

Bronşiyal Astımlı Hastalarda Antioksidan Enzim ve Melatonin Düzeylerinin Araştırılması*

Mehmet Akdoğan**, Fatih Gültekin**, Süleyman Kaleli***, Ahmet Koyu****, Mehmet Gençgönül****

Özet: Bu çalışmada bronşiyal astımlı hastaların ve kontrol grubunun eritrositlerinde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), plazma glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ve plazma melatonin düzeyleri incelendi. Bronşiyal astımlı hastalarda eritrosit SOD ($t=-2.19$, $p=0.013$) ve GSH-Px ($t=-2.53$, $p=0.015$) aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken diğer sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Diğer taraftan hasta grubunun melatonin ve GSH-Px düzeyleri arasında pozitif bir ilişki ($r=0.5721$, $p=0.0036$) bulundu. Bronşiyal astımlı hastaların eritrosit SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerindeki azalmanın gelişen antioksidan yanıtın bir göstergesi olduğu kanatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bronşiyal Astım, Eritrosit Süperoksit Dismutaz, Glutatyon Peroksidaz, Plazma Glutatyon Redüktaz, Katalaz, Melatonin

Günümüzde oksidan ve antioksidanlardaki değişiklikler erişkinin sıkıntılı solunum sendromu (ARDS), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım ve interstisyel pulmoner fibrozis içeren çeşitli akciğer hastalıklarının oluşumunda asıl neden olarak görülmektedir. Bir çok koşul akciğerlerin oksidanlara aşırı derecede maruz kalmalarına yol açabilmektedir. Akciğerler, diğer organlardan farklı olarak kirli havada ve sigara kullanımında solunumla direkt olarak oksidanlarla karşılaşmaktadır. Akciğerler havadaki mikroorganizmalara maruzdur ve sistemik enfeksiyöz olaylar için hedefdir. Hemen bütün akciğer hastalıkları, pulmoner enfeksiyonlara karşı artmış eğilimle karakterizedir. Enfeksiyonlar oksijen radikali üreten ve ekstrasellüler ortama salan çeşitli fagositik hücreleri ortama çeker ve aktive ederler. Akciğerler bütün kardiyak kan akımını alırlar ve dolayısıyla kan kaynaklı oksidanlara da maruz kalırlar.

Nihayet yüksek oksijen konsantrasyonlarıyla mekanik ventilasyon gerektiren ciddi akciğer patolojilerinde artmış oksijen radikali oluşumu ilave doku harabiyeti oluşturur. Bunlar ve diğer gözlemler akciğerlerin oksidatif yaralanmaları için çok büyük potansiyele işaret etmektedir.

Oksijen radikallerinin direkt ölçümü ile oksidatif stresin derecesini kantitatif olarak ölçmek güç olmasına rağmen, artmış oksidan stresin pulmoner hastalıkların patogenezindeki rolüne ait kanıtlar giderek artmaktadır.

Pulmoner antioksidan durum, özellikle akciğerlerin intrasellüler antioksidan enzim kapasiteleri çok büyük öneme sahiptir. Ayrıca akciğer hastalığı olan insanlarda farmakolojik ajan olarak antioksidan kullanımı ile ilgili deneyimler çok sınırlıdır. Bu bilgilerin ışığı altında gerçekleştirilen çalışmada bronşiyal astımlı olgularda oksidan stresin rolünü araştırmak üzere antioksidan enzim düzeyindeki değişiklikler incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada kontrol gurubu olarak hiç bir fiziksel şikayeti olmayan sağlıklı hasta yakınlarından 16-64 yaşları arasında 14 erkek, 11 kadına ait toplam 25 kan örneği alınmıştır. Hasta gurubunu, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğinde tedavi gören 19-23 yaşları arasında 15 erkek, 10 kadın toplam 25 astımlı hasta oluşturmuştur. Tüm olgulardan sabah saat 9³⁰ da aç karnına EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri derhal santrifüj edilip plazmaları ayrıldıktan sonra kalıntı üç kez soğuk %0.9 NaCl çözeltisi ile yıkanarak eritrositler ayrılmıştır. Eritrosit paketinden hemoglobin tayin edilmiştir. Eritrosit paketi 1:5 oranında soğuk bidistile su ile hemoliz edilmiş ve elde edilen hemolizatlardan aynı gün içinde analizleri yapılmıştır. Eritrosit hemolizatlarından Randox marka ticari kit kullanılarak SOD (Süperoksit dismutaz) analizi

* 18-21/5/1998 tarihinde Kayseri'de "16.Gevher Nesibe Tıp Günleri"nde poster olarak sunulmuştur.

