

Unstable Angina Pektoriste Oksidatif Hasar ve Antioksidan Durum

Y. Doç. Dr. Ömer ÇOLAK, Y. Doç. Dr. Özkan ALATAŞ, Doç. Dr. Necmi ATA*,
Doç. Dr. Ahmet ÜNALIR*, Prof. Dr. Mine İNAL
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Kardiyoloji* Anabilim Dalları, Eskişehir

ÖZET

Unstable angina pektoris (UAP) oksidatif hasarın olup olmadığını belirlemek amacıyla bu çalışma yapıldı. UAP'li 32 hastada oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilen malondialdehid (MDA) ve antioksidan durumu belirlemek için redükte glutatyon (GSH) ve katalaz enzimleri ölçüldü. Hastalardan ağrı başlangıcı, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte kanlar alındı. Hücrelerde oksidatif hasara bağlı olarak oluşan lipid peroksidasyonu nedeniyle MDA düzeylerinde ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte istatistiksel olarak önemli artış gözlemlendi ($p<0.05$, $p<0.001$ sırasıyla). Eritrosit GSH düzeyleri ise ağrı başlangıcı ile karşılaştırıldığında, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte önemli oranda azalmıştı ($p<0.01$). Katalaz aktivitesinde ise ağrı başlangıcı ile ağrı sonu ve 1.ci saatler arasında önemli bir değişiklik bulunmadı.

UAP'li hastalarda miyokarda iskemi, hipoksi ve reperfüzyon oluştuğunda hücresel hasarın göstergesi olan lipid peroksidasyonu artmakta ve antioksidan savunma sistemi zayıflamaktadır. Bu sonuçlar UAP'li hastalarda oksidatif hasarın oluştuğunu gösteren bulgular olarak kabul edilebilir.

Anahtar kelimeler: Unstable angina pektoris, lipid peroksidasyonu, redükte glutatyon, katalaz

Unstable angina pektoris (UAP), ateromatöz plakların yarılmaması veya rüptürüne sekonder olarak trombosit agregasyonu ve koroner trombozise bağlı klinik olarak heterojen bir hastalıktır (1-3). UAP'li hastalarda vasküler düz kasların tonüsündeki artışa pek çok faktör yol açmakta ve iskemi sonucunun boyutlarını artırabilmektedir. Koroner atheromlu hastalarda endotel fonksiyonlarının yetersizliği, endotelden türeyen vazodilatör faktör ve prostasiklin gibi dilatör maddelerin lokal kaybının sonucudur (4). Endotelden türeyen vazodilatör faktörde ve prostasiklindeki azalma trombosit agregasyonunun artışına ve lokal vazokonstriksiyona yol açabilir (5).

Alındığı tarih: 16 Aralık 1995, revizyon 14 Şubat 1996
Yazışma adresi: Dr. Ömer Çolak, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir-26480
Tel: (222) 239 29 79/4036

Miyokard iskemisini takiben reperfüzyon, miyokard infarktüsülü hastaların trombolitik tedavisinde, vazospastik anjinalı hastalarda, koroner anjiyoplasti ve kardiyopulmoner by-pass sonrası oluşmaktadır (6). Miyokardın reperfüzyonunda ortaya çıkan reaktif oksijen türleri membran doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu yolu ile hücre membranlarında hasara yol açabilmektedir. UAP'de lipid peroksidasyonunun ateroskleroz gelişiminde de önemli olabileceği çeşitli çalışmalarda ileri sürülmektedir (7,8).

Bu çalışma, sık miyokard iskemisi ile karşılaşan hastalarda, özellikle göğüs ağrısı sırasında ve sonunda oksidatif hasarın olup olmadığını belirlemek için yapıldı. Bu amaçla UAP'li hastalarda oksidatif durumun indirekt göstergeleri incelendi. Oksidatif değişikliklerin bir indeksi olarak plazma malondialdehid (MDA) düzeyleri, antioksidan durumun göstergesi olarak da eritrosit redükte glutatyon (GSH) düzeyi ve katalaz aktivitesi ölçüldü.

