

SİGARA İÇENLERDE PLAZMA LİPİD PEROKSİDASYONU

Süleyman DEMİR*
Sibel ÖZKURT**
Mehmet KÖSEOĞLU*
Yaşar ENLİ*
Diler ASLAN*
Naciye GÜMÜŞSU*

ÖZET

Sigara içiminin insanlarda yaptığı zarar verici etkiler uzun zamandır vurgulanmaktadır. Bu zarar verici etkinin ortaya çıkmasında serbest radikallerin rolünün olup olmadığı da ilgi çekici bir araştırma konusudur. Sigara içiminin oksidatif etkilerini incelemek için, bu çalışmada serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) ve antioksidan savunmanın bir göstergesi olarak total sülfidril gruplarının plazma konsantrasyonları ölçüldü.

Bu amaçla günde ortalama bir paket ve üzerinde sigara içen, yaşları 24 ile 52 arasında değişen (ortalama 38) 29 kişi çalışma grubuna alındı. Yaşları 24 ile 48 arasında (ortalama 35) olan 18 sağlıklı erkek kontrol grubunu oluşturuyordu.

Kontrol grubunun plazma MDA konsantrasyonu 1.06 ± 0.32 nmol/ml, sigara içenlerde 1.40 ± 0.50 olarak belirlendi. İki grubun MDA düzeyleri arasında $p=0.029$ düzeyinde farklılık saptandı. Total sülfidril grupları ise kontrol grubunda 18.6 ± 2.3 μ md/L, sigara içenlerde 18.3 ± 2.0 μ md/L olarak saptandı ve farklılık anlamlı değildi.

Bu veriler sigara içiminin lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA'yı artırmasıyla oksidatif strese neden olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sigara, malondialdehit, total sülfidril grubu.

* Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, DENİZLİ.

** Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, DENİZLİ.

Yazisma Adresi:

Süleyman Demir, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, DENİZLİ.

SUMMARY

PLAZMA LIPID PEROXIDATION IN SMOKERS

Cigarette smoke is known to contain high concentrations of free radicals and oxidants, and induces oxidative damage. In order to examine the oxidative effect of cigarette smoking, oxidative status was evaluated by measuring the concentrations of plasma malondialdehyde (MDA), a stable end-product of lipid peroxidation and total sulfhydryl groups. For the control group (n=18 males, ages 24-48 with the mean 35), the plasma MDA concentrations and the total sulfhydryl content were found as 1.06 ± 0.32 nmol/ml (mean \pm SD) and 18.6 ± 2.3 mol/L, respectively. For the cigarette smoking group (n=29 males, ages 24-52 with the mean 38), the plasma MDA concentrations and the total sulfhydryl content were found as 1.40 ± 0.50 nmol/ml (mean \pm SD) and 18.3 ± 2.0 mol/L, respectively. It was found a significant difference between the MDA levels of these two groups ($p=0.029$). There was no significant difference between the total sulfhydryl content of both groups. These data show that cigarette smoking increases oxidative stress of plasma.

Key words: Smoking, total sulfhydryl group, malondialdehyde.

GİRİŞ

Sigara içiminin amfizem, akciğer kanseri gelişimi, ateroskleroz ve miyokard infarktüsü gibi akciğerler ve kardiovasküler sistem üzerine bir çok yan etkisi olduğuna dair pek çok epidemiyolojik kanıt vardır (1,2). Sigara aldehydler, fenoller, hidrokarbonlar, nitrik oksit, kinon ve semikinon radikalleri gibi pek çok kimyasal yapıyı barındırır. Bu kimyasal yapılar direkt veya indirekt yollarla oksijen kaynaklı serbest radikal oluşumuna yol açarlar (3). Bu radikaller organizma için önemli bir çok moleküle zarar verirler. Serbest radikallere hedef yapılardan biri hücre zarı lipidleridir. Serbest radikallerinin hücre zarı yapısındaki doymamış yağ asitlerine saldırısı sonucu başlayan lipid peroksidasyonu konjuge dienler ve bazı toksik aldehit ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Bu ürünlerden en bilineni malondialdehittir (3,4). Sigara içiminin sonucu oluşan oksidan stresin plazma antioksidan savunma sisteminde de bazı değişiklikler yapması beklenebilir. Total sülfidril grupları serbest radikallere karşı antioksidan savunmanın önemli bir kısmını oluşturur (5).