**SDÜ Tıp Fak. Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD, Isparta

***SDÜ Sağlık Yüksekokulu, Isparta

****SDÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD, Isparta

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Mehmet AKDOĞAN
SDÜ Tıp Fak. Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD,
ISPARTA

için Williams ve ark.'nın (1) yöntemi, Randox marka ticari kit kullanılarak GSH-Px (Gulutasyon peroksidaz) için Paglia ve Valentine'rin (2) yöntemi , plazmada ise Randox marka ticari kit kullanılarak GR (Glutasyon redüktaz) analizi için Goldberg'in (3) yöntemi, CAT (Katalaz) analizi için Goth'un (4) spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır. Plazma melatonin düzeyi DPC firmasının Arendt'in (5) yöntemi ile bakılmıştır.

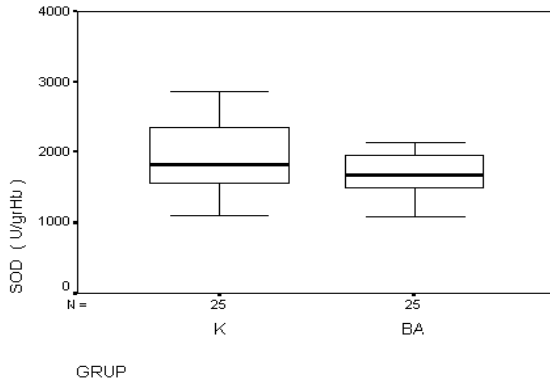
Bulgular

Bronşiyal astımlı (BA) hastaların (yaş ortalamaları 40.44 ± 12.61 yıl) sırasıyla eritrosit SOD, GSH-Px, plazma GR, CAT, melatonin düzeyleri 1662.96 ± 316.80 U/grHb, 23.65 ± 4.51 U/grHb, 64.56 ± 14.82 U/L, 50.89 ± 17.89 kU/L, 44.90 ± 7.03 pg/ml, kontrol grubunda (yaş

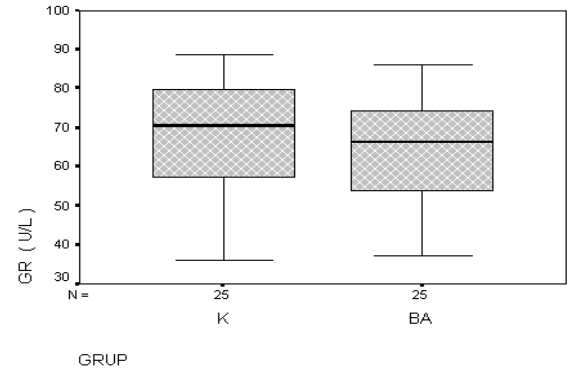
ortalamaları 37.04 ± 12.73 yıl) ise yine sırayla 1932.28 ± 479.33 , 28.31 ± 8.02 , 66.65 ± 14.64 , 53.88 ± 18.33 , 47.03 ± 6.13 olarak bulundu. Yapılan student's t testi analizinde bronşiyal astımlı hastaların eritrosit SOD ($t=-2.19$, $p=0.013$), GSH-Px ($t=-2.53$, $p=0.015$) düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Bronşiyal astımlı hastaların plazma GR ($t=-0.62$, $p=0.536$), CAT ($t=-0.58$, $p=0.564$) ve melatonin ($t=-1.10$, $p=0.275$) düzeylerinin kontrol grubuna göre düştüğü fakat bu düşüşün anlamlı olmadığı saptandı. Diğer taraftan bronşiyal astımlı hastaların melatonin ve GSH-Px düzeyleri arasında pozitif bir ilişki ($r=0.5721$, $p=0.0036$) bulundu. Tablo I ve şekil 1-5' te grupların karşılaştırılması gösterilmiştir.