MATERYAL ve METODLAR

Bu çalışmada UAP tanısıyla yoğun bakım ünitesine yatırılan 23'ü erkek, 9'u kadın toplam 32 olgu incelendi. Olguların yaş ortalaması 57 ± 2 yıl idi. İstirahat veya minimal efor ile oluşan angina, stabil angina pektorisli hastada şiddetli, uzamış veya sık angina oluşması, EKG'de ST çökmesi veya T negatifliği olan hastalar UAP olarak kabul edildiler. Anemi, enjeksiyon, ateş, tirotoksikoz, hipoksi ve benzeri nedenlere bağlı UAP olgularıyla, iki hafta içinde miyokard infarktüsü geçirdiği belirlenen olgular çalışma dışı tutuldu. Hastalara hakkındaki bilgiler yaş, cinsiyet, obezite, sigara içme öyküsü, hiperkolesterolemi, miyokard infarktüsü öyküsü, ağrı süresi, EKG değişikliği bulguları Tablo 1'de verilmiştir. Koroner yoğun bakım ünitesine yatırılarak çalışmaya alınan olguların tümüne aspirin, heparin ve oral isosorbiddinitrat başlandı.

Kan örnekleri antekübital venden ağrı başlangıcında, ağrı bitiminden hemen sonra ve 1 saat sonra alındı ve heparinli tüplere konuldu. Kan örnekleri 2.000xg, 4°C'de 10 dk sentrifüjlenerek plazmaları ayrıldı (Hermle ZK 510). Eritrositler serum fizyolojiklerle üç kez yıkandı. Eritrositler ve plazma bir ay içinde çalılıncaya kadar -20°C'de korundu.

Lipid Peroksit Düzeyi: Plazma lipid peroksit düzeyleri Ohkawa ve ark.nın yöntemi uygulanarak belirlendi (9). Lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan malondialdehid (MDA) % 0.8'lik tiyobarbiturik asit solusyonu ile belirlendi. 1.1.3.3'-tetraetoksipropan standart olarak kullanıldı.

Redükte Glutatyon Ölçümü: GSH düzeyleri tam kanda Beutler'in yöntemine göre ölçüldü (10). Sonuçlar mg/dl eritrosit olarak verildi.

Katalaz: Katalaz aktivitesi de Beutler'in yöntemi ile belirlendi (11). Yöntem hidrojen peroksitin suya dönüşümü ve hidrojen peroksitin redüksiyonunun 230 nm de takibine dayanır.

Eritrositlerin hemoglobin konsantrasyonu siyanmethemoglobin yöntemi ile ölçüldü. Katalaz aktivitesi U/g Hb olarak verildi. Bütün spektrofotometrik ölçümlerde Shimadzu-1201 spektrofotometre kullanıldı.

İstatistiksel analizler Student's testi ile yapıldı.

BULGULAR

Hastalarla ilgili klinik bulgular Tablo 1'de verilmiştir. UAP'li hastaların ağrı başlangıcı, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saat MDA, GSH düzeyleri ve katalaz aktiviteleri de Tablo 2'de verilmiştir.

Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA düzeyleri UAP'li hastalarda ağrı başlangıcına göre, ağrı sonunda önemli artış gösterdi (3.55±0.99,4.29±1.53 nmol/ml sırasıyla,p<0.05). Ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu 1.ci saatte artış devam ediyordu (p<0.001). Ağrı sonu karşılaştırıldığında, ağrı sonu 1.ci saatte MDA düzeyinde artış gözlenmesine rağmen istatistiksel farklılık bulunmadı (p>0.05).

