

ERİŞKİN ERKEK RATLARDA TOTAL VÜCUT GAMA RADYASYONU UYGULAMASININ PLAZMA LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Serdar Yardımcı* • M. Cem Koçkar** • Kadirhan Sunguroğlu*** • Mustafa Tüz**** • Mustafa Cengiz*****
Tuncay Delibaşı** • Sema Yavuzer*

ÖZET

Bu çalışmada, iyonize radyasyon uygulamasına bağlı plazma lipid profilindeki değişiklikler araştırıldı. Bu amaçla deney grubundaki erişkin erkek ratlara gama ışını uygulandı (tek doz 5-Gy). Sham-grubundaki ratlara radyasyon verilmeden benzer işlemler uygulandı. Uygulamadan önce ve on gün sonra plazma total kolesterol, total lipid, trigliserid, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol düzeyleri ölçüldü. Her iki grubun başlangıç değerleri arasında önemli farklılıklar bulunmadığı saptandı. Yalancı uygulamadan sonra 10. günde lipid profili kontrol grubunun başlangıç değerlerinden farklı değildi. Radyasyon uygulanan ratlarda, plazma total kolesterol, total lipid, trigliserid, plazma VLDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri önemli ölçüde artmış, HDL-kolesterol düzeylerinde ise önemli değişiklikler olmamıştı. Yakın tarihlerde yapılan çalışmalarda; yüksek dozlarda iyonize edici radyasyonun insanlarda ve deney hayvanlarında çeşitli mekanizmalar ile ateroskleroz gelişimini hızlandırıcı bir etkiye neden olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda yüksek doz radyasyonun aracılık ettiği damar endoteli ve düz kas hasarı ile lipid metabolizması ve plazma lipid profilinde görülebilecek değişiklikler tarif edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları da tek ve yüksek doz gama radyasyon uygulamasının ratlarda plazma lipid profilini önemli derecede değiştirebildiğini ortaya koymaktadır. Bizim bulgularımız Çernobil kazasında aşırı doz iyonize radyasyona maruz kalan kişilerden elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Gama radyasyon, radyasyon hasarı, radyoterapi, lipoproteinler, hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, rat.

SUMMARY

'Effects of Whole-Body Gamma-Irradiation on Plasma Lipid Profiles in Adult Male Rats'

In this study, the changes in plasma lipid profiles related with ionizing irradiation were investigated. For this purpose, adult male rats in experimental group were exposed to gamma-radiation (single external 5-Gy dose). Sham-exposed rats were subjected to the identical manipulation procedure without irradiation. Before and 10 days after the exposures, levels of plasma total cholesterol, total lipid, triglycerides, VLDL-cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol were determined. The differences between initial parameters of both groups were not significant. At the 10th day after the sham-exposure, lipid profiles were not significantly different from the initial values of sham-control groups. In irradiated rats, levels of plasma total cholesterol, total lipid, triglycerides, plasma VLDL-cholesterol and LDL-cholesterol were increased and levels of HDL-cholesterol levels did not change significantly. Recent studies have been suggested that high doses of ionizing irradiation causes the acceleration of atherosclerosis by the several mechanisms in humans and experimental animals. In these studies; it has been postulated that high doses of irradiation induces the injuries of endothelial and smooth muscle cells and the changes in plasma lipid profile. Result of present investigation demonstrated that single high dose of gamma-irradiation caused significantly changes in plasma lipid profiles. Our data were similar to the results obtained from the individuals exposed to excessive ionizing radiation in Chernobyl disaster.

Key Words: Gamma radiation, radiation injury, radiotherapy, lipoproteins, hyperlipidemia, hypercholesterolemia, male rats.

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojoloji A.B.D.