Tablo I. Bronşiyal astım ile kontrol grubunun karşılaştırılması

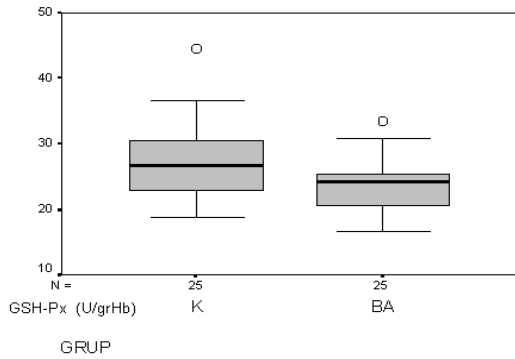
	SOD U/gr Hb	GSH-Px U/gr Hb	GR U/L	CAT kU/L	Melatonin pg/ml
BA	1662 ± 316.80	23.65 ± 4.51	64.56 ± 14.82	50.89 ± 17.89	44.90 ± 7.03
K	1932.28 ± 479.33	28.31 ± 8.02	66.65 ± 14.64	53.88 ± 18.33	47.03 ± 6.13
t	-2.19	-2.53	-0.62	-0.58	-1.10
p	0.033	0.015	0.536	0.564	0.275



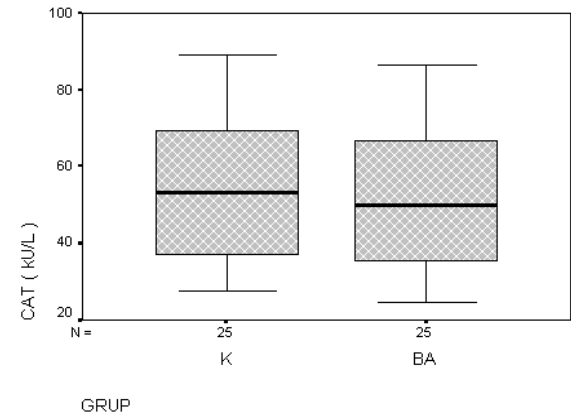
Şekil 1. Her iki grupta eritrosit SOD aktivite düzeyleri.



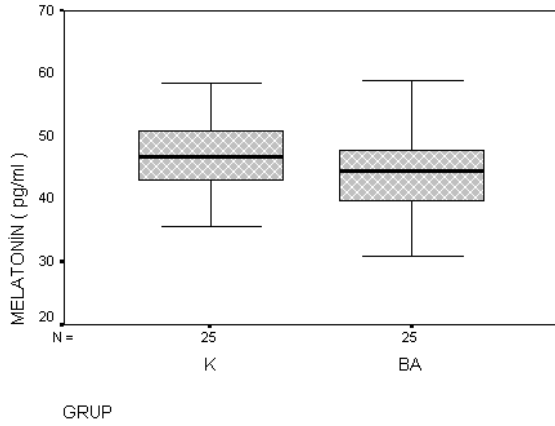
Şekil 3. Her iki grupta serum GR aktivite düzeyleri.



Şekil 2. Her iki grupta eritrosit GSH-Px aktivite düzeyleri.



Şekil 4. Her iki grupta serum CAT aktivite düzeyleri.



Şekil 5. Her iki grupta serum melatonin düzeyleri.

Tartışma

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin ARDS, KOAH ve bronşiyal astım gibi birçok akciğer hastalıklarının patogenezinde rol aldıkları, astımın önemli özellikleri olan epitelyal hasar ve mukus sekresyonuna sebep oldukları araştırmacıların ilgisini çekmiştir (6-8). Bu amaçla çalışmamızda bronşiyal astımda oksidan stresin rolünü araştırmak üzere eritrositte SOD, GSH-Px, plazmada GR, CAT enzim aktivitesi ve melatonin düzeyindeki değişiklikler incelenmiştir.

