

# Koroner Arter Hastalarında Sigaranın Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidanlar Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması<sup>¶</sup>

## INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SMOKING ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANTS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Zehra SERDAR\*, Melahat DİRİCAN\*\*, Akın SERDAR\*\*\*, Emre SARANDÖL\*, Dilek YEŞİLBURSA\*\*\*\*, Asuman TOKULLUGİL\*\*\*\*\*

- \* Uz.Dr.,Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,  
\*\* Yrd.Doç.Dr.,Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,  
\*\*\* Doç.Dr.,Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD,  
\*\*\*\* Yrd.Doç.Dr.,Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD,  
\*\*\*\*\* Prof.Dr.,Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, BURSA

### Özet

Bu çalışmada, yapılan anjiyografi sonucu koroner arter hastalığı (KAH) tanısı konulmuş olan hastalarda sigaranın serum lipid profili [total kolesterol (TK), trigliserid (TG), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K)], apolipoproteinler (apo A, apo B ve apo A / apo B oranı), antioksidanlar (vitamin E ve total karotenler), lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) ve non-HDL fraksiyonunun (VLDL, LDL) oksidasyona duyarlılığı (gecikme zamanı, "lag-time") üzerine olan etkileri araştırıldı. Çalışmaya, toplam 177 hasta alındı. Hastalardan 74'ü sigara içmeyen grubu (grup I), 103'ü sigara içen grubu (grup II) oluşturdu. Grup I'deki hastalardan 51'i erkek, 23'ü kadın, grup II'deki hastalardan ise 94'ü erkek, 9'u kadındı. Grup II'de grup I'ye göre serum lipid değerleri ve malondialdehid (MDA) düzeylerinin anlamlı derecede arttığı, apo A, lag-time ve antioksidan düzeylerinin ise anlamlı derecede azaldığı görüldü. Yapılan Spearman korelasyon testinde sigara ile TK, TG, LDL-K ve MDA arasında anlamlı pozitif korelasyon, HDL-K, apo A, lag-time, E vitamini ve total karoten arasında ise anlamlı negatif korelasyon saptandı. Sigara ile apo B ve apo A/apo B oranı arasında ise bir ilişki bulunamadı. Olgular cinsiyete göre değerlendirildiğinde; sigara içen erkek KAH'ların içmeyen KAH'larına göre serum TK, TG, LDL-K ve

### Summary

In this study, the effects of smoking on serum lipid parameters [total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C)], apolipoproteins (apo A, apo B and apo A / apo B ratio), antioxidants (vitamin E and total carotens), the lipid peroxidation product-MDA and the susceptibility to oxidation of non-HDL fraction were investigated in patients with angiographically determined coronary artery disease (CAD). 177 patients were studied. 74 patients were non-smokers (group I: 51 men, 23 women) and 103 patients were smokers (group II: 94 men, 9 women). In group II, serum lipid levels and MDA levels were significantly higher and apo A, lag-time and the level of antioxidants were significantly lower than group I. A significantly positive correlation was found between smoking and TC, TG, LDL-C and MDA, and a significant negative correlation was found between smoking and HDL-C, apo A, lag-time, vitamin E and total carotens with Spearman correlation test. There were no correlation between smoking and apo B and apo A / apo B ratio. When the patients were evaluated according to sex, smoker men with CAD had higher level of TC, TG, LDL-C, MDA and lower level of HDL-C, apo A, apo A / apo B ratio, lag-time, vitamin E and total carotens than non-smoker men with CAD. In smoker women with CAD although TC, LDL-C and MDA levels were higher and HDL-C, apo A, apo A / apo B ratio, lag-time and antioxidant levels were lower than in non-smoker CAD women, there were no significant difference.

Geliş Tarihi: 15.04.1999

Yazışma Adresi: Dr.Zehra SERDAR  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya AD  
16059 Görükle, BURSA

<sup>¶</sup>Klinik Biyokimya Derneği Ateroskleroz Sempozyumu'nda sunulmuştur (Mart 1999, İzmir).

As a result, it was shown that smoking increases both the oxidative susceptibility of non-HDL fraction and MDA which was the product of lipid peroxidation, decrease the levels of vitamin E and total carotens which were antioxidants. Also the

*MDA düzeylerinin anlamlı bir artış gösterdiği, HDL-K, apo A, apo A/apo B oranı, lag-time, vitamin E ve total karoten değerlerinin ise anlamlı bir azalma gösterdiği saptandı. Kadın KAH'larında ise sigara içenlerin içmeyenlere göre TK, LDL-K ve MDA düzeyleri daha yüksek, HDL-K, apo A, apo A/apo B oranı, lag-time ve antioksidan düzeyleri daha düşük bulunmasına rağmen, aralarındaki fark anlamlı bulunmadı.*

*Sonuç olarak; sigaranın KAH'larında hem non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığını, hem de lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerini arttırdığı, antioksidan etkili vitamin E ve total karoten düzeylerini ise azalttığı görüldü. Antioksidan düzeylerindeki azalmanın özellikle sigara içen erkek KAH'larında daha belirgin olduğu saptandı.*

