluyan sıçanların karaciğer dokularında; sinüzoidlerde dilatasyon ve konjesyon (Şekil 2), yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu (Şekil 3,4) ve karyoreksise giden hepatositler (Şekil 5) tespit edildi. Yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde bu gruba ait karaciğer dokularında malondialdehit ve glutatyon düzeyleri ile katalaz aktiviteleri artmış olarak tespit edildi (Tablo I).

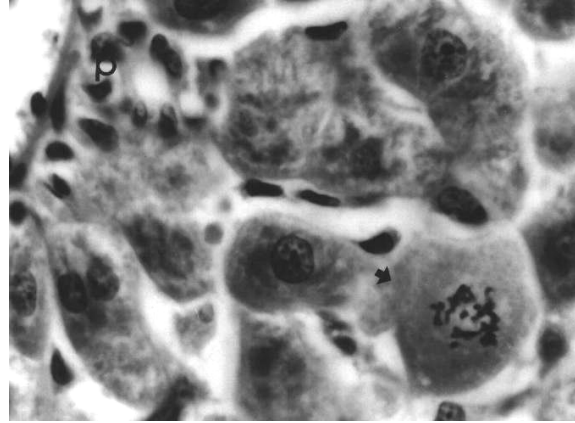
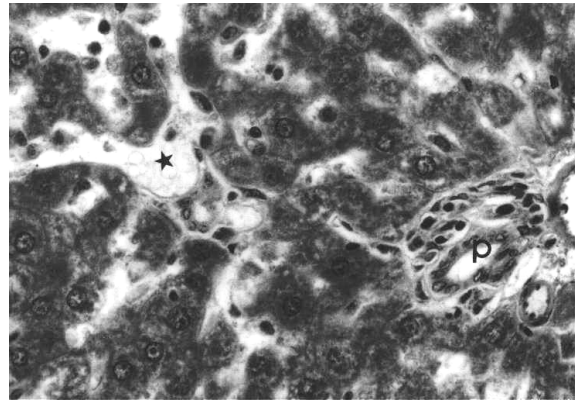
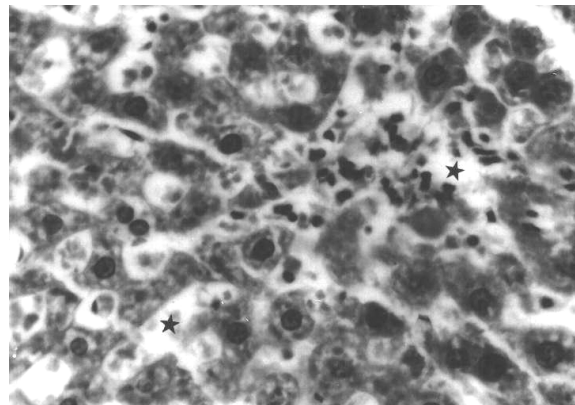
**Tablo 1.** Karaciğer dokusunda Malondialdehit ve Glutasyon düzeyleri ve Katalaz aktiviteleri.

|           | MDA<br>(nmol/g yaş<br>doku)  | Glutasyon<br>( $\mu$ mol/ml) | Katalaz<br>(k/ml)             |
|-----------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Kontrol   | 2,43 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup> | 81,5 $\pm$ 26,5              | 0,17 $\pm$ 0,009 <sup>a</sup> |
| Sigara    | 3,32 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup> | 99,5 $\pm$ 7,59              | 4,12 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>  |
| Vitamin C | 0,65 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup> | 121,0 $\pm$ 13,07            | 3,94 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>  |
| Melatonin | 0,66 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup> | 105,0 $\pm$ 1,0              | 2,32 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>  |
| p         | P<0,05                       | p>0,05                       | P<0,05                        |

**Şekil 3.** Grup II. Mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) ayırt edilmekte. H&E X 480**Şekil 4.** Grup II. Portal alandaki mononükleer hücre infiltrasyonu (ince oklar) ve bu hücreler arasında bulunan yabancı cisim dev hücresi (kalın ok). Masson'un üçlü boyası X 240

Sigara toksikasyonuna karşı koruyucu amaçla sigara ile birlikte C vitamini ve melatonin uygulanan gruplarda ise, sinüzoidal dilatasyon devam etmekteydi (Şekil 6,7).

