

# Erişkin Sigara İçenlerde Plazma Lipid Peroksidasyonu

## PLASMA LIPID PEROXIDATION IN ADULT SMOKERS

Mehmet ÜNLÜ\*, Veysel TAHAN\*\*, Ahmet AKKAYA\*\*\*, Mustafa DEMİRCİ\*\*\*\*, Ünal ŞAHİN\*\*\*\*\*

\* Arş.Gör.Dr.,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD,

\*\* Arş. Gör.Dr.,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

\*\*\* Doç.Dr.,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD,

\*\*\*\* Arş.Gör.Dr.,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD,

\*\*\*\*\* Yrd.Doç.Dr.,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, ISPARTA

### Özet

Serbest oksijen radikallerinin bir çok biyolojik dokuda hasar yaptığı bilinmektedir. Sigara içimi çeşitli hastalıklar için büyük bir risk faktörüdür. Sigara içimi ile aktive polimorfonükleer lökositlerden oksijen radikallerinin artmış üretimi sözkonusudur. Bu çalışmada sağlıklı sigara içen erişkinlerde ve sağlıklı sigara içmeyen kontrol grubunda serbest radikal aktivitesinin markerları olan (thiobarbitürik asit reaktivitesi - malondialdehit(MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ölçüldü.

Plazma MDA düzeyleri sigara içen grupta ( $1.48 \pm 0.11$  nmol/ml) içmeyen gruba göre ( $0.99 \pm 0.15$  nmol/ml) anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.01$ ). Eritrosit SOD düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

Bu sonuçlar sigaranın, sağlıklı erişkinlerin biyolojik moleküllerinde oksidatif değişikliğe yol açtığını gösterebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Sigara, Malondialdehit, Süperoksit dismutaz

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:105-108

### Summary

Oxygen free radicals are known to make damage in many biological tissues. Cigarette smoking is a major risk factor for various diseases. It is possible that oxygen free radicals produced by the activity of polymorphonuclear leucocytes is increased by cigarette smoking. In this study markers of free radical activity (thiobarbituric acid reactivity - malondialdehyde, superoxide dismutase) were measured in adult smokers and nonsmoker volunteers. The plasma MDA levels in smoking groups ( $1.48 \pm 0.11$  nmol/ml) were higher as compared to non smokers ( $0.99 \pm 0.15$  nmol/ml,  $p < 0.01$ ) and erythrocyte SOD levels were not different statistically ( $p > 0.05$ ).

According to these results, the elevated MDA levels can indicate that smoking leads to oxidative changes in biologic molecules in adult smokers.

**Key Words:** Cigarette, Malondialdehyde, Superoxide dismutase

T Klin J Med Sci 1998, 18:105-108

Sigara içenlerde, genel olarak akciğerlerinin artmış oksidan yüke maruz kaldığı kabul edilir. Oksidan yükün asıl kaynağı sigaranın kendisi ve aktive olmuş fagositlerdir. Sigara içenlerde alveoller makrofajlar kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) gelişmeden evvel respiratuar bronşitlerde birikirler (1) ve doku yıkımı olana kadar kaybolmazlar (2). İn vitro yapılan çalışmalarda, sigara içenlerin alveoler makrofajlarının, içmeyenlere göre fazla miktarda oksijen radikal metabolitleri salgıladığı gösterilmiştir (3,4). Hücre içi oksijen

radikalleri, sitoplazmik Cu-Zn süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) katalize olur (5).  $H_2O_2$  katalaz ve glutatyon peroksitaz tarafından su ( $H_2O$ )'ya indirgenir. Oksijen radikallerine maruz bırakılma, akciğerlerde antioksidan savunma mekanizma yeteneğini artırır (6). Hücre membranı peroksidasyona giderken doymamış yağ asitlerinden lipid peroksitleri salınır (7). Bu süreci izlemede birçok yöntem vardır. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipid peroksidasyon seviyesini belirlemede kullanılır (8). Serbest radikal etkisine bağlı oluşan lipid peroksidasyonunun KOAH (9) ve akciğer kanseriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (10).

**Geliş Tarihi:** 20.01.1997

**Yazışma Adresi:** Dr.Mehmet ÜNLÜ  
Hızırbey Mahallesi 1523 sok.  
Mutlu-Yuvam Apt. Kat:2 No: 8 ISPARTA

Çalışmamızda, sağlıklı sigara içen erişkinlerde eritrosit SOD ve plazma MDA düzeylerini ölçerek;

sigaranın oksidan-antioksidan dengeye olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Materyel ve Metod

Çalışmaya hastanede çalışan sağlıklı, ortalama yaşı  $28.5 \pm 5.7$  yıl, sigara öyküsü  $12 \pm 4$  paket yıl olan 25 erkek ve sağlıklı sigara içmeyen yaş ortalaması  $29.5 \pm 3.5$  yıl olan 16 erkek alındı. Hastane ortamında paket/yıl olarak uzun süre sigara içen bayan sayısının azlığı nedeniyle, bayanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Kan örnekleri sabah aç karna heparinli tüplere alındı. Süperoksit dismutaz ölçümü için hızlı bir şekilde hemolizat hazırlandı. Eritrosit hemolizatının hazırlanması: heparinli tüpe alınmış kandan, 0.5 ml steril tüplere aktarıldı, 3000 rpm'de 10 dk. santrifüjlenerek eritrositler çöktürüldü, plazması aspire edildikten sonra, eritrositler 3 ml %0.9 NaCl ile suspanse edildi, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek 4 kez yıkandı. 2 ml soğuk distile su katılarak hemolizi sağlandı. Hemolizat 0.01 M, pH=7 olan fosfat tamponuyla dilüe edildi.