**Anahtar Kelimeler:** Koroner arter hastalığı, Sigara, Lipid peroksidasyonu, Antioksidanlar

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:266-274

*decrease of the level of antioxidants were more significant especially in smoker men with CAD.*

**Key Words:** Coronary artery disease, Smoking, Lipid peroxidation, Antioxidants

T Klin J Med Sci 1999, 19:266-274

Sigara; yaygın ateroskleroz, KAH ve diğer iskemik hastalıklar için major bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (1-3). Bu hipotezi destekleyen pek çok araştırmanın yapılmasına karşın sigaranın KAH gelişiminden hangi mekanizma ile sorumlu olduğu ve LDL'nin aterosklerotik etkisini etkileyip etkilemediği konusunda değişik görüşler ileri sürülmektedir (4-7). Sigara dumanı nitrojen oksitler ve organik hidroperoksitler gibi lipoproteinlere direkt olarak hasar verebilen oksidanlar içerir. Sigara dumanındaki bu oksidanlar aynı zamanda solunum yollarındaki fagositik hücrelerin de aktivasyonunu uyararak endojen oksidanların üretimini artırır. Böyle bir mekanizma LDL'nin oksidatif modifikasyonunu uyarabilir (8,9). Oksidasyona uğrayan LDL partikülleri "scavenger" reseptörler aracılığı ile makrofajlar tarafından alınır ve aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli rolü olan köpük hücrelerinin oluşumuna yol açar (4,7). Böylece, sigara dumanının neden olduğu LDL oksidasyonu, sigara ile ateroskleroz arasındaki ilişkinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Sigara içenlerde KAH riski artışından; kan koagülasyonundaki değişiklikler, arter duvarı bütünlüğünün bozulması, kan lipid ve lipoprotein konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile lipid peroksidasyonundaki artış ve serum antioksidan düzeylerindeki azalma sorumlu tutulmuştur (2,3,9-12). Bir grup araştırmacı, sigara içenlerin lipoproteinlerinin oksidatif modifikasyona daha duyarlı olduklarını ve

bunun antioksidanlarla önlenebileceğini ileri sürmüştür (5-9). Deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarda da antioksidanların aterosklerotik plak oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (13). Yapılan çeşitli epidemiyolojik araştırmalarda ise E vitamini ve karoten gibi antioksidanların KAH' na karşı koruyucu bir rol oynadıkları ileri sürülmüştür (13-15).

Bu çalışma; koroner anjiyografi sonucu KAH saptanan hastalarda sigaranın, serum lipid profili, apolipoprotein konsantrasyonları ve antioksidan etkili E vitamini ve total karotenler ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ve apo B içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılıklarının bir göstergesi olan "lag-time" üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, koroner anjiyografi sonucu KAH saptanan toplam 177 olgu alındı. Olgulardan 74'ü sigara içmeyen grubu (grup I, yaş ortalaması 60 ± 10), 103'ü ise sigara içen grubu (grup II, yaş ortalaması 56 ± 10) oluşturdu. En azından beş yıldır günde 10 adetten fazla sigara tüketen olgular sigara içen gruba alındılar. Grup I' deki hastalardan 51'i erkek (yaş ortalaması 60 ± 10), 23'ü kadın (yaş ortalaması 60 ± 9), grup II'deki hastalardan 94'ü erkek (yaş ortalaması 55 ± 10), 9'u kadındı (yaş ortalaması 60 ± 10). Tüm hastaların dislipidemi, hiper-

tansiyon, diyabet ve aile öyküsü gibi diğer KAH risk faktörlerini taşıyıp taşımadıkları kaydedildi. Serum TK ve TG düzeyleri >200 mg/dl olan olgular dislipidemik olarak kabul edildi. Ayrıca, hastaların tümünün boy ve kilo ölçümleri yapılarak vücut kitle indeksleri (VKİ) hesaplandı. Çalışmaya alınan tüm diyabetik olguların kan glikoz düzeyleri antidiyabetik ilaçlarla kontrol altına alınmıştı ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Kadın KAH'larının 28 (%88)'i postmenopozal dönemdeydi ve herhangi bir hormon preparatı almıyorlardı.

