

Çinkonun Aterojenezise Etkisi

Gülşen ÖNER
Naci M. BOR
Abdurrahman ŞERMET
Aysel AĞAR
Ruknettin TANALP

THE EFFECT OF ZINC ON ATHEROGENESIS

Hacettepe O. Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi
ve Akdeniz O. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Geliş Tarihi: 30 Eylül 1984

ÖZET

İçme suyundaki çinkonun literatürde ileri sürüldüğü gibi koroner riski arttırıcı etkisi olup olmadığını araştırmak amacı ile yapılan bu çalışmada, kolesterolden zengin diyetle bir ay beslenen sıçanların plasma total kolesterolü $67,62 \pm 17,9$ mg/dl'den $241,93 \pm 23,3$ mg/dl'ye çıktı. Aterojenik risk $217 \pm 0,39$ 'dan $5,34 \pm 0,60$ ($p < 0,01$) yükseldi. İçme suyuna 50 ppm çinko ilavesi serum kolesterolünde anlamsız fakat HDL-K miktarında çok önemli artışa neden olurken aorta duvarındaki kolesterol birikimini değiştirmedir. Böylece çinkodan zengin yumuşak suların ilave uterojenik etkisi olmadığı vurgulandı.

An.ılı.ır kı lirimlet: AteroskleroK, çinko, antirisk faktör, serum kolesterol

TKİ Tıp BU Araşt Dergisi C.3, S.1, 1985, 25-28

Koroner arter hastalığı ile serum Low Density Lipoprotein Kolesterolü (LDL-K) arasında pozitif (10, 11, 19), High Density Lipoprotein Kolesterolü (HDL-K) arasında negatif (4, 21) ilişkinin varlığı bu konu ile ilgilenenleri, serum LDL-K azaltıcı, HDL-K arttırıcı ve yan etkisi az ideal maddeleri aramaya yöneltmiştir (7, 8, 9).

Bu nedenle çinko ile lipid metabolizması arasındaki ilişkiye dikkati çeken yayınların sayısı da giderek artmaktadır. Bu konudaki bilgilerin pek çoğu deneysel çalışmaların ürünü olmasına karşın sonuçlar çelişkilidir. Koroner kalp hastalığının çinko-bakır oranının bozulması ile ilgisi olduğunu ileri süren Klevay (13)'e göre Zn-Cu oranının artması sarum total kolesterolünde yükselişe neden olmaktadır. Çinkodan zengin yumuşak su içilen bölgelerde koroner

SUMMARY

In order to investigate the effects of zinc in drinking water on atherogenesis, this experimental study was conducted on male rats fed high cholesterol diet for one month.

High cholesterol feeding produced a significant increase in plasma total cholesterol levels ($p < 0.001$) and the atherogenic risk increased from 2.17 ± 0.13 to 5.34 ± 0.6 ($p < 0.001$) after cholesterol feeding.

Addition of 50 ppm of zinc to drinking water in hypercholesterolemic rats for 30 days caused a marked increase in plasma anti-atherogenic risk factor (HDL-C) but produced no additive effect in the cholesterol content of aorta and plasma.

These results indicate that soft water (containing high zinc) increases the anti-atherogenic factor without changing the cholesterol deposition of aorta.

Key words: Atherosclerosis, zinc, antirisk factor, plasma cholesterol

T J Res Med Sel V.3, N.1, 1985, 25-28

kalp hastalığı riskinin daha yüksek olması, sert su bölgelerinde bu insidansın azalması (4, 12) da Klevay'ın hipotezini desteklemektedir.

Ancak diyet çinko-bakır oranı ile plazma kolesterolü arasında ilişki olmadığı saptayan Caster ve Doster'in çalışması (3), Klevay'ın hipotezi ile bağdaşmamaktadır.

Diğer yandan çinkodan fakir diyetin serum kolesterolünde özellikle HDL-kolesterolünde anlamlı azalışa neden olduğu (14), serum çinkosu ile HDL-kolesterolü arasında pozitif ve lineer ilişkinin bulunduğu (15) da bildirilmiştir. Kalsiyumdan zengin sert su içilen bölgelerde koroner arter hastalığı riskinin azaldığını bildiren raporlar (4, 12) ile serum antirisk faktörü ile çinkosu arasında pozitif ilişkiyi gösteren çalışmaların (14, 15) sonuçları tam anlamı ile çelişki-

lidir ve bu konuda bilinmeyenlerin fazla olduğunu açıkça göstermektedir.