Bu çalışmada biz sigara içiminin serbest radikallere bağlı lipid peroksidasyonunun oluşup oluşmadığına

bakmak için plazma malondialdehit ve antioksidan savunma sisteminin bir göstergesi olarak total sülfidril grupları üzerine etkisi olup olmadığını araştırdık.

MATERYAL VE METOD

Denizli ilinde 1999 yılında yapılan bu prospektif çalışmada günde ortalama bir paket ve üzerinde sigara içen, yaşları 24 ile 52 arasında değişen (ortalama 38 yaş) 29 sağlıklı kişi çalışma grubuna alındı. Yaşları 24 ile 48 arasında (ortalama 35 yaş) olan 18 sağlıklı birey kontrol grubunu oluşturuyordu. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan bireyler herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan hastane çalışanlarından oluşuyordu. Hiçbiri vitamin dahil, herhangi bir ilaç almıyordu. Çalışmaya katılan bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek onayları alındı.

Kan örnekleri 12 saatlik açlıktan sonra heparinli tüplere alındı. 3500 g'de 15 dakika santrifüjden sonra plazmaları ayrıldı.

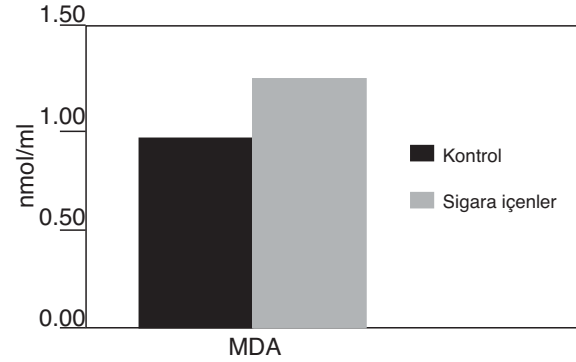
MDA ölçümü MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (6).

0.5 ml plazma üzerine % 8.1 sodyum dodesil sülfat 0.2 ml, pH'sı 3.5 olan % 20 asetik asit 1.5 ml ve % 0.8 tiobarbitürik asit solüsyonu 1.5 ml eklenerek 95 C'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbanası 532 nm'de ölçüldü. Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinden numunedeki MDA miktarı hesaplandı ve nmol/ml olarak ifade edildi.

Total sülfidril grubu sülfidril grupları ile ditiyobisnitrobenzoik asitin (DTNB) reaksiyonu sonucu oluşan rengin 412 nm'de ölçümü temelindeki yöntem ile tayin edildi (7). 0.2 ml plazma 0.6 ml Tris -EDTA tamponu (pH 8.2), 0.04 ml DTNB ve 3,16 ml metanol karıştırılarak 15 dakika 3000 devirde çevrildi, oluşan renk reaktif körüne karşı okundu, GSH ile çizilen standard eğri grafiğinden değerlendirildi. İstatistiksel analiz varyans analizi ile yapıldı.

SONUÇLAR

Kontrol grubunun plazma MDA konsantrasyonu 1.06 ± 0.32 nmol/ml iken sigara içenlerde 1.40 ± 0.50 idi. İki grubun MDA düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli idi ($p=0.029$). Total sülfidril grupları ise kontrol grubunda 18.6 ± 2.3 mol/L iken, sigara içenlerde 18.3 ± 2.0 mol/L olarak değişmedi.



Şekil 1: Kontrol grubu ve sigara içenlerde plazma MDA düzeyleri

TARTIŞMA

Sigara yüksek konsantrasyonda nitrojen oksidler içerir. Esas olarak nitrik oksitten oluşan bu yapılar daha sonra nitrojen dioksit dönüşür. Nitrojen dioksit bir serbest radikaldir. Sigara yalnızca nitrojen oksidleri değil, peroksi radikaller ve gaz fazında mevcut karbon merkezli radikaller ve tar fazında göreceli olarak stabil başka birkaç radikal içerir. Bunlar çeşitli kinon ve hidrokinonlardan kaynaklanan semikinonlardır (5). Bu radikal yapılar lipid peroksidasyon ve protein sülfidril oksidasyonuna neden olarak zar yıkımı ve enzim aktiviteleri değişimine neden olabilir.

Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan plazma MDA düzeyleri sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla daha yüksek bulundu. Bu bulgumuz sigara içenlerde plazma MDA ve konjuge dien miktarının ve solunumla pentan çıkışının artmış olduğunu rapor eden çalışmalarla uyumludur (1,8,9). Bazı çalışmalar ise sigara içimiyle MDA düzeylerinin değişmediğini ileri sürmektedir (10,11).