Hastalardan, 12-14 saatlik açlık sonrası vakumlu ve steril tüplere alınan venöz kan örneklerinin 4 ml'si non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığını tayin için EDTA içeren tüplere (son konsantrasyon 4.08 mM) aktarıldı. E vitamini ve total karoten çalışılacak olan tüpler kan almadan önce ışıktan korunmaları için alüminyum folye ile sarıldılar. Santrifüj edilen kan örneklerinden serum ve plazmalar ayrıldı. Serumda TK, TG ve HDL-K aynı gün çalışıldı. Non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığı için ayrılan plazma +4°C'de saklandı ve 24 saat içinde çalışıldı. MDA çalışmak üzere ayrılan plazma ile E vitamini, total karoten, apo A ve apo B için uygun miktarlarda ayrılan serumlar -20°C'de saklandı ve 2 ay içerisinde çalışıldılar. TK ve TG düzeyleri enzimatik yöntemle otoanalizörde (Technicon - Dax 72, ABD) çalışıldı. HDL-K tayini, apo B içeren lipoproteinlerin dekstran sülfat - magnezyum klorür çözeltisi ile çöktürüldükten sonra supernatanda enzimatik kit (Chematil, kat no: 2025, İtalya) ile kolesterol ölçülerek yapıldı. Apo A ve apo B düzeyleri immünotürbidimetrik prensibe göre nefelometrede (Sanofi Pasteur, Kallestad QM 300, Fransa) çalışıldı. LDL-K düzeyleri Friedewald formülüne göre hesaplandı (16) [ $LDL-K = TK - (HDL-K + TG/5)$ ]. E vitamini düzeyi; tokoferollerin ferri iyonlarını ferro iyonlarına indirgemesi ve ferro iyonlarının bipiridin ile kırmızı bir kompleks oluşturması prensibine göre ölçüldü (17). Total karoten düzeyleri ise Neeld ve Pearson tarafından tanımlanan ve karotenlerin petrol eter ile ekstrakte edilmeleri prensibine göre ölçüldü (18). Vitamin düzeyleri ölçümleri karanlık odada yapıldı. Plazma MDA düzeyi ise, tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'nın asidik ortamda yüksek ısının etkisi ile pembe renkli bir kompleks oluşturması prensibine dayanan bir yöntemle ölçüldü (19). Non-HDL frak-

siyonunun oksidasyona duyarlılığının ölçümü için kullandığımız yöntemin prensibi ise çöktürme yöntemiyle ayrılan apo B içeren lipoproteinlerin bakır sülfat ile inkübe edilerek, zaman içinde (30,60,90,120,150,180. dakikalar) oluşan TBARS (TBA ile reaksiyona giren substans) miktarının ölçümüne dayanır (20). Zamana karşı Apo B içeren lipoproteinlerde oluşan TBARS miktarlarının grafiğini çizmek için; eğriye, "x" eksenine paralel bir teğet ve "propagation" fazına (eğimin en hızlı arttığı faz) teğet geçen dikey bir doğru çizildi. Her iki teğetin kesiştiği noktadan aşağıya dik inildiğinde "lag - time" bulunmuş oldu.

Tüm veriler, ortalama değer  $\pm$  standart sapma olarak belirtildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Student's t-testi ile yapıldı. Sigara ile diğer parametreler arasındaki ilişkiyi incelemek için Spearman'ın nonparametrik korelasyon testi kullanıldı. Sigara içimi ordinal değişken olarak alındı (sigara içmeyenler 0, içenler 1 olarak ifade edildi).  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Çalışmaya alınan olguların demografik verileri (cinsiyet, yaş, VKİ) ile dislipidemi, hipertansiyon, diyabet, aile öyküsü gibi diğer KAH risk faktörlerini taşıma yüzdeleri Tablo 1'de verildi. Olguların sigara içme süreleri (%) olarak hem tüm olgularda, hem de kadın ve erkek olgularda ayrı olarak Tablo 2'de gösterildi. Tablo 3'de; sigara içmeyen (grup I) ve sigara içen (grup II) KAH'larının serum lipid profilleri (TK, TG, HDL-K, LDL-K), apolipopro-

**Tablo 1.** Olgularda demografik veriler ve diğer koroner arter hastalığı risk faktörleri

|                          | Grup I<br>(n=74) | Grup II<br>(n=103) |
|--------------------------|------------------|--------------------|
| Cinsiyet (K/E)           | 23 / 51          | 9 / 94             |
| Yaş (yıl)                | 60 $\pm$ 10      | 56 $\pm$ 10        |
| VKİ (kg/m <sup>2</sup> ) | 26               | 27                 |
| Dislipidemi (%)          | 60               | 65                 |
| Hipertansiyon (%)        | 49               | 42                 |
| Diyabet (%)              | 23               | 18                 |
| Aile öyküsü (%)          | 46               | 50                 |

Grup I : Sigara içmeyenler, Grup II: Sigara içenler  
VKİ: Vücut kitle indeksi

**Tablo 2.** Olguların sigara içme süreleri

|                     | Sigara içme süresi (yıl) |              |              |
|---------------------|--------------------------|--------------|--------------|
|                     | <10 yıl                  | 11- 20 yıl   | >20 yıl      |
| Kadın (n=9)         | %55.5 (n= 5)             | %33.3 (n=3)  | %11.1 (n=1)  |
| Erkek (n=94)        | %7.4 (n = 7)             | %53.2 (n=50) | %39.4 (n=37) |
| Tüm olgular (n=103) | %36.9 (n=12)             | %51.5 (n=53) | %11.7 (n=38) |