Powell ve ark.(9) astmatik çocuklarda eritrosit SOD, GSH-Px aktivitelerinde GSH-Px kontrol grubuna göre çok anlamlı bir düşüş ile, SOD aktivitelerinde anlamlı bir farklılık bulmazlarken, Bobby ve ark (10), yetişkin astmatiklerin polimorf nüveli lökositlerinde CuZnSOD, MnSOD aktiviteleri tayin etmiş, özellikle MnSOD'nin kontrol grubuna göre önemli derecede düştüğünü CuZnSOD aktivitelerinde ise anlamlı bir farklılık olmadığını bulmuşlardır.

Danis Malvy ve ark.(11) astımlı çocuklarda eritrosit GSH-Px düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli bir düşüş bulmuşlardır. Biz çalışmamızda bronşiyal astımda eritrosit SOD (p=0.033) ve GSH-Px (p=0.015) düzeylerini kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulduk. Eritrosit GSH-Px düzeyleri Powell ve ark., Danis Malvy ve ark.'nın çalışmalarıyla uyumlu iken Powell ve ark.'nın eritrosit SOD düzeyi ile uyum sağlamamıştır.

Bronşiyal astımlı hastalarla ilgili olarak plazma GR ve CAT aktiviteleri ile ilgili bir çalışmaya rastlayamadık. Biz çalışmamızda bronşiyal astımlı hastaların plazma GR ve CAT aktivitelerinin kontrol grubunun aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık.

Çalışmamızda bronşiyal astımlı hastaların eritrosit SOD, GSH-Px, plazma GR ve CAT enzim aktivitelerindeki bu azalma reaksiyon ürünlerinin enzimleri inhibe etmesiyle ortaya çıkmış olabilir. Fazla miktarda üretilen süperoksit radikali GSH-Px ve CAT aktivitelerini inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu inhibisyon H₂O₂ birikimine sebep olduğundan H₂O₂'nde SOD'yi inhibe ettiğini düşünüyoruz. Nitekim araştırmacılar bronşiyal astımlı hastalardaki eritrosit SOD, GSH-Px, plazma GR ve CAT aktivitelerinde düşüş kaydedilmiş olmasının biriken H₂O₂ inhibisyonu ile ilgili olduğunu ve inhibe olan enzimler daha kolay proteolize uğradığından seviyelerinde azalma olabileceğini ileri sürmüşlerdir (12,13).

Melatonin çok güçlü ve etkili bir endojen hidroksil radikali ve lipit peroksidasyonu süresince oluşturulan peroksit radikali toplayıcısıdır (14,15). Ayrıca melatonin GSH-Px'i stimüle ettiğini göstermişlerdir. GSH-Px aktivitesinin stimülasyon yeteneğinden dolayı antioksidatif koruma sisteminin bir elemanı gibi düşünülmüştür (16,17,18). Melatonin uygulanması hasara uğrayan hücrelerin yüzdesini, porfirin sentezini ve aminolevulinat sentaz (ALA-S) mRNA düzeyini azaltırken aynı zamanda MnSOD ve CuZnSOD sentezi için gereken mRNA sentezini artırdığını, melatoninin bu etkisi ile sitoprotektif etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (19).

Bronşiyal astımlı hastalarda melatonin düzeyi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda bronşiyal astımlı hastaların kontrol grubuna göre melatonin düzeyleri arasında önemli bir fark bulunamadı (p=0.275).

