

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

ΤΙΤΛΟΣ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΤΟ ΠΑΘΗΤΙΚΟ ΚΑΠΝΙΣΜΑ ΣΤΗΝ  
ΟΞΕΙΔΩΑΝΑΓΩΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΕΝΗΛΙΚΩΝ.

ΤΟΥ  
Οικονόμου Νεκταρίου Δημητρίου

Επιβλέπων Καθηγητής  
Τζιαμούρτας Αθανάσιος

Μεταπτυχιακή Διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική  
εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του μεταπτυχιακού τίτλου του  
Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Άσκηση και Υγεία» του Τμήματος  
Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Έτος ολοκλήρωσης της διατριβής  
2010

### **Υπεύθυνη δήλωση**

Βεβαιώνω ότι είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στη διπλωματική εργασία. Επίσης έχω αναφέρει τις όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε αυτές αναφέρονται ακριβώς είτε παραφρασμένες. Επίσης βεβαιώνω ότι αυτή η πτυχιακή εργασία προετοιμάστηκε από εμένα προσωπικά ειδικά για τις απαιτήσεις του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών Άσκηση και Υγεία του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Τρίκαλα, Ιούνιος 2010

### Ευχαριστίες

Θεωρώ χρέος μου να ευχαριστήσω πολύ τον καθηγητή κ. Αθανάσιο Τζαμούρτα για την αμέριστη ηθική υποστήριξη του και τις εποικοδομητικές του παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσης εργασίας. Επίσης, για το ενδιαφέρον του, το ήθος του και τις συμβουλές του προς εμένα σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου από τα πρώτα μου κιόλας βήματα το 2005 στο Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Επίσης θα πρέπει να ευχαριστήσω και τους καθηγητές κ.κ., Ανδρέα Φλουρή και Μιχάλη Νικολαΐδη για την πολύτιμη καθοδήγηση και ενθάρρυνση τους κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσης εργασίας. Επιπλέον, τον Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών κ. Κουτεντάκη Ιωάννη για το ενδιαφέρον και τη βοήθεια που μου παρείχε συνεχώς κατά τη διάρκεια των μαθημάτων.

Επίσης αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω και τους υπόλοιπους καθηγητές του τμήματος του ΤΕΦΑΑ για την προθυμία και το ζήλο που επέδειξαν με σκοπό την ανάδειξη εμού και των συναδέλφων μου ως νέων ικανών επιστημόνων. Τέλος οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφεραν όλο αυτό το διάστημα.

## **Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα στην οξειδωαναγωγική κατάσταση ενηλίκων**

### **Περίληψη**

Πλήθος ερευνών καταδεικνύει ότι το παθητικό κάπνισμα προκαλεί αρκετές αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία. Είναι επίσης γνωστό ότι το τσιγάρο περιέχει ένα μεγάλο αριθμό προοξειδωτικών μορίων που ίσως ευθύνονται για τις βλαβερές επιπτώσεις που προκαλεί στον οργανισμό. Ωστόσο μικρός αριθμός ερευνών έχει εξετάσει τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην οξειδωαναγωγική κατάσταση σε ανθρώπους. Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να εξεταστούν πειραματικά οι επιπτώσεις της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα διάρκειας 1 ώρας, υπό συνθήκες που προσομοιάζουν το περιβάλλον σε χώρους όπως μπαρ/εστιατόρια σε δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα μη καπνιστών ανδρών και γυναικών. Δεκαεννέα ενήλικα άτομα (10 άνδρες και 9 γυναίκες) συμμετείχαν σε μια τυχαία τυφλή μελέτη με σχεδιασμό διασταύρωσης και εκτέθηκαν σε δυο διαφορετικές καταστάσεις. Στην πειραματική κατάσταση εκτέθηκαν για 1 ώρα στο παθητικό κάπνισμα σε ειδικά διαμορφωμένο θάλαμο στον οποίο η συγκέντρωση μονοξειδίου του άνθρακα ήταν  $23 \pm 1$  ppm. Στην κατάσταση ελέγχου οι συμμετέχοντες παρέμειναν στον ίδιο χώρο για μία ώρα αναπνέοντας φυσιολογικό ατμοσφαιρικό αέρα. Στις δυο καταστάσεις αξιολογήθηκε η συγκέντρωση της κοτινίνης, της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), του ουρικού οξέος, της ολικής χολερυθρίνης, των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, καθώς και η δραστηριότητα της καταλάσης πριν από την έκθεση, κατά την διάρκεια, αμέσως μετά καθώς επίσης ½, 1, 2, 3, και 4 ώρες μετά το τέλος της έκθεσης. Τα αποτελέσματα φανέρωσαν σημαντική αύξηση ( $p < 0.05$ ) στην συγκέντρωση της κοτινίνης αμέσως μετά το τέλος της έκθεσης η οποία διατηρήθηκε έως και τέσσερις ώρες μετά. Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές μεταβολές σε κανέναν από τους δείκτες οξειδωτικού στρες. Συμπερασματικά 1 ώρα έκθεση στο παθητικό κάπνισμα σε

συνθήκες μπαρ/εστιατορίων δεν μεταβάλλει την οξειδωαναγωγική κατάσταση ενηλίκων μη καπνιστών.

*Λέξεις κλειδιά: οξειδωτικό στρες, ελεύθερες ρίζες, οξεία έκθεση, κοτινίνη*

### Abstract

Data indicate that passive smoking provokes many negative effects to health. It is also well established that cigarette contains a large number of prooxidant molecules which may be responsible for health hazardous effects. However, scarce investigations have dealt with the acute effects of passive smoking on human redox status. The purpose of the present study was to assess the effects of 1 hour acute exposure to moderate passive smoking in simulated bar/restaurant environment on human blood oxidative stress. Nineteen adult non smokers (10 males, 9 females), participated in a randomized single-blind crossover study and were exposed in two different conditions. In the experimental condition, they were exposed to 1 hour of moderate passive smoking at a carbon monoxide concentration of  $23 \pm 1$  ppm inside an environmental chamber, whereas in the control condition participants remained in the same chamber for 1 hour breathing normal atmospheric air. Concentration of cotinine, total antioxidant capacity (TAC), uric acid, total bilirubin, catalase activity, thiobarbituric acid–reactive substances (TBARS) as well as protein carbonyls in plasma were measured before, during, immediately post, and ½, 1, 2, 3, and 4 hrs in both trials. Results showed a significant increase ( $p<0,05$ ) in plasma cotinine concentration immediately after the experimental condition which was maintained for four hours. No significant alterations in the assessed oxidative stress indices observed. We conclude that one hour of passive smoking at bar/restaurant levels does not alter redox status in adult no smokers.

**Key words:** *oxidative stress, free radicals, acute exposure, cotinine*

## Περιεχόμενα

<b>Υπεύθυνη δήλωση.....</b>	σελ.2
<b>Ευχαριστίες.....</b>	σελ.3
<b>Περίληψη.....</b>	σελ.4
<b>Abstract.....</b>	σελ.6
<b>Περιεχόμενα.....</b>	σελ.7
<b>Κατάλογος εικόνων .....</b>	σελ.9
<b>Κατάλογος πινάκων.....</b>	σελ.9
<b>Κατάλογος γραφημάτων .....</b>	σελ.10
<b>Εισαγωγή.....</b>	σελ.11
<i>Επιδημιολογικά στοιχεία.....</i>	σελ.11
<i>Συστατικά του καπνού του τσιγάρου.....</i>	σελ.12
<i>Η επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην υγεία.....</i>	σελ.13
<i>Οξειδωτικό στρες.....</i>	σελ.15
<i>Ελεύθερες ρίζες του τσιγάρου και βλάβη των ιστών.....</i>	σελ.16
<i>Παθητικό κάπνισμα και οξειδωτικό στρες.....</i>	σελ.17
<i>Ερευνητικές υποθέσεις.....</i>	σελ.20
<i>Στατιστικές υποθέσεις.....</i>	σελ.20
<i>Περιορισμοί της έρευνας.....</i>	σελ.22
<b>Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας.....</b>	σελ.23
<i>Επιδημιολογικά στοιχεία.....</i>	σελ.23
<i>Συστατικά του καπνού του τσιγάρου και ελεύθερες ρίζες.....</i>	σελ.25
<i>Μηχανισμοί δημιουργίας ελευθέρων ριζών ως αποτέλεσμα της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα.....</i>	σελ.28
<i>Επιπτώσεις στην υγεία ως αποτέλεσμα της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα.....</i>	σελ.31
<i>Μεθοδολογία ανασκόπησης της βιβλιογραφίας.....</i>	σελ.36
<i>Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε μοντέλα in vitro.....</i>	σελ.37
<i>Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ζώα.....</i>	σελ.43
<i>Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ανθρώπους.....</i>	σελ.49
<i>Επίλογος ανασκόπησης.....</i>	σελ.53
<b>Μεθοδολογία.....</b>	σελ.56
<i>Συμμετέχοντες.....</i>	σελ.56
<i>Πειραματικό πρωτόκολλο.....</i>	σελ.57
<i>Σωματομετρικές αξιολογήσεις.....</i>	σελ.58
<i>Συνθήκες έκθεσης.....</i>	σελ.59

<i>Συλλογή και χειρισμός αίμα.....</i>	σελ.60
<i>Αναλύσεις στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα και το πλάσμα.....</i>	σελ.61
<i>Στατιστικές αναλύσεις.....</i>	σελ.63
<b>Αποτελέσματα.....</b>	σελ.64
<i>Δείκτης έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα.....</i>	σελ.64
<i>Αντιοξειδωτικοί δείκτες.....</i>	σελ.65
<i>Δείκτες οξειδωτικής βλάβης.....</i>	σελ.67
<b>Συζήτηση.....</b>	σελ.69
<b>Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες.....</b>	σελ.76
<b>Συμπεράσματα.....</b>	σελ.77
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	σελ.78
<b>Παραρτήματα.....</b>	σελ.94
<i>Έγγραφο συναίνεσης δοκιμαζόμενου για συμμετοχή στην ερευνητική εργασία.....</i>	σελ.94



### Κατάλογος εικόνων

<b>Εικόνα 1.</b> Σχεδιασμός και πρωτόκολλο πειράματος. ....σελ. 57
--

### Κατάλογος πινάκων

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 1.</b> <i>Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε μοντέλα in vitro.....</i>	σελ. 41
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 2.</b> <i>Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε ζώα.....</i>	σελ. 45
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 3.</b> <i>Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε ανθρώπους.....</i>	σελ. 51

## Κατάλογος γραφημάτων

- Γράφημα 1.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της κοτινίνης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).  
\* Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των καταστάσεων ( $P < 0,05$ ). # Στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την συγκέντρωση πριν την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα..... σελ. 64
- Γράφημα 2.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της TAC, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).....σελ. 65
- Γράφημα 3.** Μεταβολές στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).....σελ. 66
- Γράφημα 4.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ;).....σελ. 66
- Γράφημα 5.** Μεταβολές στη δραστικότητα της καταλάσης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ; τελικές μείον βασική μέτρηση..... σελ 67
- Γράφημα 6.** Μεταβολές στη συγκέντρωση των TBARS, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ;).....σελ. 68
- Γράφημα 7.** Μεταβολές στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και την πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).....σελ. 68

## Εισαγωγή

Το παθητικό κάπνισμα ορίζεται ως η ακούσια εισπνοή του καπνού του τσιγάρου το οποίο καταναλώνεται από ενεργητικό καπνιστή (Faught, Flouris & Cairney, 2009). Πραγματοποιείται όταν ο καπνός του τσιγάρου διαχέεται στον ατμοσφαιρικό αέρα προκαλώντας την εισπνοή του από τους παθητικούς καπνιστές. Στην βιβλιογραφία δεν έχει οριστεί ξεκάθαρα πότε ένα άτομο θεωρείται παθητικός καπνιστής, εξ αιτίας της έλλειψης μιας ακριβούς μεθόδου εκτίμησης του βαθμού έκθεσης. Ο καπνός που εισπνέει ένας παθητικός καπνιστής έχει συσχετιστεί με πλήθος αρνητικών επιπτώσεων στην υγεία του ανθρώπου και προέρχεται άμεσα από την καύση του τσιγάρου (sidestream smoking) και έμμεσα από την εκπνοή του καπνού του τσιγάρου ενός ενεργητικού καπνιστή (mainstream smoking). Οι παθητικοί καπνιστές υφίσταται την έκθεση κυρίως σε εσωτερικούς χώρους, όπως για παράδειγμα στον χώρο εργασίας τους και σε εξωτερικούς χώρους.

### *Επιδημιολογικά στοιχεία*

Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι το ενεργητικό κάπνισμα παραμένει η κύρια και ταυτόχρονα αποτρέψιμη αιτία θανάτου (Glantz και Parmley, 1995). Ωστόσο ένας μεγάλος αριθμός ανθρώπων συνεχίζει να καπνίζει ακόμα και όταν αντιλαμβάνεται τις δυσάρεστες επιπτώσεις στην υγεία του (Mackay και Eriksen, 2008). Γίνεται εύκολα αντιληπτό πως καθώς αυξάνεται ο αριθμός των ενεργητικών καπνιστών αναλογικά επηρεάζεται και ο πληθυσμός των παθητικών καπνιστών. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι παρ' όλες τις προσπάθειες να απαγορευτεί το κάπνισμα στους δημόσιους χώρους, το 19,8% του πληθυσμού των Ηνωμένων Πολιτειών είναι καπνιστές (Morbidity and mortality weekly report, 2009) και περισσότεροι από 126 εκατομμύρια ενήλικες Αμερικάνοι εκτίθεται στο παθητικό κάπνισμα σε καθημερινή βάση (U.S. Department of Health and Human Services,

2006). Ο αριθμός αυτός μεταφράζεται σε 440,000 θανάτους ετησίως μόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες από ασθένειες που σχετίζονται με το παθητικό κάπνισμα (Andrews και Tingen, 2006; Okoli, Kelly και Hahn, 2007).

Το παθητικό κάπνισμα επηρεάζει ενήλικες και σε μεγάλο ποσοστό παιδιά εντός του οικογενειακού περιβάλλοντος εξ αιτίας γονέων οι οποίοι είναι ενεργητικοί καπνιστές. Έρευνες εκτιμούν πως το ποσοστό των ανηλίκων οι οποίοι εκτίθενται στο παθητικό κάπνισμα κυμαίνεται από 39-71% (Moshhammer, et al., 2006; Pattenden, et al., 2006; Raherison et al., 2007) ενώ σε πρόσφατα δημοσιευμένα στοιχεία αναφέρθηκε ότι στις ΗΠΑ το 60% των παιδιών είχε συγκεντρώσεις κοτινίνης στο αίμα εφάμιλλες με αυτές ενός παθητικού καπνιστή (U.S. Department of Health and Human Services, 2007). Επιπλέον, σε άλλες περιπτώσεις εκτιμάται ότι 700 εκατομμύρια παιδιά παγκοσμίως, εκτίθενται καθημερινά στο παθητικό κάπνισμα κυρίως μέσα στο περιβάλλον στο οποίο ζούνε (Rushton, 2004).

#### *Συστατικά του καπνού του τσιγάρου*

Ο καπνός στον οποίο εκτίθενται οι παθητικοί καπνιστές συνίσταται από δυο κύριες πηγές, από το sidestream και το mainstream καπνό. Ο sidestream καπνός προέρχεται από την συνήθη καύση ενός τσιγάρου στον οποίο προσμετρά το 85% του συνόλου ενώ το υπόλοιπο 15% προέρχεται από τον mainstream καπνό ο οποίος εκπνέεται από τον ενεργητικό καπνιστή (European Commission. Tobacco or health in the European union—past, present and future 2004, National Research Council Committee on Passive Smoking 1986). Ο καπνός του τσιγάρου μπορεί επίσης να διαχωριστεί σε δυο φάσεις, στην μοριακή φάση όπου παγιδεύεται μερικώς από το φίλτρο του τσιγάρου (tar-phase smoke) και στην αέρια φάση (gas-phase smoke) κατά την οποία ο καπνός διαπερνά το φίλτρο και εισπνέεται από τον καπνιστή (Surgeon General. 1979; Church και Pryor, 1991). Ο sidestream και ο mainstream καπνός

αποτελούν ένα μείγμα που ξεπερνά σε αριθμό τις 4000 χημικές ενώσεις, και εκτιμάται ότι τουλάχιστο 250 από αυτές είναι τοξικές για τον οργανισμό ή καρκινογόνες (U.S. Department of Health and Human Services, 2006). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η συγκέντρωση των πολυάριθμων τοξινών του καπνού είναι δραματικά μεγαλύτερη (έως και 100 φορές) στον sidestream καπνό συγκριτικά με τον mainstream καπνό, υπογραμμίζοντας την ιδιαίτερα αρνητική επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην υγεία (Kritz, Schmid, και Sinzinger, 1995). Οι κυριότερες καρκινογόνες ουσίες που βρίσκονται στο καπνό του τσιγάρου στον οποίο εκτίθεται ένας παθητικός καπνιστής είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, οι οποίοι ευθύνονται για καρκινογενέσεις, μεταλλάξεις και τερατογενέσεις (Grimme, 1983; Perera, 1997; Santodonato, 1997), οι νιτροσαμίνες, οι ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες και πολλές άλλες οργανικές ενώσεις. Όλες αυτές οι ουσίες επηρεάζουν αρκετούς ιστούς ανεξάρτητα από τον τρόπο εισόδου τους στον οργανισμό (Hecht, 1998; Preussmann και Stewart, 1984). Συνεπώς εξηγείται η σχέση που παρουσιάζεται ανάμεσα στο χρόνια παθητικό κάπνισμα και την εμφάνιση αρκετών μορφών καρκίνου όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

#### *Η επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην υγεία*

Τις τελευταίες δεκαετίες πλήθος ερευνών έχουν επισημάνει τη συσχέτιση του παθητικού καπνίσματος με τη διαταραχή των φυσιολογικών λειτουργιών που σχετίζονται με την ομοιόσταση του οργανισμού και συμβάλουν στην επιδείνωση της υγείας του ανθρώπου. Οι πρώτες ενδείξεις για την επικινδυνότητα της έκθεσης του ανθρώπου στο παθητικό κάπνισμα εμφανίστηκαν την δεκαετία του 1980 όπου δημοσιεύτηκαν οι πρώτες εργασίες οι οποίες προειδοποιούσαν για τις πιθανές αρνητικές επιπτώσεις του παθητικού καπνίσματος στο καρδιοκυκλοφορικό σύστημα (Taylor, Oudit, Kalman και Liu, 1998; U.S. Department of Health and Human Services, 1986), καθώς επίσης και την πιθανή σχέση του με τον καρκίνο

του πνεύμονα (Trichopoulos, Kalandidi, Sparfos και MacMahon, 1981). Έκτοτε πλήθος εργασιών αναδεικνύουν την συσχέτιση του παθητικού καπνίσματος με την αύξηση της συχνότητας συμπτωμάτων όπως η αθηροσκλήρωση και η στένωση των καροτιδικών αρτηριών (Howard et al., 1998), καθώς επίσης και την εξάπλωση χρόνιων ασθενειών και διαφόρων μορφών καρκίνου που εκθέτουν σε κίνδυνο την ζωή των ανθρώπων (Glantz και Parmley, 1996; U.S. Department of Health and Human Services, 2006). Πειραματικά δεδομένα υπογραμμίζουν πως εκτός από το ενεργητικό κάπνισμα, είναι αρκετά πιθανό το παθητικό κάπνισμα να προκαλεί δυσχερείς συνέπειες στην καρδιαγγειακή ομοιόσταση του οργανισμού (Zhu et al., 1994) που αναπόφευκτα οδηγούν στην εμφάνιση καρδιαγγειακών ασθενειών (Konstantinides και Andreas, 2006; Leone και Balbarini, 2008; O'Toole, Conklin, Bhatnagar, 2008; Pitsavos et al., 2003, Raupach, Schäfer, Barnoya και Glantz, 2005). Πράγματι, ένας σημαντικός αριθμός ερευνών επισημαίνει τις αρνητικές επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος, το οποίο ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου ευθύνεται για την παθοφυσιολογία των οξέων αρτηριακών επεισοδίων εξ αιτίας της ανεξέλεγκτης δραστηριοποίησης των αιμοπεταλίων, της θρόμβωσης σε περιοχές με έντονη αγγειακή βλάβη και της συνάθροισης αθηροματικών πλακών (Burke et al., 1997; Davies, 1997; Glantz και Parmley, 1995; Kritz, Schmidt και Sinzinger, 1995; Kawachi et al., 1997; Taylor, Johnson, Kazemi, 1992; Wells, 1994).

Στην εργασία του Steenland (1992), αναφέρθηκε ότι ο κίνδυνος θανάτου εξ αιτίας ασθενειών του καρδιαγγειακού συστήματος αυξάνεται έως και 30% σε μη καπνιστές οι οποίοι ζουν μαζί με ενεργητικούς καπνιστές ενώ σε μια άλλη αναφορά σχετική με τον πληθυσμό των Ηνωμένων Πολιτειών επισημαίνεται ότι περισσότεροι από 50.000 θάνατοι κάθε χρόνο από ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια αποδίδονται στο παθητικό κάπνισμα (Wells, 1994). Στην έρευνα των Ahijevych, και Wewers (2003), βρέθηκε πως η έκθεση για 30 λεπτά στο παθητικό κάπνισμα επηρεάζει την ροή του αίματος μέσω της στεφανιαίας αρτηρίας σε

μη καπνιστές, πιθανότερα εξ αιτίας δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου εσωτερικά της στεφανιαίας αρτηρίας.

Εντούτοις, το παθητικό κάπνισμα εκτός από την συσχέτιση του με την δυσλειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος θεωρείται υπεύθυνο για την εκδήλωση χρόνιων ασθενειών των πνευμόνων σε παιδιά και ενήλικες, όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, τα διάφορα αλλεργικά συμπτώματα, η μείωση της λειτουργικότητας των πνευμόνων, οι μεταβολές στην ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας καθώς επίσης και η δυσλειτουργία των θυρεοειδικών αδένων (Metsios et al., 2007), οι διαταραχές στην έκκριση των ορμονών του φύλου (Flouris, Metsios, Jamurtas και Koutedakis, 2007), η απελευθέρωση κυτοκινών (Flouris et al., 2007; Flouris et al., 2009) και ορισμένων μορφών καρκίνου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν έρευνες οι οποίες αναφέρουν ότι η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα εντός του σπιτιού είναι πολύ συχνό φαινόμενο σε παιδιά που εμφανίζουν χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις, σε ποσοστό που ποικίλει από 18-68% (Gilliland et al., 2003; Morkjaroenpong et al., 2002; Reindal, Oymar, 2006; Teach, Crain, Quint, Hylan και Joseph, 2006; Vargas, Brenner, Clark, Boudreaux και Camargo, 2007).

### *Οξειδωτικό στρες*

Όπως αναφέρθηκε η εισπνοή του καπνού κατά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα σχετίζεται με πλήθος αρνητικών καταστάσεων. Κοινός παρονομαστής στην εμφάνιση και ανάπτυξη όλων των προαναφερθέντων επιπτώσεων στην υγεία είναι η εμφάνιση οξειδωτικού στρες. Ο Sies ορίζει το οξειδωτικό στρες ως μια κατάσταση κατά την οποία οι ελεύθερες ρίζες<sup>1</sup> υπερσχύουν έναντι της αντιοξειδωτικής άμυνας που διαθέτουν όλοι οι ζωντανοί

---

<sup>1</sup> Το οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από την τάση ορισμένων μορίων και ατόμων, που έχουν απολέσει το ένα από τα δυο ηλεκτρόνια της τελευταίας στιβάδας, να αναζητούν ένα ηλεκτρόνιο με σκοπό να αποκαταστήσουν της σταθερότητα τους. Αυτό συμβαίνει διότι το μόριο χάνοντας ένα ηλεκτρόνιο από την τελευταία στιβάδα είναι πλέον ανεξάρτητο, μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα και αναζητά ένα ηλεκτρόνιο από άλλα γειτνιάζοντα μόρια ώστε να κατορθώσει να σταθεροποιηθεί. Αυτή η κατάσταση μπορεί να βλάψει μόρια τα οποία είναι σημαντικά στην κυτταρική λειτουργία και οδηγούν σε ολοκληρωτική απώλεια της (Evans, 2000).

οργανισμοί (Sies, 1985). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οφείλεται είτε στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών, είτε στην μειωμένη ικανότητα απομάκρυνσης τους μέσω του αντιοξειδωτικού μηχανισμού και στον συνδυασμό των ανωτέρω. Αποτέλεσμα αυτής της οξειδοαναγωγικής ανισορροπίας είναι η εμφάνιση οξειδωτικής βλάβης η οποία μεταφράζεται σε βλάβη των ιστών όπως οι μυς, η ανοσοκαταστολή και η εύκολη κόπωση (Halliwell, 2001). Ποικίλοι παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής, η διατροφή, το περιβάλλον και η κληρονομικότητα μπορούν να προκαλέσουν διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών μηχανισμών από την μια μεριά και των αντιοξειδωτικών από την άλλη προς όφελος των πρώτων οδηγώντας στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες (Moller, Wallin και Knudsen, 1996).

#### *Ελεύθερες ρίζες του τσιγάρου και βλάβη των ιστών*

Είναι απαραίτητο να αναφέρουμε σε αυτό το σημείο ότι ο mainstream και ο sidestream καπνός αποτελούνται από ελεύθερες ρίζες που είναι συγχρόνως δραστικές και χαρακτηρίζονται από την ιδιαίτερη ικανότητα διατήρησης τους στην ζωή για παρατεταμένο χρονικό διάστημα (Pryor, Prier και Church, 1983; Pryor, Stone, Zang και Bermudez, 1998). Αναφέρεται δε ότι η μοριακή και η αέρια φάση του καπνού διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών. Πιο συγκεκριμένα η μοριακή φάση του καπνού περιέχει  $10^{17}$  ρίζες ανά γραμμάριο και η αντίστοιχη αέρια φάση  $10^{15}$  ρίζες ανά εισπνοή αέρα από τσιγάρο (Church και Pryor, 1985; Pryor, 1992). Μια πάρα πολύ σημαντική διαφορά μεταξύ των φάσεων του καπνού είναι ότι η μεν αέρια φάση αποτελείται από δραστικά στοιχεία άνθρακα και οξυγόνου των οποίων ο χρόνος ζωής δεν ξεπερνά το 1 δευτερόλεπτο, στη δε μοριακή φάση του καπνού τα δραστικά στοιχεία παρουσιάζουν μεγάλο χρόνο ζωής που διαρκεί ώρες μέχρι μήνες (Smith και Fischer, 2001; Pryor και Stone, 1993; Pryor, Stone, Zang και Bermudez, 1998). Σε άλλες έρευνες αναφέρεται ότι ο καπνός του τσιγάρου περιέχει



μεγάλο αριθμό ενώσεων, αρκετές από αυτές οξειδωτικές και προοξειδωτικές, ικανές να παράγουν ελεύθερες ρίζες και δραστικές ενώσεις, διαταράσσοντας κατά αυτό τον τρόπο την οξειδοαναγωγική κατάσταση του οργανισμού (Preston, 1991). Καθώς οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν οξειδωτική βλάβη σε μακρομόρια όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το DNA, ενισχύεται η άποψη πως ευθύνονται για την παθογένεια ασθενειών που σχετίζονται με καρδιοκυκλοφορικό σύστημα και την ανάπτυξη κάποιων μορφών καρκίνου (Glantz και Parmley, 1995; U.S. Department of Health and Human Services, 1999; U.S. Environmental Protection Agency, 1992; Wells, 1994). Επομένως καταδεικνύεται με το πλέον κατηγορηματικό τρόπο η οξειδωτική ικανότητα του καπνού του τσιγάρου και η καθόλα μειονεκτική θέση στην οποία βρίσκεται ο οργανισμός κατά την έκθεση του σε αυτό.