** Ankara Numune Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği

*** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya A.B.D.

**** Ankara Onkoloji Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği

***** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi A.B.D.

İyonize edici radyasyon yüksek dozlarda uygulandığı zaman pek çok sistem, organ ve doku üzerinde toksik etkilere neden olarak organizmaya çeşitli zararlar vermektedir. Günümüze kadar hematopoitik, gastrointestinal ve santral sinir sistemleri üzerindeki zararlı etkiler geniş bir şekilde çalışılmış ve bu konularda ayrıntılı veriler elde edilmiştir. İyonize edici radyasyonun dolaşım sistemi üzerine etkileri ise çok daha az sayıda çalışma ile ele alınmış olduğundan bu konudaki veriler sınırlı düzeyde kalmıştır (1-3). Nitekim mevcut çalışma sonuçları yüksek doz iyonize edici radyasyona maruz kalan kişilerde kalp damar hastalıklarının daha yaygın bir biçimde görülebileceğine işaret etmektedir (2). Hiperkolesterolemi ve hiperlipideminin ateroskleroz etyopatogenezinde rol oynayan önemli birer faktör olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu nedenle kan kolesterol ve lipid düzeyleri çeşitli faktörlere bağlı olarak artmış olan kişilerde aterosklerotik kalp damar hastalığı insidansı da yüksek bulunmaktadır (4-10). Çernobil kazasında olduğu gibi yüksek doz iyonize edici radyasyona maruz kalmış kişilerden elde edilen veriler, radyasyonun da kan lipid profili üzerinde önemli değişikliklere sebep olabileceğini göstermiştir (2). Ancak bu konuda genel bir fikir birliği oluşturacak kadar veri henüz elde edilmiş değildir. Bu deneysel çalışma yüksek doz iyonize edici radyasyonun kısa dönemde kan lipid profili üzerinde yapacağı etkileri araştırmak üzere planlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada kullanılan 24 adet 10-12 haftalık erkek albino rat, kontrol (n:12) ve deney (n:12) gruplarını oluşturmak üzere 2 gruba ayrıldı. Tüm hayvanlar araştırma süresince standart laboratuvar koşullarında tutularak sadece tablet yem ve deiyonize su ile beslendiler. Her iki gruptaki ratlardan intraperitoneal yolla uygulanan pentotal (30 mg/kg) anesteziyi takiben intrakardiyak yolla heparinize tüplere kan örnekleri alındı. Bu işlemi takiben deney grubundaki ratlara sırt üstü yatar pozisyonda fiksasyonu takiben 5-Gy dozda tüm vücut gama ışını uygulandı. Kontrol grubundaki ratlar ise fikse edildikten sonra cihaz altına yerleştirildiler ancak radyasyon uygulamasına maruz bırakılmadılar. Her iki uygulamayı takiben onuncu günlerde tüm deney hayvanlarından kan alma işlemi tekrarlandı. Birinci ve ikinci kan alma işlemlerini takiben elde edilen örnekler 4000 devir/dk 'da santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Elde edilen plazmalardan total kolesterol, total lipid, trigliserid, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve

HDL-kolesterol düzeyleri ölçüldü. Total kolesterol, kolesterol oksidaz (Trinder) metodu kullanılarak Stanbio kiti ile; total lipid, fosfovanilin metodu ile; trigliserid, gliserilfosfat oksidaz metodu kullanılarak Stanbio kiti ile; HDL-kolesterol, magnezyum klorid/dekstran sulfat presipitasyon yöntemi kullanılarak Stanbio kiti ile spektrofotometrik olarak ölçüldüler. LDL-kolesterol konsantrasyonları Friedewold hesaplamasıyla, VLDL-kolesterol ise trigliserid/5 şeklinde hesaplanarak bulundu. Bu metodların insan lipid değerlerine göre ayarlanmış olmasından dolayı meydana gelebilecek sapmalar hem kontrol hem de deney grubunu aynı şekilde etkilediği düşünülenerek gözardı edildi.

Her bir grupta birinci ve ikinci ölçümlerin ortalama değerleri \pm standart sapmaları hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Mann-Whitney U test ve Wilcoxon matched-pairs signed ranks test kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Tablo 1-5'de kontrol ve radyasyon uygulanan deney grubunun uygulama öncesi ve uygulama sonrası 10. gündeki sırasıyla plazma total kolesterol, trigliserid, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerinin ortalama değerleri \pm standart sapmalar verilmiştir. Her bir grubun iki farklı ölçümü arasındaki farklar ile kontrol ve deney grubu arasındaki farkların istatistiksel karşılaştırma sonuçları görülmektedir.

Tablo 1. Kontrol ve Deney Grubu Ratların Uygulama Öncesi ve Sonrası Plazma Total Kolesterol Düzeyleri (Ortalama Değer \pm Standart Sapma) Ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları. Grup İçi Birinci ve İkinci Ölçümlerin Karşılaştırılmasında Wilcoxon Matched Pairs Signed Ranks Test, Gruplar Arası Karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney U Test Kullanılmıştır.

	Uygulama Öncesi mg/dl	Uygulama Sonrası mg/dl	Grup içi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	47.5 \pm 7.2	47.3 \pm 5.2	önemsiz
Radyasyon Uygulanan Deney Grubu (n:12)	47.0 \pm 7.9	73.2 \pm 14.0	p<0.05
Gruplar Arası Karşılaştırma	önemsiz	p<0,05	

Tablo 2. Yalancı Uygulama Yapılan Kontrol Grubundaki Ve Radyasyon Uygulanan Deney Grubundaki Ratların Plazma Total Lipid Düzeylerinde Görülen Değişiklikler (Ortalama Değer ± Standart Sapma).