Tablo 1. Hastaların klinik özellikleri

n	32
Yaş (Ortalama)	56
Kadın/Erkek	9/23
Hipertansiyon	14
Sigara Öyküsü	22
Hiperkolesterolemi	16
Obezite	13
Miyokard infarkt. öyküsü	19
Stress	11
Ağrı Süresi	15-30 dk.
Ağrıda EKG değişikliği	15

Tablo 2. UAP'li hastaların ağrı başlangıcı, ağrı sonu ve ağrı sonu 1. saat MDA- GSH ve Katalaz değerleri

	Ağrı Başlangıcı	Ağrı sonu	Ağrı sonu 1. saat
MDA (nmol/ml)	3.53±0.99	4.29±1.53 ^a	4.85±1.51 ^b
GSH (mg/dl eritrosit)	61.64±8.75	54.99±7.95 ^c	55.27±8.33 ^c
Katalaz (U/g Hb)	955±309	932±250	972±326

^a: p<0.05 Ağrı başlangıcına göre

^b: p<0.001 Ağrı başlangıcına göre

^c: p<0.01 Ağrı başlangıcına göre

GSH düzeylerinde ağrı başlangıcına göre ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte önemli oranda azalma gözlemlendi (61.64±8.75, 54.99±7.95 ve 55.27±8.33 mg/dl eritrosit sırasıyla, p<0.01). Ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saat arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdi (p>0.05).

Ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saat katalaz aktiviteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu (p>0.05).

TARTIŞMA

Aterosklerotik plakların oluşumu ve iskemi süresince oluşan miyokard hasarı patogenezinde reaktif oksijen türleri sorumlu tutulmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz üretimi ve hücrelerden uzaklaştırılmasındaki yetersizlik hücre membranlarında lipid peroksidasyonu ile sonuçlanmaktadır. Arteriyel lezyonlara iskemi, hipoksi ve reperfüzyon eşlik ettiğinde hücre hasarın göstergesi olan lipid peroksidasyonunda artış gözlenmektedir. Bu kavram son zamanlarda aterosklerozun patogenezinde ve hücre hasarın oluşmasında majör bir faktör olarak belirtilmektedir (7,12,13).

UAP'de yapılan çalışmalarda kontrollere göre lipid peroksidasyonunda artış ve antioksidan savunma mekanizmalarında yetersizlik bulunmasına rağmen, iskemiye bağlı oluşan ağrı süresince ve yeterli kan akımının sağlandığı ağrı sonunda oluşan durum tam olarak incelenmemiştir (12-14). Bu çalışmada UAP'li hastalarda ağrı başlangıcı, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte lipid peroksidasyonunu inceledik. Ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte

MDA düzeyleri önemli oranda artmış bulundu ($p<0.05$, $p<0.001$ sırasıyla, Tablo 2). Yapılan deneysel çalışmalarda maksimum reaktif oksijen türleri oluşumunun iskemik miyokardiuma kan akımının sağlanışının ilk birkaç dakikası içinde maksimum düzeyde olduğu gösterilmiştir (15,16). İskemi-reperfüzyonu takiben reaktif oksijen türlerindeki artışın endotelial hücrelerde lipid peoksidasyonunu artırdığı ve aterosklerotik plaklarda lipid peroksitlerin bulunduğuna bilinmektedir (15,17).

Glutasyon peroksidazın substratı olan GSH, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı hücreyi korur ve membran lipidlerinin peroksidasyonunu önler (18). Çalışmamızda UAP'de GSH düzeylerinde ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu ve ağrı sonu 1.ci saatte önemli azalma gözleddik (Tablo 2). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda intrasellüler GSH düzeylerinin artırılmasının, lipid peroksidasyonunun azaltılmasına yararlı etkileri olduğu ve hücrel hasarı azalttığı gözlenmiştir (18,19). Katalaz aktivitesinde ağrı başlangıcına göre, ağrı sonu ve 1.ci saatte önemli bir değişiklik gözlenmedi (Tablo 2). Bu myositlerde katalaz aktivitesinin düşük olmasına ve hidrojen peroksitin glutasyon peroksidaz enzimi ile de hücrelerden uzaklaştırılmasına bağlı olabilir (20).