#### *Παθητικό κάπνισμα και οξειδωτικό στρες*

Ισχυρές ενδείξεις πιστοποιούν ότι το παθητικό κάπνισμα συμβάλλει στην μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης. Ένας αρκετά σημαντικός αριθμός ερευνών παρουσιάζει αυξημένους αρκετούς δείκτες οξειδωτικής βλάβης σε διάφορους ιστούς σε ανθρώπους, ζώα και μοντέλα in vitro ως αποτέλεσμα της οξείας (van der Vaart, Postma, Timens, και Ten Hacken, 2004) και χρόνιας έκθεσης (Raupach, Schafer, Konstantinides, και Andreas, 2006) στο παθητικό κάπνισμα. Η διαπίστωση πως οι παθητικοί καπνιστές υφίστανται αυξημένη οξειδωτική βλάβη εξηγείται αφενός από το γεγονός ότι ο καπνός του τσιγάρου αποτελείται από ουσίες οξειδωτικές και προοξειδωτικές ικανές να προκαλούν οξειδοαναγωγική ανισορροπία στα κύτταρα και στους ιστούς και αφετέρου διότι όπως έχει διαπιστωθεί σε μοντέλα in vitro οι ελεύθερες ρίζες προερχόμενες από τον καπνό του τσιγάρου μειώνουν ορισμένα αντιοξειδωτικά του αίματος (Frei, et al., 1991; Eiserich, van der Vliet, Handelman, Halliwell και Cross, 1995). Επιδημιολογικές έρευνες φανερώνουν ότι οι διατροφικές συνήθειες των χρόνια παθητικών καπνιστών διαφέρουν ελάχιστα από αυτές των ενεργητικών

καπνιστών (Osler, 1998), οι οποίοι καταναλώνουν τροφές με χαμηλή περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά (Dallongeville, Marecaux, Fruchart και Amouye 1998; Järvinen et al., 1994; Ma, Hampl και Betts, 2000; Phillips et al., 2000; Wei, Kim και Boudreau, 2003). Σε άλλες περιπτώσεις αναφέρεται ότι οι χρόνια παθητικοί καπνιστές φαίνεται να έχουν σημαντικά χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα συγκριτικά με τους μη εκτεθειμένους μη καπνιστές ανεξάρτητα από την περιεκτικότητα της διατροφής τους σε αντιοξειδωτικά (Dietrich, et al., 2003). Καταλήγουμε επομένως στο συμπέρασμα πως από την μια πλευρά οι ελεύθερες ρίζες του καπνού του τσιγάρου και από την άλλη η διατροφή χαμηλής περιεκτικότητας σε αντιοξειδωτικά δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την εμφάνιση οξειδωτικού στρες στους παθητικούς καπνιστές.

Τόσο η οξεία όσο και η χρόνια έκθεση στο παθητικό κάπνισμα φαίνεται να προκαλούν εξασθένιση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού με συνέπεια την εκδήλωση οξειδωτικού στρες. Ωστόσο το σύνολο των ερευνών από τις οποίες πηγάζει αυτή η διαπίστωση είτε σε μοντέλα *in vivo* είτε *in vitro*, παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς. Για παράδειγμα πολλές επιδημιολογικές έρευνες στις οποίες εξετάζονται οι επιδράσεις του χρόνιου παθητικού καπνίσματος, στηρίζονται σε προσωπικές καταθέσεις των συμμετεχόντων μέσα από ερωτηματολόγια χωρίς να αξιολογείται κάποιος αντικειμενικός δείκτης έκθεσης ενώ την ίδια στιγμή εξετάζονται οι ήδη αναπτυγμένες αλλαγές στο οξειδωτικό στρες χωρίς να γνωρίζουμε ξεκάθαρα τον ρόλο της οξείας έκθεσης αντίστοιχα. Από την άλλη μεριά δεν παρατίθενται αρκετές πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο και την διάρκεια της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα ή την διατροφή των συμμετεχόντων, ενώ ως επί το πλείστον χρησιμοποιούνται πειραματικά μοντέλα με ζώα ή καλλιέργειες κυττάρων τα οποία πιθανώς να μην ανταποκρίνονται σε ανθρώπους. Σε συνδυασμό με την αρχική παρατήρηση του μη ξεκάθਾਰου ορισμού του παθητικού καπνιστή σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να εξετάσει πειραματικά την οξεία επίδραση 1 ώρας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες

οξειδωτικού στρες στο αίμα υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες που προσομοιάζουν το περιβάλλον σε χώρους όπως μπαρ και εστιατόρια. Στην παρούσα έρευνα υιοθετήθηκε τυχαία τυφλή μελέτη με σχεδιασμό διασταύρωσης στην οποία συμμετείχαν ενήλικοι μη καπνιστές . Η κύρια υπόθεση μας ήταν ότι η σύντομη έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολές στην οξειδωαναγωγική κατάσταση των συμμετεχόντων ανδρών και γυναικών, οι οποίες θα διατηρηθούν για κάποιες ώρες μετά το τέλος της.

### Ερευνητικές υποθέσεις

- i) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη συγκέντρωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του αίματος κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.
- ii) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη δραστικότητα της καταλάσης στο αίμα κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.
- iii) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης στο αίμα κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.
- iv) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος στο αίμα κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.
- v) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη συγκέντρωση των ουσιών που αντιδρούν με το Θειβαρβιτουρικό οξύ στο αίμα κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.
- vi) Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στο αίμα κατά την διάρκεια και μετά το τέλος της.

### Στατιστικές υποθέσεις

#### Μηδενικές υποθέσεις

- i) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη συγκέντρωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του αίματος.
- ii) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη δραστικότητα της καταλάσης του αίματος.

- iii) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης του αίματος.
- iv) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος του αίματος.
- v) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη συγκέντρωση των ουσιών που αντιδρούν με το Θειβαρβιτουρικό οξύ στο αίμα.
- vi) Μηδενική υπόθεση ( $\mu_1 = \mu_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα), στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων του αίματος.

#### *Εναλλακτικές υποθέσεις*

- i) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη συγκέντρωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του αίματος.
- ii) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη δραστικότητα της καταλάσης του αίματος.
- iii) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης του αίματος.

- iv) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος του αίματος.
- v) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη συγκέντρωση των ουσιών που αντιδρούν με το Θειβαρβιτουρικό οξύ στο αίμα.
- vi) Εναλλακτική υπόθεση ( $\mu_1 \neq \mu_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά τις δύο δοκιμασίες άσκησης), στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων του αίματος.

#### *Περιορισμοί της έρευνας*

Στους περιορισμούς της συγκεκριμένης έρευνας συμπεριλαμβάνονται η αδυναμία να επιφέρουμε την άγνοια των συμμετεχόντων ως προς την κατάσταση στην οποία εκτίθεντο (φάση ελέγχου και πειραματική φάση), η έλλειψη επιπλέον βιοχημικών αναλύσεων δεικτών οξειδωτικού στρες, η μη αξιολόγηση δεικτών οξειδωτικού στρες σε περισσότερους ιστούς, η ανομοιογένεια του δείγματος που εξετάστηκε καθώς επίσης και η μη καταγραφή της διατροφής των συμμετεχόντων.

## Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας

### *Επιδημιολογικά στοιχεία*

Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας παγκοσμίως (Flouris, Vardavas, Metsios, Tsatsakis, και Koutedakis, 2010; Flouris et al., 2007; Metsios, 2007). Παρατηρείται σε χώρους όπου οι άνθρωποι περνούν αρκετές ώρες ημερησίως όπως στο σπίτι και στο χώρο εργασίας. Σε μια έρευνα που αφορούσε επτά χώρες της Ευρωπαϊκής ένωσης, αναφέρθηκε ότι στους περισσότερους δημόσιους χώρους όπως λόγου χάρη σε νοσοκομεία, εκπαιδευτήρια, χώρους διασκέδασης και μέσα μαζικής μεταφοράς, ο καπνός του τσιγάρου αντιπροσώπευε σημαντικό ποσοστό των ρύπων του ατμοσφαιρικού αέρα. Η υψηλότερη συγκέντρωση καπνού από τσιγάρα βρέθηκε σε χώρους διασκέδασης όπως μπαρ και ντίσκο όπου αναλογικά το ποσοστό του εισπνεόμενου καπνού για τέσσερις ώρες έκθεσης σε ένα τέτοιο χώρο, αντιστοιχεί με ένα μήνα συμβίωση με ένα ενεργητικό καπνιστή (Nebot et al., 2005). Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν και από άλλες εργασίες, οι οποίες βρήκαν ότι η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ενός εργαζόμενου σε μπαρ ή εστιατόρια ήταν τρεις και πλέον φορές υψηλότερη από τη συνεχή διαμονή με μια οικογένεια στην οποία ζουν ενεργητικοί καπνιστές (Jarvis, Foulds και Feyerabend, 1992; Siegel, 1993).

Σε κάποιες άλλες έρευνες αναφέρεται ότι στις μέρες μας, το 19,8% του πληθυσμού των Ηνωμένων Πολιτειών είναι καπνιστές (State-specific prevalence and trends in adult cigarette smoking - United States, 2009) και περισσότεροι από 126 εκατομμύρια ενήλικες Αμερικάνοι εκτίθεται στο παθητικό κάπνισμα σε καθημερινή βάση (U.S. Department of Health and Human Services, 2006). Ο αριθμός αυτός μεταφράζεται σε 440,000 θανάτους ετησίως από ασθένειες που σχετίζονται με το παθητικό κάπνισμα (Andrews και Tingen, 2006; Okoli, Kelly και Hahn, 2007). Σχετικά με την έκταση του προβλήματος στην Ευρώπη,

η Ευρωπαϊκή Αναπνευστική Εταιρία, η Εταιρία έρευνας για τον καρκίνο στο Ηνωμένο Βασίλειο (Cancer Research, U.K.) και το Εθνικό Ινστιτούτο καρκίνου της Γαλλίας, αναφέρουν ότι περισσότεροι από 79 χιλιάδες ενήλικες πεθαίνουν κάθε χρόνο ως αποτέλεσμα του παθητικού καπνίσματος στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Σύμφωνα με εκτιμήσεις οι επτά χιλιάδες από αυτούς είναι εκτεθειμένοι στο παθητικό κάπνισμα σε χώρους εργασίας και οι υπόλοιποι 72 χιλιάδες εκτεθειμένοι στο περιβάλλον του σπιτιού (Edwards et al., 2006; Jamrozik, 2005).

Γνωρίζοντας ότι το ποσοστό των παθητικών καπνιστών επηρεάζεται άμεσα από αυτό των ενεργητικών, νέοι νόμοι έχουν θεσπιστεί από τις περισσότερες χώρες έτσι ώστε να μειωθεί ο αριθμός των ενεργητικών καπνιστών και να εμποδιστούν οι βλαβερές συνέπειες του καπνίσματος. Παρόλο που σε ορισμένες περιπτώσεις φαίνονται αποτελεσματικοί (Rosen, Zucker, Rosen και Connolly, 2010), εντούτοις τα ποσοστά των καπνιστών αυξάνονται συνεχώς ιδιαίτερα στις νεαρές ηλικίες (Tager, 2008). Διεθνείς μελέτες εκτιμούν ότι το ποσοστό των παιδιών που εκτίθενται στο παθητικό κάπνισμα κυμαίνεται περίπου από 39-71% (Moshammer et al., 2006; Raherison et al., 2007; Pattenden et al., 2006). Ωστόσο δεν θα πρέπει να αποκλειστεί η πιθανότητα το ποσοστό των ανηλίκων παθητικών καπνιστών να παρουσιάσει εντυπωσιακή άνοδο στο μέλλον καθώς ο αριθμός των ανηλίκων και ιδιαίτερα των κοριτσιών που καπνίζουν ακολουθεί μια σταδιακά αύξουσα πορεία που ίσως επηρεάσει τον αντίστοιχο αριθμό των παθητικών καπνιστών (Flouris et al., 2008). Παράλληλα περισσότεροι από 126 εκατομμύρια Αμερικάνοι και 130 εκατομμύρια ενήλικες Κινέζοι μη καπνιστές εκτίθενται καθημερινά στο παθητικό κάπνισμα ενώ την ίδια στιγμή εκτιμήσεις κάνουν λόγο 700 εκατομμύρια παιδιά και 50 εκατομμύρια εγκύους παθητικές καπνίστριες (U.S. Department of Health and Human Services, 2006; World Health Organization, 2009). Επιπροσθέτως, ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί το γεγονός πως ένα σημαντικό ποσοστό γυναικών στην φάση της κύησης εξακολουθούν να είναι ενεργοί καπνιστές και συνεπώς



εκθέτουν τα παιδιά τους σε in-utero παθητικό κάπνισμα (U.S. Food and Drug Administration, 2006) ενώ ένα ποσοστό του ίδιου πληθυσμού υποχρεώνεται να αναπνέει καθημερινά αέρα εμπλουτισμένο με τον καπνό του τσιγάρου (World Health Organization, 2009). Πρακτικά αυτό το στοιχείο εξηγεί το φαινόμενο γιατί πολλά παιδιά εμφανίζουν ασθένειες που οφείλονται στο παθητικό κάπνισμα από τα πρώτα μόλις χρόνια της ζωής τους.

Παρά το πλήθος των ερευνών που ασχολούνται με το παθητικό κάπνισμα, μέχρι σήμερα δεν έχει οριστεί ξεκάθαρα ένας άμεσος κοινά αποδεκτός τρόπος μέτρησης της δόσης του καπνού που εισπνέεται. Επιπλέον δεν έχει καθιερωθεί ένα επίπεδο ασφάλειας κατά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα που ταυτόχρονα θα αποτελεί σημείο αναφοράς το οποίο θα χαρακτηρίζει τον βαθμό έκθεσης. Ωστόσο, τονίζεται η σημασία της μέτρησης αντικειμενικών κριτηρίων όπως η νικοτίνη και το μεταβολικό παράγωγο της η κοτινίνη, στην εκτίμηση του βαθμού έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα (Whincup et al., 2004) η αποτελεσματικός συνδυασμός προφορικής κατάθεσης και αξιολόγησης ενός βιοχημικού δείκτη στο αίμα (Faught, Flouris και Cairney, 2009).

#### *Συστατικά του καπνού του τσιγάρου και ελεύθερες ρίζες*

Ο καπνός που εισπνέεται κατά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα απαρτίζεται από τον sidestream και τον mainstream καπνό. Το μεγαλύτερο ποσοστό προέρχεται από τον sidestream καπνό μετά από την συνήθη καύση ενός τσιγάρου και αντιστοιχεί στο 85% του συνόλου. Το υπόλοιπο 15% συνίσταται από τον mainstream καπνό ο οποίος εκπνέεται από τον ενεργητικό καπνιστή μετά από κάθε εισπνοή από το τσιγάρο καθώς επίσης και από αέρια που διασκορπίζονται κατά τη διάρκεια του καπνίσματος μέσω του τσιγαρόχαρτου (European Commission, 2004; National Research Council Committee on Passive Smoking, 1986). Επιπλέον, ο καπνός του τσιγάρου χωρίζεται σε δυο φάσεις, την αέρια και τη μοριακή φάση. Τα υδρόφιλα συστατικά της αέριας φάσης του καπνού απορροφώνται από το ανώτερο

αναπνευστικό ενώ τα σωματίδια που εμπεριέχονται στη μοριακή φάση του καπνού και ιδιαίτερα αυτά που έχουν μέγεθος  $<2,5\mu\text{m}$ , είναι άκρως επικίνδυνα καθώς μπορούν να προσκολληθούν βαθιά μέσα στους πνεύμονες κατά την εισπνοή του τσιγάρου (National Research Council Committee on Passive Smoking, 1986; Smith και Fisher, 2001).

Περισσότερα από 4720 συστατικά έχουν ανιχνευθεί στον καπνό του τσιγάρου από τα οποία 250 και περισσότερα είναι τοξικά ή καρκινογόνα (U.S. Department of Health and Human Services, 2000). Τις τελευταίες δεκαετίες πλήθος διεθνώς αναγνωρισμένων οργανισμών και κυβερνητικών οργανώσεων χαρακτήρισαν το παθητικό κάπνισμα ως καρκινογόνο παράγοντα κατά την έκθεση του από τους ανθρώπους (U.S. Environmental Protection Agency, 1993; U.S. Department of Health and Human Services, 2000; WHO International Agency for Research on Cancer, 2002). Επιπλέον, χαρακτηρίστηκε ως καρκινογόνο στους χώρους εργασίας από την Φινλανδική (2000) και την Γερμανική κυβέρνηση, ενώ πρόσφατα η αντιπροσωπεία προστασίας περιβάλλοντος της Καλιφόρνια των Ηνωμένων Πολιτειών θεώρησε τον καπνό του τσιγάρου ως τοξικό στοιχείο του ατμοσφαιρικού αέρα.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η συγκέντρωση των πολυάριθμων τοξινών του καπνού και των σωματιδίων μεγέθους  $<2,5\mu\text{m}$  είναι δραματικά μεγαλύτερη (έως και 100 φορές) στον sidestream καπνό σε σύγκριση με τον mainstream καπνό (Kritz et al., 1995). Οι κυριότερες καρκινογόνες ουσίες που βρέθηκαν στο καπνό του τσιγάρου στον οποίο εκτίθεται ένας ενεργητικός και αντίστοιχα ένας παθητικός καπνιστής είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες οι οποίοι ευθύνονται για καρκινογενέσεις μεταλλάξεις και τερατογενέσεις (Grimme, 1983; Perera, 1997; Santodonato, 1997), οι νιτροσαμίνες, οι ετεροκυκλικές αρωματικές άμυνες και πολλές άλλες οργανικές ενώσεις. Όλες αυτές οι ουσίες επηρεάζουν αρκετούς ιστούς ανεξάρτητα από τον τρόπο εισόδου τους στον οργανισμό.

Είναι γνωστό εδώ και πάρα πολλά χρόνια ότι ο καπνός του τσιγάρου περιέχει ελεύθερες ρίζες όπως aldehydes, peroxides, epoxides, nitrogen oxides, peroxy radicals, οι οποίες μέσω της οξειδωσης που προκαλούν σε μακρομόρια όπως τα λίπη, οι πρωτεΐνες και το DNA, εμπλέκονται στην παθογένεια καρδιαγγειακών ασθενειών και διαφόρων μορφών καρκίνου (Bluhm, Weinstein, και Sousa, 1971; Floyd, 1982; Glantz και Parmley, 1995; Ingram, 1961; Lentz, και DiLuzio, 1974; Lyons, Gibson, και Ingram, 1958; McBrien, και Slater, 1982; U.S. Department of Health and Human Services, 1999; U.S. Environmental Protection Agency, 1992; Wells, 1994; Wynder, και Hoffmann, 1967). Οι περισσότερες από τις βλαβερές επιπτώσεις του καπνίσματος αποδίδονται στην παρουσία ελευθέρων ριζών στο καπνό του τσιγάρου και στην δυνατότητα αρκετών συστατικών του να παράγουν ROS (Winston, Church, Cueto και Pryor, 1993). Σύμφωνα με τον Preston, (1991) ο καπνός του τσιγάρου περιέχει μεγάλο αριθμό ενώσεων, αρκετές από τις οποίες οξειδωτικές και προοξειδωτικές, ικανές να παράγουν ελεύθερες ρίζες διαταράσσοντας κατά αυτό τον τρόπο την οξειδοαναγωγική κατάσταση του οργανισμού.

Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενη παράγραφο ο καπνός του τσιγάρου χωρίζεται σε δυο φάσεις. Με βάση αυτό το διαχωρισμό αναφέρεται ότι η μοριακή φάση του καπνού και η αέρια φάση του καπνού διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την συγκέντρωση ελευθέρων ριζών. Πιο συγκεκριμένα η μοριακή φάση του καπνού περιέχει  $10^{17}$  ρίζες ανά γραμμάριο οι οποίες διατηρούνται για μέρες ή μήνες (Pryor και Stone, 1993; Pryor, et al., 1998; Smith και Fischer, 2001) και η αντίστοιχη αέρια φάση  $10^{15}$  ρίζες ανά εισπνοή από τσιγάρο οι οποίες τυπικά έχουν χρόνο ζωής μικρότερο από ένα δευτερόλεπτο (Church και Pryor, 1985; Pryor, 1992). Ωστόσο ένα αξιοπρόσεκτο χαρακτηριστικό των ελευθέρων ριζών της αέριας φάσης είναι ότι έχουν μια ασυνήθιστα μεγάλη διάρκεια ζωής. Παραδόξως η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών διατηρείται για περισσότερα από 10 λεπτά και επομένως όσο κυλά ο χρόνος, αυξάνεται σταδιακά και η συγκέντρωσή τους (Church και Pryor, 1985; Pryor, Prier

και Church, 1983). Για να εξηγηθεί αυτό το φαινόμενο, προτάθηκε ότι οι ελεύθερες ρίζες της αέριας φάσης του καπνού, επιβιώνουν σε μια σταθερή κατάσταση κατά την οποία δημιουργούνται και καταστρέφονται συνεχώς (Church και Pryor, 1985; Pryor, Prier και Church, 1983; Pryor, Dooley και Church, 1984; Pryor, Tamura και Church, 1984). Ο μηχανισμός μέσω του οποίου εξηγείται ο συνεχής κύκλος παραγωγής και αποπτώσεως των ελευθέρων ριζών στον καπνό του τσιγάρου βασίζεται στην χημική λειτουργία του νιτρικού οξειδίου (NO). Το πρώτο βήμα αυτού του μηχανισμού (Cueto, Church και Pryor 1989; Pryor et al., 1984) περιλαμβάνει την αργή οξειδωση του NO το οποίο θα μετατραπεί σε νιτρικό διοξείδιο (NO<sub>2</sub>). Στην συνέχεια το NO<sub>2</sub> μπορεί να αντιδράσει (Pryor, και Lightsey, 1981) με ακόρεστα στοιχεία όπως τα isoprene, έτσι ώστε να δημιουργήσει ανθρακικές ελεύθερες ρίζες. Αυτές οι ρίζες θα οδηγήσουν στην δημιουργία ριζών υπεροξειδίου και αντιδρώντας με το NO μετατρέπονται σε alkoxyl ελεύθερες ρίζες παράγοντας περισσότερο NO<sub>2</sub>. Το NO<sub>2</sub> με την σειρά του αντιδρά με το υπεροξείδιο (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) και έτσι ολοκληρώνεται ένας μηχανισμός παραγωγής και αποπτώσεως ελευθέρων ριζών.

#### *Μηχανισμοί δημιουργίας ελευθέρων ριζών ως αποτέλεσμα τις έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα*

Από την προηγούμενη κιάλας παράγραφο γνωρίσαμε έναν μηχανισμό χάριν του οποίου ελεύθερες ρίζες στην αέρια φάση του καπνού δημιουργούνται αδιάκοπα ως αποτέλεσμα μιας σειράς αντιδράσεων με κύριο εκφραστή το NO. Όπως είδαμε οι Pryor και Stone αναφέρουν ότι η αέρια φάση του καπνού του τσιγάρου περιέχει 10<sup>15</sup> ρίζες ανά εισπνοή από τσιγάρο, με κυριότερες τις alkyl, alkoxyl, και peroxy ελεύθερες ρίζες. Το NO βρίσκεται στο καπνό του τσιγάρου σε συγκεντρώσεις ανάμεσα στα 500-1000 ppm και πιθανώς είναι η κυριότερη εξωγενής πηγή NO στην οποία εκτίθενται οι ενεργητικοί και οι παθητικοί καπνιστές. Το NO είναι ένα ιδιαίτερης σημασίας μόριο εξ αιτίας των πολλαπλών φυσιολογικών δράσεων που πραγματοποιεί καθώς από την μια συντονίζει την αρτηριακή

πίεση, και από την άλλη όταν βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις γίνεται ιδιαίτερα τοξικό (Moncada και Higgs, 1993). Πιο συγκεκριμένα το NO αντιδρά άμεσα με το  $O_2^-$  που δημιουργείται συνεχώς από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων κατά την αναπνοή και παράγει την περοξυνιτρίνη (ONOO). Επίσης αντιδρά με organic peroxy radicals τα οποία βρίσκονται στο στον καπνό του τσιγάρου και δίνει alkyl peroxy nitrates (ROONO) (Padmaja και Huie, 1993). Τα δραστικά στοιχεία αζώτου (RNS) τα οποία περιλαμβάνουν το NO, ONOO, και ROONO θεωρούνται ιδιαίτερα σημαντικά στην πρόκληση οξειδωτικής βλάβης. Αυτά τα μόρια είτε προϋπάρχουν είτε σχηματίζονται στον καπνό του τσιγάρου (Cueto και Pryor, 1994; Pryor και Stone, 1993) και θεωρούνται ότι μεσολαβούν στην οξειδωτική τροποποίηση των βιολογικών μακρομορίων από τον καπνό του τσιγάρου. Οι υψηλές συγκεντρώσεις αυτών των ελευθέρων ριζών και των ROS στο καπνό του τσιγάρου μπορούν επίσης να μειώσουν τα αντιοξειδωτικά μόρια και συνεπώς να προκαλέσουν υπεροξείδωση των λιπιδίων (Frei, Forte, Ames και Cross, 1991) και οξείδωση των πρωτεϊνών (Eiserich et al., 1994; Reznick, et al., 1992).

Η εισπνοή του καπνού του τσιγάρου εκθέτει τους πνεύμονες στις υψηλές συγκεντρώσεις ελευθέρων ριζών που περιέχει (Pryor και Stone, 1993). Είναι επίσης γνωστό ότι ο καπνός του τσιγάρου ενεργοποιεί διάφορες οξειδωτικές διαδικασίες οι οποίες φαίνεται πως ευθύνονται για την αυξημένη συγκέντρωση των φαγοκυττάρων στο αίμα (Galdston et al., 1977) και στους ιστούς (Holt, 1987; Johnson et al., 1990) κάτι που χαρακτηρίζει την εκδήλωση είτε οξείας είτε χρόνιας φλεγμονής των πνευμόνων και του ανώτερου αναπνευστικού (Cantin και Crystal, 1985; Hunninghake και Crystal, 1983). Τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα με την βοήθεια του ενζύμου οξειδάση του NADPH εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες ROS, όπως το  $O_2^-$  και το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), τα οποία με την σειρά τους προκαλούν οξειδωτικό στρες σε αυτούς που εισπνέουν τον καπνό. Ταυτόχρονα διάφορα μέταλλα που περιέχονται στο τσιγάρο όπως ο σίδηρος συσσωρεύονται

στους ιστούς των ενεργητικών και των παθητικών καπνιστών ενώ παράλληλα έχει διαπιστωθεί ότι ο καπνός του τσιγάρου προκαλεί την κινητοποίηση του σιδήρου από την φερριτίνη (Lapenna et al., 1995). Υπό την παρουσία μετάλλων όπως ο σίδηρος, το  $H_2O_2$  μπορεί να μετατραπεί στα ιδιαίτερα δραστικά hydroxyl radicals που αυξάνουν την οξειδωτική βλάβη στους ενεργητικούς και τους παθητικούς καπνιστές. Επιπροσθέτως, στα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα των καπνιστών, δραστηριοποιούνται έντονα τα ένζυμα μυελοπεροξειδάση και ιοσινόφιλη υπεροξειδάση τα οποία καταλύουν την μετατροπή του  $H_2O_2$  σε υποχλωρικό οξύ (HOCl) με την παρουσία χλωρίου και υποβρωμικό οξύ υπό την παρουσία βρωμίου τα οποία είναι από τα πιο ισχυρά οξειδωτικά μόρια των λιπιδίων και των πρωτεϊνών, και αν δράσουν ανεξέλεγκτα, μπορούν να προκαλέσουν βλάβη ακόμα και σε παρακείμενους υγιείς ιστούς (Finaud, Lac και Filaire, 2006). Η αυξημένη συγκέντρωση δεικτών οξείδωσης του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπών, όπως η 8-hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG), η αδρανοποιημένη α1-antiprotease και τα F2-ισοπροστάνια καθώς επίσης και η μείωση των αντιοξειδωτικών του πλάσματος, π.χ. της βιταμίνης C, στους ενεργητικούς και παθητικούς καπνιστές καθώς επίσης και στα ζώα καταμαρτυρούν την εμφάνιση οξειδωτικού στρες προκαλούμενο από την έκθεση στον καπνό του τσιγάρου (Chow, 1993; Howard et al., 1998; Loft et al., 1992; Morrow et al., 1995; Weber et al., 1996).