	Uygulama Öncesi (mg/dl)	Uygulama Sonrası (mg/dl)	Grup İçi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	225.6 ± 3.8	213.8 ± 22.3	önemsiz
Deney Grubu (n:12)	222.6 ± 24.6	263.4 ± 28.5	p < 0.05
Gruplar arası karşılaştırma	önemsiz	p < 0.05	

Tablo 3. Radyasyon Uygulaması Öncesi Ve Radyasyon Uygulamasını Takiben 10. Günde Ölçülen Plazma Trigliserid Düzeyleri Ve Karşılaştırılması. (Ortalama Değer ± Standart Sapma)

	Uygulama Öncesi (mg/dl)	Uygulama Sonrası (mg/dl)	Grup İçi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	40.3±14.5	36.6±11.8	önemsiz
Radyasyon Uygulanan Deney Grubu (n:12)	38.3±12.0	60.9±14.3	p < 0.01
Gruplar Arası Karşılaştırma	önemsiz	p < 0,05	

Tablo 4. Radyasyon Uygulaması Öncesi Ve Radyasyon Uygulamasını Takiben 10. Günde Ölçülen Plazma VLDL-Kolesterol Düzeyleri Ve Karşılaştırılması. (Ortalama Değer ± Standart Sapma)

	Uygulama Öncesi (mg/dl)	Uygulama Sonrası (mg/dl)	Grup İçi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	8.1 ± 2.9	7.3 ± 2.3	önemsiz
Radyasyon Uygulanan Deney Grubu (n:12)	7.7 ± 2.4	12.1 ± 3.0	p<0.01
Gruplar Arası Karşılaştırma	önemsiz	p<0.05	

Tablo 5. Radyasyon Uygulaması Öncesi Ve Radyasyon Uygulamasını Takiben 10. Günde Ölçülen Plazma LDL-Kolesterol Düzeyleri Ve Karşılaştırılması (Ortalama Değer ± Standart Sapma).

	Uygulama Öncesi (mg/dl)	Uygulama Sonrası (mg/dl)	Grup İçi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	15.6 ± 6.7	17.3 ± 6.9	önemsiz
Deney Grubu (n:12)	14.9 ± 6.1	32.6 ± 5.4	p < 0.05
Gruplar Arası Karşılaştırma	önemsiz	p < 0.05	

Tablo 6. Radyasyon Uygulaması Öncesi Ve Radyasyon Uygulamasını Takiben 10. Günde Ölçülen Plazma HDL-Kolesterol Düzeyleri Ve Karşılaştırılması. (Ortalama Değer ± Standart Sapma).

	Uygulama Öncesi (mg/dl)	Uygulama Sonrası (mg/dl)	Grup İçi 1. ve 2. Ölçümlerin Karşılaştırılması
Kontrol Grubu (n:12)	23.8 ± 5.6	22.6 ± 3.7	önemsiz
Radyasyon Uygulanan Deney Grubu (n:12)	24.5 ± 5.7	28.5 ± 6.5	önemsiz
Gruplar Arası Karşılaştırma	önemsiz	önemsiz	

Sonuçlar incelendiğinde radyasyon uygulanan grubun plazma total kolesterol, total lipid, trigliserid, plazma VLDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinde önemli derecede artışlar olduğu görülmüştür. Radyasyon grubunun HDL-kolesterol düzeylerinde de artışlar olduğu görülmekle birlikte fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yalancı uygulama yapılan kontrol grubunda ise 1. ve 2. ölçümler arasında önemli farklılıkların olmadığı dikkati çekmektedir. Radyasyon uygulanan grubun 10. gün değerleri ile kontrol grubunun 10. gün değerleri karşılaştırıldığında radyasyon uygulanan grubun total kolesterol, total lipid, trigliserid, LDL-kolesterol düzeyleri önemli derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar da radyasyon uygulamasının kan kolesterol

ve lipid düzeylerinde önemli artışlara neden olduğunu göstermektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Uygulama sonrası deney grubu ratlarda görülen plazma lipid profili değişiklikleri yüksek doz iyonize radyasyonun plazma total kolesterol, total lipid, trigliserid, VLDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerini önemli derecede artırıcı bir etkiye neden olduğuna işaret etmektedir. Radyasyon grubunda tespit edilen HDL-kolesterol düzeylerindeki artışlar ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Nitekim, farkların önemli olmayışı değerlendirmeye alınan denek sayısının sınırlı olmasına bağlı olabilir.

Çernobil kazası sonucu akut radyasyon hastalığına yakalanan kişilerde hiperlipidemi tespit edilmiştir. Bu kişilerde görülen plazma total kolesterol ve trigliserit düzeylerindeki yüksekliklerin radyasyon sonrası 3. yılda bile devam etmesi bu kişilerin aterogenez açısından yüksek risk taşıdıklarını düşündürmüştür (2).

