

Ratlarda Total Vücut Gama Radyasyonu Uygulamasına Bağlı Plazma Lipid Peroksidasyonu

PLASMA LIPID PEROXIDATION RELATED WITH
WHOLE-BODY GAMMA-IRRADIATION IN RATS

Serdar YARDIMCI*, M Cem KOÇKAR**, Neşe KÖKSAL***,
Mustafa CENGİZ****, Tuncay DELİBAŞI**, Sema YAVUZER*****

* Doç.Dr.Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD,

** Dr.Ankara Numune Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği,

*** Dr.Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD,

**** Dr.Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi ABD,

***** Prof.Dr.Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD, ANKARA

ÖZET

Bu çalışmada, ratlara total vücut radyasyonu uygulamasının plazma lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri araştırıldı. Radyasyon uygulamasının lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırmak için deney grubunda yer alan erkek Wistar ratlara (n:12) tek doz 5-Gy gama-radyasyon uygulandı. Her 100 g vücut ağırlığı başına 2 cc kan örnekleri uygulamalar öncesi intrakardiyak yolla alındı. Plazma lipid peroksidasyonu malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü ile değerlendirildi. Plazma MDA konsantrasyonları Yoshioka ve arkadaşlarının tarif ettiği metod ile ölçüldü. Yalancı uygulama yapılan gruptaki ratlara radyasyon verilmeden benzer işlemler uygulandı. Uygulamalardan sonra 10. günde her iki grupta ölçümler tekrarlandı. Deney grubunda ortalama plazma MDA düzeyleri radyasyon öncesi ve sonrası sırasıyla 3.5 ± 1.7 nmol/ml ve 30.9 ± 7.2 nmol/ml olarak bulundu. Yalancı uygulama yapılan gruptaki ratların ilk ve son değerleri ise sırasıyla 3.3 ± 1.6 nmol/ml ve 8.5 ± 1.8 nmol/ml olarak tespit edildi. Her iki gruptaki başlangıç ve sonuç değerleri arasındaki farklar önemli bulundu. Fakat, radyasyon uygulanmış ratların 10. gün değerleri yalancı uygulama yapılan ratların son değerlerinden önemli derecede daha yüksekti. Yalancı uygulama yapılan gruptan elde edilen yüksek MDA düzeylerinin akut kan kaybı sonucu gelişen hipoksiye ve/veya anesteziye bağlı olabileceği düşünüldü. Bizim sonuçlarımız tek doz tüm vücut gama radyasyonu uygulamasının lipid peroksidasyona neden olduğunu gösterdi. Artmış plazma lipid peroksidasyonunun yüksek doz radyasyon uygulaması sonucu organizmada ortaya çıkan zararlı etkilerin bir göstergesi olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Gama-radyasyon, Radyasyon hasarı, Radyoterapi, Lipid peroksidasyonu, Malondialdehid

T Klin Tıp Bilimleri 1996, 16:434-436

Biyomembranlarda ve lipoprotein moleküllerinde bulunan doymamış yağ asitleri ve kolesterol birçok zarar-

Geliş Tarihi: 24.07.1996

Yazışma Adresi: Dr.Serdar YARDIMCI
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji ABD, ANKARA

SUMMARY

In this study, the effects of whole body irradiation on plasma lipid peroxidation of rats were investigated. To examine the effects of irradiation on the level of lipid peroxidation products, male Wistar rats in experimental group (n:12) were exposed to 5-Gy of single dose external gamma-radiation. Blood samples (2 cc/100 g body weight) were taken by intracardiac puncture before the exposures. Plasma lipid peroxidation was evaluated by the measurement of malondialdehyde (MDA) levels. Concentrations of plasma MDA were assayed by the method described by Yoshioka et al. Sham-exposed rats (n:12) were subjected to the identical manipulation procedure without irradiation. At the 10th day after the exposures, the measurement were repeated in both groups. In the experimental group, means level of plasma MDA were found to be 3.5 ± 1.7 nmol/ml and 30.9 ± 7.2 nmol/ml pre- and postirradiation respectively. Initial and latter values of sham-exposed rats were 3.3 ± 1.6 nmol/ml and 8.5 ± 1.8 nmol/ml respectively. The differences between the initial and latter levels of both groups were statistically significant, but 10th day levels of irradiated rats were significantly higher than the latter values of sham-exposed rats. The increased MDA levels obtained from sham-exposed rats might be due to hypoxia induced by acute blood loss and/or to anesthesia. Our results demonstrated that single dose whole-body gamma-irradiation caused lipid peroxidation. It was considered that increased plasma lipid peroxidation might be an indicator of high doses of irradiation-induced deleterious effects in organisms.