tein (apo A, apo B ve apo A/apo B oranı) ve antioksidan (E vitamini ve total karotenler) düzeyleri ile lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA değerleri ve non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığının bir göstergesi olan "lag-time"ları karşılaştırıldı. Apo B ve apo A/apo B oranı dışında tüm veriler arasında anlamlı değişiklikler saptandı. Sigara içen olguların TK, TG, LDL-K ve MDA değerleri içmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunurken (sırasıyla  $p < 0.001$ ;  $< 0.01$ ,  $< 0.001$ ;  $< 0.01$ ), HDL-K, apo A, lag-time, E vitamini ve total karoten düzeylerinde ise anlamlı bir azalma (sırasıyla  $p < 0.05$ ;  $< 0.05$ ;  $< 0.05$ ;  $< 0.01$ ;  $< 0.001$ ) görüldü. Apo B değerleri ile apo A/apo B oranı açısından ise iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Olgular cinsiyete göre değerlendirildiğinde; sigara içen erkek KAH'ların, sigara içmeyen erkek KAH'larına göre serum TK, TG, LDL-K ve MDA düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu (sırasıyla  $p < 0.001$ ;  $< 0.01$ ;  $< 0.001$ ;  $< 0.01$ ),

HDL-K, Apo A, apo A/apo B oranı, lag-time, E vitamini ve total karoten düzeylerinde ise anlamlı bir azalma olduğu (sırasıyla  $p < 0.05$ ;  $< 0.05$ ;  $< 0.05$ ;  $< 0.01$ ;  $< 0.001$ ;  $< 0.001$ ) saptandı. Apo B' de ise anlamlı bir ilişki yoktu (Tablo 4). Kadın KAH'larında ise sigara içenlerin içmeyenlere göre TK, TG, LDL-K ve MDA düzeyleri daha yüksek, HDL-K, apo A, apo A/apo B oranı, lag-time ve antioksidan düzeyleri daha düşük bulunmasına rağmen, aralarındaki fark anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5). Tüm olgular birlikte değerlendirilerek yapılan Spearman korelasyon testinde sigara ile; TK ( $r = 0.22$ ,  $p < 0.001$ ), TG ( $r = 0.20$ ,  $p < 0.01$ ), LDL-K ( $r = 0.15$ ,  $p < 0.05$ ) ve MDA ( $r = 0.22$ ,  $p < 0.001$ ) arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunurken, HDL-K ( $r = - 0.25$ ,  $p < 0.001$ ), apo A ( $r = - 0.20$ ,  $p < 0.01$ ), lag-time ( $r = - 0.24$ ,  $p < 0.001$ ), E vitamini ( $r = - 0.25$ ,  $p < 0.001$ ) ve total karoten ( $r = - 0.27$ ,  $p < 0.001$ ) arasında anlamlı negatif korelasyon bulundu. Sigara ile apo B ve apo A/apo B arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 6).

Non-HDL fraksiyonunun bakır sülfatla üç saat inkübasyonu sonucu 30 dakika aralıklarla gerçekleştirilen lipid peroksid ölçümünün zamana karşı gösterimi Şekil 1'de verildi. İlk 90 dakikada oluşan MDA miktarı iki grup arasında farklı değilken, 120. dakikadan itibaren sigara içen grupta bu değerlerin içmeyenlere göre anlamlı bir şekilde arttığı görüldü (120. dakika için  $p < 0.05$ , 150 ve 180. dakikalar için  $p < 0.01$ ).

**Tablo 3.** Sigara içen ve içmeyen koroner arter hastalarında değerlerin karşılaştırılması<sup>a</sup>

|                       | Grup I (n=74) | Grup II (n=103) | p değeri <sup>b</sup> |
|-----------------------|---------------|-----------------|-----------------------|
| TK (mg/dl)            | 204 ± 48      | 226 ± 41        | < 0.001               |
| TG (mg/dl)            | 171 ± 58      | 202 ± 73        | < 0.01                |
| HDL-K (mg/dl)         | 35.7 ± 6.6    | 33.3 ± 6.7      | < 0.05                |
| LDL-K (mg/dl)         | 131 ± 29      | 152 ± 33        | < 0.001               |
| Apo A (mg/dl)         | 140 ± 17      | 132 ± 23        | < 0.05                |
| Apo B (mg/dl)         | 134 ± 31      | 141 ± 35        | AD                    |
| Apo A / Apo B         | 1.04 ± 0.24   | 0.94 ± 0.29     | AD                    |
| MDA (nmol/ml)         | 7.4 ± 2       | 8.3 ± 2         | < 0.01                |
| Lag-time (dakika)     | 56 ± 12       | 49 ± 12         | < 0.05                |
| E vitamini (mg/dl)    | 1.33 ± 0.3    | 1.20 ± 0.3      | < 0.01                |
| Total Karoten (mg/dl) | 140 ± 35      | 120 ± 34        | < 0.001               |

<sup>a</sup>Veriler  $x \pm SS$  olarak verildi. Grup I: Sigara içmeyenler, Grup II: Sigara içenler

<sup>b</sup>Student's t-testi, AD: Anlamlı Değil

TK: Total kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-Kolesterol, LDL-K: LDL-Kolesterol, MDA: Malondialdehid