Chaialo ve arkadaşları; ratlara tek doz 3-Gy gama ışını uygulamasını takiben 30. günde hiperlipidemik etkiyi gözlemişlerdir. Radyasyon uygulaması sonucu üretilen serbest radikallerin lipoprotein partiküllerinin yüzeyindeki iyonik gruplarda potansiyel değişikliklere neden olduğu ve bu etkinin de hiperlipidemi gelişiminde rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (1).

Xu ve arkadaşları kültür ortamında arteriyel endotel ve düz kas hücrelerinin ultraviyole ışınlar maruz bırakıldıkları zaman hücre içine düşük dansiteli lipoproteinlerin alımında artış olduğunu bildirmişlerdir (10). Ultraviyole ışınlanması sonrası endotel hücrelerinde görülen hasarın ve damar duvarında

LDL-kolesterol birikiminin ateroskleroz gelişimine aracılık edebileceği düşünülmüştür. Günümüzde gerek ultraviyole ışınlarının gerekse yüksek enerjili radyasyonun oksijen radikali üretimi ile dokulara zarar verdiği bilinmektedir. Bununla birlikte dokulara penetrasyon yeteneği çok daha yüksek olan gama ışınlarının in vivo koşullarda damar endotel hücrelerine zarar vermesi ihtimali çok daha kuvvetli görülmektedir.

Chirkin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise 0.5-Gy gibi nispeten daha düşük dozlarda radyasyon uygulanan ratlarda karaciğer ve serum kolesterol düzeylerinde azalma olduğu da bildirilmiştir (3). Bu sonuçlar ile nispeten düşük dozlarda uygulanan iyonize radyasyonun, serum kolesterol düzeyleri üzerinde azaltıcı bir etki yapabileceğine dikkat çekilmiştir. Bu çalışmada karaciğer ve serum lesitin asetil kolesterol transferaz düzeyleri de ölçülmüş ve bu enzim düzeyinde görülen artışın 0.5-Gy'lik dozda radyasyon uygulamasının neden olduğu karaciğer ve serum kolesterol düzeylerindeki azalışa aracılık edebileceği ileri sürülmüştür. Mammafi daha yüksek dozlarda bu etkinin görülmediği de bildirilmiştir. Bu sonuçlar iyonize radyasyonun plazma lipid profili üzerindeki etkilerinin doza bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini düşündürmektedir (3).

Günümüze kadar elde edilen sınırlı veriler özellikle çok yüksek dozlarda iyonize radyasyonun plazma lipid, kolesterol düzeylerinde artırıcı bir etki yapabileceği üzerinde yoğunlaşmaktadır (1-3). Bizim sonuçlarımız da yüksek doz gama radyasyonun deney hayvanlarında 10 gün gibi kısa bir dönemde hiperlipidemik ve hiperkolesterolemik etkiye yol açtığını göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Chaialo PP, Lialhovchuk NN, Chobat'ko GM, Voziian PA, Kholodova IUD: The composition and physicochemical properties of the blood lipoproteins in rats exposed to external gamma irradiation. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal* 64: 26-32, 1992.
2. Chaialo PP, Chobat'ko GM, Shimelis IV, Prevarskii BP: Content of blood lipids and characteristics of dyslipoproteinemias in people exposed to radiation during the accident at the Chernobyl nuclear power station. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal* 63: 93-96, 1991.
3. Chirkin AA, Konevalova N, Grebennikov IW, Kulikov VA, Filepesko GV: Effects of polyunsaturated phosphatidylcholine on the activity of antioxidant and lipolytic enzymes in alimentary hypercholesterolemia in irradiated rats. *Voprosy Meditsinskoi Khimii* 40: 24-28, 1994.
4. Hubbard RW, Ono Y, Sanchez A ; Atherogenic effect of oxidized products of cholesterol. *Prog Food Nutr Sci*: 13: 17-44, 1989.

5. Huvel RJ: Biology of cholesterol, lipoproteins and atherosclerosis. *Clin Exper Hyper Theory Practice* All: 887-900, 1989.
6. Lagelof H, Nilsson CG: The biology of ageing arteries. An integrated view. *Biomed Pharmacother* 43: 505-512, 1989.
7. Nestel PJ: Current strategies for atherosclerosis and lowering cholesterol. *Clin Exper Hyper Theory Practice* A11: 915-925, 1989.
8. Stehbens WE: The controversial role of dietary cholesterol and hypercholesterolemia in coronary heart disease and atherogenesis. *Pathology*: 21: 213-222, 1989.
9. Tilckanen MJ: Role of plasma lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerotic disease, with special reference to sex hormone effects. *Am J Obstet Gynecol* 163: 296-304, 1990.
10. XU CB, Stavenow L, Liao W, Erlinge D, Edvinsson L: Interactions between cultured bovine arterial endothelial and smooth muscle cells: studies on uptake and degradation of low density lipoproteins by smooth muscle cells. *Pharmacol Toxicol* 73: 269-273, 1993