Όπως αναφέρθηκε ο καπνός κατά την μοριακή φάση του τσιγάρου, περιέχει  $10^{17}$  ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες με τις πιο ενδιαφέρουσες χημικές ιδιότητες στην πίσσα του τσιγάρου είναι οι semiquinone, οι quinones και οι hydroquinones (Pryor και Stone, 1993). Οι ελεύθερες αυτές ρίζες βρίσκονται στα υδατοδιαλυτά μέρη της πίσσας έχοντας την ικανότητα να ανάγουν το οξυγόνο σε  $O_2^-$  ( $Q^- + O_2 \rightarrow Q + O_2^-$ ). Το  $O_2^-$  από την άλλη πλευρά, μπορεί να αντιδράσει με τον εαυτό του και να δημιουργήσει την δραστική ρίζα του  $H_2O_2$  ( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ ). Ως εκ τούτου αυτές οι ρίζες καταναλώνουν  $O_2$  και παράγουν μια σειρά από δραστικές ρίζες οξυγόνου οι οποίες δύνανται να προκαλέσουν

σημαντική οξειδωτική βλάβη (Pryor και Stone, 1993). Εντούτοις για να συμβεί κάτι τέτοιο όπως και στην περίπτωση στην οποία υφίσταται η λευκοκυτταρική διήθηση στους ιστούς την οποία γνωρίσαμε πιο πάνω, τα δραστικά στοιχεία  $\text{H}_2\text{O}_2$  και το  $\text{O}_2^-$  πρέπει να αντιδράσουν με μέταλλα ώστε να δημιουργηθούν δραστικές ελεύθερες ρίζες. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται αυτόματα αν αναλογιστούμε ότι εκτός από το εξωκυττάριο υγρό και η πίσσα περιέχει μέταλλα όπως ο σίδηρος και έτσι καταλύεται η παραγωγή  $\text{OH}\cdot$  από  $\text{H}_2\text{O}_2$  μέσα από τις αντιδράσεις Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe(II)} \rightarrow \text{HO}\cdot + \text{HO}^- + \text{Fe(III)}$ ) (Pryor και Stone, 1993). Επίσης έχει αναφερθεί ότι οι quinone ελεύθερες ρίζες, αντιδρούν κατευθείαν με τα  $\text{O}_2^-$  που παράγονται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων ώστε να σχηματιστούν  $\text{OH}\cdot$  και  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Nakayama, Church και Pryor, 1989). Εκτός από την διαδικασία αυτή τα  $\text{OH}\cdot$  είναι δυνατό να σχηματιστούν μέσα από Haber-Weiss αντιδράσεις. Όπως είδαμε τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα με την βοήθεια του ενζύμου οξειδάση του NADPH εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες ROS, όπως το  $\text{O}_2^-$  και το  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Παρά το γεγονός ότι το  $\text{O}_2^-$  είναι ένα μη αντιδρών στοιχείο (Powers και Jackson, 2008) μαζί με το  $\text{H}_2\text{O}_2$  γίνονται το υπόστρωμα στις αντιδράσεις Haber-Weiss που παράγουν  $\text{OH}\cdot$  ( $\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}\cdot + \text{OH}^- + \text{O}_2$ ).

*Επιπτώσεις στην υγεία ως αποτέλεσμα της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα.*

Παρά το γεγονός ότι ο καπνός του τσιγάρου και στις δυο φάσεις, περιέχει ελεύθερες ρίζες και δραστικά στοιχεία οξυγόνου οι χημικοί και οι βιοχημικοί μηχανισμοί μέσα από τους οποίους επηρεάζεται η βιολογική λειτουργία των κυττάρων από τον καπνό του τσιγάρου δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Εντούτοις, ερευνητικά δεδομένα θεωρούν τις ελεύθερες ρίζες και τα ROS του καπνού είναι υπεύθυνα για τις περισσότερες ασθένειες και βλάβες των ιστών εξ αιτίας του τσιγάρου.

Το κάπνισμα έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας ισχυρός παράγοντας κινδύνου για την υγεία και σχετίζεται με αρκετές καρδιαγγειακές ασθένειες, χρόνιες παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος των πνευμόνων και το καρκίνο. Αυτά τα προβλήματα υγείας σταδιακά επιδεινώνονται εξ αιτίας της εθιστικής ιδιότητας του τσιγάρου που αποδυναμώνει την θέληση για διακοπή αυτής της συνήθειας. Οι περισσότερες από τις βλαβερές επιπτώσεις του καπνίσματος αποδίδονται στην παρουσία ελευθέρων ριζών στο καπνό του τσιγάρου και στην δυνατότητα αρκετών συστατικών του να παράγουν ROS (Winston, Church, Cueto και Pryor, 1993). Η πρόκληση αυτών των συνεπειών εξ αιτίας του καπνού του τσιγάρου είναι ιδιαίτερος σοβαρή στα παιδιά το αντιοξειδωτικό σύστημα των οποίων δεν είναι πλήρως αναπτυγμένο και συνεπώς είναι περισσότερο ευάλωτα στην οξειδωτική βλάβη που προκαλούν τα υποπροϊόντα του καπνού. (Metsios, Flouris και Koutedakis, 2009).

Όπως είδη γνωρίσαμε ο καπνός του τσιγάρου έχει μια σύνθετη σύσταση, καθώς σε αυτόν συνυπάρχουν ελεύθερες ρίζες όπως οι aldehydes, οι peroxides, οι epoxides, τα νιτρικά οξείδια, τα peroxy radicals και άλλα προοξειδωτικά μόρια (Church και Pryor, 1985; Pryor et al., 1983). Υπάρχουν ενδείξεις ότι ελεύθερες ρίζες του τσιγάρου συμβάλλουν στις διαδικασίες πρόκλησης ασθενειών που σχετίζονται με το κάπνισμα (Cross et al., 1987). Πράγματι, η παρουσία των ελευθέρων του καπνού του τσιγάρου θεωρείται καταλυτική στην εμφάνιση εμφυσήματος στους πνεύμονες (Cantin και Crystal, 1985), καρκίνου, χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) (Rahman και MacNee, 1996) και αθηροσκλήρωσης (Yokode et al., 1988). Στη τελευταία περίπτωση η οξείδωση της LDL που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες ίσως παίζει ένα πρωταρχικό ρόλο στην αθηρογένεση (Steinberg, Parthasarathy, Carew, Khoo και Witztum, 1989). Συνεπώς, αυτή η οξειδωτική τροποποίηση είναι ίσως ένας σημαντικός μηχανισμός μέσω του οποίου ο καπνός των τσιγάρων μπορεί να επιταχύνει ή να επιδεινώσει, την διαδικασία πρόκλησης αθηροσκλήρωσης.



Με βάση τα παραπάνω δυο είναι τα ισχυρά στοιχεία που εμπλέκουν τον ρόλο των ελευθέρων ριζών στην παθογένεια που προκαλείται από τον καπνό του τσιγάρου. Πρώτον, οι αδιαμφισβήτητες ενδείξεις που θέλουν τις ελεύθερες ρίζες του καπνού μέσω της οξειδωτικής ικανότητας τους να συμβάλλουν στην εξέλιξη αρκετών χρόνιων ασθενειών που σχετίζονται με το κάπνισμα (Halliwell et al., 1987; Pryor, 1987) και δευτερευόντως η αυξημένη συγκέντρωση τους στον καπνό του τσιγάρου (Church και Pryor, 1985).

Το παθητικό κάπνισμα εκτός από την συσχέτιση του με την δυσλειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος θεωρείται υπεύθυνο για την εκδήλωση χρόνιων ασθενειών των πνευμόνων όπως το άσθμα και η ΧΑΠ, τα διάφορα αλλεργικά συμπτώματα, η μείωση της λειτουργικότητας των πνευμόνων, οι μεταβολές στην ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας, οι διαταραχές στη λειτουργία των θυρεοειδικών αδένων, (Metsios et al., 2007) και στην έκκριση των ορμονών του φύλου και διαφόρων κυτοκινών (Flouris et al., 2007; 2009). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν εργασίες οι οποίες αναφέρουν ότι η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα εντός του σπιτιού είναι πολύ συχνό φαινόμενο στα παιδιά που εμφανίζουν χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις σε ποσοστό που ποικίλει από 18-68% σε διάφορες έρευνες (Gilliland et al., 2003; Morkjaroenpong et al., 2002; Reindal και Oymar, 2006; Teach et al., 2006; Vargas et al., 2007). Για παράδειγμα έχουν αναφερθεί συχνά επεισόδια αλλεργικών αντιδράσεων όπως οι έντονοι συριγμοί στην αναπνοή σε νεογνά στοιχείο άμεσα συνυφασμένο με την αυξημένη πιθανότητα προδιάθεσης για εκδήλωση άσθματος κατά την παιδική ηλικία (von Mutius, 2001). Ωστόσο μια σημαντική παράμετρος που ταυτόχρονα καταδεικνύει την βλαπτικότητα του παθητικού καπνίσματος είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο τα παιδιά είναι εκτεθειμένα στο παθητικό κάπνισμα. Στην εργασία των Gilliland, Li και Peters (2001), βρέθηκε πως τα έμβρυα τα οποία είναι εκτεθειμένα in-utero στο παθητικό κάπνισμα έχουν αυξημένη πιθανότητα να εμφανίσουν συμπτώματα συριγμών κατά την αναπνοή και άσθματος συγκριτικά με αυτά που εκτέθηκαν

για πρώτη φορά στην παιδική ηλικία (Gilliland et al., 2001). Προς αυτή την κατεύθυνση αρκετές ακόμα εργασίες φανερώουν μια ξεκάθαρη σχέση ανάμεσα στο άσθμα και στο παθητικό κάπνισμα (Cook και Strachan, 1997; Foliaki et al., 2008; Pattenden et al., 2006; Sunyer et al., 2007). Περαιτέρω έρευνες έδειξαν ότι το παθητικό κάπνισμα μειώνει σημαντικά την λειτουργικότητα των πνευμόνων σε επίπεδα τα οποία χαρακτηρίζουν τους ενεργητικούς καπνιστές, αυξάνοντας την πιθανότητα εκδήλωσης ΧΑΠ (Flouris et al., 2009).

Άλλες έρευνες φανέρωσαν πως η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα σε συνθήκες μπαρ/εστιατορίων αυξάνει σημαντικά τον μεταβολισμό και την έκκριση θυρεοειδικών ορμονών (Flouris et al., 2005; 2008; Metsios et al., 2007; Sidorkewicz et al., 2006). Πιο συγκεκριμένα άτομα τα οποία εκτέθηκαν για μια ώρα στο παθητικό κάπνισμα εμφάνισαν 6% άνοδο στην ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας σχεδόν εφάμιλλη με αυτή που προκαλεί το ενεργητικό κάπνισμα (Walker και Kane, 2002). Με βάση αυτά τα αποτελέσματα θα πρέπει να θεωρείται πιθανό ότι η χρόνια έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ίσως να επηρεάσει την φυσιολογική λειτουργία του καταβολισμού επηρεάζοντας άμεσα την σωματική σύσταση (Metsios et al., 2007). Αναφορικά με την απόκριση των θυρεοειδικών ορμονών στο παθητικό κάπνισμα, έρευνες αναφέρουν ότι ακόμα και η οξεία έκθεση μπορεί να μεταβάλει την συγκέντρωση των θυρεοειδικών ορμονών στο αίμα. Εντούτοις, η έλλειψη ερευνητικών δεδομένων δεν συμβάλλει στην ομοιογένεια των αποτελεσμάτων καθώς ο συνδυασμός αρκετών παραγόντων όπως το φύλο (Flouris et al., 2008), ή οι ασθένειες των θυρεοειδών ορμονών (Muller, Zulewski, Huber, Ratcliffe και Staub, 1995) ίσως ευθύνονται για τις διαφορετικές επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην λειτουργία των θυρεοειδών αδένων.

Άλλες έρευνες που εξέτασαν την επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην ορμονική λειτουργία και την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού φανερώνουν πως η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα υπό αυστηρά

ελεγχόμενες συνθήκες προκαλεί σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου, η οποία μεταφράζεται σε μείωση της τεστοστερόνης και της προγεστερόνης στους άνδρες και μείωση της 17-εστραδιόλης και της προγεστερόνης στις γυναίκες (Flouris et al., 2008). Μεταβολές στην συγκέντρωση των αντιποικυνών IL-1β (Flouris et al., 2005; 2008; 2009) και IL-4, TNF-α, (Flouris et al., 2009), των λευκοκυττάρων και πρωτεϊνών όπως η C αντιδραστική πρωτεΐνη, fibrinogen, η ομοκυστεΐνη (Panagiotakos et al., 2004) και άλλων μορίων μαρτυρούν την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων η οποία παρατηρήθηκε έπειτα από έκθεση στο παθητικό κάπνισμα σε άντρες και σε γυναίκες (Anderson, Theron, Richards, Myer και van Rensburg, 1991). Ωστόσο επιπλέον έρευνες απαιτούνται έτσι ώστε να αποσαφηνιστεί πλήρως η σχέση παθητικού καπνίσματος και μεταβολών στην ορμονική και ανοσοποιητική λειτουργία του οργανισμού. Τέλος το παθητικό κάπνισμα έχει σχετισθεί με αύξηση της συχνότητας εμφάνισης φλεγμονής του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, διάφορες μορφές φλεγμονής των ώτων, το σύνδρομο του αιφνίδιου θανάτου των νεογνών (Schoendorf και Kiely, 1992; Tang et al., 1999) και τον καρκίνο του πνεύμονα (Besaratina και Pfeifer, 2008) του στήθους (Chang, 2009), του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (Sturgis και Pytynia, 2005) και της ρινικής κοιλότητας (Rushton, 2004).

### *Μεθοδολογία ανασκόπησης της βιβλιογραφίας*

Πλήθος ερευνών έχουν εξετάσει το ρόλο της χρόνιας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα στην παθογένεια αρκετών ασθενειών. Στις περισσότερες περιπτώσεις η εμφάνιση μιας πάθησης συνοδεύεται από διαταραχή της οξειδωαναγωγικής ισορροπίας όπως αυτή εκφράζεται μέσα από διάφορους δείκτες οξειδωτικού στρες. Ωστόσο το μειονέκτημα της μελέτης ερευνών σχετικά με την επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην οξειδωαναγωγική κατάσταση χρόνια εκτεθειμένων παθητικών καπνιστών έγκειται στο γεγονός πως εξετάζονται οι ήδη αναπτυγμένες αλλαγές στο οξειδωτικό στρες ως απόκριση στο παθητικό κάπνισμα, χωρίς να γνωρίζουμε ξεκάθαρα τον ρόλο της οξείας έκθεσης αντίστοιχα. Είναι επομένως σημαντικό να εξετάσουμε την επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα ενός ανεπηρέαστου αντιοξειδωτικού συστήματος έτσι ώστε να αξιολογήσουμε τις σχετικές μεταβολές που αυτό επιφέρει στην μεταβολή της οξειδωαναγωγικής κατάστασης και συνεπώς στην εμφάνιση χρόνιων ασθενειών. Υποθέσαμε ότι η μελέτη του μοντέλου της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα μπορεί να δώσει πιο ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς διαταραχής της οξειδωαναγωγικής κατάστασης και την συμμετοχή των στην εκδήλωση ασθενειών.

Σε αυτή την ανασκόπηση μελετάται η βιβλιογραφία σχετικά με τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες. Η ανασκόπηση εστιάζεται στην μελέτη εργασιών σε ανθρώπους, ζώα και μοντέλα *in vitro* και περιγράφεται η απόκριση διαφόρων ιστών στην οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μέσα από την μεταβολή δεικτών υπεροξειδωσης και αντιοξειδωτικών μορίων. Επίσης, εντοπίζονται ομοιότητες και διαφορές στην απόκριση μεταξύ των τριών μοντέλων και συζητείται πώς αυτά τα αποτελέσματα σχετίζονται με την ανάπτυξη χρόνιων ασθενειών.

Για την διερεύνηση σχετικών μελετών εξετάστηκε η βάση δεδομένων του Medline ([www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov)). Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν στην αναζήτηση της

βιβλιογραφίας ήταν: passive ή secondhand ή involuntary smoking, acute exposure, oxidative stress και redox status. Στην συνέχεια επιλέχθηκαν τα άρθρα τα οποία περιέγραφαν τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ανθρώπους, ζώα και μοντέλα in vitro. Ως οξείες επιδράσεις θεωρήθηκαν αυτές οι οποίες μετρήθηκαν εντός 24 ωρών από το τέλος της έκθεσης χωρίς να γίνεται διαφοροποίηση μεταξύ mainstream και sidestream παθητικού καπνίσματος.

#### *Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε μοντέλα in vitro*

Η πλειοψηφία των ερευνών που εξετάζουν τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος σε δείκτες οξειδωτικού στρες πραγματοποιήθηκαν σε μοντέλα in vitro (βλ. Πίνακας 1). Σε αυτές χρησιμοποιήθηκαν διάφορα κύτταρα από τα οποία πιο συχνά εξετάστηκαν τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα και τα τύπου II επιθηλιακά κύτταρα των πνευμονικών κυψελίδων. Το γενικότερο αίσθημα που πηγάζει από τη μελέτη αυτών των ερευνών είναι ότι το οξύ παθητικό κάπνισμα προκαλεί μια άμεση μεταβολή των δεικτών οξειδωτικού στρες και κατά συνέπεια διαταράσσεται η οξειδωαναγωγική ισορροπία των κυττάρων.

Η οξεία έκθεση των κυτταρικών καλλιιεργειών στο παθητικό κάπνισμα προκαλεί άμεση μεταβολή της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών μορίων. Πιο συγκεκριμένα μετά από 3 ώρες έκθεσης παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της GSH στα τύπου II επιθηλιακά κύτταρα των πνευμονικών κυψελίδων (Li, Donaldson, Rahman και MacNee, 1994) και στους ανθρώπινους πνευμονικούς ινοβλάστες (Bagloli, et al., 2006; Carnevali et al., 2003), καθώς επίσης μετά από 6 και 24 ώρες αντίστοιχα (Bagloli et al., 2006). Παρόμοια, η οξεία έκθεση διάρκειας 24 ωρών μείωσε την GSH στα επιθηλιακά κύτταρα του αμφιβλοστοειδούς ενηλίκων και εμβρύων και στα τύπου II επιθηλιακά κύτταρα των πνευμονικών κυψελίδων (Bertram, Bagloli, Phipps και Libby, 2009; Jia et al., 2007; Kode,

Yang και Rahman 2006). Εντούτοις στην έρευνα του Jia και των συνεργατών του (2007), τα κύτταρα δεν εκτέθηκαν στον καπνό του τσιγάρου εξ ολοκλήρου, αλλά αποκλειστικά στην ακρολεΐνη που είναι η κυρίαρχη τοξική ουσία του καπνού τσιγάρου. Επομένως υπάρχει πιθανότητα να προκληθεί μεγαλύτερη μείωση της συγκέντρωσης της GSH στην περίπτωση που τα ανθρώπινα κύτταρα εκτεθούν και στα υπόλοιπα οξειδωτικά στοιχεία του καπνού του τσιγάρου. Παρόμοια μετά από 2 ώρες έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μειώθηκε η συγκέντρωση της GSH των λεμφοκυττάρων (Hasnis, Bar-Shai, Burbea και Zeznick, 2007) και των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος ανθρώπων (Maranzana και Mehlhorn, 1998) καθώς επίσης και η συγκέντρωση των πρωτεϊνικών θειολών στο πλάσμα (Frei, Forte, Ames και Cross, 1991).

Αντίθετα σε μια άλλη έρευνα στην οποία αξιολογήθηκε η συγκέντρωση της GSH στα τύπου II επιθηλιακά κύτταρα των πνευμονικών κυψελίδων 24 ώρες μετά από έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, η συγκέντρωση της GSH και της γ-GCS αυξήθηκε λειτουργώντας ως προστατευτικός μηχανισμός των κυττάρων ενάντια στο οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το παθητικό κάπνισμα (Rahman, Smith, Lawson, Harrison και MacNee, 1996). Αντίστοιχα παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) 30 λεπτά μετά από έκθεση καλλιέργειας κυττάρων από τον ομφάλιο λώρο (Noronha-Dutra, Epperlein και Woolf, 1993). Εντούτοις, στην έρευνα του Baglole και των συνεργατών του (2006), δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στη συγκέντρωση της GSSG.

Το παθητικό κάπνισμα επηρέασε και την δραστικότητα σημαντικών αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η έκθεση στην τοξική ακρολεΐνη για 24 ώρες μείωσε την δραστικότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX) στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς (Jia et al., 2007) ενώ σε άλλες έρευνες η δραστικότητα της καταλάσης μειώθηκε σημαντικά σε καρδιακά και εγκεφαλικά κύτταρα (Mendez-Alvarez, Otero, Sa´nchez-Sellero και Lamas, 1998). Τα δεδομένα αυτά

υποδηλώνουν ότι η ικανότητα μετάλλαξης του DNA των κυττάρων και η κυτταροτοξική ικανότητα που προκαλείται από τον καπνό του τσιγάρου ίσως υποστηρίζεται από την επιπλέον ιδιότητα του καπνού του τσιγάρου να αυξάνει την δημιουργία ελευθέρων ριζών μέσω της αντιστρόφως ανάλογης μείωσης της δραστηριότητας της καταλάσης, προκαλώντας κυτταρική βλάβη κυρίως με την εμφάνιση οξειδωτικού στρες.

Ως επιβεβαίωση της ισχυρής οξειδωτικής δράσης των ελευθέρων ριζών του καπνού του τσιγάρου και της ικανότητας του να εξασθενίζει την αντιοξειδωτική άμυνα των κυττάρων, η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μείωσε την συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών μορίων του πλάσματος όπως το ασκορβικό οξύ, το β-καροτένιο, το ουρικό οξύ, το αντιοξειδωτικού συνενζύμου Q<sub>10</sub> (Eiserich, van der Vliet, Handelman, Halliwell και Cross, 1995), καθώς επίσης και τη συγκέντρωση της χολερυθρίνης (Frei et al., 1991). Αντιθέτως, σε δυο άλλες έρευνες δεν μεταβλήθηκε η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος και του ουρικού οξέος στο ανθρώπινον αίμα (Frei et al., 1991; Maranzana και Mehlhorn, 1998). Επίσης στην έρευνα των Klein, Nagler, Toffler, van der Vliet, και Reznick, (2003), η τοξική ουσία κυανιδίνη που περιέχεται στο καπνό του τσιγάρου προκάλεσε μείωση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης κατά 76% σε δείγματα ανθρώπινου σίελου.

Ως αποτέλεσμα της σημαντικής μείωσης της αντιοξειδωτικής άμυνας των κυττάρων, οι προοξειδωτικές ουσίες του καπνού του τσιγάρου προκάλεσαν σημαντική οξειδωτική βλάβη σε λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα του DNA. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε σημαντική λιπιδική υπεροξείδωση εκφραζόμενη μέσω της αύξησης της συγκέντρωσης της 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) μετά από έκθεση για 3 έως 24 στο παθητικό κάπνισμα (Baglioni et al., 2006, Bertram, et al., 2009; Kode et al., 2006) και αύξηση των TBARS και της οξειδομένης LDL, μετά από 6 ή 20 ώρες έκθεση αντίστοιχα (Mahfouz, Hulea και Kummerow, 1995). Σε άλλη έρευνα η συγκέντρωση των λιπιδίων στα μακροφάγα αυξήθηκε μετά από 30 λεπτά έκθεση, στοιχείο που ευνοεί τη πιθανότητα εκδήλωσης καρδιαγγειακών

ασθενειών (Valkonen και Kuusi, 1998). Στην έρευνα των Eiserich και των συνεργατών του (1995), το παθητικό κάπνισμα προκάλεσε την αυτοοξειδωση της LDL και της HDL στο πλάσμα με συνέπεια τον σχηματισμό πρωτογενών μη πολικών λιπιδικών προϊόντων όπως τα υδροϋπεροξειδία της χοληστερόλης του λινελαϊκού οξέος (cholesteryl linoleate hydroperoxides) (I 8:200H) και σημαντική οξείδωση των εστέρων της χοληστερόλης, των τριακυλογλυκερολών και των φωσφολιπιδίων του πλάσματος. Εντούτοις η οξειδωτική δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών προκλήθηκε μόνο όταν εξαντλήθηκαν τα αποθέματα ασκορβικού οξέος στο πλάσμα (Frei et al., 1991). Επίσης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (Eiserich et al., 1995; Jia et al., 2007), και βλάβη του DNA και των χρωμοσωμάτων του, στα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων και των πνευμονικών ινοβλαστών (Carnevali, et al., 2003; Liu, Wangh, Chen, και Zhang, 2009) ως αποτέλεσμα του παθητικού καπνίσματος.