Bu nedenle epidemiyolojik çalışmalarda ileri sürüldüğü gibi içme suyu çinkosunun aterojenik etkisi olup olmadığını araştırmak amacı ile tertiplenen deneysel çalışmanın sonuçları ilişikte sunulmuştur.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada kullanılan 30 adet albino erkek sıçan deney süresi olan bir ay müddetle ayrı kafeslerde muhafaza edildiler.

12 sıçandan oluşan I. gruba bir ay süre ile normal sıçan yemi ve musluk suyu verildi. 12 hayvanı kapsayan II. gruba ise laboratuvar yemine % 1 kolesterol, % 5 iç yağ, % 0.1 propiltiourasil ve % 0.35 taurokalik asit ilavesi ile oluşturulan (5) kolesterolü yem ve musluk suyu verildi.

Kolesterolden zengin diyetle beslenen 6 sıçanın içme sularına bir ay süre ile 50 ppm çinko ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ilave edildi (III. grup).

Bir aylık beslenmeden sonra 16 saat aç bırakılan hayvanlar nembital (30 mg/kg) anestezisi ile uyutulup kardiyak ponksiyonla kan örneği alındıktan sonra karaciğerleri, aorta yolu ile 37°C'lik serum fizyolojik perfüzyonu ile kandan arındırıldı. Alman karaciğer ve torakoabdominal aorta ve serumları kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildiler.

Radin (18) tarafından tanımlanan yöntem ile karaciğer ve aorta homojenatlarının lipidleri ayrılarak total kolesterol analizi için kullanıldı. Serum HDL-kolesterolü için serumların j3 lipoproteinleri $MgCl_2$ + sodyum tungstat karışımı ile çöktürüldü ve supernatandaki kolesterol enzimatik yöntemle analiz edildi (16). Serum ve doku ekstraktlarının kolesterol ölçümünde enzimatik yöntem (2) kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde Student "t" testinden yararlanıldı.

BULGULAR

Bir ay süre ile normal laboratuvar yemi ile beslenen sıçanların vücut ağırlığı 96.83 ± 5.12 gr'dan (ort. \pm S. Hata) 174.5 ± 8.5 gr'a yükseldiği halde ($p < 0.001$), kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda vücut ağırlığındaki artış daha az belirgin idi (113.8 ± 5.7 gr'dan 125.7 ± 5.2 gr'a; $p < 0.05$). İçme suyuna çinko ilavesi ile ağırlık artışının tamamen önlenmediği dikkati çekti, başlangıç ağırlığı 94.0 ± 5.93 gr olan sıçanların kolesterolden zengin diyet ve çinkolu su ile bir ay beslendikten sonraki ortalama ağırlıkları 99.0 ± 8.65 gr idi ve bu fark anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

Serum Total Kolesterol Değişiklikleri:

Serum total kolesterol düzeyi kontrol grubunda

67.62 ± 17.9 mg/dl iken kolesterolden zengin diyetle beslenenlerde 241.93 ± 23.3 mg/dl'ye ($p < 0.001$) çıkmıştır. İçme suyuna 50 ppm çinko ilavesi serum kolesterolünde anlamlı değişiklik yapmamıştır (294.5 ± 53.4 mg/dl).

Serum HDL-Kolesterol Miktarındaki Değişiklikler:

Kontrol grubunda ortalama 40.3 ± 5.8 mg/dl olan HDL-K, hiperkolesterolemili sıçanlarda 45.2 ± 4.74 mg/dl'ye çıkmışsa da bu artış önemli bulunmamıştır. Ancak suya çinko ilavesi HDL-K'de çok anlamlı artışa neden olmuştur (75.4 ± 13.0 mg/dl; $p < 0.001$).

Aterojenik Risk:

Total kolesterolün HDL-kolesterole oranı olarak hesaplanan aterojenik risk kontrol sıçanlarda ortalama 2.17 ± 0.3 iken hiperkolesterolemik sıçanlarda 5.34 ± 0.6 ($p < 0.01$) bulundu. Çinko ilavesi ile riskte anlamlı olmayan azalış (4.61 ± 1.07) oldu.

Aorta Kolesterol Düzeyi:

1 gr yaş aortanın kolesterol kapsamı 2.18 ± 0.19 mg'dan bir ay müddetle kolesterolü diyetle beslenen hayvanlarda 7.28 ± 1.39 mg'a çıkmış bulundu ($p < 0.001$). İçme suyuna çinko ilavesinin kolesterolün aort duvarında birikmesinde etkisi olmadı.

Serum Çinko Seviyeleri:

Kontrol sıçanlarda ortalama 204.2 ± 10.3 / μ g/dl olan serum çinko düzeyinde kolesterolden zengin diyet alanlarda anlamlı olmayan bir azalış gözlenmiş (197.5 ± 10.4 / μ g/dl) ve içme suyuna çinko ilavesinin de serum çinkosuna önemli etkisi olmamıştır (226.0 ± 16.2 / μ g/dl).