MDA ölçümü için plazma kullanıldı ve Yagi'nin tanımladığı yöntemle çalışıldı (11). Yöntemin çalışma prensibi; plazma %30'luk triklorasetik asit, fosfat tamponu ve butile hidroksi toluen ile karıştırıldı. Karışım  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildikten sonra, 200 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatana 0.1 mol EDTA ve %1'lik thiobarbitürik asit eklenip,  $100^{\circ}\text{C}$ 'de termostatlı su banyosunda 15 dakika tutuldu. Spektrofotometrede (Labostek), thiobarbitürik asit reaktif ürünlerinden MDA  $532 \text{ nm}$ 'de ölçüldü. SOD aktivitesi değerleri Randox laboratuvarının ransod kitiyle saptandı. Kitin çalışma prensibi; ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyonla, ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur. Oluşan süperoksit radikali kırmızı renkli formozon bileşiği oluşturmak için 2-(4-iodophenyl)-3-4-(4-nitrophenol)-5-phenyl tetrazolium chloride (INT) ile reaksiyona girer. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesiyle kolorimetrede (Primiere Plus Stanbio) ölçüldü.

Sigara içenlerde olabilecek obstrüksiyonu belirlemek için solunum fonksiyon testi yapıldı ve ortalama  $\text{FEV}_1$ , beklenen değere göre  $\%91.7 \pm 5$  olarak bulundu. Olguların solunum fonksiyon testleri volumetrik bir spirometre (Spirometrics SMI III) ile yapıldı, yüzde predikt değerlerin hesaplan-

masında Knudson RJ'nin referans değerleri kullanıldı (12). Klinik, radyolojik, solunum fonksiyon testi, fizik muayene bulgusu olarak KOAH'ı olanlar ve sürekli ilaç kullanım öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı.

Gruplar arası istatistiksel analizde student's t testi kullanıldı. Anlamlılık değeri olarak  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Plazma malondialdehit düzeyleri sigara içenlerde  $1.48 \pm 0.11 \text{ nmol/ml}$ , kontrol grubunda  $0.99 \pm 0.15 \text{ nmol/ml}$  bulundu (Şekil 1). Sigara içenlerde plazma MDA düzeyi, içmeyenlere göre önemli oranda yüksek bulundu ( $p=0.003$ ). Eritrosit SOD düzeyleri sigara içen grupta  $930.76 \pm 182 \text{ U/grHb}$  içmeyen grupta  $943.45 \pm 161 \text{ U/grHb}$  bulundu (Tablo 1) (Şekil 2). Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ( $p=0.60$ ).

### Tartışma

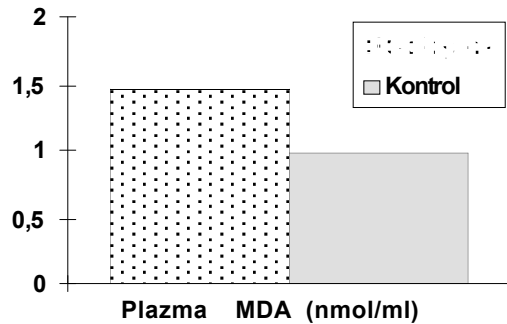
Sigara içenlerde ve KOAH'lı hastalarda oksidatif stresin arttığına dair birçok çalışma yayınlandı. Sigara içimi ve kronik bronşitin hava yollarında aktive nötrofil ve makrofaj artışına sebep olduğu ve bunlardan süperoksit ( $\text{O}_2^-$ ) salındığı bi-

**Tablo 1.** Kontroller ve sigara içenlerde MDA ve SOD değerleri

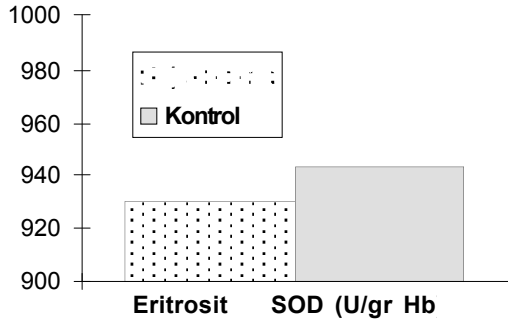
Parametreler	çalışma grubu	kontrol grubu
Plazma MDA (nmol/ml)	1.48 $\pm$ 0.11	0.99 $\pm$ 0.15 *
Eritrosit SOD (U/grHb)	930.76 $\pm$ 182	943.45 $\pm$ 161 **

\*  $P < 0.01$

\*\*  $P > 0.05$



**Şekil 1.** Kontrol ve çalışma grubunda plazma MDA düzeyleri



Şekil 2. Çalışma ve kontrol grubunda eritrosit SOD düzeyleri

linmektedir (13,14). Serbest radikallere bağlı oluşan lipid peroksidasyonunun, KOAH ve akciğer kanseriyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (9,10).