Σε άλλες έρευνες ανιχνεύτηκε αυξημένη η συγκέντρωση του  $O_2^-$  και των  $H_2O_2$  στην μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων αμέσως μετά από 10 και 30 λεπτά έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, η προοξειδωτική δράση των οποίων περιορίστηκε εξ αιτίας τις παρουσίας των αντιοξειδωτικών (Bertram et al., 2009; Hobson, Wright και Churg, 1991). Παρόμοια στην έρευνα των Jaimes, DeMaster, Tian και Raij, (2004), αυξήθηκε η παραγωγή των  $O_2^-$  στα επιθηλιακά κύτταρα ωστόσο διέφερε σημαντικά ως προς το είδος του οργανισμού από όπου προήλθαν, ενώ σε δυο ακόμα περιπτώσεις η αύξηση της συγκέντρωσης των ROS στα επιθηλιακά κύτταρα της περιοχής των αναπνευστικών βρογχιολίων και των πνευμονικών ινοβλαστών έφτασε το 80% (Bangole, et al., 2006; Liu, et al., 2009). Επίσης στην εργασία των Tudor, Wood, Taraseviciene, Flores και Voekel (2000), αυξήθηκε σημαντικά η απελευθέρωση των NO έως 24 ώρες από το τέλος της έκθεσης, ενώ σε δυο άλλες μελέτες η δραστηριότητα των iNOS και των eNOS ενζύμων και η



**ΠΙΝΑΚΑΣ 1.** *Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε μοντέλα in vitro.*

Έρευνα	Καλλιέργεια κυττάρων	Ιστός	Διάρκεια έκθεσης	Δείκτες	Επίδραση ΠΚ
<b>Baglole et al., 2006</b>	Πνευμονικοί ινοβλάστες	Άνθρωπος	6 ώρες	GSH, GSSG, ROS, 4-HNE	↑ ROS, 4-HNE ↔ GSSG ↓ GSH
<b>Banzet et al., 1999</b>	monocytes	Άνθρωπος	-	Deltapsim	Άρση πολικότητας μεμβρανών
<b>Bertram et al., 2009</b>	Επιθηλιακά κύτταρα αμφιβληστροειδούς	Άνθρωπος	-	Deltapsim, O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , 4-HNE, cell size, GSH	Άρση πολικότητας μεμβρανών, ↓ GSH, cell size ↑ 4-HNE, O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
<b>Carnevali et al., 2003</b>	Πνευμονικοί ινοβλάστες	Άνθρωπος	3 ώρες	GSH, DNA fragmentation	↑ DNA fragmentation ↓ GSH
<b>Eiserich et al., 1995</b>	Πλάσμα	Άνθρωπος	120 λεπτά	Ασκορβικό οξύ, ουρικό οξύ, β-καροτένιο, Q10, cholesteryl linoleate hydroperoxide, PC	↑ cholesteryl linoleate hydroperoxide, PC ↓ Ασκορβικό οξύ, ουρικό οξύ, β-καροτένιο, Q10
<b>Frei et al., 2001</b>	Πλάσμα	Άνθρωπος	120 λεπτά	Ασκορβικό οξύ, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη, βιτ. E, πρωτεϊνικές θειόλες, hydroperoxides	↑ hydroperoxides ↔ βιτ. E, ουρικό οξύ ↓ Ασκορβικό οξύ, χολερυθρίνη, πρωτεϊνικές θειόλες,
<b>Hasnis, et al., 2007</b>	Λεμφοκύτταρα αίματος	Άνθρωπος	120 λεπτά	GSH	↓ GSH
<b>Hobson, et al., 1991</b>	Επιθηλιακά κύτταρα τραχεία	Ποντίκια	10 λεπτά	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	↑ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
<b>Hoyt, et al., 2003</b>	Επιθηλιακά κύτταρα πνευμόνων	Άνθρωπος	4 ή 24 ώρες	iNOS expression, nitrate release	↓ iNOS expression, nitrate
<b>Jaimes, et al., 2004</b>	Ενδοθηλιακά κύτταρα πνεύμονα	Άνθρωπος, ποντίκια, μόςχος	30 λεπτά	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	↑ O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
<b>Jia, et al., 2007</b>	Επιθηλιακά κύτταρα αμφιβληστροειδούς	Άνθρωπος, ανθρώπινο έμβρυο	24 ώρες	Deltapsim, GSH, GPX, SOD, PC	Άρση πολικότητας μεμβρανών, ↑ PC ↓ GSH, GPX, SOD
<b>Klein et al., 2003</b>	Σιέλος	Άνθρωπος	1 ώρα	OPO	↓ OPO

<b>Kode et al., 2006</b>	Επιθηλιακά κύτταρα πνευμόνων, κυψελίδων, αεραγωγών	Άνθρωπος, ποντίκια	24 ώρες	GSH, 4-HNE	↑ 4-HNE ↓ GSH
<b>Li, et al., 1994</b>	Κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα τύπου II	Άνθρωπος	-	GSH	↓ GSH
<b>Liu, et al., 2009</b>	Επιθηλιακά κύτταρα βρόγχων	Άνθρωπος	12 ώρες	ROS, DNA damage, cytotoxicity, βλάβη των χρωμοσωμάτων	↑ ROS, DNA damage, cytotoxicity, βλάβη των χρωμοσωμάτων
<b>Mahfouz, et al., 1995</b>	LDL	Άνθρωπος	6 ή 20 ώρες	oxi LDL, TBARS	↑ oxi LDL, TBARS
<b>Maranzana and Mehlhorn, 1998</b>	Ερυθρά κύτταρα αίματος	Άνθρωπος	5 λεπτά	GSH, ασκορβικό οξύ	↓ GSH ↔ ασκορβικό οξύ
<b>Me´ndez-A´lvarez et al., 1998</b>	Ηπατικά, εγκεφαλικά κύτταρα	Ποντίκια	1 ώρα	Δραστικότητα καταλάσης	↓ Δραστικότητα καταλάσης
<b>Noronha-Dutra, et al., 1993</b>	umbilical vein	Άνθρωπος	30 λεπτά	GSSG, pentose phosphate pathway status	↑ GSSG, Activated pentose phosphate pathway
<b>Rahman, et al., 1996</b>	Κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα τύπου II (BALF)	Άνθρωπος	-	GSH, γGCS	↑ GSH, γGCS
<b>Raij, et al., 2001</b>	Επιθηλιακά κύτταρα αορτής	Ποντίκια	15 -30 λεπτά	e- NOS	↔ e- NOS
<b>Tuder, et al., 2000</b>	Επιθηλιακά τραχειακά κύτταρα	Ποντίκια	24 ώρες	NO	↑ NO
<b>Valkonen and Kuusi, 1998</b>	Μακροφάγα	Άνθρωπος	30 λεπτά	Συνάθροιση λιπιδίων στα μακροφάγα	↑ Συνάθροιση λιπιδίων στα μακροφάγα

- Δεν υπάρχουν δεδομένα

↑ Στατιστικά σημαντική αύξηση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ↔ Καμία μεταβολή ↓ Στατιστικά σημαντική αύξηση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα

ΠΚ: Παθητικό κάπνισμα

**BALF:** Bronchoalveolar lavage fluid **ROS:** δραστικά στοιχεία οξυγόνου **8-OHdG:** 8-hydroxydeoxyguanosine **4-HNE:** 4-Hydroxynonenal **e- NOS:** συνθάση του νιτρικού οξέος **GSSG:** οξειδωμένη γλουταθειόνη **GSH:** αναγμένη γλουταθειόνη **GPX:** υπεροξειδάση της γλουταθειόνης **βιτ. E:** βιταμίνη E **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** υπεροξείδιο του υδρογόνου **O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** υπεροξείδιο **NO:** nitric oxide **Deltapsim:** Δυναμικό μεμβράνης μιτοχονδρίων **γGCS:** glutamylcysteine synthetase **iNOS:** inducible nitric oxide synthase **PC:** πρωτεϊνικά καρβονύλια **Q10:** συνένζυμο Q10 **OPO:** oral peroxidase **SOD:** δισμουτάση του υπεροξειδίου **oxi LDL:** οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας **LDL:** λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας

απελευθέρωση νιτρικών ιόντων στα επιθηλιακά κύτταρα μειώθηκε (Hoyt et al., 2002) ή παρέμεινε αμετάβλητη (Raij et al., 2001). Επίσης η ενεργοποίηση του μονοπατιού των φωσφορυλιωμένων πεντοζών, που αποτελεί την πηγή του NADPH για το ένζυμο αναγωγή της γλουταθειόνης και η απελευθέρωση της GSSG από τα κατεστραμμένα κύτταρα μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ήταν ενδεικτικά της πρόκλησης οξειδωτικού στρες (Noronha-Dutra, Epperlein και Woolf, 1993). Τρεις ακόμα έρευνες εξέτασαν εάν το παθητικό κάπνισμα επηρεάζει το δυναμικό της μεμβράνης των μιτοχονδρίων (Banzet, Franasois και Polla, 1999; Bertram et al., 2009; Jia et al., 2007). Το αποτέλεσμα της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα ήταν να αρθεί η πολικότητα των μεμβρανών των μιτοχονδρίων με συνέπεια την απόπτωση των κυττάρων.

#### *Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ζώα*

Οι οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος σε δείκτες οξειδωτικού στρες σε μοντέλα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν ζώα, αξιολογήθηκαν σε ιστούς όπως οι πνεύμονες, η καρδιά, το ήπαρ, οι νεφροί, το αίμα και το BALF<sup>2</sup> (Πίνακας 2.). Οι περισσότερες εργασίες φανέρωσαν μια άμεση αύξηση του οξειδωτικού στρες μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Εντούτοις, σε αρκετές περιπτώσεις η απόκριση των ιστών παρουσιάστηκε διαφορετική κατά την αξιολόγηση των ίδιων δεικτών οξειδωτικού στρες.

Πιο αναλυτικά, δείγματα πνευμονικού ιστού επίμυων συλλέχθηκαν μετά από οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα στα οποία παρατηρήθηκε μείωση στη συγκέντρωση της GSH αμέσως μετά και 1 ώρα μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα (Bilimoria και Ecobichon,

<sup>2</sup> **Bronchoalveolar lavage (BAL)** is a medical procedure in which a bronchoscope is passed through the mouth or nose into the lungs and fluid is squirted into a small part of the lung and then recollected for examination. BAL is typically performed to diagnose lung disease (*Atlas of Critical Care Procedures*. American Thoracic Society. In particular, BAL is commonly used to diagnose infections in people with immune system problems (Henderson, 1994), pneumonia in people on ventilators, some types of lung cancer, and scarring of the lung (interstitial lung disease). BAL is the most common manner to sample the components of the epithelial lining fluid (ELF) and to determine the protein composition of the pulmonary airways, and it is often used in immunological research as a means of sampling cells or pathogen levels in the lung.

1992; Ishizaki et al., 1996; Cotgreave, Johansson, Moldeus και Brattsand, 1987; Li, Rahman, Donaldson, και MacNee, 1996). Ωστόσο μετά από 6 ώρες η συγκέντρωση της GSH επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα (Bilimoria και Ecobichon, 1992; Cotgreave et al., 1987) ενώ σε μια περίπτωση ξεπέρασε κατά πολύ τις αρχικές συγκεντρώσεις (Ishizaki et al., 1996). Αντίστοιχα παρατηρήθηκε ότι η δραστηριότητα της GPX αυξήθηκε σημαντικά αμέσως μετά την έκθεση και η αντίστοιχη συγκέντρωση της GSH μειώθηκε (Swarnam, Sreekanth, Hareesh, Sabu και Kuttan, 2005). Στην ίδια έρευνα εξετάστηκε και δραστηριότητα της καταλάσης η οποία βρέθηκε μειωμένη ως αποτέλεσμα της έκθεσης. Ενδεικτικό της εξασθένησης που προκαλεί το παθητικό κάπνισμα στο αντιοξειδωτικό σύστημα ήταν και η μείωση του glucuronide το οποίο είναι μόριο αποφασιστικής σημασίας στον μεταβολισμό της χολερυθρίνης από το ήπαρ, δείγμα της ανισορροπίας που προκαλείται ανάμεσα στην αντιοξειδωτική και την οξειδωτική δραστηριότητα του οργανισμού κατά την φάση της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα. Εντούτοις στην έρευνα των Bilimoria και Ecobichon, (1992), δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος ή της βιταμίνης E (Ishizaki et al., 1996).

Ως αποτέλεσμα της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της GSSG 1 ώρα μετά από έκθεση, η οποία μειώθηκε σταδιακά έως και 6 ώρες μετά και εναρμονίστηκε με τα αρχικά επίπεδα στις 24 ώρες (Li et al., 1996). Εντούτοις το παθητικό κάπνισμα δεν επηρέασε την συγκέντρωση της κυστεΐνης (Cotgreave et al., 1987), αλλά προκάλεσε την αύξηση σε αρκετούς άλλους δείκτες οξειδωτικού στρες στον πνεύμονα όπως η 8-OHdG, η 4-HNE, (Aoshiba, Koinuma, Yokohori και Nagai, 2003; Howard, Laura, Briggs, and Pritsos, 1998; Ishizaki et al., 1996), η συνθάση του νιτρικού οξέος (iNOS), και η ενδοθηλιακή συνθάση του νιτρικού οξέος (eNOS) (Wright et al., 1991). Αυτά τα ευρήματα φανερώνουν ότι ο καπνός του τσιγάρου μπορεί άμεσα να επηρεάσει την έκφραση των NOS, και συνεπώς την λειτουργία της μικροκυκλοφορίας του αίματος στους πνεύμονες. Επίσης στην μοναδική εργασία στην οποία εξετάστηκε άμεσα η συγκέντρωση των ROS

παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση ως αποτέλεσμα του παθητικού καπνίσματος (Uneri, Sari, Baaylam, Polat και Yakse, 2006).

Μικρός αριθμός εργασιών αξιολόγησε την επίδραση του παθητικού καπνίσματος σε ιστούς όπως το ήπαρ, η καρδιά, οι νεφροί, η ουροδόχος κύστη, ο λάρυγγας, η θωρακική αορτή και οι όρχεις. Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα προκάλεσε μείωση τη GSH στο ήπαρ (Bilimoria και Ecobichon 1992; Cotgreave et al., 1987), και σημαντική οξειδωτική βλάβη στο DNA των κυττάρων (Howard, Laura, Briggs και Pritsos, 1998). Αντίθετα δεν επηρέασε την συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος (Bilimoria και Ecobichon, 1992) και της κυστεΐνης (Cotgreave et al., 1987). Σε δείγμα μυοκαρδίου επίμυων παρατηρήθηκε σημαντικά αυξημένη η συγκέντρωση της 8-OhdG μετά από 30 λεπτά έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, στους νεφρούς και στην ουροδόχο κύστη η συγκέντρωση της GSH μειώθηκε, χωρίς ωστόσο να παρατηρηθεί μεταβολή στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος (Bilimoria και Ecobichon, 1992). Στην έρευνα του Argacha και των συνεργατών του (2008), εξετάστηκε η παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου στην θωρακική αορτή ποντικών, η οποία βρέθηκε σημαντικά αυξημένη ενώ η άμεση μέτρηση ROS στο λάρυγγα ποντίκων επιβεβαίωσε την σημαντική αύξηση των ελευθέρων ριζών στους ιστούς ως απάντηση στο ερέθισμα της έκθεσης στο καπνό του τσιγάρου (Uneri, et al., 2006). Παρόμοια με την έρευνα του Peltola και των συνεργατών του (1994), η δραστηριότητα της καταλάσης στους όρχεις επίμυων βρέθηκε μειωμένη μετά από 1 ώρα έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.

Μελετώντας την απόκριση των δεικτών οξειδωτικού στρες στο BALF μετά από οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, παρατηρήθηκε μείωση στην εξωκυττάρια συγκέντρωση της GSH αμέσως μετά από 1 ώρα έκθεση (Cotgreave, et al., 1987), η οποία σε αντίστοιχη έρευνα διατηρήθηκε από 1 έως 6 ώρες και επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα 24 ώρες μετά (Li et al.,

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2.** Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε ζώα.

Έρευνα	Συμμετέχοντες	Φύλλο	Διάρκεια έκθεσης	Ιστός	Δείκτες	Επίδραση ΠΚ
Aoshiba, et al., 2003	Ποντίκια	♂	1 ώρα	Πνεύμονας	8-OHdG, 4-HNE	↑ 8-OHdG, 4-HNE
Argacha al., 2008	Ποντίκια	♂	30 λεπτά	Θωρακική αορτή	superoxide anion production	↑ superoxide anion production
Bilimoria et al., 1992	Ποντίκια, χοίροι	♂	50 λεπτά	Αίμα, πνεύμονες, νεφροί, ουροδόχος κύστη	GSH, ασκορβικό οξύ	↓ GSH (↔ Ποντίκια) ↔ ασκορβικό οξύ
Cavarra et al., 2001	Ποντίκια	♂	20 λεπτά	BALF, Αίμα	TEAC, GSH, GSSG, 8-epi-PGF2a, ασκορβικό οξύ, βιτ E, ολικές θειόλες	↑ GSSG, 8-epi-PGF2a ↓ TEAC (↔ αίμα), ασκορβικό οξύ, ολικές θειόλες ↔ βιτ E, GSH
Cotrgeave et al., 1987	Ποντίκια	♂	1 ώρα	Αίμα, BALF, ήπαρ, πνεύμονες	GSH	↓ GSH (↔ Αίμα)
Howard et al., 1998	Ποντίκια	♀	30 λεπτά	Καρδιά, ήπαρ, πνεύμονες	8-OHdG	↑ 8-OHdG
Ishizaki, et al., 1992	Ποντίκια	♂	-	Αίμα, πνεύμονες	Ferroxidase, glucuronide, methylumbelliferone, βιτ E, 8-OHdG, 4-HNE, GSH	↑ 8-OHdG, 4-HNE ↔ βιτ E ↓ Ferroxidase, glucuronide, methylumbelliferone (αίμα)
Li et al., 1996	Ποντίκια	♂	1 ώρα	BALF, πνεύμονες,	GSH, GSSG	↑ GSSG ↓ GSH,
Peltola et al., 1994	Ποντίκια	♂	1 ώρα	όρχεις	Δραστικότητα καταλάσης	↓ Δραστικότητα καταλάσης

<b>Swarnam, et al., 2005</b>	Ποντίκια	♂	1 ώρα	Αίμα, πνεύμονες	δραστικότητα της καταλάσης, glucuronide	↓ δρατικότητα της καταλάσης glucuronide
<b>Uneri , et al., 2006</b>	Ποντίκια	♂	-	Πνεύμονες, λάρυγγας	ROS	↑ ROS
<b>Uotila, 1982</b>	Ποντίκια	♂	1 ώρα	Αίμα, πνεύμονες	glucuronide	↓ glucuronide
<b>Wright et al., 1999</b>	Ποντίκια	♂	-	Πνεύμονες	NOS-1, NOS-2	↑ NOS-2 ↔ NOS-1

- Δεν υπάρχουν δεδομένα

↑ Στατιστικά σημαντική αύξηση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ↔ Καμία επίδραση ↓ Στατιστικά σημαντική μείωση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα

ΠΚ: Παθητικό κάπνισμα ♂: Άρσενικά ♀: Θηλυκά

**BALF:** Bronchoalveolar lavage fluid; **ROS:** Reactive Oxygen Species; **8-OHdG:** 8-hydroxydeoxyguanosine; **4-HNE:** 4-Hydroxynonenal;

**NOS-1:** Nitric oxide synthase 1 (neuronal); **NOS-2:** nitric oxide synthase 2; **GSSG:** οξειδωμένη γλουταθειόνη; **GSH:** ανηγμένη γλουταθειόνη;

**GPX:** υπεροξειδάση της γλουταθειόνης; **TEAC:** Trolox equivalent antioxidant capacity; **8-epi-PGF2a:** 8-epi-prostaglandin F2a.

1996). Παρόμοια, η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μείωσε και την ενδοκυττάρια συγκέντρωση της GSH (Cotgreave et al., 1987). Αναφορικά με την συγκέντρωση των δεικτών οξειδωτικής βλάβης παρατηρήθηκε μια χρονική αντιστοιχία συγκριτικά με τις μεταβολές στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών. Πιο αναλυτικά στην έρευνα του Cavarra και των συνεργατών του (2001), η συγκέντρωση της GSSG αυξήθηκε δραματικά μετά από 20 λεπτά έκθεση στο παθητικό κάπνισμα και αντίστοιχα σημαντική οξειδωτική βλάβη του DNA εκφραζόμενη μέσω της 8-OHdG (Aoshiba et al., 2003). Στις δυο αυτές έρευνες παρατηρήθηκε ανάλογη αύξηση των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξείδωσης όπως των 4-HNE (Aoshiba et al., 2003) και των 8-epi-PGF2a ισοπροστανίων (Cavarra et al., 2001). Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώνουν την ύπαρξη σημαντικής οξειδωτικής βλάβης του αναπνευστικού επιθηλίου ως αποτέλεσμα της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα. Προς αυτή την κατεύθυνση φαίνεται να συμβάλει και η εξασθένιση του αντιοξειδωτικού συστήματος στο BALF μέσω της μείωσης αρκετών αντιοξειδωτικών μορίων, όπως το ασκορβικό οξύ, οι πρωτεϊνικές θειόλες, καθώς επίσης και η TEAC (Cavarra et al., 2001).

Εξετάζοντας την εμφάνιση οξειδωτικού στρες στο αίμα, δεν παρατηρήθηκε κάποια μεταβολή στην συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος (Bilimoria και Ecobichon, 1992) της βιταμίνης E (Cavarra et al., 2001 36) και της GSH παρά την διαφαινόμενη μείωση της συγκέντρωσης της κυστεΐνης (Cavarra et al., 2001; Cotgreave et al., 1987). Σε αντίθεση, άλλες έρευνες φανέρωσαν πως η οξεία έκθεση μείωσε την δραστικότητα της καταλάσης στα ερυθρά κύτταρα, αύξησε την GPX και μείωσε την συγκέντρωση της GSH στο πλάσμα (Swarnam et al., 2005). Επιπλέον, η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μείωσε τα αντιοξειδωτικά methylumbelliferone glucuronide και ferroxidase (Ishizaki et al., 1996; Uotila, 1982) και αύξησε τα λιπιδικά υπεροξειδία και τα 8-epi-PGF2a ισοπροστανία, ισχυρούς δείκτες λιπιδικής υπεροξείδωσης στο αίμα (Cavarra et al., 2001).



*Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ανθρώπους*

Στην βιβλιογραφία βρέθηκαν έξι έρευνες οι οποίες μελέτησαν την οξεία επίδραση του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες σε ανθρώπους. Όλες οι έρευνες εξέτασαν ομάδες καπνιστών και μη καπνιστών πλην των Valkonen και Kuusi, (1998), στην οποία συμμετείχαν αποκλειστικά μη καπνιστές. Όλες οι έρευνες αξιολόγησαν τους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα και σε δείγματα ούρων. Οι πλειοψηφία τους εμφάνισε άμεσες μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες ενώ σε δυο περιπτώσεις δεν παρουσιάστηκε κάποια μεταβολή. Η πρώτη έρευνα που εξέτασε τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες πραγματοποιήθηκε σε δώδεκα ενεργητικούς καπνιστές, οι οποίοι απείχαν 10 ώρες από το κάπνισμα και δώδεκα παθητικούς καπνιστές (Schmid et al, 1993). Οι συμμετέχοντες άνδρες και γυναίκες, εκτέθηκαν για 1 ώρα στον καπνό που δημιούργησε η καύση 30 τσιγάρων σε χώρο 18m<sup>3</sup> (θερμοκρασία 20° υγρασία 60%). Δείγματα αίματος λήφθηκαν πριν, αμέσως μετά και 6 ώρες μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα στα οποία μετρήθηκε συγκέντρωση της μαλονδιαλδεΐδης (MDA). Τα αποτελέσματα φανέρωσαν σημαντική αύξηση της MDA αμέσως μετά την έκθεση στους μη καπνιστές η οποία διατηρήθηκε έως και 6 ώρες. Αντιθέτως οι ενεργητικοί καπνιστές παρουσίασαν μια αύξηση στη συγκέντρωση της MDA η οποία δεν ήταν σημαντική. Το γεγονός αυτό ίσως εξηγείται από τις είδη αυξημένες συγκεντρώσεις της MDA τις οποίες έχουν οι καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές, ενώ το ερέθισμα που δόθηκε πιθανά δεν κατέστη δυνατό να τις μεταβάλει σημαντικά. Παρόμοια στην εργασία του Oguogho οι καπνιστές δεν παρουσίασαν αξιόλογες μεταβολές στη συγκέντρωση της MDA μετά από 3 ή 5 ώρες έκθεση στο παθητικό κάπνισμα (Oguogho, Kritz και Sinzinger, 1996). Εντούτοις σε αυτή την έρευνα και οι μη καπνιστές δεν παρουσίασαν σημαντική μεταβολή στην MDA, στα ισοπροστάνια τύπου 8-epi-PGF2a και στην οξειδωμένη LDL στο αίμα και στα ούρα. Η

αναντιστοιχία αυτή πιθανά οφείλεται σε μεθοδολογικές διαφορές και στο γεγονός πως συμμετείχαν μόνο άνδρες.

Στην έρευνα των Ahmadzadehfar, Oguogho, Efthimiou, Kritz και Sinzinger, (2005), 12 καπνιστές και 12 μη καπνιστές άνδρες και γυναίκες εκτέθηκαν στο παθητικό κάπνισμα για 1 ώρα σε χώρο  $18 \text{ m}^3$  στον οποίο καταναλώθηκαν τριάντα τσιγάρα. Οι συνθήκες έκθεσης διαμορφώθηκαν σε έναν ειδικό θάλαμο περιβαλλοντικών συνθηκών στον οποίο η θερμοκρασία ήταν  $20^\circ\text{C}$  και το ποσοστό υγρασίας 60%. Δείγματα αίματος λήφθηκαν πριν, αμέσως μετά και 6 ώρες μετά την έκθεση στα οποία αξιολογήθηκαν τα ισοπροστάνια τύπου 8-epi-PGF<sub>2a</sub>. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι στους μη καπνιστές τα 8-epi-PGF<sub>2a</sub> ισοπροστάνια αυξήθηκαν έως 30% αμέσως μετά την άσκηση η συγκέντρωση των οποίων επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα 6 ώρες μετά την έκθεση. Η διαφορά με τα αποτελέσματα της εργασίας των Oguogho και των συνεργατών του (1995), πιθανά οφείλεται στο μέγεθος του δείγματος και στις συνθήκες έκθεσης οι οποίες ήταν πιο ελεγχόμενες. Σε συμφωνία με τις δυο προηγούμενες εργασίες (Oguogho et al., 1996; Schmid et al., 1993), οι καπνιστές παρουσίασαν αύξηση στα 8-epi-PGF<sub>2a</sub> ισοπροστάνια της τάξης του 15% η οποία ήταν μη σημαντική.

Το γεγονός πως το παθητικό κάπνισμα προκαλεί σημαντική λιπιδική υπεροξειδωση στους ανθρώπους ισχυροποιείται από μια πρόσφατη έρευνα των Kato, Inoue, Morooka, Yoshimoto και Node (2006), οι οποίοι χρησιμοποίησαν μεγαλύτερο δείγμα και διαφορετικές συνθήκες έκθεσης. Πιο συγκεκριμένα στην έρευνα αυτή στρατολογήθηκαν τριάντα άνδρες (15 ενεργητικοί καπνιστές και 15 μη καπνιστές) οι οποίοι εκτέθηκαν για μισή ώρα στο παθητικό κάπνισμα σε ειδικό χώρο καπνιστών με εξαερισμό (διαστάσεις  $3 \times 4 \times 2,5$ ), όπου καταναλώθηκαν 15 τσιγάρα από άτομα που δεν συμμετείχαν στην έρευνα. Δείγματα αίματος λήφθηκαν πριν, αμέσως μετά και 24 ώρες μετά την έκθεση. Αξιολογήθηκε η συγκέντρωση των 8-ισοπροστανίων και η συσχέτιση τους με την διαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας. Οι

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3.** Η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών σε ανθρώπους.

Έρευνα	Συμμετέχοντες	Ηλικία (έτη)	Φύλλο	Διάρκεια έκθεσης	Ιστός	Δείκτες	Επίδραση ΠΚ
Ahmadzadehfar et al., 2005	24*	20-32	♂ - ♀	1 ώρα	Αίμα	8-epi-PGF2a	↑ 8-epi-PGF2a
Hockertz et al., 1994	5+5*	30-66	♂	-	Αίμα	ROI	↔
Kato et al., 2006	30*	24-40	♂	30 λεπτά	Αίμα	8-epi-PGF2a	↑ 8-epi-PGF2a
Oguogho, et al., 1996	16*	-	♂	3 ή 5 ώρες	Αίμα και ούρα	MDA, 8-epi-PGF2a, oxi LDL	↔
Schmid et al., 1993	24*	20-33	♂ - ♀	1 ώρα	Αίμα	MDA	↑ MDA
Valkonen and Kuusi, 1998	10	23-39	♂ - ♀	30 λεπτά	Αίμα	βιτ C, E, A, β-καροτένιο, ουρικό οξύ, TRAP, TBARS	↓ βιτ C, TRAP ↔ βιτ. A, E, β-καροτένιο, ουρικό οξύ ↑ TBARS

\*Στο δείγμα συμμετείχαν καπνιστές και μη καπνιστές

↑ Στατιστικά σημαντική αύξηση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ↔ Καμία μεταβολή ↓ Στατιστικά σημαντική μείωση μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα

ΠΚ: Παθητικό κάπνισμα ♂: Άνδρες ♀ Γυναίκες

**ROI:** Reactive Oxygen Intermediates; **MDA:** Μαλονοδιαλδεύδη; **oxi LDL:** οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας; **TBARS:** Ουσίες που αντιδρούν με το θειβαρβιτουρικό οξύ; **TRAP :** total peroxy radical trapping potential of serum; **8-epi-PGF2a:** 8-epi –prostaglandin F2a; **βιτ C:** βιταμίνη C; **βιτ A:** βιταμίνη A; **βιτ E:** βιταμίνη E.