**Tablo 4.** Sigara içen ve içmeyen erkek koroner arter hastalarında değerlerin karşılaştırılması

|                       | Sigara içenler<br>(n = 94) | Sigara içmeyenler<br>(n = 51) | p değeri |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------------|----------|
| Yaş (yıl)             | 55 ± 10                    | 60 ± 10                       | < 0.05   |
| TK (mg/dl)            | 233 ± 42                   | 197 ± 44                      | < 0.001  |
| TG (mg/dl)            | 205 ± 74                   | 168 ± 57                      | < 0.01   |
| HDL-K (mg/dl)         | 33 ± 6.4                   | 36 ± 6.4                      | < 0.05   |
| LDL-K (mg/dl)         | 156 ± 29                   | 131 ± 31                      | < 0.001  |
| Apo A (mg/dl)         | 127 ± 22                   | 137 ± 16                      | < 0.05   |
| Apo B (mg/dl)         | 143 ± 36                   | 132 ± 33                      | AD       |
| Apo A / Apo B         | 0.88 ± 0.29                | 1.04 ± 0.25                   | < 0.05   |
| MDA (nmol / ml)       | 8.4 ± 2                    | 7.3 ± 2                       | < 0.01   |
| Lag-time (dakika)     | 50 ± 11                    | 59 ± 12                       | < 0.01   |
| E vitamini (mg/dl)    | 1.10 ± 0.37                | 1.31 ± 0.33                   | < 0.001  |
| Total Karoten (mg/dl) | 120 ± 33                   | 148 ± 33                      | < 0.001  |

TK: Total kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-Kolesterol, LDL-K: LDL-Kolesterol, MDA: Malondialdehid, AD: Anlamlı Değil

**Tablo 5.** Sigara içen ve içmeyen kadın koroner arter hastalarında değerlerin karşılaştırılması

|                       | Sigara içenler<br>(n = 9) | Sigara içmeyenler<br>(n = 23) | p değeri |
|-----------------------|---------------------------|-------------------------------|----------|
| Yaş (yıl)             | 60 ± 10                   | 60 ± 9                        | AD       |
| TK (mg/dl)            | 219 ± 22                  | 208 ± 56                      | AD       |
| TG (mg/dl)            | 199 ± 72                  | 175 ± 60                      | AD       |
| HDL-K (mg/dl)         | 35 ± 7.4                  | 36 ± 8                        | AD       |
| LDL-K (mg/dl)         | 148 ± 34                  | 130 ± 28                      | AD       |
| Apo A (mg/dl)         | 136 ± 34                  | 141 ± 20                      | AD       |
| Apo B (mg/dl)         | 139 ± 25                  | 136 ± 28                      | AD       |
| Apo A / Apo B         | 0.98 ± 0.30               | 1.04 ± 0.24                   | AD       |
| MDA (nmol/ml)         | 8.2 ± 1.2                 | 7.6 ± 2.3                     | AD       |
| Lag-time (dakika)     | 48 ± 11                   | 53 ± 10                       | AD       |
| E vitamini (mg/dl)    | 1.30 ± 0.5                | 1.35 ± 0.4                    | AD       |
| Total Karoten (mg/dl) | 121 ± 41                  | 131 ± 39                      | AD       |

TK: Total kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-Kolesterol, LDL-K: LDL-Kolesterol, MDA: Malondialdehid, AD: Anlamlı Değil

## Tartışma

Lipoproteinlerin oksidasyonunun ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (1,21,22). Bu oksidasyondan ise serbest radikal üretimindeki artış sorumlu tutulmaktadır (23). Bu biyotoksik ajanların başlıca kaynaklarından birini sigara dumanı oluşturmaktadır ( $10^{15}$  serbest radikal / inhalasyon) ve bu da aynı zamanda akciğerlerdeki inflamatuvar hücrelerden serbest radikallerin salınımını uyarmaktadır (24). Açığa çıkan bu radikaller ise hücrel membranlardaki ve lipoproteinlerdeki fosfolipidlerin peroksidasyonunu

başlatmakta ve direkt olarak membran yapı ve fonksiyonunda patolojik değişikliklere yol açarak, membran geçirgenliğinde artışa ve membran bütünlüğünde kayba yol açmaktadır (25). Bunların sonucunda da MDA, konjuge dien, hidroksialkenler, F2-isoprostanlar ve pentan gibi lipid peroksidasyon ürünleri olan biyotoksik bileşikler açığa çıkmaktadır (5,8,24,26,27). Pek çok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda bizim sonuçlarımıza benzer şekilde sigara içenlerin plazma MDA düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu göstermişlerdir. Bu artış, sigarayla ilişkili çeşitli hastalıklardan da sorumlu