Bu gruplarda hücre infiltrasyon alanlarına ve karyoreksise giden hepatositlere rastlanmadı. Biyokimyasal değerlendirmelerin sonucunda C vitamini ve melatonin uygulamasının; karaciğer malondialdehit düzeyini anlamlı şekilde düşürdüğü, glutasyon düzeylerini kontrol ve sigara inhale eden gruplara göre anlamlı bir şekilde artırdığı, katalaz aktivitelerini ise etkilemediği gözlemlendi (Tablo I).

**Şekil 5.** Sigara grubu (grup II). Portal (P) etrafında karyoreksise giden hepatosit (ok) ayırt edilmekte. H&E X 480**Şekil 6.** Grup III. Portal alan (P) etrafında genişlemiş sinüzoidler (\*) ayırt edilmekte Masson'un üçlü boyası X 240**Şekil 7.** Grup IV. Sinüzoidlerde dilatasyon (\*) ve Kupffer hücre aktivasyonu (ok) gözlenmekte. H&E X 240

## TARTIŞMA

Sigara tüketimi 19. yüzyılın ikinci yarısında başlamış ve dramatik bir şekilde artmaktadır. Günümüzde yaklaşık olarak bir milyar erkek ve yarım milyar kadın sigara içmektedir ve her yıl 30 milyon civarında insan sigara içmeye başlamaktadır. Sigaranın organizmada birçok doku tipinde kansere yol açtığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir.



Son yıllarda yapılan vaka kontrollü çalışmalarda sigaranın akciğer, oral kavite, farinks, larinks, özafagus, pankreas, mesane ve renal pelvis kanserlerinin yanı sıra nazal kavite, paranazal sinüsler, nazofarinks, karaciğer, mide, böbrek, serviks uteri ve kolorektal kanserlerine de yol açtığı tespit edilmiştir (14).

Altmış gün süre ile günde iki saat sigara solutulan sıçanların karaciğer parankim hücrelerinin endoplazmik retikulumunda, genişlemeler olduğu ve çeşitli büyüklükte vakuollerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Sitoplazma içinde parçalanmış membranlar ve genişlemiş safra kanallıkları saptanmıştır (15). Sigaranın içerisinde bol miktarda bulunan ve kanserojenik etkisi olduğu bilinen kadmiyumun uygulanmasıyla karaciğer hepatositlerinde mitokondriyal yoğunlaşma, şişme ve lizis gözlenmiş. Granüler endoplazmik retikulumda dilatasyon, fragmantasyon ve vezikülasyon ve sitoplazmada çok sayıda büyük lipid damlacıkları ve bol miktarda glikojene rastlanmıştır (16). Kültüre edilmiş karaciğer parankim hücreleri ve düz kas hücrelerinde sigaranın etkisiyle gap junction alanlarının azaldığı bildirilmektedir. Bu olay hücreler arası haberleşmeyi bozmakta ve tümör gelişiminde önemli bir etken olmaktadır (17-19.) Czekaj ve ark. üç hafta boyunca haftada beş gün ve günde altı saat sigara dumanına maruz bırakılan gebe sıçanların karaciğer parankiminde özellikle birinci ve ikinci zonda piknotik nükleuslu koyu eozinofilik boyanan hepatositlere rastlanmışlardır. Bu hücrelerin apoptozisle sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir. Bu bağlamda sigaranın karaciğerde apoptotik değişiklikleri artıran bir faktör olabileceğini vurgulamışlardır (20). Kükner ve ark. sigara dumanı soluyan sıçanların karaciğer dokularında özellikle portal alan çevresindeki hepatositlerin, sitoplazmalarında granül içerdiğini tespit etmişlerdir (8). Bu çalışmada sigara soluyan sıçanların karaciğer dokularında; sinüzoidlerde dilatasyon ve konjesyon, yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu ve karyoreksise giden hepatositler tespit edildi. Sigara toksikasyonuna karşı koruyucu amaçla sigara ile birlikte C vitamini ve melatonin uygulanan gruplarda ise, sinüzoidal dilatasyon devam etmekteydi. Bu gruplarda hücre infiltrasyon alanlarına ve karyoreksise giden hepatositlere rastlanmadı.