Akciğer hastalıklarının çoğunda serbest radikaller önemli rol oynamaktadır. Bu hastalıkların başında astım bronşit gelmektedir. Gelecekte serbest radikal toplayıcılarının özellikle melatonin akciğer hastalıklarının patogenezi ile ilgisinin daha önemle araştırılması, belki de tedaviye girmesi söz konusu olabilecektir. Antioksidan durum üzerine hastalığın şiddeti ve tedavinin etkisi hakkında daha çok çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Investigation of Antioksidan Enzymes Activities and Melatonin Levels in Asthmatic Patients

Abstract: In this study, activities of certain enzymes such as erythrocyte Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px), plasmic Glutathione Reductase (GR) and Catalase were examined and compared between asthmatic patients and normal individuals. Plasma levels of Melatonin

were also examined and compared. Among all these measurements, activities of erythrocyte enzymes SOD and GSH-Px were found significantly different. Activities of these enzymes were significantly lower in patient with bronchial asthma than Control Group with ($t=-2.19$, $p=0.013$) and ($t=-2.53$, $p=0.015$) respectively. On the other hand, positive correlation were found between plasma melatonin rates and erythrocyte GSH-Px activities of asthmatic patients ($r=0.5721$, $p=0.0036$). Anti-oxidant response that have been developed against the pathologies involved asthma bronchiale may account for the impairment in activities of the enzymes mentioned above.

Key words: Asthma Bronchiale, Erythrocyte Süperoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase, Plasma Glutathione Reductase and Catalase and Melatonin.

Kaynaklar

- Williams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH: Res Vet Sci 34: 253-256, 1983.
- Palia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 70: 158-169, 1967.
- Goldberg DM, Spooner RJ: Methods of enzymatic analysis (Bergmeyer, HV. Ed.) 3. Edn. Vol 3, Verlag Chemie, Deerfield Beach, FL, 1983, pp: 258-265.
- Goth L: A simple method for determination of serum catalase activity and revision of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta 196:143-152, 1991.
- Arendt J, Paunier L, Sizonenko PC: Melatonin radioimmuno assay. J Clin Endoc Metab 40:347-350, 1975.
- Owen S, Pearson DJ, Soares-Mendez VJ, O'Driscoll R, Woodcock A: Evidence of free-radical activity in asthma. N Engl J Med 325: 586-587, 1991.
- Novak Z, Nemeth I, Gryorkoits K, Varga Szl, Matskovcs B: Examination of the role of oxygen free radicals in bronchial asthma in childhood. Clin Chim Acta 201:147-152, 1991.
- Kuratsuji T, Shinomiya N: Superoxide and superoxide dismutase in bronchial asthma. Acta Ped 29:680-685, 1987.
- Powell CV, Nash AA, Powers HJ, Primhale RA: Antioxidant status in asthma. Pediat Pulmonology 18(1): 34-38, 1994 .
- Bobby Z, Joseph JM, Borish R, Borish L: Activities of superoxide dismutases and NADPH oxidase in neutrophils obtained from asthmatic and normal donors. Inflammation 17(3): 361-369, 1993.
- Denis Malvy JM, Lebranchu Y, Richard MJ, Arnaud J, Favier A: Oxidative metabolism and severe asthma in children (Letter to the editor). Clin Chim Acta 218:117-120, 1993.
- Singh I, Gulati S, Orak JK, Singh AK: Expression of antioxidant enzymes in rat kidney during ischemia-reperfusion injury. Mol end Cell Biochem 125: 97-104, 1993.
- Hodgson EK, Fridovich I: The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: Inactivation of the enzyme. Biochem 14: 5294-5299, 1975.
- Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DY, Chen LD, Manchester LC: Melatonin hydroxyl radical-mediated oxidative damage and aging: a hypothesis. J Pineal Res 14(4):151-168, 1993.
- Kancheva RL, Zofkava I: Melatonin: The hormone of darkness. Review Czech Lasopis Lekarů Ceskych 17: 135(8): 231-235, 1996.
- Reiter RJ: Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation. Front Neuroendocrin 16(4): 383-415, 1995.
- Pablos MI, Agapito MT, Gutierrez R, Recio JM, Reiter RJ, Barloj-Welden L, Acuna-Castroviejo D, Menendez-Plaza A: Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase in several tissues of chickens. J Pineal Res 19(3):11-15, 1995.
- Reiter RJ: Interactions of free radicals: a brief review. Brazilian J Med Biol Res 26:1141-1155, 1993.
- Antolin I, Rodriguez C, Sainz R: Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. FASEB J 884(10): 882-890, 1996.