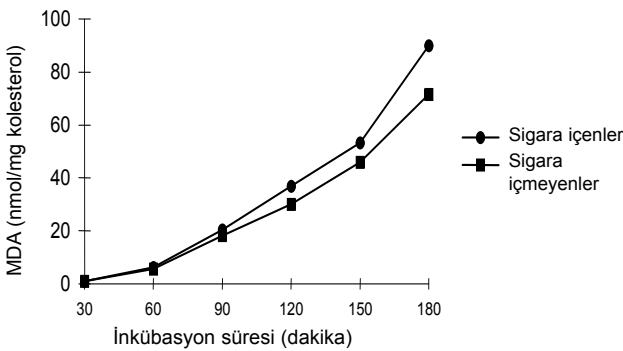
**Tablo 6.** Tüm olgularda sigara ile diğer parametreler arasındaki ilişki

|               | r      | p       |
|---------------|--------|---------|
| TK            | 0.22   | < 0.001 |
| TG            | 0.20   | < 0.01  |
| HDL-K         | - 0.25 | < 0.001 |
| LDL-K         | 0.15   | < 0.05  |
| Apo A         | - 0.20 | < 0.01  |
| Apo B         | 0.11   | AD      |
| Apo A / Apo B | - 0.13 | AD      |
| Lag-time      | - 0.24 | < 0.001 |
| MDA           | 0.22   | < 0.001 |
| E vitamini    | - 0.25 | < 0.001 |
| Total karoten | - 0.27 | < 0.001 |

TK: Total kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-Kolesterol, LDL-K: LDL-Kolesterol, MDA: Malondialdehid  
r = Korelasyon katsayısı

p = Korelasyon katsayısının anlamlılık derecesi  
(Spearman testine göre)

AD: Anlamlı Değil



**Şekil 1.** Bakır sülfat ile inkübasyondan sonra non-HDL fraksiyonunda zamana karşı oluşan MDA (malondialdehid) düzeyleri.

tutulmuştur (24,28-31). Yaptığımız araştırmada, sigara içen KAH' larının plazma MDA düzeylerinin içmeyenlere göre daha yüksek bulunması ve sigara ile MDA arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptanması, sigara içen KAH' larında lipid peroksidasyonunun arttığını göstermektedir.

Ateroskleroz patogeneğinde günümüzde yaygın olarak kabul edilen görüş; LDL oksidasyonunun başlıca arteriyel intimada oluştuğu ve oksidatif olarak modifiye olan LDL'nin makrofajlardaki "scavenger" reseptörler tarafından alınarak, köpük hücre oluşumuna yol açtığıdır (10,21,27,28,32).

LDL'nin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan aldehidik lipid peroksidasyon ürünleri, apo B' nin lizin kalıntılarında bulunan pozitif yüklü epsilon amino grupları ile reaksiyona girmekte ve modifiye LDL'nin negatif yükünde artışa yol açmaktadır. Apo B'deki bu değişiklikler sonucu modifiye LDL'nin LDL reseptörleri tarafından alımı azalırken, makrofajlardaki "scavenger" reseptörler tarafından alımı artmakta ve böylece lipid yüklü köpük hücreleri oluşmaktadır (33,34). Non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığının bir göstergesi olan lag-time sigara içen KAH' larında içmeyenlere göre anlamlı bir azalma göstermiş ve aynı zamanda sigara ile lag-time arasında da anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Harats ve arkadaşları (35) da yaptıkları çalışmada, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde sigaranın plazma lipoproteinlerini peroksidatif strese daha duyarlı hale getirdiğini göstermişlerdir.

Plazmada, lipoproteinlerin peroksidasyona karşı doğal koruyucuları E vitamini ve beta-karoten gibi antioksidanlardır (27,34,36). Bilindiği gibi E vitamini membranla ilişkili en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve peroksil radikalleri yakalayarak çoklu doymamış yağ asitlerini peroksidasyondan koruyucu etki gösterir (23,36-39). Yapılan çeşitli araştırmalarda da E vitamininin aterosklerozla ilişkili en önemli antioksidan olduğu ve LDL-K' ün oksidasyonunu in vivo ve in vitro koşullarda inhibe ettiği gösterilmiştir (6,15,35). LDL partikülündeki E vitamininin azalması LDL' yi oksidasyona daha duyarlı hale getirmekte ve böylece KAH' larında ateroskleroz gelişimini hızlandırmaktadır (34-37). Beta karotenlerin yapısında yer alan konjuge çift bağların antioksidan aktiviteden sorumlu olup, serbest radikal reaksiyonlarını önleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (39). Beta-karotenler dokuda LDL oksidasyonunu inhibe ederek endotelial hasarı önleyebilir ve böylece KAH riskini azaltabilirler (40). Yapılan pek çok araştırmada da sigara içenlerde serum E vitamini ve beta-karoten düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (25,26,41). Benzer şekilde bizim verilerimizde de sigara içen KAH' larının serum E vitamini ve total karoten değerleri sigara içmeyen KAH' larına göre anlamlı derecede düşük bulunmuş ve yapılan korelasyon çalışmasında da sigara ile E vitamini ve total karoten arasında anlamlı negatif korelasyonlar olduğu saptanmıştır.