Melatonin çok sayıda reaktif oksijen / nitrojen türevlerini direkt olarak nötralize edebilen ve birçok antioksidatif enzimi sitümüle edebilen bir hormondur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda melatoninin mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun etkinliğini artırdığı ve serbest radikal üretimini azalttığı vurgulanmaktadır. Ayrıca melatonin hasarlı dokularda nötrofillerin infiltrasyonunu inhibe ederek ilave

yardımcı etkiler de sağlamaktadır (9). Askorbik asit karaciğerde kolesterolün katabolizması için gereklidir. Eksikliğinde kolesterolün safra asitlerine dönüşümü yavaşlamakta ve karaciğerde kolesterol birikimi olmaktadır (21). C vitamini lipofilik türevleri, daha çok sigara içenlerde gözlenen lipid-peroksit kaynaklı endotelial hasara karşı koruyucu etki göstermektedir (22). Askorbik asit antioksidan özellik taşımasının yanı sıra peroksidasyon reaksiyonlarına karşı diğer antioksidanların da aktifleşmesinde etkinlik göstermektedir (23). Sigaranın antioksidan sistemi etkileyerek dokularda yapısal hasar meydana getirdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Baskaran ve ark. sigara kullanımının karaciğer, akciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna neden olduğunu ve bu organlarda oluşan serbest oksijen radikallerinin zararlı etkisine karşı antioksidan enzimlerin seviyesinin yükseldiğini saptamışlardır (24). Helen ve ark. sigara inhalasyonu sonucu karaciğerde malondialdehit düzeyi, hidroperoksidad aktivitesi, serbest yağ asidinin, vitamin A, glutatyon ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin arttığını, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinin ve vitamin E ve C içeriğinin azaldığını tespit etmişlerdir. Vitamin C desteği uygulandığında koruyucu enzim aktivitesinin ve lipid peroksidasyon direncinin arttığını, glutatyon, vitamin C ve serbest yağ asitlerinin normal düzeye geldiğini saptamışlardır (25). Yapılan bir başka çalışma aktif veya pasif sigara içiminin, özellikle yetersiz C vitamini alanlarda, askorbik asit havuzunu azalttığını göstermiştir (26). Melatonin antioksidan etkinliği olan bir hormondur. Nitekim karaciğerde iskemi ve reperfüzyon yoluyla oluşturulan hasarı melatoninin azalttığı bildirilmektedir (27). Bu çalışma ile ilgili yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde sadece sigara inhale eden gruba ait karaciğer dokularında malondialdehit ve glutatyon düzeyleri ile katalaz aktiviteleri artmış olarak tespit edildi. C vitamini ve melatonin uygulamasının; karaciğer malondialdehit düzeyini anlamlı şekilde düşürdüğü, glutatyon düzeylerini kontrol ve sigara inhale eden gruplara göre anlamlı bir şekilde artırdığı, katalaz aktivitelerini ise etkilemediği gözlemlendi. Sigara inhalasyonu ile artan enzim aktiviteleri daha önceki çalışmalarla uyumludur ve sigaranın dokularda oksidan ve antioksidan sistemi etkilediğinin bir kanıtıdır.