Key Words: Gamma-radiation, Radiation injury, Radiotherapy, Lipid peroxidation, Malondialdehyde

T Klin J Med Sci 1996, 16:434-436

lı fiziksel ve kimyasal etkenler ile lipid peroksidasyon ürünlerine dönüşebilmektedirler. Lipid peroksidasyonuna yol açan fiziksel etkenler içinde, iyonize radyasyon, yüksek ısı kimyasal etkenler içinde ise, organik çözücüler, pestisitler, alkilleyici ajanlar, sigara dumanı, alkol ve hipoksi sayılabilir. Bu faktörler organizmada serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açmakta ve lipid peroksidasyonunun oluşmasına aracılık etmektedir (1-11). Okside olmuş

plazma lipid ve lipoproteinleri dokulara geçtikleri zaman kolaylıkla metabolize edilemeyip birikme eğilimi göstermektedirler. Arter duvarında biriken lipid peroksidasyon ürünleri çok zor metabolize edilebildikleri için uzun dönemde ateroskleroz gelişiminde önemli bir rol üstlenmektedirler (12-14). Ayrıca membran yapılarında yer alan lipid ve kolesterol moleküllerinin peroksidasyonu sonucu membranlarda önemli yapısal değişiklikler oluşmakta, bunun sonucu iyon ve enerjetik maddelerin membranlardan transportu olumsuz yönde etkilenebilmektedir (13,14). Bu nedenle hiperlipidemik veya hiperkolesterolemik kişilerde insidansı artan aterosklerotik kalb damar hastalıkları, sigara içenlerde daha sık görülen kronik obstrüktif akciğer hastalıkları ve kronik alkol kullanımı ile insidansı artan hepatit, siroz, pankreatit gibi birçok önemli hastalığın gelişiminde oksijen radikallerinin ve lipid peroksitlerin yol açtığı doku hasarı önemli bir etken olarak görülmektedir (4,8,14). Yüksek doz iyonize edici radyasyon sonucu organizmada meydana gelen doku hasarına yine serbest radikallerin aracılık ettiği ka-bul edilmektedir (5,7,9,15). Günümüzde de yüksek doz iyonize edici radyasyondan zarar gören dokularda biriken lipid peroksidasyon ürünlerinin doku zedelenmesinin bir sonucu mu yoksa zedelenmeye aracılık eden bir mekanizma mı olduğu hala tartışma konusudur (7,9). Nitekim hayvan deneylerinde iyonize radyasyon dozu arttıkça dokulardaki lipid peroksidasyon ürünü konsantrasyonların da arttığı bildirilmiştir (7). Bu nedenle radyasyon sonrası üretimleri artan lipid peroksitlerin primer olarak radyasyona duyarlı dokulardan kaynaklandıkları kabul edilmektedir. Diğer taraftan iyonize edici radyasyonun plazma lipid ve lipoproteinlerinde de peroksidasyona yol açan bir etkisi olabileceği düşünülmüştür (9). Ancak günümüze kadar bu konu üzerinde yapılan çalışma sayısı sınırlı kalmıştır. Bu deneysel çalışmada ratlara tüm vücut yüksek doz iyonize radyasyon uygulamasının plazma lipid peroksidasyon düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