Antioksidan kullanımının hem sigara içenlerde hem de KAH'larında oksidatif hasarın ilerlemesini önleyici etkiye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (8,25,35-43). Bazı araştırmacılar, sigara içenlerin eritrositlerinin in vitro lipid peroksidasyonuna daha duyarlı olduklarını ve E vitamini uygulamasından sonra bu duyarlılıkta anlamlı bir azalma olduğunu göstermişlerdir (9,23,38). Sigara içenlerde antioksidan düzeylerinde görülen bu azalmadan olasılıkla, sigaranın uyardığı serbest radikal üretimini nötralize etmek üzere artmış antioksidan kullanımı sorumludur. Ayrıca, sigara içenlerde görülen tad kaybından dolayı diyetle yetersiz vitamin alımı da bu azalmadan sorumlu olabilir (41). Bu nedenle, özellikle sigara içmeyi sürdüren KAH'larında antioksidan preparatların kullanımı yararlı olabilir. Sigara içen erkek ve kadınlarla ilgili olarak yapılan iki ayrı araştırmada, KAH riski ile antioksidan kullanımı arasında negatif bir korelasyon olduğu ve yüksek plazma E vitamini ve beta-karoten düzeylerinin KAH'na karşı koruyucu rolü olduğu ileri sürülmüştür (42,43).

Sigaranın, KAH lipid risk faktörleri arasında yer alan yüksek TK, TG, LDL-K değerleri ile düşük HDL-K ve apo A değerleri ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (12). Özellikle yüksek plazma LDL-K konsantrasyonu ateroskleroz için primer bir risk faktörüdür (34). Bunun nedeni; LDL-K'ün aterosklerotik lezyon gelişiminde önemli rolü olan köpük hücrelerinde kolesterol ester birikimine olan katkısıdır (44). Ayrıca, sigara içen KAH'larının plazma LDL'lerinin oksidasyona daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (1,34,45). Sigara içenlerde HDL-K düzeylerinde azalma ile birlikte, HDL-K'ün başlıca apolipoproteini olan ve aynı zamanda LCAT (lesitin kolesterol açıl transferaz) enziminin aktivasyonunda da rol oynayan apo AI düzeyleri de azalmakta ve böylece ters kolesterol taşınımı bozulmaktadır (46). Ayrıca, HDL'nin in vitro olarak LDL'yi oksidasyondan koruduğu da gösterilmiştir (10,44). Yaptığımız çalışmada sigara içen KAH'larının HDL-K ve apo A düzeylerinin içmeyenlere göre anlamlı bir azalma gösterdiği, TK, TG ve LDL-K düzeylerinin ise anlamlı bir artış gösterdiği saptanmıştır. Olgular cinsiyete göre değerlendirildiğinde ise sigara içen erkek KAH'ları için

benzer anlamlılıkta sonuçlar elde edilirken, kadın KAH'ları arasında sigara içenlerle içmeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bunun nedeni; sigara içen kadın olgu sayısının (n = 9) erkek olgu sayısına (n = 94) göre çok düşük olması ve kadınların çoğunun erkeklere göre daha kısa bir süredir sigara içiyor olmaları olabilir.

Sonuç olarak; lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroz gelişiminde önemli bir faktördür. Bu nedenle sigara içen KAH'larında sigara içmeyen KAH'larına göre non-HDL fraksiyonunun oksidasyona duyarlılığındaki artış ("lag-time"ın kısalması) ile lipid peroksidasyon ürünü olan plazma MDA düzeylerindeki artışın ve beraberinde antioksidan etkili vitamin düzeylerindeki azalmanın daha belirgin olması, sigara ile ateroskleroz gelişimi arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Özellikle erkek KAH'larında daha belirgin olmak üzere, bu olgular sigara kullanımı ile antioksidanlar arasında saptanan anlamlı negatif korelasyonlar nedeniyle E vitamini ve karoten preparatı kullanımından ya da bu vitaminlerden zengin diyet alımından fayda sağlayabilirler.

## KAYNAKLAR

1. Chiu H, Jeng J, Shieh S. Increased oxidizability of plasma low density lipoprotein from patients with coronary artery disease. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1225: 200-8.
2. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K. Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers. *Int J Exp Pathol* 1991; 72: 1-7.
3. Siekmeier R, Wülfroth P, Wieland H, et al. Low density lipoprotein susceptibility to in vitro oxidation in healthy smokers and non-smokers. *Clin Chem* 1996; 42 (4): 524-30.
4. Scheffler E, Wiest E, Woehle J, et al. Smoking influences the atherogenic potential of low density lipoprotein. *Clin Invest* 1992; 70: 263-8.
5. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. *N Engl J Med* 1995; 332: 1198-203.
6. Brown KM, Morrice PC, Duttie GG. Vitamin E supplementation suppresses indexes of lipid peroxidation and platelet counts in blood of smokers and nonsmokers but plasma lipoprotein concentrations remain unchanged. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 383-7.
7. Marangon K, Herbeth B, Arthur Y, et al. Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper-induced oxidation are not notably modified in smokers. *Clin Chim Acta* 1997; 1-12.