TARTIŞMA

Ateroskleroza dirençli bir laboratuvar hayvanı olan sıçanlarda % 0.1 propil tiourasil ilaveli kolesterolden zengin yem kullanılması ile deneysel aterosklerozun 25 günde oluştuğu (5) bildirilmiştir. Aynı yöntemin uygulandığı çalışmamızın sonuçları bu görüşü desteklemiş ve H'nci grupta hiperkolesterolemi ve aterojenik risk artışına aortada kolesterol birikiminin eşlik etmesi deneysel aterosklerozun kanıtı olarak kabul edilmiştir (1,11).

Hiperkolesterolemik hayvanların suya çinko ilavesi ile daha az kilo alması, Klevay tarafından (12) da açıklanamayan bir bulgu olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda serum çinko düzeyinin normal sınırlarda oluşu, çinko intoksikasyonunun söz konusu olmadığını göstermektedir.

Kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda gözlenen serum çinko azalışı (15) bizim çalışmamızda da da saptandı ise de bu azalış istatistiksel önem

arzetmiyordu. İçme suyuna 50 ppm çinko ilâvesi serum çinko ve kolesterol düzeylerinde önemli olmayan artışa neden oldu. Bu bulgu Klevay'in (12, 13) çalışması ile olduğu kadar, çinkosu eksik diyet alan sıçanlarda hipokolesterolemi olduğunu bildiren Kao ve Williams'ın (14) sonuçları ile de uyum içindedir.

İçme suyuna çinko ilâvesinin serum HDL-kolesterol düzeyinde çok önemli artışa neden olması Kao ve Ramlet'in (15) sonuçları ile paraleldir.

Ancak tablodan da görüldüğü gibi çinkonun HDL-K düzeyinde anlamlı artış yapmasına karşın serum ve özellikle aorta kolesterolünü düşürücü etkisi gözlenmemiştir. Çevre dokulardan kolesterol uzaklaştırılmasında rolü olması nedeni ile (6, 10,11) anti-aterojenik faktör (17, 21) adı verilen HDL'in bu etkisizliğinin birden fazla muhtemel nedeni olabilir.

Bunlardan birisi HDL'nin kolesterol temizleme fonksiyonunu yapabilmesi için bir karaciğer ürünü olan LCAT enzimine gereksinimi olmasıdır (17, 21). Biz çalışmamızda bu enzimin aktivitesini her ne kadar ölçmedi isek de, çinkonun bir LCAT inhibitörü olduğu (17) dikkate alındığı zaman HDL düzeyinde artışa rağmen arter duvarı kolesterolünde değişiklik olmayı-

şı, HDL'nin fonksiyonel yetersizliği ile açıklanabilir kanısındayız.

Çinkonun HDL-kolesterol üzerine etkisini inceleyen diğer araştırmacılar gibi (14, 15) biz de total HDL-K miktarını ölçerek çinkonun anti-aterojenik etkisi hakkında bilgi edinmeye çalıştık. Antirisk etkiden HDL₂ alt grubunun sorumlu olduğunu bildiren son yayınlar (19, 21) bizim ve diğer araştırmacıların bulguları ile klinik sonuçlar arasındaki çelişkinin bir başka nedeni olabilir.

Nitekim total HDL-K artışına karşın arter duvarı kolesterolünde beklenen azalma olmayışı da bu ihtimali destekler mahiyettedir.

Bulgularımız çinkonun HDL-Kolesterol miktarını arttırıcı etkisine rağmen beklendiği şekilde aterojenezisi önlemediğini bariz şekilde ortaya çıkarmıştır. Ancak epidemiyolojik çalışmaları destekler şekilde içme suyuna çinko ilâvesinin aterojenezisi arttırıcı etkisi de gözlenmemiştir. Mamafih bu etkisizlikte deney süresinin kısa oluşu rol oynayabilir. Kesin sonuca ulaşabilmek için daha uzun süre çinkodan zengin su içirilmesinin HDL alt gruplarına ve aterojenezise etkisinin incelenmesi gerekmekte olduğundan çalışmamıza bu yönde devam edilmektedir.