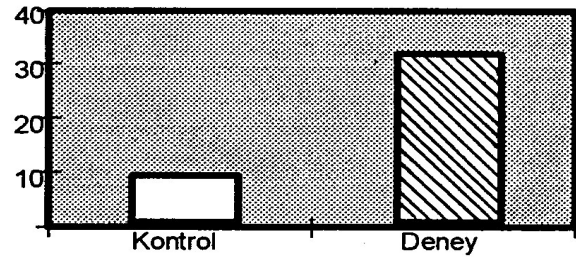
MATERYEL VE METOD

Bu çalışmada 24 adet 10-12 haftalık erkek albino rat kullanıldı. Deney hayvanları random usulü ile kontrol ve radyasyon uygulanan deney gruplarına ayrıldı. Her iki gruptaki ratlar laboratuvar şartlarında tutularak sadece standart rat yemi ve saf su ile beslendiler. Her iki gruptaki ratlardan intraperitoneal pentotal anestezisi (30 mg/kg) altında intrakardiyak yolla kan örnekleri (2 cc/100 g vücut ağırlığı oranında) heparinize tüplere alındı. Bu işlemi takiben deney grubundaki (n:12). ratlar sırt üstü yatar pozisyonda fikse edilerek 4 dakika süre içinde tek doz 5-Gy tüm vücut gama ışınlarına (Teratron 1000 C, Ontario Canada, 1.02 MV, Output: 1.25 Gy/dakika) maruz bırakıldı. Kontrol grubu ratlar (n:12) ise aynı şekilde anesteiz edildikten sonra radyasyon uygulanmadan alet altında tutuldular. Alınan kan örnekleri dk'da 4000 devirde santrifüj edilerek, plazmaları ayrıldı. Daha sonra Yoshioka'nın metodu kullanılarak bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyi spektrofo-

Tablo 1. Kontrol ve radyasyon uygulanan deney grubu ratların radyasyon uygulama öncesi ve uygulama sonrası 10. gündeki plazma MDA konsantrasyonları

	Uygulama öncesi MDA Düzeyi (nmol/ml)	Uygulama sonrası 10. Gün MDA düzeyi (nmol/ml)	Grup içi 1. ve 2. ölçümlerin karşılaştırılması
Kontrol grubu (n:12)	3.3±1.6	8.5±1.8	p<0.05
Radyasyon uygulanan deney grubu (n:12)	3.5±1.7	30.9±7.2	p<0.05
Grup arası karşılaştırma	önemsiz	p<0.05	

Plazma MDA düzeyi (nmol/ml)



Şekil 1. Kontrol ve radyasyon uygulanan deney grubu ratların 10.gündeki plazma MDA düzeyleri.

tometik yöntemle ölçüldü (8). Uygulamaları takiben 10. günde her iki gruptaki hayvanlardan kan örnekleri tekrar alınarak plazma MDA ölçümleri tekrarlandı. Her iki gruptan elde edilen ölçümlerin ortalama değerleri ± standart sapmaları hesaplandı. İstatistiksel değerlendirmelerde Wilcoxon matched pairs signed ranks ve Mann Whitney U test kullanıldı.