Sonuç olarak sigara inhalasyonunun lipid peroksidasyonunu ve antioksidan sistemi artırdığı, karaciğer dokusunda yer yer yapısal değişiklikler oluşturduğu tespit edildi. Sigara inhalasyonu sonucu serbest oksijen radikallerine bağlı oluşan hücresel hasarın azaltılmasında C vitamini ve melatonin gibi antioksidanların ilave olarak verilmesinin, organizmanın koruyucu mekanizmalarına destek olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Park EM, Park YM, Gwak YS. Oxidative damage in tissues of rats exposed to cigarette smoke. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 79-86.
2. Doll R. Cancers weakly related to smoking. *Br Med Bull* 1996; 52: 35-49.
3. Hoffmann D, Hoffman I. The changing cigarette, 1950-1995. *J Toxicol Environ Health* 1997; 50: 307-364.
4. Yamamoto Y, Isoyama E, Sofikitis N, Miyagawa I. Effects of smoking on testicular function and fertilizing potential in rats. *Urol Res* 1998; 26: 45-48.
5. Al-Bader A, Omu AE, Dashti H. Chronic cadmium toxicity to sperm of heavy cigarette smokers: immunomodulation. *Arch Androl* 1999; 43: 135-140.
6. Shakumary AL, Vijagummal PL. Effect of nicotine on lipoprotein metabolism in rats. *Lipids* 1997; 32: 311-315.
7. Habeebu SS, Liu J, Klaassen CD. Cadmium-induced apoptosis in mouse liver. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1998; 149: 203-9.
8. Kükner A, Çolakoğlu N, Ozan E, Ozan S. Sigaranın sıçan karaciğerine etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 1999; 8: 547-52.
9. Şener G, Şehirli AÖ, Şatıroğlu H, Uysal MK, Yeğen BÇ. Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2002; 2977-2985.
10. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J* 2003;2:7.

11. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
12. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editors. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie. 2nd 1974. p. 673-678.
13. Ellman GL. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem.* 1959; 70-77.
14. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung Cancer* 2004; 45: 3-9.
15. Güven MC, Can B, Saran Y, Yardımcı S, Taşhan H. Alterations of intracellular membranes (AER and GER) of the hepatocytes in rats exposed to smoke. 13. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi 1-4 Eylül 1997 Ankara. Sayfa 317-321.
16. Thophon S, Pokethitiyook P, Chalermwat K, Upatham ES, Sahaphong S. Ultrastructural alterations in the liver and kidney of white sea bass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ Toxicol* 2004; 19: 11-19.
17. Zwijsen RM, de Haan LH, Oosting JS, Pekelharing HL, Koeman JH. Inhibition of intercellular communication in smooth muscle cells of humans and rats by low density lipoprotein, cigarette smoke condensate and TPA. *Atherosclerosis* 1990; 85: 71-80.
18. Upham BL, Weis LM, Rummel AM, Masten SJ, Trosko JE. The effects of anthracene and methylated anthracenes on gap junctional intercellular communication in rat liver epithelial cells. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 34: 260-264.
19. Van der Zandt PT, de Feijter AW, Homan EC, Spaaij C, de Haan LH, van Aelst AC, Jongen WM. Effects of cigarette smoke condensate and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate on gap junction structure and function in cultured cells. *Carcinogenesis* 1990; 11: 883-888.
20. Czekaj P, Palasz A, Lebda-Wyborny T, et al. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke. *Int Arch Occup Environ Health* 2002; 75: 27-35.
21. Ginter E, Bobek P, Jurcovicova M: Role of ascorbic acid in lipid metabolism. In: *Ascorbic acid, chemistry, metabolism and uses*. Edited by: Seith PA, Toblert, BM. American Chemical Society, Washington, DC; 1982: 381-393
22. Kaneko T, Kaji K, Mastuo M: Protective effect of lipophilic derivatives of ascorbic acid on lipid peroxide-induced endothelial injury. *Arch Biochem Biophys* 1993; 304: 176-180.
23. Halliwell B, Gutteridge JMC: Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problem and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246: 501-514.
24. Baskaran S, Lakshmi S, Prasad PR. Effect of cigarette smoke on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in albino rat. *Indian J Exp Biol* 1999;37:1196-2000.
25. Helen A, Vijayammal PL Vitamin C supplementation on hepatic oxidative stress induced by cigarette smoke. *J Appl Toxicol* 1997; 17: 289-295.
26. Tribble DL, Giuliano LJ, Fortmann SP. Reduced plasma ascorbic acid concentrations in nonsmokers regularly exposed to environmental tobacco smoke. *Am J Clin Nutr.* 1993; 58: 886-90.
27. Bulbul N, Cetinkaya Z, Akkus MA, Cifter C, Ilhan YS, Dogru O, Aygen E The effects of melatonin and prostaglandin E1 analogue on experimental hepatic ischaemia reperfusion damage. *Int J Clin Pract* 2003; 57: 857-860

*Kabul Tarihi: 27.05.2005*