Petruzzelli S. ve ark. sigara içenlerin plazmalarında içmeyenlere göre yüksek MDA düzeyi ve önemli derecede düşük FEF75 düzeyi tespit etti (15). Harats ve grubu beklememiş plazmada MDA düzeyleri açısından, sigara içenlerle içmeyenler arasında önemli fark bulamadılar (16). Bununla beraber diğer çalışmalarda sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma MDA düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (17,18).

Genç erişkin sigara içenler üzerinde yapılan bir başka çalışmada MDA, SOD ve glutatyon peroksidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre fark bulunmadı (19). Rahman I ve ark. yaptıkları çalışmada sigara içenlerde, KOAH ve astmanın akut alevlenmesinde, MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (20).

Kaleli S ve ark. yaptıkları benzer çalışmada serum MDA düzeylerini sağlıklı erişkinlerde kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır (21). Yine Şekeroğlu RM ve ark. tarafından, sigara içenlerde kontrol grubuna göre serum ve eritrosit MDA düzeylerinin yüksek, eritrosit SOD aktivitesinin ise önemli miktarda düşük bulunduğu rapor edilmiştir (22).

Bazı çalışmalar sigara içenlerde lipid peroksidasyon ürünlerinin artışı desteklemektedir. Buna rağmen bizim sonuçlarımızda da olduğu gibi, çalışmaların çoğunluğunda sigara içiminin lipid peroksidasyonuna neden olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda plazma MDA düzeylerini sigara içenlerde anlamlı olarak yüksek bulurken, eritrosit SOD aktivitesinde anlamlı farklılık tespit etmedik.

Sonuçta lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA'nın sağlıklı sigara içen erişkinlerde yüksek bulunması, oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Böylece sigara bağlantılı hastalıkların patogenezinde oksidan-antioksidan sistemin etkisini ortaya çıkaracak çalışmaların devam etmesi gerektiği kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Niewoehner DE, Kleinenman J, Rice DB. Pathologic Changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974; 291: 755 -8.
2. Cosio MG, Hale KA., Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122: 265-71.
3. Hoidal JR, Fox RB, Lemarbe PA; Altered oxidative metabolic responses invitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am Rev Respir Disease* 1981; 123: 85 -9.
4. Ludwig PW, Hoidal JR. Alterations in leukocyte oxidative metabolism in cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 977-80.
5. Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 531 -54.
6. Kimball RE, Reddy K, Pierce TH; Oxygen toxicity augmentation of antioxidant defense mechanism in rat lung. *Am J Physiol* 1976; 230: 1425 - 31.
7. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.
8. Takeda K, Shimida M, Amono T. Plasma lipid peroxides and alpha-tocopherol in critically ill patients. *Crit Care Med* 1984; 12: 957-9.
9. Janoff A. Biochemical links between cigarette smoking and pulmonary emphysema. *J Appl physiol* 1983; 55: 285-93.
10. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985; 227: 375-81.
11. Yagi K. A simple Fluorometric assay for lipid Peroxides in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15: 212-6.
12. Knudson RJ, Lebowitz MD. Changes in the normal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:725-34.
13. Schaberg T, Haller H, Rau M, et all. Superoxide anion release induced by platelet - activating factor is increased in human alveolar macrophages from smokers. *Eur Respir J* 1992; 5: 387-93.
14. Selby C, Drost E, Lannon S. et all. Neutrophil retention in the lungs of patients with chronic obstructive pulmonary diseases. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 1359-64.

15. Petruzzelli S, Hiatenen E, Bartsch H. et all. Pulmonary lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; 98: 930-5.
16. Harats D, Ben - Naim M, Dabach Y. et all. Cigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages. *Atherosclerosis* 1989; 79: 245 - 52.
17. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K. Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers. *Int J Exp Pathol* 1991; 72: 1-7.
18. Bridges AB, Scott NA, Parry GJ. et all. Age, Sex, cigarette smoking and indices of free radical activity in healthy humans. *Eur J Med* 1993; 2: 205-8.
19. Leonard MB, Lawton K, Watson ID, et all. Free radical activity in young adult cigarette smokers. *J Clin Pathol* 1995; 48 (4): 385-7.
20. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-60.
21. Kaleli S, Ay M, Çağlayan O. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı kişilerde serum lipid peroksid ve lipid parametrelerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Tıp Fakültesi Dergisi* 1996; 3(2): 17-9.
22. Şekeroğlu MR, Aslan R, Tarakçıoğlu M. Sigara içenlerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *Tüberküloz ve Toraks* 1997; 45(2): 105-9.