Bu çalışmada oksijen kaynaklı serbest radikallerin hücre zarında oluşturabileceği lipid peroksidasyonun göstergesi olarak ölçülen MDA düzeylerinin yükselmiş olduğu gözlemlendi. MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girer (12).

Serbest radikaller tarafından zar lipidlerine direkt saldırı reversibl ve irreversibl kardiyak etkilerin oluşumuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucunda, bazıları serbest radikal aktivitesinin göstergeleri olarak kullanılan, birçok ürün oluşur. Lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamalarında dien konjugatlarının oluşumu ile bir moleküler düzenlenme oluşur. İnsanlarda en sık görülen linoleik asitin 9,11 izomeridir. Daha sonraki yayılma

evresinde daha ileri lipid peroksidasyon ve fragmentasyon oluşur. Ortaya çıkan son ürünlerden birisi de malondialdehidir (12).

MDA'nın gösterdiği lipid peroksidasyonunun artmış olması diğer sitotoksik aldehyitlerle birlikte sigaranın zarar verici etkisinden sorumlu olabilir.

Serbest radikal saldırısının diğer bir hedefi, solbl ve proteine bağlı sülfidril gruplarıdır. Sülfidril içeren bileşikler, özellikle indirgenmiş glutatyon serbest radikal hasarına karşı hücreleri korumada önemli rol oynarlar. Sigara içiminin akciğerlerde indirgenmiş glutatyon miktarını azalttığı bildirilmiştir (13). Buna rağmen eritrosit indirgenmiş glutatyon miktarının arttığı (10), ve değişmediği (11,14) şeklinde çalışmalar vardır. Bizim alışmamızda total sülfidril grupları sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre değişmedi. Bu durum bir kompensatuvar mekanizmayı gösterebileceği gibi total antioksidan durumu yansıtma bizi total sülfidril grupları ölümünün sorgulanması gerektiği sonucuna da götürebilir. Bu nedenle antioksidan savunma sisteminde yer alan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik ve indirgenmiş ve okside glutatyon gibi nonenzimatik antioksidanların ölümünün daha değerli olabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak, sigara içiminin lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA'yı arttırmasının sigaranın oksidatif strese neden olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Duthie GG, Artur JR, Beattie JAG, Brown KM, Morrice PC, Robertson JD, Shortt CT, Walker KA, James WPT. Cigarette smoking, antioxidants, lipid peroxidation, and coroner heart disease. *Ann NY Acad Sci* 1993; 686: 120-129.
2. Petro R. Smoking and death: the past 40 years and the next 40. *Br Med J* 1994; 309: 937-939.
3. Church DF, Prior WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 64: 111-126.
4. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. *Biochem J* 1991; 277: 133-138.
5. Ryrfeldt A, Bannenberg G, Moldeus P. Free radicals and lung disease. *British Med Bull* 1993; 49(3): 588-603.
6. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
7. Joshi PG, Joshi K, Joshi NB. Effect of hematoporphyrin derivates and light on sulfhydryl groups in brain tumour cells. *Indian J Exp Biol* 1995; 33(10): 721-724.
8. Nadiger HA, Mathew CA, Sadasivudu B. Serum malondialdehyde (TBA reactive substance) levels in cigarette smokers. *Atherosclerosis* 1987; 64: 71-73.
9. Hoshino, E. , R. Shariff, A. Von Gossum, J. P. Allard. Vitamin E supresses increased lipid peroxidation in cigarette smokers. *J Parenter Enterol Nutr* 1990; 14: 300-5.
10. Duthie GG, Artur JR, James WPT, Vint HM. Antioxidant status of smokers and nonsmokers. Effect of vitamin E supplementation. *Ann NY Acad Sci* 1989; 570: 435-438.
11. Duthie GG, Artur JR, James WPT. Effects of smoking and vit. E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 1991;53(4 suppl): 1061-1063.
12. Holley AE, Cheeseman KH. Measuring free radical reactions in vitro. 1993; 49(3): 494-505.
13. Cotgreave IA, Johansson U, Moldeus P, Brattsand R. The effect of acute cigarette smoke inhalation on pulmonary and systemic cysteine and glutathione redox states in the rat. *Toxicology* 1987; 45: 203-212.
14. Jendryczko A, Szpyrka G, Gruszczynski J, Korowicz M. Cigarette smoke exposure of school children: Effect of passive smoking and vitamin E supplementation on blood antioxidant status. *Neoplasma* 1993; 40(3): 199-203.