UAP'li hastalarda koroner arterlerdeki lezyonlara bağlı olarak iskemik, hipoksi ve reperfüzyon oluştuğunda hücrel hasarı gösteren lipid peroksidasyonu artmakta ve antioksidan savunma sistemi zayıflamaktadır. Aterosklerotik kalp hastalıklarında görülen tekrarlayan iskemik ve reperfüzyonlar sonucu doku hasarı, aritmi ve miyokard kasının kasılmasının basılanması gibi komplikasyonlar gözlenebilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bashour TT: Current concepts in unstable myocardial ischemia. *Am Heart J* 1987; 115: 850-861.
2. Sherman CT, Litvack F, Grundfest W, et al: Coronary angiography in patients with unstable angina pectoris. *N Engl J Med* 1986; 315: 913-919.
3. Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, et al: Platelet aggregation in unstable coronary disease. *N Engl J Med* 1986; 315: 983-989.
4. Farstermann U, Mugge A, alheid U, Haverich A, Frolich J: Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988; 62: 185-190.
5. Chester AH, O'Neil GS, Moncada S, Tadjkarimi S,

Yacoub MH: Low basal and stimulated release of nitric oxide in atherosclerotic epicardial coronary arteries. *Lancet* 1990; 336: 897-900.

6. Curello S, Ceconi C, Medici D, Ferrari R: Oxidative stress during myocardial ischaemia and reperfusion; experimental and clinical evidences. *J Appl Cardiol* 1986; 1: 311-327.
7. Oen LH, Utomo H, Suyatna F, Hanafiah A, Asikin N: Plasma lipid peroxides in coronary heart disease. *Int J Clin Pharm Therapy Toxic* 1992; 30: 77-80.
8. Salem YH, Dulchavsky SA, Dutta S, Diebel LN: Effect of inhibition of lipid peroxides on myocardial oxidant damage. *J Surg Res* 1994; 56: 606-610.
9. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxidation in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
10. Beutler E, Robson MJ, Bittenweiser E: The glutathione instability of drug sensitive red cells. *J Lab Clin Med* 1957; 49: 84-95.
11. Beutler E: Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. New York, Grune & Stratton, 1973. p. 74-75.
12. Loeper J, Goy J, Rosenstajn L, Bedu O, Moisson P: Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 119-126.
13. Jayakumari N, Ambikakumari V, Balakrishnan KG, Iyer KS: Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal syndromes. *Atherosclerosis* 1992; 94: 183-190.
14. Mc Murray J, Chopra M, Abdullah I, Smith WE, Dargie HJ: Evidence of oxidative stress in chronic heart failure in humans. *Eur Heart J* 1993; 14: 1493-1498.
15. Young IS, Purvis JA, Lightbody JH, Adgey AAJ, Trimble ER: Lipid peroxidation and antioxidant status following thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *E Heart J* 1993; 14: 1027-1033.
16. Zwiler JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML: Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad* 1987; 84: 1404-1407.
17. Ledwazw A, Michalak J, Stepien A, Kadziolka A: The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986; 155: 275-284.
18. Curello S, Ceconi C, Cargoni A, Ferrari R, Albertini A: Improved procedure for determining glutathione plasma as an index of myocardial oxidative stress. *Clin Chem* 1987; 33: 1448-1449.
19. Le CT, Hollaar L, Van der Valk EJM, Laarse A: Effects of glucose, Trolox-C and glutathione disulphide on lipid peroxidation and cell death induced by oxidant stress in rat heart. *Card Res* 1992; 26: 133-142.
20. Dubois-Rande JL, Artigou JY, Darmon JY, et al: Oxidative stress in patients with unstable angina. *Eur Heart J* 1994; 15: 179-183.