αναλύσεις έδειξαν ότι οι συγκέντρωση των 8-ισοπροστανίων αυξήθηκε σημαντικά μετά την έκθεση στους μη καπνιστές αγγίζοντας τα επίπεδα των ενεργητικών καπνιστών πριν από την έκθεση και επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα 24 ώρες μετά την έκθεση. Η αντίστοιχη συγκέντρωση στους ενεργητικούς καπνιστές ήταν ίδια πριν και μετά την έκθεση. Επιπλέον η ανάλυση συσχέτισης φανέρωσε ότι το οξειδωτικό στρες αποτέλεσε σημαντική αιτία διαταραχής της λειτουργίας του ενδοθηλίου των αιμοφόρων αγγείων ( $n=60$ ,  $r = -0,69$ ,  $p < 0,001$ ).

Γνωρίζοντας πως το παθητικό κάπνισμα σχετίζεται με την εμφάνιση καρδιαγγειακών ασθενειών, εξετάστηκε η επίδραση της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε παράγοντες που επηρεάζουν την εκδήλωση τους όπως η συστηματική αντιοξειδωτική άμυνα και η λιπιδική υπεροξείδωση (Valkonen και Kuusi, 1998). Πέντε άνδρες και 5 γυναίκες (ηλικίας 23-39) μη καπνιστές, εκτέθηκαν στο παθητικό κάπνισμα για 30 λεπτά σε χώρο  $88\text{m}^3$  στον οποίο καταναλώθηκαν 16 τσιγάρα κατά την διάρκεια της έκθεσης από ενεργητικούς καπνιστές. Αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν, 1,5 ώρες και 6 ώρες μετά την έκθεση. Στα δείγματα αξιολογήθηκαν αντιοξειδωτικά μακρομόρια του αίματος, η συνολική ικανότητα των κυρίαρχων αντιοξειδωτικών του αίματος στο να παγιδεύουν ελεύθερες ρίζες (TRAP = total peroxyl radical trapping potential of serum) καθώς και δείκτες λιπιδικής υπεροξείδωσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι καμία μεταβολή δεν επήλθε στην συγκέντρωση της βιταμίνης E, της ρετινόλης (βιταμίνη A) του β-καροτένιου και του ουρικού οξέος. Αντιθέτως η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος εκτιμώμενη μέσω της TRAP μειώθηκε σημαντικά κατά 31% 1,5 ώρες μετά την έκθεση και επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα 6 ώρες μετά. Η μέτρηση των TBARS φανέρωσε εμμέσως την πρόκληση λιπιδικής υπεροξείδωσης στοιχείο το οποίο έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες έρευνες (Ahmadzadehfar et al., 2005; Kato et al., 2006).

Τέλος στην έρευνα του Hockertz και των συνεργατών του (1994), μετά από 8 ώρες έκθεση στο παθητικό κάπνισμα εξετάστηκε η ικανότητα των πολυμορφικών ουδετερόφιλων να παράγουν ουσίες που μεσολαβούν στην δημιουργία δραστικών στοιχείων οξυγόνου (ROI: reactive oxygen intermediates) καθώς επίσης και διάφοροι ανοσολογικοί δείκτες. Σε αυτή την έρευνα συμμετείχαν 5 μη καπνιστές και 5 ενεργητικοί καπνιστές οι οποίοι παρέμειναν σε χώρο 45m<sup>3</sup> στον οποίο κατανάλωσαν 24 τσιγάρα έκαστος. Αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν και αμέσως μετά την έκθεση. Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές μεταβολές αμέσως μετά το τέλος της έκθεσης σε οποιοδήποτε από τους δείκτες που αξιολογήθηκε.

#### *Επίλογος ανασκόπησης*

Στην βιβλιογραφία βρέθηκαν 41 μελέτες που εξέτασαν τις οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην οξειδοαναγωγική κατάσταση σε ανθρώπους, ζώα και μοντέλα in vitro. Αξιολογήθηκαν άμεσοι και έμμεσοι δείκτες οξειδωτικού στρες σε διάφορους ιστούς και κύτταρα σε αρκετά χρονικά σημεία μετά το τέλος της έκθεσης. Συνοπτικά, η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένιση του αντιοξειδωτικού συστήματος και την πρόκληση οξειδωτικής βλάβης στους ιστούς, όπως αυτή διαφαίνεται από την αύξηση των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης και της οξείδωσης των πρωτεϊνών και του DNA.

Στους ανθρώπους όλοι οι δείκτες οξειδωτικού στρες αυξάνονται αμέσως μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα και επιστρέφουν στα αρχικά επίπεδα μέσα σε 6 ώρες. Ωστόσο σε δυο περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές πιθανώς εξ αιτίας διαφορών στις συνθήκες έκθεσης και στην ποιότητα του δείγματος (Hockertz, et al., 1994; Oguogho et al., 1996). Στα ζώα η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα προκαλεί άμεσες μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικής βλάβης οι οποίοι επιστρέφουν στα αρχικά επίπεδα 6 ώρες μετά την έκθεση και άλλοτε στις 24 ώρες συνοδευόμενοι από την αποκατάσταση της

οξειδωαναγωγικής ισορροπίας των ιστών με την συνακόλουθη ανάκτηση των αποθεμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών. Παρόμοια στις καλλιέργειες κυττάρων οι δείκτες οξειδωτικού στρες αυξάνονται αμέσως μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα και επιστρέφουν στις αρχικές συγκεντρώσεις ταυτόχρονα με την αποκατάσταση των αποθεμάτων των αντιοξειδωτικών μορίων. Για παράδειγμα την αρχική μείωση της GSH μετά το παθητικό κάπνισμα φαίνεται πως διαδέχεται η αύξηση της 24 ώρες αργότερα, συνιστώντας ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό των κυττάρων έναντι του οξειδωτικού στρες που προκαλεί το παθητικό κάπνισμα (Rahman et al., 1996). Ωστόσο υπήρχαν περιπτώσεις που δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές (βλ. Πίνακας 1, 2).

Συνεπώς παρατηρείται πως στα ίδια μοντέλα για τους ίδιους δείκτες, οι ιστοί ανταποκρίνονται διαφορετικά μεταξύ τους. Αυτό το στοιχείο είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην προσπάθεια μελέτης των επιδράσεων του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες καθώς είμαστε σε θέση να ισχυριστούμε ότι η αξιολόγηση δεικτών οξειδωτικού στρες σε ένα μόνο ιστό δεν αποδίδει μια σαφή εικόνα της οξειδωαναγωγικής κατάστασης του οργανισμού. Επιπλέον κάθε ιστός θα πρέπει να αντιμετωπίζεται σαν ξεχωριστή οντότητα και να μην συγχέονται τα αποτελέσματα μεταξύ τους στην τελική εξαγωγή των συμπερασμάτων. Είναι φρόνιμο να αξιολογούνται περισσότεροι από ένας ιστός κάθε φορά ούτως ώστε να δίνεται η δυνατότητα να εντοπιστεί ακριβέστερα ποιοι ιστοί υφίστανται οξειδωτική βλάβη.

Ένα από τα προβλήματα που γεννάται στην προσπάθεια σύγκρισης των αποτελεσμάτων των εργασιών και στα τρία μοντέλα είναι η διαφορά στον τρόπο με τον οποίο οι άνθρωποι τα ζώα και οι κυτταρικές καλλιέργειες εκτέθηκαν στον καπνό. Αρχικά, γιατί τα ζώα έχουν πολύ πιο μικρούς πνεύμονες από ότι οι άνθρωποι και συνεπώς διέφερε η περιεκτικότητα του καπνού που εισέπνεαν στον ατμοσφαιρικό αέρα. Επίσης μεθοδολογικές διαφορές ως προς την ποιότητα του δείγματος, η διάρκεια της έκθεσης του ιστού που αξιολογήθηκε και το χρονικό σημείο αξιολόγησης των δειγμάτων είναι εξίσου σημαντικοί

παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη. Ως εκ τούτου τα αποτελέσματα των τριών διαφορετικών μοντέλων θα πρέπει να συγκρίνονται με επιφύλαξη.

Ανακεφαλαιώνοντας, η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αυξάνει τους δείκτες οξειδωτικού στρες σε όλα τα μοντέλα που μελετήθηκαν και οδηγεί σε βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης με συνέπεια την απόπτωση του κυττάρου. Εντούτοις σε κάποιες περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες μεταβολές κυρίως σε ορισμένους δείκτες που αξιολογήθηκαν. Η αναλογία GSH/GSSG φαίνεται να διαδραματίζει έναν υψίστης σημασίας ρόλο στην προστασία των κυττάρων ενάντια στον καπνό του τσιγάρου.

## Μεθοδολογία

### Συμμετέχοντες

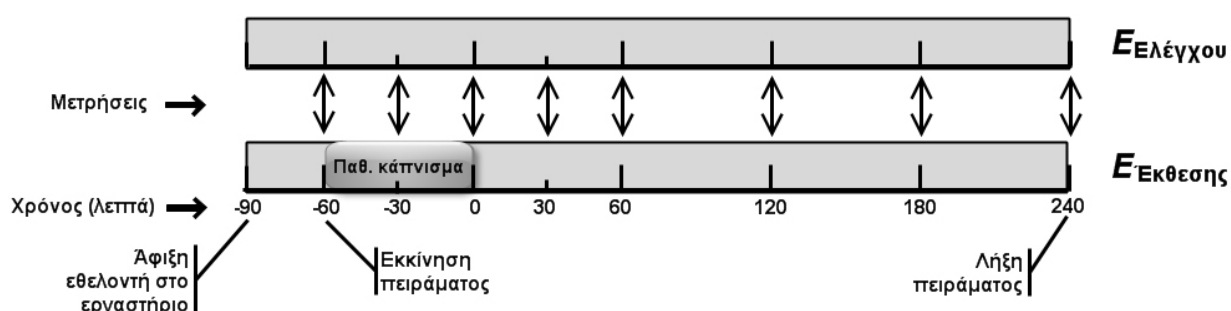
Το πειραματικό πρωτόκολλο ήταν προσαρμοσμένο σύμφωνα με τις διατάξεις που έχουν θεσπιστεί από την Διακήρυξη του Ελσίνκι 1975 και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (ΤΕΦΑΑ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Δεκαεννέα (δέκα άνδρες, εννέα γυναίκες) ενήλικοι μη καπνιστές (μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση: Ηλικία  $32,8 \pm 9$  έτη, BMI  $23,5 \pm 3,1$ ; ύψος  $173,4 \pm 12,1$  cm; Βάρος  $71,6 \pm 16,5$  κιλά) προσφέρθηκαν εθελοντικά να συμμετάσχουν δίνοντας την προφορική και την ενυπόγραφη συγκατάθεση τους αφού πρώτα ενημερώθηκαν για όλους τους κινδύνους, επιπτώσεις και οφέλη που προκύπτουν από τη μελέτη. Κριτήρια αποκλεισμού των εθελοντών αποτελούσαν: ο χαμηλός αιματοκρίτης, το ενεργητικό κάπνισμα, συμπτώματα καρδιακής και αναπνευστικής ανεπάρκειας, η εγκυμοσύνη, άτομα που έπασχαν από οποιαδήποτε μορφής ασθένεια ή νόσημα ή ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή που σε συνδυασμό με το παθητικό κάπνισμα να προκαλούσε άμεσα ή έμμεσα προβλήματα υγείας, χορήγηση φαρμάκων γνωστών για την επίδραση τους στο αναπνευστικό σύστημα, στο βλεννογόνο και στον μεταβολισμό καθώς επίσης και όσοι λάμβαναν αντιοξειδωτικά συμπληρώματα, ασπιρίνη, παρακεταμόλη, αντιισταμινικά, ανταγωνιστές λευκοτριενίων, θεοφυλλίνη ή συστηματικά κορτικοστεροειδή, κατά τις προηγούμενες 4 εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης. Από τους εθελοντές ζητήθηκε να απέχουν από κάθε είδους έντονη φυσική δραστηριότητα για 7 μέρες πριν την πραγματοποίηση τους πειράματος. Όλες οι γυναίκες εθελοντές βρίσκονταν στην προεμμηνοπαυσιακή ηλικία με φυσιολογικό κύκλο εμμήνου ρύσης και εξετάστηκαν κατά την διάρκεια της θυλακιώδους φάσης του κύκλου. Οι εθελοντές στρατολογήθηκαν από τον γενικό πληθυσμό μετά από ανακοίνωση στα



μέσα ενημέρωσης και δεν είχαν συμμετάσχει προσφάτως σε προηγούμενες έρευνες σχετικές το παθητικό κάπνισμα.

### *Πειραματικό πρωτόκολλο*

Οι συμμετέχοντες έλαβαν μέρος σε μια τυχαία τυφλή μελέτη με σχεδιασμό διασταύρωσης και επισκέφθηκαν το εργαστήριο Εργοφυσιολογίας του ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στις 9:30 π.μ. σε δυο διαδοχικές ημέρες (για να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα μεταβολών των εξεταζόμενων παραμέτρων) μετά από 12 ώρες ολονύχτια νηστεία και υποβλήθηκαν σε μια σειρά από σωματομετρικές μετρήσεις. Ακολούθως εκτέθηκαν σε δυο διαφορετικές καταστάσεις (Εικόνα 1.). Στην πειραματική κατάσταση, οι συμμετέχοντες εκτέθηκαν στο παθητικό κάπνισμα για 1-ώρα μέσα σε ειδικά διαμορφωμένο δωμάτιο ενώ στην αντίστοιχη κατάσταση ελέγχου παρέμειναν στο ίδιο δωμάτιο για 1-ώρα ενώ ανέπνεαν φυσιολογικό ατμοσφαιρικό αέρα ανάλογο του επιπέδου της θάλασσας. Στους συμμετέχοντες πριν, κατά την διάρκεια και μετά την έκθεση πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές αιμοληψίες όπως περιγράφεται αναλυτικότερα σε επόμενη παράγραφο. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη συμμετοχή ιατρών της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για την ασφάλεια των συμμετεχόντων υπήρξε διαθέσιμος όλος ο απαραίτητος ιατρικός εξοπλισμός προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητες ενέργειες για την υγεία τους από την επίδραση του παθητικού καπνίσματος.



**Εικόνα 1.** Σχεδιασμός και πρωτόκολλο πειράματος.

### Σωματομετρικές αξιολογήσεις

Οι συμμετέχοντες παρουσιάστηκαν δύο φορές στο εργαστήριο. Κάθε άτομο αφίχθη στο εργαστήριο το πρωί, μετά από ολονύκτια νηστεία και αποχή από αλκοόλ και καφεΐνη για 24 ώρες. Με την είσοδό τους στο εργαστήριο οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε μετρήσεις για την αξιολόγηση της σωματοδομής. Πιο συγκεκριμένα μετρήθηκε το βάρος, το ύψος, και το ποσοστό λίπους. Η μέτρηση του βάρους και του ύψους πραγματοποιήθηκε σε ζυγαριά ακριβείας (Beam Balance 710, Seca, UK), με τα άτομα να είναι ελαφρώς ντυμένα και χωρίς παπούτσια στην οποία υπήρχε και αναστημόμετρο (Stadiometer 208, Seca, UK).

Ο προσδιορισμός του ποσοστού λίπους έγινε με τη μέθοδο των 7 δερματοπτυχών με δερματοπτυχόμετρο τύπου Harpenden (John Bull, UK). Η αρχή της συγκεκριμένης μελέτης βασίζεται στο γεγονός ότι το ποσό του λίπους που βρίσκεται υποδόρια (περίπου 50%) είναι ανάλογο με το συνολικό ποσοστό λίπους. Η εγκυρότητα στην πρόβλεψη της τιμής του ποσοστού λίπους με τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι υψηλή και το ποσοστό λάθους υπολογίζεται στο 3,5% (ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription). Όπως προβλέπει η εν λόγω μέθοδος η μέτρηση γίνεται σε συγκεκριμένα ανατομικά σημεία του σώματος. Οι δερματοπτυχές οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν είναι οι παρακάτω:

- α) στήθος-θώρακας
- β) μεσομασχαλιαία
- γ) τρικέφαλος
- δ) υποπλάτιος
- ε) κοιλιά
- στ) υπερλαγόνιος
- ζ) τετρακέφαλος

Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν στη δεξιά πλευρά του σώματος του συμμετέχοντα. Για να προσδιοριστεί η πυκνότητα του σώματος ακολουθήθηκαν οι αρχές

της Αμερικάνικης Αθλητιατρικής Εταιρείας (American College of Sports Medicine, 2000). Το ποσοστό λίπους προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση του Siri.

### *Συνθήκες έκθεσης*

Κατά την διάρκεια των δυο καταστάσεων (βλ. πειραματική και ελέγχου), οι συμμετέχοντες κάθισαν αναπαυτικά για 1-ώρα εντός ενός ειδικά διαμορφωμένου και μονωμένου δωματίου (διαστάσεις: 6 x 5 x 4) στο χώρο του ΤΕΦΑΑ στο οποίο η θερμοκρασία, η ταχύτητα αέρα και η υγρασία παρέμειναν σταθερές σε όλη την διάρκεια της έκθεσης (24°C, 0.05m·s<sup>-1</sup>, 45% αντίστοιχα). Στην πειραματική κατάσταση οι συμμετέχοντες εκτέθηκαν στο παθητικό κάπνισμα στο οποίο η συγκέντρωση μονοξειδίου του άνθρακα (CO) του καπνού διαμορφώθηκε στα  $23 \pm 1$ ppm σύμφωνα με επίπεδα μπαρ/εστιατορίων (Jo, Oh και Dong, 2004) καίγοντας τσιγάρα από διάφορες δημοφιλείς εταιρίες. Κατά την διάρκεια της έκθεσης πραγματοποιούνταν συνεχώς έλεγχος της συγκέντρωσης του CO και στην περίπτωση που εντοπίζονταν μείωση, καταναλώνονταν εκ νέου τσιγάρα μέχρι να επανακτηθούν οι αρχικές συγκεντρώσεις. Οι τιμές αερίων, σωματιδίων του καπνού και μονοξειδίου του άνθρακα αξιολογούνταν συνεχώς σε διάφορα σημεία του δωματίου κατά τη διάρκεια του πειράματος με ειδικό αναλυτή (Horiba MEXA-311GE; Horiba Instruments, Sunnyvale, CA) CO-CO<sub>2</sub> analyzer. Οι προσδοκώμενες συγκεντρώσεις του μείγματος αερίων επιτεύχθηκαν καίγοντας κανονικά τσιγάρα από διάφορες δημοφιλείς εταιρίες. Στην κατάσταση ελέγχου, ο αέρας εντός του δωματίου ήταν ανάλογος φυσιολογικών τιμών (O<sub>2</sub>, 20,93%; CO<sub>2</sub>, 0,04%; N, 78,1%) καθ' όλη την διάρκεια της έκθεσης.

### *Συλλογή και χειρισμός αίματος*

Πριν από την έκθεση στις δυο καταστάσεις, κατά την διάρκεια μισής ώρας από την έναρξη της, αμέσως μετά το τέλος της έκθεσης καθώς επίσης και ½, 1, 2, 3 και 4 ώρες από την ολοκλήρωση της, πραγματοποιούνταν αιμοληψίες φλεβικού αίματος από τη βασιλική ή μεσοβασιλική ή κεφαλική φλέβα των άνω άκρων με τη χρήση καθετήρα ενώ η συμμετέχοντες βρισκόταν σε ύπτια θέση. Για να αποφευχθεί η πιθανότητα θρόμβωσης της φλέβας πραγματοποιούνταν έκχυση με ηπαρίνη<sup>3</sup>. Τηρούνταν όλοι οι προβλεπόμενοι κανόνες ασηψίας και αντισηψίας και τα υλικά τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν μιας χρήσης. Μια ποσότητα αίματος συλλέχθηκε σε ειδικό φιαλίδιο το οποίο περιείχε αντιπηκτικό ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), για τον προσδιορισμό των αιματολογικών παραμέτρων. Οι αιματολογικές μετρήσεις έγιναν σε αυτόματο αναλυτή τύπου Sysmex K-1000 (TOA Electronics, Japan). Μια άλλη ποσότητα αίματος τοποθετήθηκε σε ειδικά σωληνάρια στα οποία είχε τοποθετηθεί EDTA (αναλογία: 20μl/ml αίματος) τα οποία αναμίχθηκαν και φυγοκεντρήθηκαν στην ειδική ψυχόμενη φυγόκεντρο (Heraeus Biogigire Primo) για τον διαχωρισμό του πλάσματος. Η φυγοκέντριση έγινε στα 1370 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 4° C. Ακολούθησε η συλλογή του πλάσματος το οποίο τοποθετήθηκε σε φιαλίδια τύπου Eppendorf™, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της κοτινίνης, των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), του ουρικού οξέος και της

---

<sup>3</sup> Η ηπαρίνη συντίθεται στα μαστοκύτταρα και ανευρίσκεται στο ήπαρ, νεφρούς, πνεύμονες καρδιά και έντερο. Οι βιολογικές της δράσεις περιλαμβάνουν αλληλεπίδραση, με αυξητικούς παράγοντες κυττάρων του ενδοθηλίου, αναστολή της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, καταστολή της έκκρισης αλδοστερόνης και τροποποίηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων. Η κύρια αντιπηκτική δράση της ηπαρίνης εξασκείται μέσω της σύνδεσής της με την αντιθρομβίνη III επιταχύνοντας δραστικά την ικανότητα της τελευταίας να αδρανοποιεί την θρομβίνη και άλλες πρωτεΐνες της πήξης όπως οι παράγοντες Χα, ΙΧα κ.λπ. Η δράση της ηπαρίνης είναι άμεση. Η ηπαρίνη χρησιμοποιείται για την πρόληψη και θεραπεία φλεβικής θρόμβωσης, τη θεραπεία ασθενών με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, καρδιακό bypass και εγχειρήσεις αγγείων (Marcum, McKenney, Galli, Jackman και Rosenberg, 1986).

ολικής χολερυθρίνης. Τα δείγματα αίματος χωρίστηκαν σε πολλαπλά μέρη, αποθηκεύτηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  και αποψύχτηκαν μόνο μια φορά πριν από την ανάλυση.

Αιμολύματα για ολόκληρο το αίμα παρήχθησαν με την προσθήκη απιονισμένου ύδατος 1:1 (v/v), στα εναπομείναντα ερυθρά κύτταρα τα οποία αναδεύτηκαν σθεναρά και φυγοκεντρήθηκαν στις 4,000 g στροφές για 15 λεπτά στους  $4^{\circ}\text{C}$ . Τα καθαρά υπερκείμενα μεταφέρθηκαν μέσα σε σωληνάρια Eppendorf™ αποθηκεύτηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$ , αποψύχτηκαν μόνο μια φορά και χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της καταλάσης.

#### *Αναλύσεις στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα και το πλάσμα*

Η κοτινίνη του πλάσματος, αποτελεί το σημαντικότερο βιοδείκτη έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου (Benowitz, 1996). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της κοτινίνης χρησιμοποιήθηκε πλάσμα το οποίο αναμείχτηκε με 1 ml διαλύματος ( $\text{pH}=6.88$ ). Όλες οι μετρήσεις έγιναν φασματοφωτομετρικά με την χρήση συστήματος Finnigan Mat GCQ εξοπλισμένο με HP-5MSI (30 m x 0.25 mm ID x 0.25 m) στήλη τριχοειδών (J&W Scientific).

Η συγκέντρωση των TBARS αξιολογήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο των Keles, Taysi, Sen, Aksoy, και Akcay, (2001). Εκατό μικρόλιτρα ( $\mu\text{L}$ ) πλάσματος αναμείχτηκαν με 100  $\mu\text{L}$  TCA 35% και 500  $\mu\text{L}$  of Tris-HCl (200 mM,  $\text{pH}$  7,4) και αφέθηκαν προς επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστέθηκε ένα ml 2 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και 55 mM θειοβαρβιτουρικό οξύ και ακολούθως τα δείγματα επώασαν για 45 λεπτά στους  $95^{\circ}\text{C}$ . Μετά το τέλος της επώασης τα δείγματα αφέθηκαν στον πάγο για 5 λεπτά και αναδεύτηκαν αφού προηγουμένως προστέθηκε σε αυτά 1 mL TCA 70%. Στην συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 15,000g για 3 λεπτά και μετρήθηκε η απορρόφηση των υπερκειμένων σε φάσμα φωτός αντίστοιχο των 530 nm.

Η αξιολόγηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων έγινε σύμφωνα με την μέθοδο του Patsoukis και των συνεργατών του (2004). Πενήντα  $\mu\text{L}$  πλάσματος αναμίχθηκαν με 50  $\mu\text{L}$  of 20% TCA και αφέθηκαν προς επώαση στον πάγο για 15 λεπτά και στην συνέχεια έγινε φυγοκέντρωση στα 15,000g για 5 λεπτά στους 4°C. Αφού αφαιρέθηκαν τα υπερκείμενα 500  $\mu\text{L}$  10 mM 2,4-dinitrophenylhydrazine (αναμεμιγμένο με 2.5 N HCL) προστέθηκαν στο συσσωμάτωμα κάθε δείγματος, ή 500  $\mu\text{L}$  of 2.5 N HCL για τα τυφλά δείγματα. Τα δείγματα επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι για 1 ώρα κατά την διάρκεια της οποίας πραγματοποιούνταν τακτικές αναδεύσεις. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν εκ νέου στα 15,000g για 5 λεπτά στους 4°C και αφού αφαιρέθηκαν τα υπερκείμενα προστέθηκε 1 mL 10% TCA το οποίο αναδεύτηκε σθεναρά μαζί με το συσσωμάτωμα. Στην συνέχεια της διαδικασίας πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στα 15,000g για 5 λεπτά στους 4°C, αφαιρέθηκαν τα υπερκείμενα και στην συνέχεια προστέθηκε 1 mL of ethanol-ethyl acetate (1:1 v/v), αναδεύτηκε και φυγοκεντρήθηκε στα 15,000g για 5 λεπτά στους 4°C. Η διαδικασία αυτή των πλύσεων επαναλήφθηκε εις τριπλούν. Τα υπερκείμενα απομακρύνθηκαν και έπειτα προστέθηκε 1 mL 5 M urea (pH 2.3), αναδεύτηκε σθεναρά μαζί με τα δείγματα και αφέθηκε προς επώαση στους 37°C για 15 min. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 15,000g για 3 min at 4°C, και εν συνεχεία έγινε η μέτρηση στα 375 nm.

Η δραστηριότητα της καταλάσης αξιολογήθηκε σύμφωνα με τον Aebi, (1984). Σε 20  $\mu\text{L}$  πλάσματος, προστέθηκαν 2975  $\mu\text{L}$  of 67 mM sodium potassium phosphate (pH 7.4), και τα δείγματα επώαστηκαν στους 37°C για 10 λεπτά. Πέντε μικρόλιτρα 30% hydrogen peroxide προστέθηκαν στα δείγματα και η μεταβολή της απορρόφησης μετρήθηκε στα 240 nm κατά τη διάρκεια 1 λεπτού.