BULGULAR

Tablo 1'de kontrol grubu ve radyasyon uygulanan deney grubundaki ratların uygulama öncesi ve 10 gün sonrası plazma MDA düzeyleri görülmektedir. Tablo 1'den anlaşıldığı üzere her iki gruptaki hayvanların başlangıçtaki ortalama MDA düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı değildi. Her iki grupta uygulama sonrası 10. günde ise plazma MDA düzeyleri önemli derecede yükselmişti. Ancak, uygulama öncesi ve sonrası değerler kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman radyasyon uygulanan gruptan elde edilen ölçümlerin kontrol grubu değerlerine göre önemli derecede yüksek olduğu dikkati çekti (Şekil 1) (p<0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada yüksek doz tüm vücut radyasyon uygulamasının ratların plazma MDA düzeyinde %883'lük bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Nitekim sadece kan alımı ve yalancı uygulama yapılarak takip edilen kontrol grubunda da %243'lük bir artış olduğu görülmektedir. Her iki gruptaki artış da istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur ($p < 0.05$). Ancak radyasyon uygulanan gruptaki artış kontrol grubuna göre yaklaşık 3.5 kat fazladır. Sians ve arkadaşları (1990) tek doz gama radyasyonuna maruz bıraktıkları ratların serumlarında lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığına işaret etmişlerdir (9). Przybszewski ve arkadaşları radyasyon uygulaması sonrası artan plazma lipid peroksit ürünlerinin radyasyonun neden olduğu doku zedelenmesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (9). Malondialdehit konsantrasyonunun tespiti, lipid pe-roksidasyon düzeyini ölçmek için en sık kullanılan testlerden biridir (12). Lipid peroksitlerin başlıca kaynağının hücresel membranlar olduğu kabul edilmektedir (15). Bu nedenle radyasyon sonrası üretimleri artan lipid peroksitlerin esas olarak radyasyona duyarlı dokulardan kaynaklandığı düşünülmüştür (12). İyonize edici radyasyon uygulaması sonrası organizmada serbest radikaller üretilmektedir (7,15). Oksijen radikalleri hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu aracılığıyla lipid peroksitlerin üretimine nede olmaktadır. Diğer taraftan plazma lipoproteinlerinin de içerdikleri doymamış yağ asitleri nedeniyle peroksidasyona karşı hassas oldukları bilinmektedir (13,14). Bu nedenle plazma lipoproteinleri radyasyon sonrası plazmada konsantrasyonları artan lipid peroksitlerin önemli bir kaynağı olabilir. Bu çalışmada plazma MDA ölçümleri için her iki gruptan da (total kan volümünün yaklaşık %30'u kadar) oldukça fazla miktarda kan örneği alınmıştır. Bu nedenle kontrol grubunda görülen MDA artışının akut kan kaybı sonucu gelişen hipoksiye ve/veya anestezi işlemine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bilindiği gibi hipoksik koşullarda özellikle damar endotelinde bulunan ksantin oksidaz serbest radikallerin üretimine aracılık etmektedir (1-3,4,8). Bu nedenle akut kan kaybı sonucu üretimleri artan oksijen radikalleri plazma lipid ve lipoproteinlerin peroksidasyonlarına yol açabilir. Radyasyon uygulanan deney grubundaki çok daha yüksek plazma MDA düzeyleri ise kan alınımına ilaveten radyasyonun da lipid peroksidasyonu artırıcı önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan radyasyon sonucu artan lipid peroksitlerin dokularda birikerek hücre, doku ve organlar üzerindeki zararlı etkilerini artırabileceği bildirilmiştir (3-5,7,9). Bizim verilerimiz, tüm vücut yüksek doz iyonize edici radyasyonun plazma lipid peroksidasyonunu artırıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Radyasyon sonrası plazmada konsantrasyonu artan lipid peroksitlerin başlıca kaynağını araştırmak için lokal radyasyon uygulamalarının etkilerinin değerlendirileceği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle gelecek çalışmalarımızda in vitro radyasyon uygulamasının doku düzeyindeki lipid peroksidatif etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. In: Armstrong D. Free radicals in diagnostic medicine. Newyork: Plenum Press, 1994: 17-27.
2. Armstrong D, Browne R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. In: Armstrong D. Free radicals in diagnostic medicine. Newyork: Plenum Press, 1994: 43-58.
3. Yağı K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Armstrong D. Free radicals in diagnostic medicine. Newyork: Plenum Press, 1994: 1-15.
4. Yağı K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases. In: Armstrong D. Free radicals in diagnostic medicine. Newyork: Plenum Press, 1994: 165-9.
5. Gyorge I, Antus S, Blazovics A, Foldiak G. Substituent effects in free radical reactions of slybin; radiation-induced oxidation of the flavonoid at neutral pH. Int J Radiat Biol 1992; 61:603-9.
6. Cadenas E, Sies H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. Newyork: Academic Press, 1984: 217-37.
7. Przybyszewski WM, Widel M, Koterbicka A. Early peroxidizing effects of myocardial damage in rats after gamma-irradiation and farmorubicin (4-epidoxorubicin) treatment. Cancer Let 1994; 81:185-92.
8. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanisms against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135:372-5.
9. Rejholcova M, Wilhelm J. Time course of lipolytic activity and lipid peroxidation after whole-body gamma-irradiation of rats. Radiat Res 1989; 117:21-5.
10. Pryor WA. Oxy-radicals and related species; Their formation, lifetimes and reactions. Am Rev Physiol 1986; 48:657-67.
11. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. Chemistry Physics Lipids 1987; 44:227-53.
12. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. Br J Exp Path 1989; 70:737-57.
13. Hubbard RW, Ono Y, Sanchez A. Atherogenic effects of oxidized products of cholesterol. Prog Food Nutr Sci 1989; 13:17-44.
14. Luc G, Fruchart JC. Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. Am J Clin Nutr 1991; 53:2065-95.
15. Bienvenu P, Herodin F, Fatome M, Kergonou JF. Antioxidant effects in radioprotection. In: Emerit I. Antioxidants in therapy and preventive medicine. Newyork: Plenum Press, 1990: 291-300.