8. Eiserich JP, Vliet A, Handelman GJ, Halliwell B, Cross CE. Dietary antioxidants and cigarette smoke - induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (suppl): 1490-500.
9. Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1061-63.
10. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88:1785-92.
11. Leone A, Mori L, Bertanelli F, et al. Indoor passive smoking: its effect on cardiac performance. *Int J of Cardiol* 1991; 33: 247-52.
12. Craig WX, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *Br Med J* 1989; 298: 784-8.
13. Kardinaal FM, Ringstad J, Aracena JG, et al. Antioxidants in adipose tissue and risk of myocardial infarction: the Euramic study. *Lancet* 1993; 342: 1379-84.
14. Anderson HR, Nielsen JB, Nielsen F, Grandjean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1997; 43 (4): 562-8.
15. Paolisso G, Gambardella A, Giugliano D, et al. Chronic intake of pharmacological doses of vitamin E might be useful in the therapy of elderly patients with coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 848-52.
16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low - density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6): 499-502.
17. Varley H. Vitamins. In: Varley H, Gowenlock AH, Bell M, eds. *Practical Clinical Biochemistry, Hormones, Vitamins, Drugs and Poisons*. London: William Heinemann Medical Books Ltd. 1976: 2: 222-3.
18. McCormick DB, Greene HL. Vitamins. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: Saunders. 1994: 1280-83.
19. Naito C, Kawamura M, Yamamoto Y. Lipid peroxides as the initiating factor of atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci* 1993; 676: 27-45.
20. Zhang A, Vertommen J, Van Gaal L, De Leeuw I. A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low-density-lipoprotein and very-low-density lipoprotein to copper-catalyzed oxidation. *Clin Chim Acta* 1993; 227: 159-73.
21. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. *Jama* 1990; 264 (23): 3047-52.
22. Baykal Y, Tüzün A, Kocabalkan F. Aterosklerozun patogenezi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1998; 18 (6): 360-8.
23. Brown KM, Morrice PC, Arthur JR, Duthie GG. Effects of vitamin E supplementation on erythrocyte antioxidant defence mechanisms of smoking and non-smoking men. *Clin Science* 1996; 91: 107-11.
24. Euler DE, Dave SJ, Guo H. Effect of cigarette smoking on pentane excretion in alveolar breath. *Clin Chem* 1996; 42 (2): 303-8.
25. Do BQ, Garewal HS, Clements NC, Peng Y, Habib MP. Exhaled Ethane and antioxidant vitamin supplements in active smokers. *Chest* 1996; 110: 159-64.
26. Hashino E, Shariff R, Gossum AV, et al. Vitamin E suppresses increased lipid peroxidation in cigarette smokers. *J Parenteral and Enteral Nutr* 1990; 14: 300-5.
27. Jialal I, Deveraj S. Low density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem* 1996; 42 (4): 408-506.
28. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of lifestyle factors. *Clin Chem* 1997; 43 (7): 1209-14.
29. Attila G, Yıldız Ş, Aksoy K. Association between cigarette smoking and lipid peroxidation. *The First International Biosciences Days. Abstract Book* 1999; 502.
30. Gültekin F, Gökdoğan A, Akdoğan M ve ark. Sigara içenlerde antioksidan savunma sistemindeki değişimler. *The First International Biosciences Days. Abstract Book* 1999; 515.
31. Kutuban S.Z, Önder E, Uydu H.A ve ark. Sigaranın serum lipid, lipoprotein ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerinin araştırılması. *The First International Biosciences Days. Abstract Book* 1999; 542.
32. Keith M, Geranmayegan A, Sole MJ, et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardio* 1998; 31: 1352-56.
33. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, et al. Oxidized LDL and malondialdehyde - modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* 1998; 98:1487-94.
34. O'Keefe JH, Lavie CJ, McCallister BD. Insights into the pathogenesis and prevention of coronary artery disease. *Mayo Clin Proc* 1995; 70: 60-79.
35. Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y, et al. Effect of vitamin C and E supplementation on susceptibility of plasma lipoproteins to peroxidation induced by acute smoking 1990; 85: 47-54.
36. Abbey M, Nestel PJ, Baghurst PA. Antioxidant vitamins and low density lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 525-32.
37. Jialal I, Grundy SM. Effect of combined supplementation with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbate, and beta-carotene on low density lipoprotein oxidation. *Circulation* 1993; 88: 2780-86.
38. Brown KM, Morrice PC, Duthie GG. Erythrocyte vitamin E and plasma ascorbate concentrations in relation to erythrocyte peroxidation in smokers and nonsmokers: dose response to vitamin E supplementation. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 496-502.



39. Anderson R. Assessment of the roles of vitamin C, vitamin E, and b-carotene in the modulation of oxidant stress mediated by cigarette smoke-activated phagocytes. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:358-61.
40. Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CA, et al. Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E and carotene. *Lancet* 1991; 337: 1-5.
41. Singh RB, Ghosh S, Niaz MA, et al. Dietary intake, plasma levels of antioxidant vitamins, and oxidative stress in relation to coronary artery disease in elderly subjects. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1233-38.
42. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, et al. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328: 1450-56.
43. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, et al. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1993; 328: 1444-49.
44. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044: 275-83.
45. Regnström J, Nilsson J, Tornvall P, et al. Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339: 1183-86.
46. Moriguchi EH, Fusegawa Y, Tamachi H, Goto Y. Effects of smoking on HDL subfractions in myocardial infarction patients: effects on lecithin-cholesterol acyltransferase and hepatic lipase. *Clin Chim Acta* 1990; 195:39- 44.