Η TAC αξιολογήθηκε σύμφωνα με τους Janaszewska και Bartosz (2002). Σε 20  $\mu\text{L}$  πλάσματος, προστέθηκαν 480  $\mu\text{L}$  από το 10 mM sodium potassium phosphate (pH 7.4) και 500  $\mu\text{L}$  από το 0.1 mM 2,2- diphenyl-1 picrylhydrazyl και αφέθηκαν προς επώαση για 30

min σε θερμοκρασία δωματίου. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 3 λεπτά στα 20,000g, και η μέτρηση έγινε στα 520 nm.

Η συγκέντρωση του ουρικού οξέος στο πλάσμα μετρήθηκε με την χρήση εμπορικά διαθέσιμων kit της Assel (Rome, Italy) στα 510 nm (9 decreased blood oxidative stress) και η ολική χολερυθρίνη αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας kit της Assel στα 550 nm. Κάθε δείκτης μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά εις διπλούν την ίδια ημέρα για να εξαλειφτεί το ενδεχόμενο μεταβολών των διαλυμάτων από μέρα σε μέρα και εντός του μηνός από την μέρα της συλλογής των δειγμάτων.

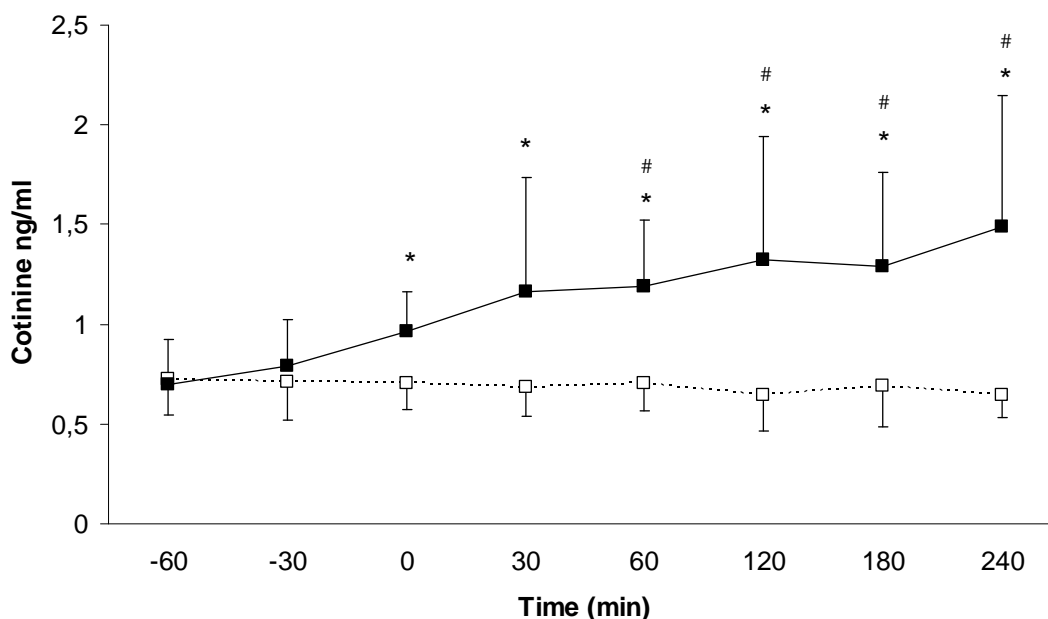
#### *Στατιστικές αναλύσεις*

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση όροι  $\pm$  τυπική απόκλιση. Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε πολυπαραγοντική MANOVA με δυο παράγοντες, κατάσταση (ελέγχου - πειραματική), χρόνος (πριν, ½, 1, 1,5, 2, 3, 4 και 5 ώρες), με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στον χρόνο. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στην τιμή  $p < 0,05$ . Οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με την χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 18.0.

## Αποτελέσματα

### Δείκτης έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα

Η συγκέντρωση της κοτινίνης παρουσιάζεται ως η μέση τιμή  $\pm$  την τυπική απόκλιση (Γραφήμα 1). Η στατιστική ανάλυση φανέρωσε σημαντική κύρια επίδραση της κατάστασης ( $p < 0,001$ ) ενώ η επίδραση του χρόνου έτεινε να γίνει στατιστικά σημαντική ( $p = 0,068$ ). Επίσης υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση της κατάστασης και του χρόνου ( $p = 0,006$ ). Η συγκέντρωση της κοτινίνης παρουσιάστηκε σημαντικά αυξημένη 1 έως 4 ώρες μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα συγκριτικά με την αρχική συγκέντρωση ( $p < 0,05$ ), και παράλληλα παρουσίασε σημαντική διαφορά αμέσως μετά το τέλος της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα έως και 4 ώρες μετά σε σχέση με την κατάσταση ελέγχου ( $p < 0,05$ ).



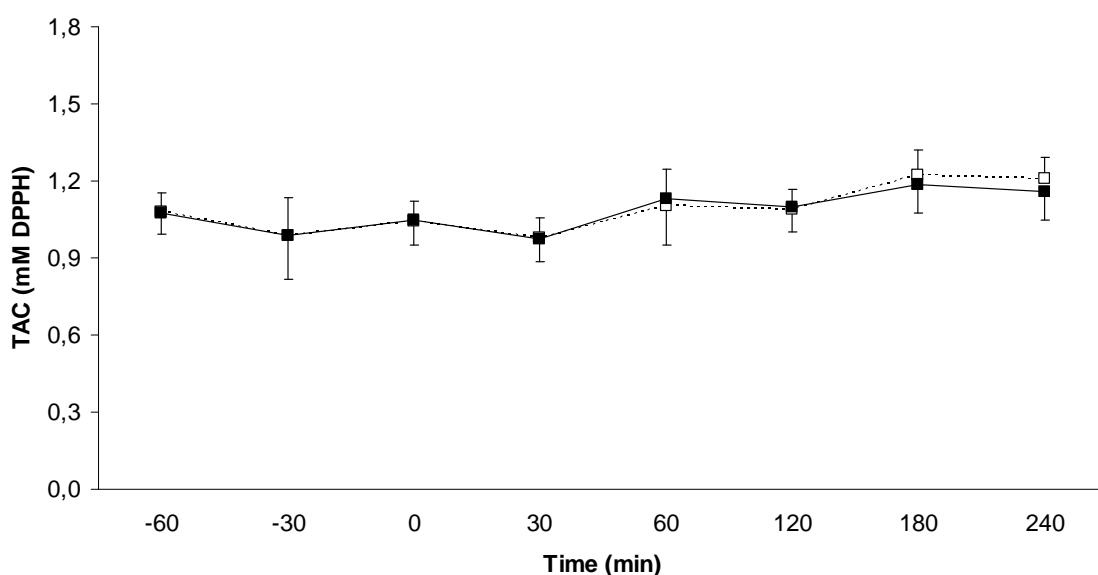
**Γράφημα 1.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της κοτινίνης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).

\* Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των καταστάσεων ( $P < 0,05$ ). # Στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την συγκέντρωση πριν την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.



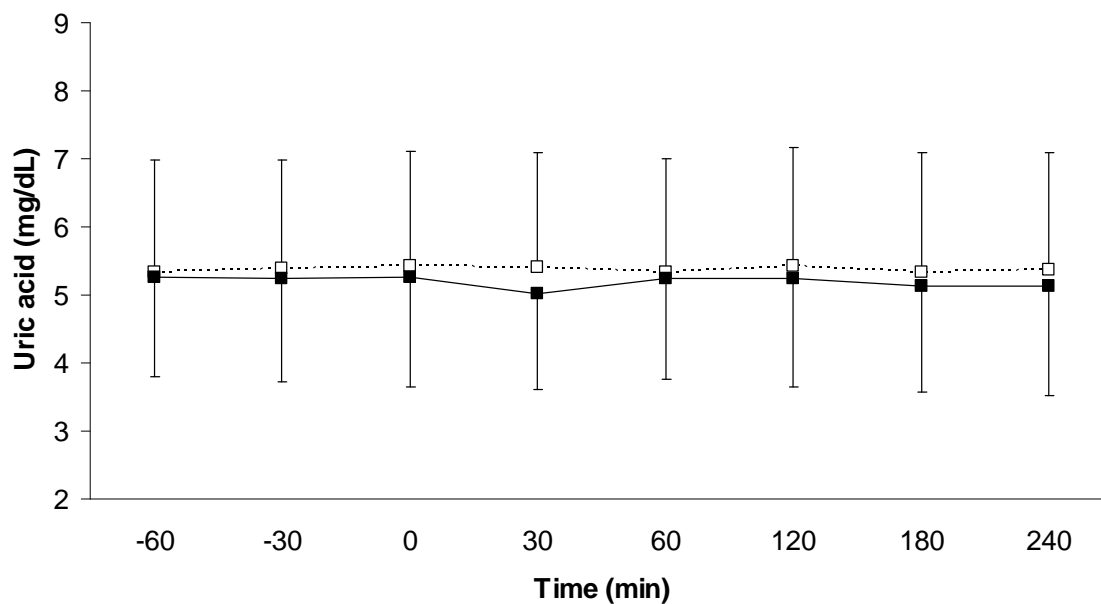
### Αντιοξειδωτικοί δείκτες

Οι τιμές των παραμέτρων προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στα γραφήματα 2 - 7. Στην TAC παρουσιάστηκε σημαντική κύρια επίδραση του χρόνου ( $p < 0,001$ ). Εντούτοις δεν υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της κατάστασης και αλληλεπίδραση του χρόνου και της κατάστασης ( $p > 0,05$ ; Γράφημα 2).

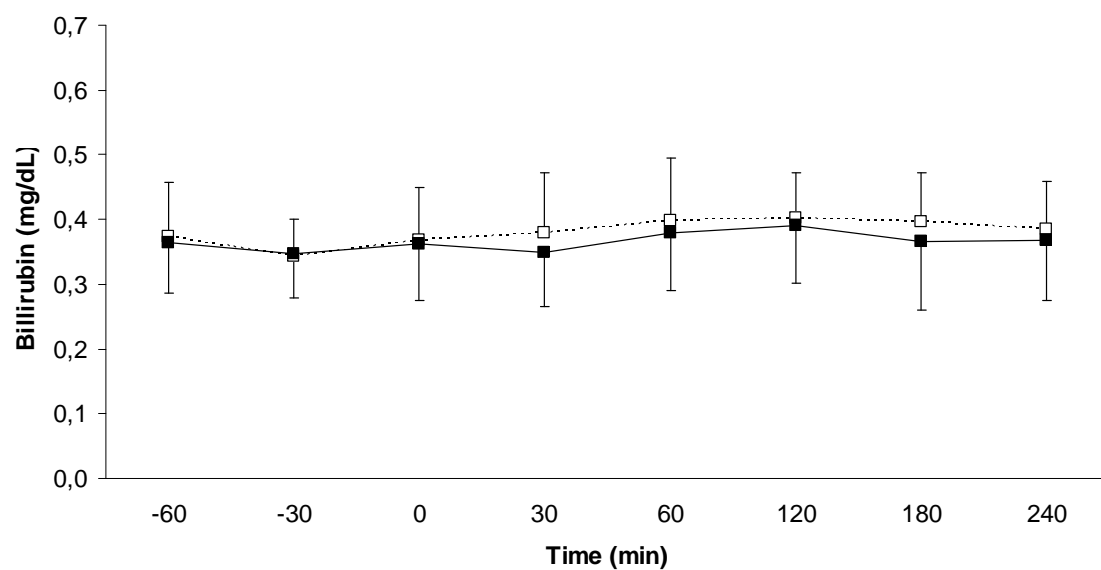


**Γράφημα 2.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της TAC, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).

Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν μετέβαλε σημαντικά την συγκέντρωση του ουρικού οξέος. Παράλληλα δεν υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της κατάστασης και του χρόνου ή σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της κατάστασης και του χρόνου ( $p > 0,05$ ; Γράφημα 3). Η συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης δεν παρουσίασε σημαντική κύρια επίδραση της κατάστασης και του χρόνου ή σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων ( $p > 0,05$ ; Γράφημα 4). Δεν παρουσιάστηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των χρονικών σημείων στις δύο καταστάσεις καθώς επίσης και στις συγκεντρώσεις πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.

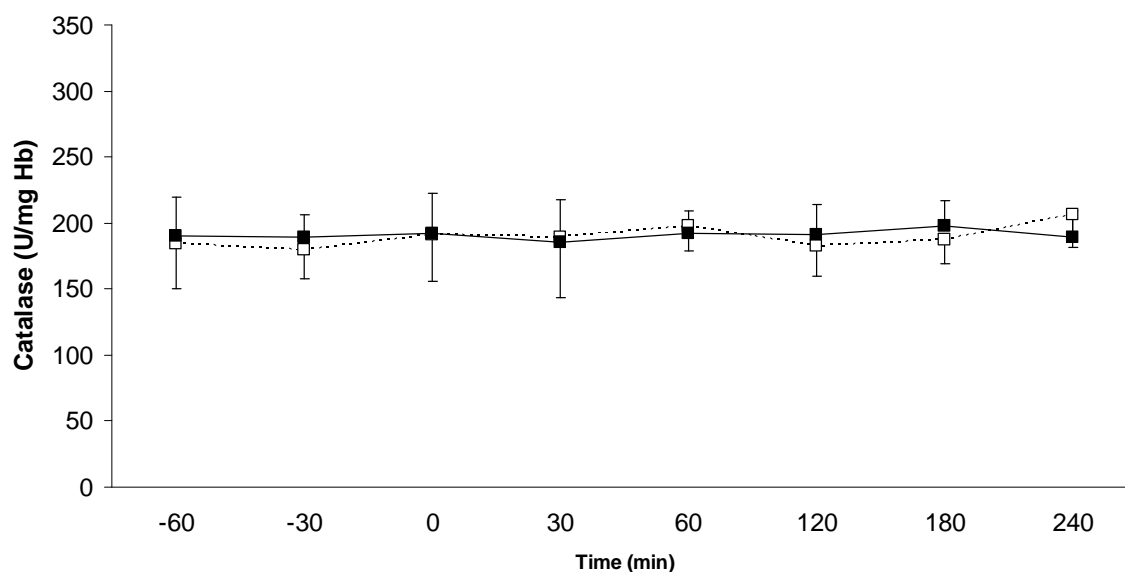


**Γράφημα 3.** Μεταβολές στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).



**Γράφημα 4.** Μεταβολές στη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).

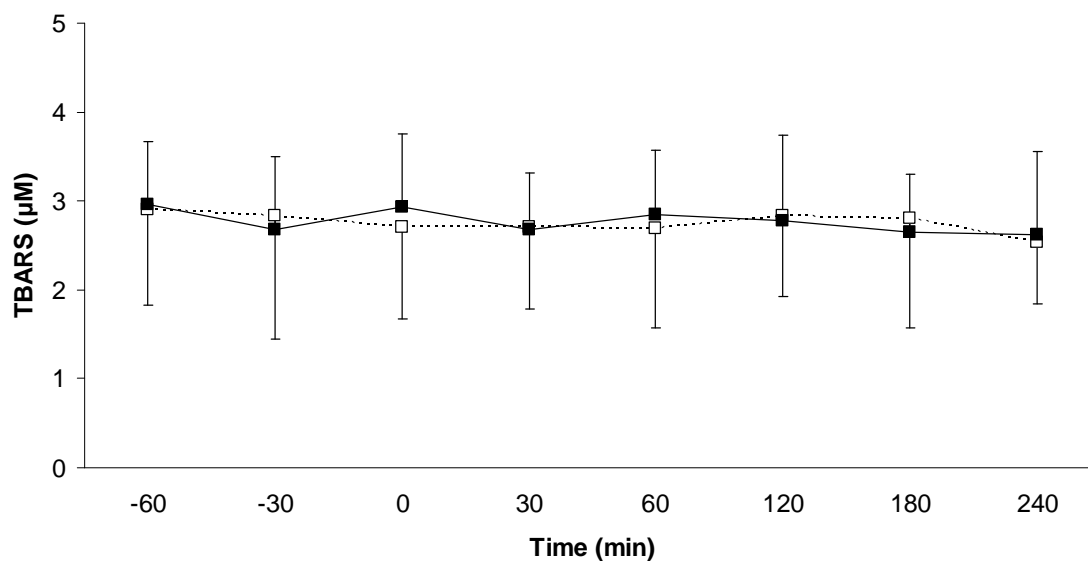
Η αλληλεπίδραση της κατάστασης και του χρόνου καθώς και η κύρια επίδραση της κατάστασης και του χρόνου δεν ήταν σημαντικές όσον αφορά την δραστικότητα της καταλάσης στα ερυθρά κύτταρα ( $p>0,001$ ; Γράφημα 5). Η δραστικότητα της καταλάσης δεν διέφερε σημαντικά συγκριτικά με την συγκέντρωση πριν την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα καθώς και μεταξύ των δυο καταστάσεων.



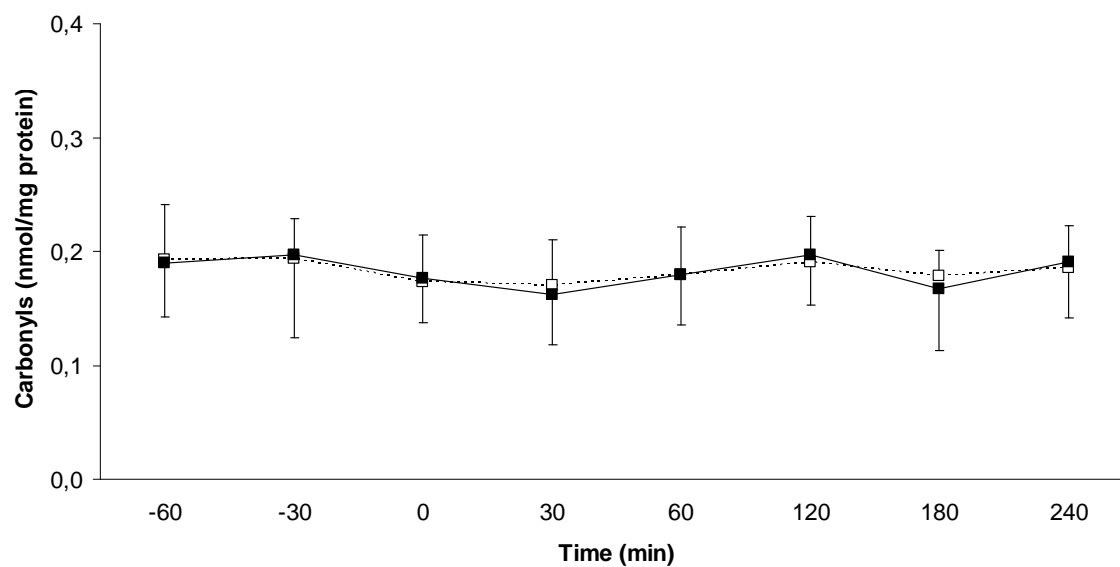
**Γράφημα 5.** Μεταβολές στη δραστικότητα της καταλάσης, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).

#### Δείκτες οξειδωτικής βλάβης

Η συγκέντρωση των TBARS καθώς επίσης και η συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων δεν παρουσίασαν σημαντική επίδραση είτε της κατάστασης και του χρόνου είτε της αλληλεπίδρασης μεταξύ αυτών των παραγόντων ( $p>0,05$ ; Γράφημα 6-7). Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν μετέβαλε τις συγκεντρώσεις των δυο δεικτών οξειδωτικής βλάβης σε οποιοδήποτε χρονικό σημείο. Παρόμοια δεν υπήρξε διαφορά μεταξύ των δυο καταστάσεων ( $p>0,05$ ).



**Γράφημα 6.** Μεταβολές στη συγκέντρωση των TBARS, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και στην πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).



**Γράφημα 7.** Μεταβολές στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, στην κατάσταση ελέγχου (διακεκομμένη καμπύλη) και την πειραματική κατάσταση (συνεχής καμπύλη) ( $M.T. \pm T.A.$ ).

## Συζήτηση

Η έρευνα αυτή είναι η πρώτη στην οποία έγινε προσπάθεια να εξεταστούν πειραματικά οι επιπτώσεις της οξείας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα διάρκειας 1 ώρας, υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες που προσομοιάζουν το περιβάλλον σε χώρους όπως μπαρ και εστιατόρια σε δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα μη καπνιστών ανδρών και γυναικών. Η αρχική μας υπόθεση ήταν ότι η σύντομη και μέτριας περιβαλλοντικής επιβάρυνσης έκθεση στο παθητικό κάπνισμα θα προκαλέσει μεταβολή της οξειδωαναγωγικής κατάστασης των ανδρών και των γυναικών η οποία θα διατηρηθεί για αρκετές ώρες μετά το τέλος της. Ωστόσο τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν μετέβαλε σημαντικά τους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα σε οποιοδήποτε χρονικό σημείο.

Για τον προσδιορισμό του μεγέθους της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα σε παθητικούς και ενεργητικούς καπνιστές έχουν προταθεί αρκετοί βιοδείκτες. Η κοτινίνη αποτελεί το σημαντικότερο μεταβολικό παράγωγο της νικοτίνης και χρησιμοποιείται εκτενώς ως δείκτης έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου (Benowitz, 1996). Οι συγκεντρώσεις της κοτινίνης στο αίμα συσχετίζονται ισχυρά με τις επιπτώσεις του παθητικού καπνίσματος συγκριτικά με διάφορα ερωτηματολόγια σχετικά με το χρόνο έκθεσης ή τον αριθμό των τσιγάρων (Benowitz and Sharp, 1989). Ο μεγάλος χρόνος ημιζωής της κοτινίνης αποτελεί το σημαντικότερο πλεονέκτημα στην αξιολόγηση αυτού του μορίου. Παρόλα αυτά το χρονικό διάστημα για την πλήρη απομάκρυνση της από το αίμα εξαρτάται από τον κάθε οργανισμό και ως εκ τούτου η χρησιμότητα της αμφισβητείται (Benowitz, 1996). Στην παρούσα έρευνα οι συγκεντρώσεις της κοτινίνης κυμάνθηκαν κατά μέσο όρο κοντά στα 2,5 ng/ml. Μια ακραία ατμοσφαιρική επιβάρυνση εξ αιτίας του καπνίσματος είναι πολύ πιθανό να συμβεί σε χώρους όπως μπαρ/εστιατόρια διότι η κατανάλωση τσιγάρων σε τέτοιους χώρους είναι αυξημένη και ταυτοχρόνως ο αερισμός του χώρου φτωχός. Σε μια έρευνα σε 42 μη καπνιστές εργαζόμενους σε μπαρ/εστιατόρια, η μέση συγκέντρωση κοτινίνης στο αίμα βρέθηκε να

αντιστοιχεί στο 7,95 ng/ml (T.A. = 6.1) και το εύρος τιμών από 2,2 έως 31,3 ng/ml (Jarvis, Foulds, και Feyerabend, 1992). Στην παρούσα έρευνα η συγκέντρωση της κοτινίνης στους άνδρες και στις γυναίκες παρουσίασε μέσο όρο 2,23 ng/ml και το εύρος τιμών ήταν από 0,52 έως 3,53 ng/ml. Με βάση αυτή την συγκέντρωση, η έκθεση των συμμετεχόντων στο παθητικό κάπνισμα χαρακτηρίζεται ως μέτριας περιβαλλοντικής επιβάρυνσης προσομοιώνοντας τις συνθήκες όπως σε μπαρ/εστιατόρια (Benowitz, N.L. 1999; Jarvis, 1992). Παρόμοιες συγκεντρώσεις βρέθηκαν και σε άλλες εργασίες οι οποίες αξιολόγησαν την επίδραση της οξείας έκθεσης του παθητικού καπνίσματος σε χώρους όπως μπαρ/εστιατόρια (Flouris et al., 2005; 2008; 2009; Metsios et al., 2007).

Η εμφάνιση οξειδωτικού στρες μπορεί να εκτιμηθεί μέσα από την αξιολόγηση άμεσων και έμμεσων δεικτών οξειδωτικής βλάβης και από την δραστικότητα ή την συγκέντρωση αντιοξειδωτικών μορίων (Finaud et al., 2006). Εξαιτίας της πολυπλοκότητας της οξειδωαναγωγικής ομοιόστασης, σημαντικός αριθμός μετρήσεων έχουν προταθεί ώστε να αξιολογηθεί η ύπαρξη οξειδωτικού στρες σε ένα οργανισμό (Halliwell, και Whiteman, 2004). Η συγκέντρωση των TBARS και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων αποτελούν δυο από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους δείκτες οξείδωσης λιπιδίων και πρωτεϊνών αντίστοιχα (Halliwell, και Whiteman, 2004). Η καταλάση αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα καθώς μπορεί να εξουδετερώσει σημαντική ποσότητα δραστικών στοιχείων  $O_2$  ανά λεπτό, παρέχοντας μια καθόλα ουσιαστική αντιοξειδωτική προστασία στα κύτταρα (Finaud et al., 2006). Η συγκέντρωση της TAC αντιπροσωπεύει την ικανότητα του αίματος να εξουδετερώνει δραστικές ρίζες και επηρεάζεται ιδιαίτερα από τις μεταβολές στην συγκέντρωση του ουρικού οξέος, της χολερυθρίνης, της βιταμίνης C και πιθανά της καταλάσης (Finaud et al., 2006).

Η συγκέντρωση της TAC στο πλάσμα δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή σε όλα τα χρονικά σημεία. Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν προκάλεσε την κινητοποίηση

των αντιοξειδωτικών αποθεμάτων του αίματος στην κυκλοφορία και ως εκ τούτου την μεταβολή της συγκέντρωσης της TAC. Στην βιβλιογραφία δεν έχει βρεθεί αντίστοιχη εργασία που να εξετάζει την απόκριση της συγκέντρωσης της TAC ως αποτέλεσμα της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα. Η ανεπάρκεια σημαντικής μεταβολής της TAC υποδηλώνει ότι η σύντομη έκθεση στο παθητικό κάπνισμα σε συνθήκες μαρ/εστιατορίων δεν φαίνεται να ενεργοποιεί την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος.

Προς επιβεβαίωση της συσχέτισης που υπάρχει ανάμεσα στην TAC, το ουρικό οξύ και την ολική χολερυθρίνη, τα δυο αυτά μόρια δεν βρέθηκαν να διαφέρουν σημαντικά συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις πριν από την έκθεση και μεταξύ των καταστάσεων σε όλα τα χρονικά σημεία και στα δυο φύλα. Το στοιχείο αυτό επιβεβαιώνει την διαπίστωση του Finaud και των συνεργατών του (2006), ο οποίος θεωρεί ότι η συγκέντρωση του ουρικού οξέος και της χολερυθρίνης αντανakλούν την συγκέντρωση της TAC και αντίστροφα. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με αυτά των Valkonen και Kuusi, (1998), και του Frei και των συνεργατών του (2001), οι οποίοι μετά από οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν παρατήρησαν σημαντική μεταβολή στην συγκέντρωση του ουρικού οξέος στο αίμα σε ανθρώπους και στο απομονωμένο πλάσμα *in vitro*. Επίσης σε μια ακόμα μελέτη *in vitro* το παθητικό κάπνισμα προκάλεσε μη σημαντική μείωση στην συγκέντρωση του ουρικού οξέος που αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του εξωκυττάριου περιβάλλοντος των ιστών κατά την έκθεση στον καπνό του τσιγάρου (Eiserich et al., 1995). Επίσης στην έρευνα μας η συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης δεν μεταβλήθηκε σημαντικά σε κανένα χρονικό σημείο. Η διαπίστωση αυτή έρχεται σε αντίθεση με μια άλλη έρευνα στη οποία η χολερυθρίνη της λευκωματίνης μειώθηκε λόγω της εκτεταμένης οξείδωσης της λευκωματίνης (Frei et al., 2001) που βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο αίμα (N.L. Anderson, and N.G. Anderson, 2002).