Tablo -1

İçme Suyu Çinkosunun Aterojenezise Etkisi (Ortalama ± S. Hata)

	Plazma Kolesterol (mg/dl)	Plazma HDL-K (mg/dl)	Aterojenik Risk	Aorta Kolesterol (mg/g yaş doku)	Serum Çinkosu <Mg/dl)
Kontrol (G. I)	67.62 ± 5.16 n = 12	40.3 ± 5.8 n = 9	2.17 ± 0.3 n = 9	2.18 ± 0.19	204.2 ± 10.3 n = 12
Kolesterollü Diyet (G. II)	241.93 ± 22.1* n = 11	45.2 ± 4.74 n = 9	5.34 ± 0.6* n = 9	7.28 ± 1.39* n = 8	197.5 ± 10.4 n = 11
Kolesterollü Diyet + 50 ppm Çinko (G. III)	294.45 ± 53.4* n = 6	75.4 ± 13.0** n = 6	4.61 ± 1.07* n = 6	7.35 ± 113.1* n = 6	226.0 ± 16.2 n = 6
Fark	*p < 0.001	**p < 0.001	*p < 0.001	*p < 0.001	

* G. I ile fark

** G.II'denfark

KAYNAKLAR

1. Bates SR, RVV Wissler: Effect of hyperlipemic serum on cholesterol accumulation in monkey aortic medial cells. *Biochem. Biophys. Acta.* 450:78-88, 1976.
2. Bowman RE and RC Wolf: Rapid and specific ultramicro method for total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 8:302, 1962.
3. Caster WO and JM Doster: Effect of the dietary zinc/copper ratio on plasma cholesterol level. *Nutr. Rep. Intern.* 19(6):773-75, 1979.
4. Chipperfield B and JR Chipperfield: Magnesium and potassium content of normal heart muscle areas of hard and soft water. *Lancet* 1: 121-122, 1979.
5. Dolphin RJ and SJ Forsyth: Nascent hepatic lipoproteins in hypothyroid rats. *J. Lip. Res.* 24:541-51, 1983.
6. Dzoga KF, R Eraser and RW Wissler: Stimulation of proliferation in stationary primary cultures of monkey and rabbit aortic smooth muscle cells. Effect of lipoprotein fractions of hyperlipemic serum and lymph. *Exp. Mol. Pathol.* 24:346-59, 1976.

7. Grundy SM and JJ Abrams: Comparison of actions of soy protein and casein on metabolism of plasma lipoproteins and cholesterol in humans. *Amer. J. Clin. Nutr.* 38:245-52, 1983.
8. Goldfarb S: Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after Triton WR 1339 injection. *J. Lipid. Res.* 19:489-93, 1978.
9. Judd Pa and AR Leeds: Pectin and serum cholesterol levels. *Amer. J. Clin. Nutr.* 34(11): 2061-2, 1981.
10. Kannel WB, WP Castelli, T Gordon and I'M McNamara: Serum cholesterol, lipoproteins and risk of coronary heart disease: The Framingham study. *Ann. Intern. Med.* 74:1-12, 1971.
11. Kannel WB, WP Castelli, T Gordon: Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. *Ann. Intern. Med.* 90:85-91, 1979.
12. Klevay ML: Hypercholesterolemia in rats produced by an increase in the ratio of zinc to copper ingested. *Amer. J. Clin. Nutr.* 26:1060-68, 1973.
13. Klevay ML: Coronary heart disease, the zinc/copper hypothesis. *Amer. J. Clin. Nutr.* 28:764-74, 1974.
14. Kao LS and DA Williams: Relationship between the nutritional status of zinc and cholesterol concentration of serum lipoproteins in adult male rats. *Amer. J. Nutr.* 34:2376-81, 1981.
15. Kao LS and JS Ramlet: Dietary cholesterol decreases the serum level of zinc further evidence for the positive relationship between serum zinc and high density lipoproteins. *Amer. J. Clin. Nutr.* 37:918-23, 1983.
16. Lopez-Virella MF, P Stone, S Ellis and JA Corwell: Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin. Chem.* 23: 822-4, 1977.
17. Marcel Y L: Lecithin: Cholesterol acyltransferase and intravascular cholesterol transport. *Adv. Lipid. Res.* 19: 85-136, 1982.
18. Radin SN: Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity. *Methods in Enzymology* 72:5-7, 1981.
19. Rauffy J, JB Chanu, R. Bakir, J Goy-Loeper and I Mino: Lipids, lipoproteines, et manifestations cliniques arterio-patiques. *Path. Biol.* 31:261-70, 1983.
20. Schoefer EJ, S Eisenberg and RL Levy: Lipoprotein apoprotein metabolism. *J. Lipid. Res.* 19:667-87, 1978.
21. Young PM and P Brecher: Cholesteryl ester transfer from phospholipid vesicles to human high density lipoprotein. *J. Lipid. Res.* 22:944-54, 1981.