Η δραστικότητα της καταλάσης στα ερυθρά κύτταρα δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή. Οι συμμετέχοντες διατήρησαν σταθερή την δραστικότητα της καταλάσης σε σχέση με την αρχική μέτρηση πριν από κάθε κατάσταση ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δυο καταστάσεων σε όλα τα χρονικά σημεία. Η δραστικότητα της καταλάσης είναι δυνατό να αυξηθεί ως αποτέλεσμα της αυξημένης συγκέντρωσης των  $H_2O_2$  στην προσπάθεια του οργανισμού καταλύσει την αποσύνθεση τους σε νερό και  $O_2$  (Chelikani, Fita και Loewen, 2004). Αντιθέτως η δραστικότητας της καταλάσης είναι δυνατό να μειωθεί εξ αιτίας των συστατικών που σχηματίζονται κατά την διαδικασία της καύσης του τσιγάρου και ιδιαίτερα των υδατοδιαλυτών συστατικών του καπνού που εμποδίζουν την σύνθεση της καταλάσης (Me´ndez-A´lvarez et al., 1998). Ακόμα γνωρίζοντας ότι η καταλάση είναι μια αιμοπρωτεΐνη (πρωτεΐνη με 4 μόρια αίμης (Fe)) και το CO παράγεται κατά την καύση του τσιγάρου είναι δυνατό μέσω της μεταφοράς του στην κυκλοφορία και την είσοδο του στο ερυθρό κύτταρο να προκαλέσει την μείωση της δραστικότητας της καταλάσης (Me´ndez-A´lvarez et al., 1998). Πιθανή φαντάζει και η περίπτωση της επίδρασης της τοξικής ουσίας cyanide η οποία βρίσκεται στο καπνό του τσιγάρου και όντας ουσία ανταγωνιστής συνδέεται με την αίμη της καταλάσης καθιστώντας την ανίκανη να επιτελέσει την ενζυμική της δραστηριότητα. Η ενζυμική δραστηριότητα της καταλάσης μπορεί επίσης να μειωθεί υπό την αυξημένη παρουσία  $O_2^-$ . (Kono και Fridovich, 1982). Προς αυτή την κατεύθυνση συμβάλλει η μείωση της δραστικότητας της SOD που πιθανά προκάλεσε την υπερβολική συνάθροιση των  $O_2^-$  τα οποία κατά συνέπεια απενεργοποίησαν την καταλάση. Η αδυναμία απομάκρυνσης των  $H_2O_2$  που δημιουργούνται με την προσθήκη δυο μορίων υδρογόνου, σηματοδοτεί και την απενεργοποίηση της SOD ολοκληρώνοντας ένα κύκλο εξασθένισης της αντιοξειδωτικής άμυνας των κυττάρων (Bray et al, 1974; Sinet and Garber, 1981). Τα δεδομένα της παρούσας έρευνας έρχονται σε αντίθεση με άλλες εργασίες στις οποίες αξιολογήθηκε η οξεία επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην δραστικότητα της



καταλάσης σε καλλιέργεια κυττάρων και σε ποντίκια (Me´ndez-A´lvarez et al., 1998; Peltola, Mäntylä, Huhtaniemi και Ahotupa, 1994; Swarnam, et al., 2005). Στην πρώτη έρευνα η έκθεση διήρκησε 1 ώρα και η μείωση της δραστικότητας της καταλάσης διατηρήθηκε για αρκετό χρονικό διάστημα μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Αντίστοιχα στην εργασία του Peltola και των συνεργατών του (1994), υπήρξε μείωση της δραστικότητας της καταλάσης στους όρχεις, μετά από 1 ώρα έκθεση στο παθητικό κάπνισμα η οποία δεν ήταν σημαντική. Παρόμοια στην έρευνα του Swarnam και των συνεργατών του (2005), παρατηρήθηκε μείωση της δραστικότητας της καταλάσης στους πνεύμονες και στο αίμα. Ως εκ τούτου, για να αποσαφηνιστεί επακριβώς ο μηχανισμός που ευθύνεται για την μείωση της δραστικότητας της καταλάσης ως αποτέλεσμα του παθητικού καπνίσματος απαιτούνται επιπλέον εργασίες in vivo. Συμπερασματικά, το νέο στοιχείο που προκύπτει από την παρούσα έρευνα είναι ότι σύντομης διάρκειας έκθεση στο παθητικό κάπνισμα υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες, δεν μεταβάλλει σημαντικά την δραστικότητα της καταλάσης in vivo γεγονός το οποίο ήταν εμφανές μόνο σε έρευνες με ζώα.

Η οξειδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις δυο καταστάσεις σε όλα τα χρονικά σημεία. Η σύντομης διάρκειας και μέτριας ατμοσφαιρικής επιβάρυνσης έκθεση δεν προκάλεσε αξιόλογες μεταβολές στα TBARS και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια αντίστοιχα. Η πιθανότερη εξήγηση για αυτά τα αποτελέσματα είναι ίσως η σύντομη διάρκεια της έκθεσης κατά την οποία η είσοδος των ελευθέρων ριζών του καπνού και των NO ήταν μικρή, μην μπορώντας να ενεργοποιήσουν διάφορες οξειδωτικές διαδικασίες οι οποίες φαίνεται πως ευθύνονται για την αυξημένη συγκέντρωση των φαγοκυττάρων. Κατά συνέπεια οι δραστικές αυτές ρίζες αδυνατούσαν να υπερκεράσουν την προστασία που προσφέρει το αντιοξειδωτικό σύστημα των ανδρών και των γυναικών στα κύτταρα και στους ιστούς επιφέροντας ασήμαντες μεταβολές στους δείκτες λιπιδικής και πρωτεϊνικής οξειδωσης στο αίμα. Σε αντίθεση όμως με την παρούσα μελέτη, σε δυο έρευνες

in vitro (Mahfouz et al., 1995; Jia et al., 2007) και μια in vivo Valkonen, and Kuusi, 1998), βρέθηκαν αυξημένες οι συγκεντρώσεις των TBARS και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων αντίστοιχα. Πιθανή αιτία για αυτή την αναντιστοιχία των αποτελεσμάτων είναι η πολύ μεγάλη διάρκεια της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα στις δυο εργασίες in vitro στις οποίες η είσοδος των ελευθέρων ριζών του καπνού υπερνίκησε την αντιοξειδωτική άμυνα των κυττάρων που μελετήθηκε ενώ στην έρευνα των Valkonen και Kuusi, η αυξημένη οξείδωση της LDL υπό την παρουσία  $\text{Cu}^{2+}$  που εμπεριέχονται στο τσιγάρο προκάλεσε την εμφάνιση TBARS στο αίμα η οποία διατηρήθηκε έως και έξι ώρες μετά.

Αξίζει να αναφερθούμε επιγραμματικά σε 2 ακόμα έρευνες στις οποίες δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές σε αρκετούς αξιόπιστους δείκτες που μετρήθηκαν σε δείγμα ανθρώπων (βλ. Πίνακας 3), ακόμα και μετά από 3 ή 5 ώρες έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα (Hockertz et al., 1994; Oguogho, et al., 1996). Ίσως το μικρό μέγεθος του δείγματος που αξιολογήθηκε σε αυτές τις έρευνες (5 και 9 άτομα) και η ανομοιογένεια των δειγμάτων (βλ. Πίνακας 3.) να ευθύνεται για τις μη σημαντικές μεταβολές που παρουσιάστηκαν.

#### *Μεταβλητότητα των δεικτών οξειδωτικού στρες μεταξύ των ιστών*

Εξετάζοντας προσεκτικά την βιβλιογραφία παρατηρείται αρκετές φορές σε κάποιους ιστούς ακόμα και στα ίδια μοντέλα, να υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δεικτών που εξετάζονται. Δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις, ιδιαίτερα στις έρευνες που αξιολόγησαν μοντέλα in vitro, να παρατηρείται αυτό το φαινόμενο ακόμα και σε δείκτες οξείδωσης οι οποίοι αποτελούν αδιάψευστους μάρτυρες της εμφάνισης οξειδωτικού στρες δεδομένου ότι τα αντιοξειδωτικά μόρια όπως η α-τοκοφερόλη και η βιταμίνη C, επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό και από άλλους παράγοντες όπως η διατροφή (Dietrich et al., 2008). Ενδεικτικά παραδείγματα αποτελούν οι εργασίες του Oguogho, και των συνεργατών του (1996) και του Schmid και των συνεργατών του (1993) σε ανθρώπους, στις οποίες η

συγκέντρωσης της MDA είτε παρέμεινε αμετάβλητη είτε αυξήθηκε σημαντικά (βλ. Πίνακας 3), η περίπτωση της εργασίας του Cotrgeave και των συνεργατών του (1987), στην οποία η συγκέντρωση της GSH στο BALF, το ήπαρ και τους πνεύμονες μειώθηκε ενώ στο αίμα παρέμεινε αμετάβλητη (βλ. Πίνακας 2), και σε έρευνες *in vitro* στις οποίες η συγκέντρωση της GSSG μετά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αυξήθηκε (Noronha-Dutra, et al., 1993) ή παρέμεινε αμετάβλητη (Bagloli et al., 2006; βλ. Πίνακας 1).

Οι παραπάνω διαφορές πιθανά οφείλονται στις συνθήκες έκθεσης, στο μέγεθος, την ομοιογένεια και την ποιότητα του δείγματος και στο χρονικό σημείο αξιολόγησης των δειγμάτων μετά το παθητικό κάπνισμα, ενώ θα πρέπει να επισημάνουμε και την αμφισβήτηση που υπάρχει στην εγκυρότητα ορισμένων μετρήσεων. Πλήθος δεικτών χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της εμφάνισης οξειδωτικού στρες. Εντούτοις κάθε μέτρηση παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Για παράδειγμα, υπάρχουν κάποιες επιφυλάξεις όσον αφορά την εγκυρότητα της μέτρησης των TBARS στην προσπάθεια προσδιορισμού της λιπιδικής υπεροξειδωσης *in vivo*, γιατί τα TBARS δεν αντικατοπτρίζουν επακριβώς την εμφάνιση της MDA που είναι δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης και δεν αποτελεί τον μοναδικό τρόπο παραγωγής της (Vollaard, Sherman, and Cooper, 2005). Τα στοιχεία αυτά είναι υπολογίσιμα στην προσπάθεια μελέτης των οξέων επιδράσεων του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες καθώς είμαστε σε θέση να ισχυριστούμε ότι η αξιολόγηση μικρού αριθμού δεικτών οξειδωτικού στρες σε ένα μόνο ιστό δεν αποδίδει μια σαφή εικόνα της οξειδωαναγωγικής κατάστασης του οργανισμού. Επιπλέον κάθε ιστός θα πρέπει να αντιμετωπίζεται σαν ξεχωριστή οντότητα και να μην συγχέονται τα αποτελέσματα μεταξύ τους στην τελική εξαγωγή των συμπερασμάτων. Είναι φρόνιμο να αξιολογούνται περισσότεροι από ένας ιστός κάθε φορά ούτως ώστε να δίνεται η δυνατότητα να εντοπιστεί ακριβέστερα ποιοι ιστοί υφίστανται σημαντική βλάβη και σε ποίο βαθμό.

### Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες

Η παρούσα έρευνα έδειξε ότι 1 ώρα έκθεση στο παθητικό κάπνισμα υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες που προσομοιάζουν το περιβάλλον σε χώρους όπως μπαρ και εστιατόρια δεν μεταβάλλει σημαντικά τους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα. Ως εκ τούτου μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να χρησιμοποιήσουν ένα πρωτόκολλο στο οποίο η διάρκεια της έκθεσης θα αυξηθεί αλλά οι συνθήκες θα παραμείνουν αυστηρά ελεγχόμενες ούτως ώστε ο οργανισμός να επιβαρυνθεί με ένα πιο έντονο περιβαλλοντικό ερέθισμα. Επίσης, οι ερευνητές που σχεδιάζουν πειράματα στο χώρο περιβαλλοντικής φυσιολογίας και οξειδωτικού στρες θα πρέπει να στρατολογήσουν ένα αρκετά μεγάλο και ομοιογενές δείγμα, προσέχοντας ιδιαίτερα ότι όλοι οι συμμετέχοντες θα απέχουν από κάθε είδους φυσική δραστηριότητα ή έκθεση στο παθητικό κάπνισμα πριν από την συμμετοχή τους στην έρευνα ώστε να εξασφαλιστεί ότι η οξειδωαναγωγική κατάσταση τους θα είναι ανεπηρέαστη από εξωτερικούς παράγοντες. Προς αυτή την κατεύθυνση, ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην διατροφή των συμμετεχόντων η οποία θα πρέπει να ελέγχεται και να καταγράφεται λεπτομερειακά συμβουλευοντας ταυτοχρόνως τους υποψηφίους παθητικούς καπνιστές να μην λαμβάνουν συμπληρώματα διατροφής και αντιοξειδωτικά. Πολλαπλές μετρήσεις θα πρέπει να πραγματοποιούνται εντός 24 ωρών από το τέλος της έκθεσης ώστε να διαπιστωθεί με ακρίβεια η διάρκεια των μεταβολών που προκαλεί το παθητικό κάπνισμα στο οξειδωτικό στρες καθώς επίσης και οι ιδανικές χρονικές στιγμές μέτρησης κάθε δείκτη. Τέλος από την στιγμή που υπάρχει διαφορετική απόκριση των ιστών στο οξειδωτικό στρες θα πρέπει να εξετάζονται άμεσοι και έμμεσοι δείκτες οξειδωτικού στρες σε περισσότερους από έναν ιστούς ώστε να διαπιστωθεί ποιοί ιστοί επιδέχονται μεγαλύτερη επιβάρυνση και βλάβη.

### Συμπεράσματα

Η παρούσα έρευνα ήταν η πρώτη η οποία προσπάθησε να εξακριβώσει πειραματικά τις οξείες επιδράσεις της άσκησης υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες. Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα διάρκειας 1-ωρας υπό συνθήκες που προσομοιάζουν το περιβάλλον σε χώρους όπως μπαρ και εστιατόρια δεν προκαλεί σημαντικές μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα ενηλίκων μη καπνιστών. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού μπορεί να αντισταθεί στην οξειδωτική βλάβη που τείνουν να δημιουργίσουν οι ελεύθερες ρίζες του καπνού μετά από 1 ώρα έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Η απουσία μεταβολών στους δείκτες οξειδωτικής βλάβης και αντιοξειδωτικών μορίων αποτελεί ίσως την ισχυρότερη ένδειξη της μη πρόκλησης οξειδωτικής βλάβης και οδηγεί στην αναζήτηση άλλων παραγόντων που επιστρατεύονται για την προστασία των ιστών. Η αξιολόγηση επιπλέον δεικτών οξειδωτικού στρες σε περισσότερους ιστούς ίσως δώσει πιο ξεκάθαρες απαντήσεις σχετικά με τις επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο οξειδωτικό στρες.

## Βιβλιογραφία

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121–126.
- Ahmadzadehfar, H., Oguogho, A., Efthimiou, Y., Kritz, H., & Sinzinger, H. (2006). Passive cigarette smoking increases isoprostane formation. *Life Sci. Jan* 18;78(8):894-7.
- American College of Sports Medicine (2000). ACSM's Guidelines for Exercise testing and Prescription. Franklin BA(eds), Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia).
- Anderson, N.L., & Anderson, N.G. (2002). The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics.* 1(11):845-67.
- Anderson, R., Theron, A.J., Richards, G.A., Myer, M.S., & van Rensburg, A.J. (1991). Passive smoking by humans sensitizes circulating neutrophils. *Am Rev Respir Dis.*, 144(3):570-4.
- Andrews, J.O., & Tingen, M.S. (2006). The effect of smoking, smoking cessation, and passive smoke exposure on common laboratory values in clinical settings: A review of the evidence. *Crit. Care Nurs. Clin. N. Am.*, 18, 63-9.
- Aoshiba, K., Koinuma, M., Yokohori, N., & Nagai, A. (2003). Immunohistochemical evaluation of oxidative stress in murine lungs after cigarette smoke exposure. *Inhal Toxicol.*, 15(10):1029-38.
- Argacha, J.F., Fontaine, D., Adamopoulos, D., Ajose, A., van de Borne, P., Fontaine, J., et al., (2008). Acute effect of sidestream cigarette smoke extract on vascular endothelial function.. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 52(3):262-7.
- Ahijevych, K., & Wewers, M.E. (2003). Passive smoking and vascular disease. *J. Cardiovasc. Nurs.*, 18, 69-74.
- Baglole, C.J., Bushinsky, S.M., Garcia, T.M., Kode, A., Rahman, I., Sime, P.J., et al., (2006). Differential induction of apoptosis by cigarette smoke extract in primary human lung fibroblast strains: implications for emphysema. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 291(1):L19-29.
- Banzet, N., Francois, D., & Polla, B.S. (1999). Tobacco smoke induces itochondrial depolarization along with cell death: effects of antioxidants. *Redox Rep.*, 4(5):229-36.
- Barnoya, J., & Glantz, S. (2005). Cardiovascular effects of secondhand smoke. Nearly as large as smoking. *Circulation*, 111, 2684-98.

- Benowitz, N.L. (1996). Cotinine as a Biomarker of Environmental Tobacco Smoke Exposure. *Epidemiol Rev.* 18(2);188-204.
- Benowitz, N.L. (1999). Biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *Environ Health Perspect* 107, (2); 349–355.
- Benowitz, N.L., & Sharp, D.S. (1989). Inverse relation between serum cotinine concentration and blood pressure in cigarette smokers. *Circulation*; 80:1309-12.
- Bertram, K.M., Baglole, C.J., Phipps, R.P., & Libby, R.T. (2009). Molecular regulation of cigarette smoke induced-oxidative stress in human retinal pigment epithelial cells: implications for age-related macular degeneration. *Am J Physiol Cell Physiol.*, 297(5),1200-10.
- Besaratinia, A., & Pfeifer, G.P. (2008). Second-hand smoke and human lung cancer. *Lancet Oncol.*, 9(7):657-66.
- Bluhm, A.L., Weinstein, J., & Sousa, J.A. (1971). Free radicals in tobacco smoke. *Nature* 229, 500.
- Bilimoria, M.H., & Ecobichon, D.J. (1992). Protective antioxidant mechanisms in rat and guinea pig tissues challenged by acute exposure to cigarette smoke. *Toxicology.*,72(2):131-44.
- Bray, R.C., Cockle, S.A., Fielden, E.M., Roberts, P.B., Rotilio, G., & Calabrese, L. (1974). Reduction and inactivation of superoxide dismutase by hydrogen peroxide. *Biochem J*, 139,43-48.
- Burke, A.P., Farb, A., Malcom, G.T., Liang, Y.H., Smialek, J., & Virmani, R. (1997). Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* ,336:1276–1282.
- Cantin, A., & Crystal, R.G. (1985). Oxidants, antioxidants and the pathogenesis of emphysema. *Eur J Respir Dis Suppl.*, 139,7-17.
- Carnevali, S., Petruzzelli, S., Longoni, B., Vanacore, R., Barale, R., Cipollini, M., et al., (2003). Cigarette smoke extract induces oxidative stress and apoptosis in human lung fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 284(6),955-63. Epub 2003 Jan 24.
- Cavarra, E., Lucattelli, M., Gambelli, F., Bartalesi, B., Fineschi, S., Szarka, A., et al., (2001). Human SLPI inactivation after cigarette smoke exposure in a new in vivo model of pulmonary oxidative stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* ,281(2), 412-7.
- Cerutti, P.A. (1985). Prooxidant states and tumor promotion. *Science.* 25;227(4685):375-81.
- Chang, J.S. (2009). Parental smoking and childhood leukemia. *Methods Mol Biol.*, 472,103-37.

- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P.C. (2004). "Diversity of structures and properties among catalases". *Cell. Mol. Life Sci.* 61 (2), 192–208.
- Chow, C.K. (1993). Cigarette smoking and oxidative damage in the lung. *Ann. NY Acad. Sci.* 68, 289–298.
- Church, D.F., & Pryor, W.A. (1985). Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect.*, 64,111-26.
- Cook, D.G., & Strachan, D.P. (1997). Health effects of passive smoking. Parental smoking and prevalence of respiratory symptoms and asthma in school age children. *Thorax*, 52, 1081-94.
- Cotgreave, I.A., Johansson, U., Moldéus, P., & Brattsand, R. (1987). The effect of acute cigarette smoke inhalation on pulmonary and systemic cysteine and glutathione redox states in the rat. *Toxicology*, 45(2), 203-12.
- Cueto, R., Church, D.F. & Pryor, W.A. (1989). *Anal. Lett.* 22, 751-763.
- Cueto, R., & Pryor, W.A. (1994). Cigarette smoke chemistry: conversion of nitric oxide to nitrogen dioxide and reactions of nitrogen oxides with other smoke components as studied by fourier transform infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 7, 97-111.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., et al., (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.*, 107(4), 526-45.
- Dallongeville, J., Marecaux, N., Fruchart, J.C., & Amouye, P. (1998). Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis. *J Nutr*, 128, 1450–7.
- Davies, M.J. (1997). The composition of coronary-artery plaques. *N Engl J Med* 336, 1312–1314.
- Dietrich, M., Block, G., Norkus, E.P., Hudes, M., Traber, M.G., Cross, C.E. et al., (2003). Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase  $\gamma$ -tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes<sup>1-3</sup>. *Am J Clin Nutr.*, 77, 160–6.
- Edwards, R., Hasselholdt, C.P., Hargreaves, K., Probert, C., Holford, R., Hart, J., et al., (2006). Levels of second hand smoke in pubs and bars by deprivation and food-serving status: a cross-sectional study from North West England. *BMC Public Health* 22, 6:42.



- Eiserich, J.P., van der Vliet, A., Handelman, G.J., Halliwell, B., & Cross, C.E. (1995). Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr*, 62 (suppl).
- Eiserich, I.P., Vossen, V., O'Neill, C.A., Halliwell, B., Cross, C.E., & Van der Vliet A. (1994). Molecular mechanisms of damage by excess nitrogen oxides: nitration of tyrosine by gas-phase cigarette smoke. *FEBS Lett*, 353, 53-6.
- European Commission. Tobacco or health in the European union—past, present and future. The ASPECT Consortium 2004. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities; 2004. 27. National Research Council Committee on Passive Smoking. Environmental Tobacco Smoke: Measuring Exposures and Assessing Health Effects. Washington, DC: National Academy Press; 1986.
- Evans, W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2), 647-52.
- Faught, B.E., Flouris, A.D., & Cairney, J. (2009). Epidemiological evidence associating secondhand smoke exposure with cardiovascular disease. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 8(5), 321-7.
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*. 36, 327–358.
- Flouris, A.D., Metsios, G.S., Jamurtas, A.Z., & Koutedakis, Y. (2008). Sexual dimorphism in the acute effects of secondhand smoke on thyroid hormone secretion, inflammatory markers and vascular function. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 294(2), 456-62.
- Flouris, A.D., Metsios, G.S., Carrillo, A.E., Jamurtas, A.Z., Gourgoulialis, K., Kiropoulos, T. (2009). Acute and short-term effects of secondhand smoke on lung function and cytokine production. *Am J Respir Crit Care Med*. 179(11), 1029-33.
- Flouris, A.D., Vardavas, C.I., Metsios, G.S., Tsatsakis, A.M., & Koutedakis, Y. (2010). Biological evidence for the acute health effects of secondhand smoke exposure. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. 8(5):359-63.
- Flouris, A.D., Faught, B.E., & Klentrou, P. (2008). Cardiovascular disease risk in adolescent smokers: evidence of a smoker lifestyle. *L Clin Health Care* 12, 217-227.
- Flouris, A.D., Metsios, G.S., Carillo, A.E., Jamurtas, A.Z., Koutedakis, Y. Tzatzarakis et al., (2005). Effects of passive smoking on resting and exercising humans (Abstract). *Can J Appl. Physiol*. 30:S28.

- Flouris, A.D., Metsios, G.S., Carrillo, A.E., Jamurtas, A.Z. Gourgoulisanis, K., Kiropoulos, T., et al., (2009). Acute and Short-term Effects of Secondhand Smoke on Lung Function and Cytokine Production. *Am J Respir Crit Care Med*, 179, 1029–1033.
- Floyd, R.A. (1982). Free Radicals and Cancer. Marcel Dekker, New York.
- Foliaki, S., Annesi-Maesano, I., Tuuau-Potoi, N., Waqatakirewa, L., Cheng, S., Douwes, J., et al., (2008). Risk factors for symptoms of childhood asthma, allergic rhinoconjunctivitis and eczema in the Pacific: an ISAAC Phase III study. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 12, 799-806.
- Fowler, J.S., Volkow, N.D., Wang, G.J., Pappas, N., Logan, J., MacGregor, R., et al., (1996). Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers, *Nature (London)* 379, 733–736.
- Frei, B., Forte, T.M., Ames, B.N., & Cross, C.E. (1991). Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. *Biochem J.*, 277, 133–8.
- Galdston, M., Melnick, E.L., Goldring, R.M., Levytska, V., Curasi, C.A., & Davis A.L. (1977). Interactions of neutrophil elastase, serum trypsin inhibitory activity, and smoking history as risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in patients with MM, MZ, and ZZ phenotypes for alpha-antitrypsin. *Am Rev Respir Dis.*, 116(5):837-46.
- Gilliland, F.D., Berhane, K., Islam, T., Wenten, M., Rappaport, E., Avol, E., et al., (2003). Environmental tobacco smoke and absenteeism related to respiratory illness in school children. *Am. J. Epidemiol.*, 157, 861-9.
- Gilliland, F.D., Li, Y.F., & Peters, J.M. (2001). Effects of maternal smoking during pregnancy and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 163, 429-36.
- Glantz, S.A., & Parmley, W.W. (1995). Passive smoking and heart disease. Mechanisms and risk. *JAMA* 273, 1047–1053.
- Glantz, S.A. & Parmley, W.W. (1996). Passive and active smoking. A problem for adults. *Circulation*, 94, 596-8.
- Grimmer GG, editor. (1983). Environmental carcinogens: polycyclic aromatic hydrocarbons chemistry occurrence biochemistry carcinogenicity. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, (pp. 11–17).

- Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, N., Saulj, R.L., McCord, M., et al., (1987). *Ann. Intern. Med.* 107, 526-545.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.* 142:231–255.
- Hasnis, E., Bar-Shai, M., Burbea, Z., & Reznick, A.Z. (2007). Cigarette smoke-induced NF-kappaB activation in human lymphocytes: the effect of low and high exposure to gas phase of cigarette smoke. *J Physiol Pharmacol.*,58 Suppl 5(1):263-74.
- Hecht, S.S. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol*, 11,559-603.
- Henderson, A.J. (1994). Bronchoalveolar lavage. *Arch Dis Child*,70(3):167-9.
- Hobson, J., Wright, J., & Churg, A. (1991). Histochemical evidence for generation of active oxygen species on the apical surface of cigarette-smoke-exposed tracheal explants. *Am J Pathol.*, 139(3):573-80.
- Hockertz, S., Emmendörffer, A., Scherer, G., Ruppert, T., Daube, H., Tricker, A.R. et al., (1994). Acute effects of smoking and high experimental exposure to environmental tobacco smoke (ETS) on the immune system. *Cell Biol Toxicol.*,10(3):177-90.
- Howard, D.J., Ota, R.B., Briggs, L.A., Hampton, M., & Pritsos, C.A. (1998). Environmental tobacco smoke in the workplace induces oxidative stress in employees, including increased production of 8-hydroxy-2' - deoxyguanosine. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7,141–146.
- Howard, G., Wagenknecht, L.E., Burke, G.L., Diez-Roux, A., Evans, G.W., McGovern, P., et al., (1998). Cigarette smoking and progression of atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *JAMA*, 279, 119–124.
- Holt, P.G. (1987). Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax*, 42, 241–249.
- Hoyt, J.C., Robbins, R.A., Habib, M., Springall, D.R., Buttery, L.D., Polak, J.M., et al., (2003). Cigarette smoke decreases inducible nitric oxide synthase in lung epithelial cells. *Exp Lung Res.*,29(1):17-28.
- Hunninghake, G.W., & Crystal, R.G. (1983). Cigarette smoking and lung destruction. Accumulation of neutrophils in the lungs of cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis.*,128(5):833-8.

- Ingram, D.J.E. (1961). ESR studies of the free radicals produced in tobacco pyrolysis and in other related compounds. *Acta Med. Scand. (Suppl.)* 369: 43-62.
- Ishizaki, T., Kishi, Y., Sasaki, F., Ameshima, S., Nakai, T., & Miyabo, S. (1996). Effect of probucol, an oral hypocholesterolaemic agent, on acute tobacco smoke inhalation in rats. *Clin Sci (Lond)*, 90(6):517-23.
- Jaimes, E.A., DeMaster, E.G., Tian, R.X., & Raij L. (2004). Stable compounds of cigarette smoke induce endothelial superoxide anion production via NADPH oxidase activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 24(6):1031-6.
- Jamrozik, K. (2005). Estimate of deaths attributable to passive smoking among UK adults: database analysis. *BMJ*. 9;330(7495):812.
- Janaszewska, A., & Bartosz, A. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 62, 231–236.
- Järvinen, R., Knekt, P., Seppänen, R., Reunanen, A., Heliövaara, M., Maatela, J. et al. (1994). Antioxidant vitamins in the diet: relationships with other personal characteristics in Finland. *J Epidemiol Community Health*, 48, 549–54.
- Jarvis, M.J., Foulds, J., & Feyerabend, C. (1992). Exposure to passive smoking among bar staff. *Br.J Addict.*, 87, 111-3.
- Jia L., Liu, Z., Sun, L., Miller, S.S., Ames, B.N., Cotman, C.W., et al., (2007). Acrolein, a toxicant in cigarette smoke, causes oxidative damage and mitochondrial dysfunction in RPE cells: protection by (R)-alpha-lipoic acid. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 48(1):339-48.
- Jo, W.K., Oh, J.W., & Dong, J.I. (2004). Evaluation of exposure to carbon monoxide associated with passive smoking. *Environ Res* 94, 309–318.
- Johnson, J.D., Houchens, D.P., Kluwe, W.M., Craig, D.K., & Fisher, G.L. (1990). Effects of mainstream and environmental tobacco smoke on the immune system in animals and humans: A review. *Crit. Rev. Toxicol.* 20, 369–395.
- Kato, T., Inoue, T., Morooka, T., Yoshimoto, N., & Node, K. (2006). Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in non-smokers. *Can J Physiol Pharmacol.*, 84(5):523-9.
- Kawachi, I., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Willett, W.C., et al. (1997). A prospective study of passive smoking and coronary heart disease. *Circulation*, 95, 2374–9.

- Keles, M.S., Taysi, S., Sen, N., Aksoy, N., & Akcay, F. (2001). Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *Can. J. Neurol. Sci.* 28,141–143.
- Klein, I., Nagler, R.M., Toffler, R., van Der Vliet, A., & Reznick, A.Z. (2003). Effect of cigarette smoke on oral peroxidase activity in human saliva: role of hydrogen cyanide. *Free Radic Biol Med.* 1;35(11):1448-52.
- Kode, A., Yang, S.R., & Rahman, I. (2006). Differential effects of cigarette smoke on oxidative stress and proinflammatory cytokine release in primary human airway epithelial cells and in a variety of transformed alveolar epithelial cells. *Respir Res.* 24, 7:132.
- Kono, Y., & Fridovich, I. (1982). Superoxide radical inhibits catalase. *J Biol Chem*; 257, 5751-5754.
- Kritz, H., Schmid, P., & Sinzinger, H. (1995). Passive smoking and cardiovascular risk. *Arch Intern Med*,155,1942–1948.
- Lapenna, D., de Gioia, S., Mezzetti, A., Ciofani, G., Consoli, A., Marzio, L., et al., (1995). Cigarette smoke, ferritin, and lipid peroxidation. *Am J Respir Crit Care Med.* 151(2 Pt 1):431-5.
- Lentz, P.E., & DiLuzio, N.R. (1974). Peroxidation of lipids in alveolar macrophages by aqueous extracts of cigarette smoke. *Arch. Environ. Health* 28, 279-282.
- Leone, A., & Balbarini, A., (2008). Exposure to passive smoking: a test to predict endothelial dysfunction and atherosclerotic lesions. *Angiology*, 59, 220-3.
- Li, X.Y., Donaldson, K., Rahman, I., & MacNee, W. (1994). An investigation of the role of glutathione in increased epithelial permeability induced by cigarette smoke in vivo and in vitro. *Am J Respir Crit Care Med.*,149(6):1518-25.
- Li, X.Y., Rahman, I., Donaldson, K., & MacNee, W. (1996). Mechanisms of cigarette smoke induced increased airspace permeability. *Thorax*.,51(5):465-71.
- Liu, S.K., Wanhg, L., Chen, C., & Zhang, Z.Z. (2009). Cigarette smoke-induced oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.*, 40(4):667-71.
- Loft, S., Vistisen, K., Ewertz, M., Tjonneland, A., Overvad, K., & Poulsen, H. E. (1992). Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans—Influence of smoking, gender and body mass index. *Carcinogenesis* 13, 2241–2247.

- Lyons, M.J., Gibson, J.F., & Ingram, D.J.E. (1958). Free-radicals in cigarette smoke. *Nature* 181, 1003-1004.
- Ma, J., Hampl, J.S., & Betts, N.M. (2000). Antioxidant intakes and smoking status: data from the Continuing Survey of Food Intakes by Individuals 1994–1996. *Am J Clin Nutr*, 71, 774–80.
- Mackay, J., & Eriksen, M. (2008). The tobacco atlas. Geneva: World health organization
- McBrien, D. C. H., and Slater, T. F., Eds. Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer. Academic Press, New York, 1982..
- Mahfouz, M.M., Hulea, S.A., & Kummerow, F.A. (1995). Cigarette smoke increases cholesterol oxidation and lipid peroxidation of human low-density lipoprotein and decreases its binding to the hepatic receptor in vitro. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.*, 14(3-4), 181-92.
- Maranzana, A., & Mehlhorn, R.J. (1998). Loss of glutathione, ascorbate recycling, and free radical scavenging in human erythrocytes exposed to filtered cigarette smoke. *Arch Biochem Biophys*. 15;350(2):169-82.
- Marcum, J.A., McKenney, J.B., Galli, S.J., Jackman, R.W., & Rosenberg, R.D. (1986). Anticoagulant active heparin-like molecules from mast cell-deficient mice. *Am J Physiol.*, 250(5 Pt 2):879-88.
- Méndez-Alvarez, E., Soto-Otero, R., Sánchez-Sellero, I., & López-Rivadulla Lamas, M. (1998). In vitro inhibition of catalase activity by cigarette smoke: relevance for oxidative stress. *J Appl Toxicol.*, 18(6):443-8.
- Metsios, G.S, Flouris, A.D., & Koutedakis, Y. (2009). Passive smoking, asthma and allergy in children. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 8(5):348-52.
- Metsios, G.S., Flouris, A.D., Jamurtas, A.Z., Carrillo, A.E., Kouretas, D., Germenis, A.E., et al., (2007). A brief exposure to moderate passive smoke increases metabolism and thyroid hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 92(1):208-11.
- Moshhammer, H., Hoek, G., Luttmann-Gibson, H., Neuberger, M.A., Antova, T., Gehring, U., et al., (2006). Parental smoking and lung function in children: an international study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 173, 1255-63.
- Morkjaroenpong, V.; Rand, C.S.; Butz, A.M.; Huss, K.; Eggleston, P.; Malveaux, F.J.; Bartlett, S.J. Environmental tobacco smoke exposure and nocturnal symptoms among inner-city children with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 110, 147-53.
- Moncada, S. & Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 30;329(27):2002-12.

- Muller, B., Zulewski, H., Huber, P., Ratcliffe, J.G., & Staub, J.J. (1995). Impaired action of thyroid hormone associated with smoking in women with hypothyroidism. *N. Engl. J. Med.*, 333 (15), 964-9.
- Nakayama, T., Church, D.F., & Pryor, W.A. (1989). Quantitative analysis of the hydrogen peroxide formed in aqueous cigarette tar extracts. *Free Radic Biol Med*, 17(1):9-15.
- Nebot, M., Lopez, M.J., Gorini, G., Neuberger, M., Axelsson, S., Pilali, M., et al., (2005). Environmental tobacco smoke exposure in public places of European cities. *Tob Control*, 14(1):60-3.
- Noronha-Dutra, A.A., Epperlein, M.M., & Woolf, N. (1993). Effect of cigarette smoking on cultured human endothelial cells. *Cardiovasc Res.*, 27(5):774-8.
- Oguogho, A., Kritiz, H., & Sinzinger, H. (1996). Single passive smoking exposure induces no measurable oxidation of low density lipoproteins. *Wien Klin Wochenschr.*, 108(18):589-92.
- Okoli, C.T., Kelly, T., & Hahn, E.J. (2007). Secondhand smoke and nicotine exposure: a brief review. *Addict. Behav.*, 32 (10)1977-88.
- Osler, M. (1998). The food intake of smokers and nonsmokers: the role of partner's smoking behavior. *Prev Med*, 27, 438-43.
- Padmaja, S., & Huie, R.E. (1993). The reaction of nitric oxide with organic peroxy radicals. *Biochem Biophys Res Commun* 195, 539-44.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohou C, Skoumas J, Masoura C, Toutouzas P, (2004). Effect of exposure to secondhand smoke on markers of inflammation: the ATTICA study. *Am J Med.* 1;116(3):145-50.
- Patsoukis, N., Zervoudakis, G., Panagopoulos, N.T., Georgiou, C.D., Angalatou, F., & Matsokis, N.A. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazolinduced epileptic seizure. *Neurosci. Lett.* 357, 83-86.
- Pattenden, S., Antova, T., Neuberger, M., Nikiforov, B., De Sario, M., Grize, L., et al., (2006). Parental smoking and children's respiratory health: independent effects of prenatal and postnatal exposure. *Tob. Control*, 15, 294-301.
- Peltola, V., Mantyla, E., Huhtaniemi, I., & Ahotupa, M. (1994). Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in the Rat Testis after Cigarette Smoke Inhalation or Administration of Polychlorinated Biphenyls or Polychlorinated Naphthalenes. *Journal of Andrology*, 15; 353-361.

- Pontieri, F.E., Tanda, G., Orzi, F., & Di Chiara, G. (1996). Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature (London)* 382, 255–257.
- Powers, S.K., & Jackson, M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.*, 88(4):1243-76.
- Preston, A.M. (1991). Cigarette smoking nutritional implication. *Prog Food Nutr Sci*, 15, 183– 247.
- Preussmann, R., & Steward, B.W. (1984). N-nitroso carcinogens. In: Chemical Carcinogens, edited by Searle CE. Washington, DC: *American Chemical Society*, p. 643-828.
- Pryor, W.A. (1987). Cigarette smoke and the involvement of free radical reactions in chemical carcinogenesis. *Br J Cancer Suppl.*, 8,19-23.
- Pryor, W.A., Dooley, M.M., & Church, D.F. (1985). Mechanisms of cigarette smoke toxicity: the inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by nitric oxide/isoprene mixtures in air. *Chem Biol Interact.*, 54(2):171-83.
- Pryor, W.A., & Lightsey, J.W. (1981). Mechanisms of Nitrogen Dioxide Reactions: Initiation of Lipid Peroxidation and the Production of Nitrous Acid. *Science*. 23;214(4519):435-437.
- Pryor, W.A., Prier, D.G., & Church, D.F. (1983). Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ Health Perspect.*47, 345-55.
- Pryor, W.A., Prier, D.G. & Church, D.F. (1983). *J. Am. Chem.*, 105, 2883-2888.
- Pryor, W.A., & Stone, K. (1993). Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann N Y Acad Sci.*, 28;686:12-27; discussion 27-8.
- Pryor, W.A., Stone K., Zang, L.Y., & Bermudez, E. (1998). Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol* 11, 441-448.
- Pryor, W.A., Tamura, M., & Church, D.F. (1984). *J. Am. Chem.* 106, 5073-5079.
- Rahman I, & MacNee W. (1996). Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radic Biol Med.*, 21(5):669-81.
- Rahman, I., Smith, C.A., Lawson, M.F., Harrison, D.J., & MacNee, W. (1996). Induction of gamma-glutamylcysteine synthetase by cigarette smoke is associated with AP-1 in human alveolar epithelial cells. *FEBS Lett.* 28;396(1):21-5.



- Raupach, T., Schäfer, K., Konstantinides, S., & Andreas, S. (2006). Secondhand smoke as an acute threat for the cardiovascular system: a change in paradigm. *Eur. Heart J.*, 27, 386-92.
- Reindal, L., & Oymar, K. (2006). Hospital admissions for wheezing and asthma in childhood-Are they avoidable?. *J. Asthma*, 43, 801-6.
- Reznick, A.Z., Cross, C.E., Hu, M.L., Suzuki, Y.J., Khwaja, S., Safadi, A., et al., (1992). Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J.* 1;286 (2):607-11.
- Rosen, L.J., Zucker, D.M., Rosen, B.J., & Connolly, G.N. (2010). Second-hand smoke levels in Israeli bars, pubs and cafes before and after implementation of smoke-free legislation. *Eur J Public Health.* .
- Rushton, L. (2004). Health impact of environmental tobacco smoke in the home. *Rev Environ Health.*, 19(3-4):291-309.
- Santodonato, J. (1997). Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: relationship to carcinogenicity. *Chemosphere*, 34(4):835-48.
- Schmid, P., Karanikas, G., Kritz, H., Pirich, C., Stamatopoulos, Y., Bernhard A. et al., (1996). Passive smoking and platelet thromboxane. *Thromb Res.* 15;81(4):451-60.
- Schoendorf, K.C., & Kiely, J.L. (1992). Relationship of sudden infant death syndrome to maternal smoking during and after pregnancy. *Pediatrics.*, 90(6):905-8.
- Siegel, M. (1993). Involuntary smoking in the restaurant workplace. A review of employee exposure and health effects. *JAMA*, 270:490-3.
- Sies, H., (1985). Oxidative stress. Introductory remarks. In: *Oxidative stress* (Sies, H. ed), Academic press London p 1-8.
- Sidorkewicz, N., Carrillo, A.E., Metsios, G.S., Flouris, A.D., Jamurtas, A. Z., & Koutedakis, Y. (2006). Resting energy expenditure response following environmental tobacco smoke exposure. *Med.Sci. Sports Exerc.*, 38 (5), 457-58.
- Sinet, P.M., & Garber, P. (1981). Inactivation of the human CuZn superoxide dismutase during exposure to O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Arch Biochem Biophys*, 212, 411-416.
- Smith, C.J., Fischer, & T.H. (2001). Particulate and vapour phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 158, 257-67.
- State-specific prevalence and trends in adult cigarette smoking--United States, 1998-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 2009, 58 (9), 221-6.

- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, I.C., & Witztum, I.L. (1989). Beyond cholesterol: modification of low density lipoprotein that increases its atherogenicity. *N Engl J Med*, 320, 915-24.
- Sturgis, E.M, & Pytynia, K.B. (2005). After the smoke clears: environmental and occupational risks for carcinoma of the upper aerodigestive tract. *Cancer J.*, 11(2), 96-103.
- Sunyer, J., Pekkanen, J., Garcia-Esteban, R., Svanes, C., Kunzli, N., Janson, C., et al., (2007). Asthma score: predictive ability and risk factors. *Allergy*, 62, 142-8.
- Swarnam, J., Sreekanth, K.S., Hareesh, P., Sabu, M.C., & Kuttan, R. (2005). Effect of Smoke Shield-a herbal formulation on the mutagenicity and oxidative stress produced by cigarette smoke in rats. *J Exp Clin Cancer Res.*24(2):297-304.
- Tager, I.B. (2008). The effects of second-hand and direct exposure to tobacco smoke on asthma and lung function in adolescence. *Paediatr. Respir. Rev.*, 9, 29-37.
- Tang, D., Warburton, D., Tannenbaum, S.R., Skipper, P., Santella, R.M., Cereijido, G.S., et al., (1999). Molecular and genetic damage from environmental tobacco smoke in young children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*,8(5):427-31.
- Tauler, P., Ferrer, M.D., Romaguera, D., Sureda, A., Aguilo, A., Tur, J. et al., (2008). Antioxidant response and oxidative damage induced by a swimming session: Influence of gender. *Journal of Sports Sciences*, 26(12): 1303–1311.
- Taylor, A.E., Johnson, D.C., & Kazemi, H. (1992). Environmental tobacco smoke and cardiovascular disease: a position paper from the Council on Cardiopulmonary and Critical Care, American Heart Association. *Circulation*, 86, 699– 702.
- Taylor, B.V., Oudit, G.Y., Kalman, P.G., & Liu, P. (1998). Clinical and pathophysiological effects of active and passive smoking on the cardiovascular system. *Can J Cardiol*,14:,1129–1139.
- The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and Human Services 2006.
- Tiidus, P. (2000). Estrogen and gender effects on muscle damage, inflammation, and oxidative stress. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 25, 274–287.
- Trichopoulos, D., Kalandidi, A., Sparros, L., & MacMahon, B. (1981). Lung cancer and passive smoking. *Int J Cancer*. 15;27(1):1-4.
- Tuder, R.M., Wood, K., Taraseviciene, L., Flores, S.C., & Voekel, N.F. (2000). Cigarette smoke extract decreases the expression of vascular endothelial growth factor by

- cultured cells and triggers apoptosis of pulmonary endothelial cells  
*Chest.*,117(5):241-2.
- Uneri, C., Sari, M., Baaylam, T., Polat, S., & Yaksel, M. (2006). Effects of vitamin E on cigarette smoke induced oxidative damage in larynx and lung.  
*Laryngoscope.*116(1):97-100.
- Uotila, P. (1982). Effect of cigarette smoke on glucuronide conjugation in hamster isolated lungs. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.*,38(1):173-6.
- U.S. Environmental Protection Agency (1992). Respiratory Health Effects of Passive Smoking: Lung Cancer and Other Disorders.
- U.S. Department of Health and Human Services (1986). The health consequences of involuntary smoking: A report of the Surgeon General. Washington: Government Printing Office Whincup, P.H., Gilg, J.A., Emberson, J.R., Jarvis, M.J., Feyerabend, C., Bryant, A. et al., (2004). Passive smoking and risk of coronary heart disease and stroke: prospective study with cotinine measurement. *B.M.J.*, 329, 200-5.
- U.S. Department of Health and Human Services (1999). National Institutes of Health, and National Cancer Institute: Health Effects of Exposure to Environmental Tobacco Smoke: The Report of the California Environmental Protection Agency. Smoking and Tobacco Control Monograph No. 10 (NIH Pub. No. 99-4645).
- U.S. Department of Health and Human Services (2000). 9th Report on carcinogens. Research Triangle Park, NC: U.S. Department of health and human services, Public Health Service, National Institutes of health Institute of environmental Health Sciences, National Toxicology Programme.
- U.S. Department of Health and Human Services (2006). U.S. Department of Health and Human Services, C. f. D. C. a. P., National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health The health consequences of involuntary exposure to tobacco smoke: a report of the Surgeon General. ;Atlanta, GA.
- U.S. Department of Health and Human Services (2006). The Health Consequences of involuntary Exposure to tobacco smoke: A report of the Surgeon General. Atlanta GA: U.S. Department of health and human services, Centers of Disease Control and prevention, Coordinating Center for Health promotion, National Center for chronic disease prevention and Health promotion, office on smoking and Health, p. 12-136.
- U.S. Department of Health and Human Services (2007). US Department of Health and Human Services, C. f. D. C. a. P., National Center for Chronic Disease Prevention and

- Health Promotion, Office on Smoking and Health Children and secondhand smoke exposure; Atlanta, GA,.
- U.S. Environmental Protection Agency (1992). Respiratory Health Effects of Passive Smoking: Lung Cancer and Other Disorders.
- U.S. Food and Drug Administration, S. a. a. m. h. s. (2006). Results from the 2005 National Survey on Drug Use and Health: national findings. DHHS Publication No. SMA 06-4194.
- Valkonen, M., & Kuusi, T. (1998). Passive Smoking Induces Atherogenic Changes in Low-Density Lipoprotein. *Circulation*, 97, 2012-2016.
- van der Vaart, H., Postma, D.S., Timens, W., & Ten Hacken N.H.T. (2004). Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review *Thorax* 59, 713–721.
- Vollaard, N.B., Shearman, J.P. & Cooper, C.E. (2005). Exerciseinduced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.* 35, 1045-1062.
- Von Mutius, E. (2001). Paediatric origins of adult lung disease. *Thorax*, 56, 153-7.
- Wei, W., Kim, Y., & Boudreau, N. (2001). Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988–1994. *Am J Public Health*, 91,258–64.
- Wells, A.J. (1994) Passive smoking as a cause of heart disease. *J Am Coll Cardiol*, 24, 546–554.
- Winston, G.W., Church, D.F., Cueto, R., & Pryor, W.A. (1993). Oxygen consumption and oxyradical production from microsomal reduction of aqueous extracts of cigarette tar. *Arch. Biochem. Biophys.* 304, 371–378.
- World Health Organization. Who Consultation Report (Online). World Health Organization Division of Noncommunicable Disease, Tobacco Smoke (ETS) and Child Health. [http://www.who.int/tobacco/research/en/ets\\_report.pdf](http://www.who.int/tobacco/research/en/ets_report.pdf) [12 Jun. 2009].
- Wright, J.L., Dai, J., Zay, K., Price, K., Gilks, C.B., & Churg, A. (1999). Effects of cigarette smoke on nitric oxide synthase expression in the rat lung. *Lab Invest.* 79(8):975-83.
- Wynder, E.L., & Hoffmann, D. (1967). Tobacco and Tobacco Smoke. Academic Press, New York.
- Yokode, M., Kita, T., Arai, H., Kawai, C., Narumiya, S., & Fujiwara, M. (1998). Cholesteryl ester accumulation in macrophages incubated with low density lipoprotein pretreated with cigarette smoke extract. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 85(7):2344-8.

Zhu, B.Q., Sun, Y.P., Sievers, R.E., Glantz, S.A., Parmley, W.W., & Wolfe, C.L. (1994).  
Exposure to environmental tobacco smoke increases myocardial infarct size in rats.  
*Circulation*, 89, 1282–1290.

## Παράρτημα

### Έγγραφο συναίνεσης δοκιμαζόμενου στην ερευνητική εργασία

#### **1.Σκοπός της ερευνητικής εργασίας**

Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνήσει κατά πόσο η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μπορεί να επηρεάσει την αναπνοή και διάφορες ορμόνες και λειτουργίες του σώματος.

#### **2.Διαδικασία μετρήσεων**

Θα κληθείτε να επισκεφθείτε το εργαστήριο του ΤΕΦΑΑ δύο φορές στις 9:30 π.μ. Κατά τη μια από τις δύο επισκέψεις σας θα εκτεθείτε σε παθητικό κάπνισμα σε ένα ειδικά διαμορφωμένο δωμάτιο στο χώρο του ΤΕΦΑΑ. Η συγκέντρωση καπνού θα είναι ανάλογη με τα επίπεδα μπαρ/εστιατορίων και θα επιτευχθεί καίγοντας κανονικά τσιγάρα από διαφορετικές δημοφιλείς εταιρίες. Κατά την άλλη επίσκεψή σας δεν θα εκτεθείτε καθόλου σε παθητικό κάπνισμα. Οι μετρήσεις στις οποίες θα υποβληθείτε θα είναι ίδιες και στις δύο επισκέψεις. Κατά την άφιξή σας αλλά και κατά τη διάρκεια της παραμονής σας στο εργαστήριο, θα υποβληθείτε σε διάφορες πνευμονολογικές μετρήσεις από ιατρικό προσωπικό της πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Σε αυτές τις μετρήσεις θα σας ζητηθεί να εισπνέετε ή να εκπνέετε σε ειδικά πνευμονολογικά μηχανήματα. Επίσης σε τακτά χρονικά διαστήματα οι γιατροί θα σας παίρνουν ένα μικρό δείγμα αίματος το οποίο θα αναλύσουμε για να δούμε τις επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην υγεία σας. Ανάμεσα στις μετρήσεις, θα περιμένετε σε ηρεμία (διαβάζοντας ένα βιβλίο ή περιοδικό) σε ένα ήσυχο δωμάτιο.

#### **3.Κίνδυνοι και ενοχλήσεις**

Οι κίνδυνοι και ενοχλήσεις που σχετίζονται με την έκθεσή σας στο παθητικό κάπνισμα στη μελέτη αυτή είναι ίδιοι με εκείνους που σχετίζονται με την παραμονή σας σε ένα μπαρ ή εστιατόριο στο οποίο επιτρέπεται το κάπνισμα. Οι μετρήσεις αναπνευστικής λειτουργίας είναι απολύτως μη επεμβατικές και ασφαλείς. Η αιμοληψία εμπεριέχει κάποιο κίνδυνο τραυματισμού κάποιας φλέβας. Όμως η πιθανότητα αυτή είναι μικρή, δεδομένου ότι όλες οι αιμοληψίες θα γίνουν από εξειδικευμένο ιατρικό προσωπικό.

#### **4.Προσδοκώμενες ωφέλειες**

Σας δίνεται η δυνατότητα να έχετε μία πλήρη εικόνα της πνευμονικής σας λειτουργίας και των δεικτών που επηρεάζει το παθητικό κάπνισμα. Τέλος θα ενημερωθείτε για τα συμπεράσματα της έρευνάς μας και την τυχόν εφαρμογή τους.

#### **5.Δημοσίευση δεδομένων-αποτελεσμάτων**

Η συμμετοχή σας στην έρευνα συνεπάγεται ότι συμφωνείτε με την δημοσίευση των δεδομένων και των αποτελεσμάτων της, με την προϋπόθεση ότι οι πληροφορίες θα είναι ανώνυμες και δεν θα αποκαλυφθούν τα ονόματα των συμμετεχόντων. Τα δεδομένα που θα συγκεντρωθούν θα κωδικοποιηθούν με αριθμό, ώστε το όνομά σας δεν θα φαίνεται πουθενά.

#### **6.Πληροφορίες**

Μη διστάσετε να κάνετε ερωτήσεις γύρω από το σκοπό, τον τρόπο πραγματοποίησης του πειράματος ή τον τρόπο υπολογισμού των ευρημάτων. Αν έχετε κάποιες αμφιβολίες ή ερωτήσεις, ζητήστε μας να σας δώσουμε πρόσθετες εξηγήσεις.

### **7.Ελευθερία συναίνεσης**

Η άδειά σας να συμμετάσχετε στην εργασία είναι εθελοντική. Είστε ελεύθερος/η να μην συναινέσετε ή να διακόψετε τη συμμετοχή σας όποτε επιθυμείτε.

Διάβασα το έντυπο αυτό και κατανοώ τις διαδικασίες που θα εκτελέσω. Συναινώ να συμμετέχω στην εργασία.

Ημερομηνία: \_\_/\_\_/\_\_

Ονοματεπώνυμο και  
Υπογραφή συμμετέχοντος

Ονοματεπώνυμο και  
Υπογραφή ερευνητή