

KOAH'DA NİTRİK OKSİT VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ

MEASURING THE LEVELS OF NITRIC OXIDE AND TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY IN COPD

Osman EVLİYOĞLU¹ Halide KAYA² Abdullah Çetin TANRIKULU³
Abdurrahman ABAKAY³ Özlem Abakay² Cengizhan SEZGİ³
Yılmaz PALANCI⁴

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır

¹Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, ²Gögüs Hastalıkları Kliniği, ³Gögüs Hastalıkları Anabilim Dalı,

⁴Halk Sağlığı Anabilim Dalı

Anahtar sözcükler: KOAH, oksidatif stres, antioksidan savunma sistemi

Key words: COPD, oxidative stress, antioxidant defense system

Geliş tarihi: 27 / 06 / 2011

Kabul tarihi: 11 / 07 / 2011

ÖZET

Bu çalışmada stabil KOAH hastalarında serumda nitrik oksit (NO) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyleri çalışılmıştır.

KOAH'lı 47 hasta ile aynı sayıdaki sağlıklı erişkin kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Hasta ve kontrol grubu serumlarında oksidatif stres belirteci olarak nitrik oksit (NO) düzeyleri ile antioksidan savunma sisteminin toplam göstergesi olan total antioksidan kapasite (TAOK) ölçüldü.

KOAH hasta grubu 47 kişiydi (27 erkek, 20 kadın) ve yaş ortalaması 66.7±8.3 yıldır. Kontrol grubu da 47 kişiydi (28 erkek, 19 kadın) ve yaş ortalaması 63.2±9.4 yıldır ve iki grup yaş ve cinsiyet açısından arasında fark saptanmadı (p<0.05). En sık saptanan semptom ise nefes darlığıydı. Hastaların ortalama KOAH süreleri 13.2±6.8 yıldır. Hastalarda en sık saptanan GOLD evresi evre 3 idi (18 hasta %38.3). Hasta grubunda serum NO ve TAOK düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0.001).

SUMMARY

In this study were studied level of serum nitric oxide (NO) and total antioxidant capacity (TAS) levels in stable COPD patients.

A total of 47 patients with stable COPD and 47 control were included the study. In patients and control group, as a marker of oxidative stress in serum of nitric oxide (NO) levels and total antioxidant defense system, which is an indicator of total antioxidant capacity (TAS) were measured.

47 was the group of COPD patients (27 men, 20 women) and mean age 66.7±8.3 years. The control group also was the 47 (28 male, 19 female) and mean age 63.2±9.4 years, and there was no difference between the two groups in terms of age and gender (p <0.05). The most frequently detected symptom was dyspnea. The mean duration of COPD was 13.2±6.8 years. GOLD stage was the most frequently identified in patients with stage 3 (18 patients 38.3%). The patient group, serum NO and TAS levels were significantly higher than the control group (p <0.001).

Kontrollere göre KOAH'lı hastalarda artmış oksidatif stres belirteçlerinden olan NO ve savunma sistemlerinin göstergesi olan total antioksidan kapasitedeki değişiklikler KOAH patogenezi için yol gösterici olabilir.

GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gelişimine neden olan etiyolojik faktörler inflamasyonu başlatır. İnflamasyon, proteaz-proteaz inhibitör dengesizliği, oksidan-antioksidan dengesizliği, artmış bronş aşırı duyarlılığı, aşırı mukus sekresyonu, otoimmünite KOAH patogenezi için önemli faktörlerdir (1,2).

KOAH hastalarında patogenezi oksidatif stresin de önemli rol oynadığı bildirilmiştir, oksidatif stres oluşumunda inflamatuvar hücrelerden salınan reaktif oksijen türlerinin (ROS) önemli rol oynadığı iddia edilmiştir (3).

Nitrik oksit (NO) keşfedildiği 1980'den beri hücre içi sinyal transmitteri olarak pek çok organda incelenmiştir. İlk olarak endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılmıştır. Üç farklı NO sentaz (NOS) enzimi tarafından arjininden sentezlenir (4). KOAH'ı da içeren pek çok inflamatuvar hastalıkta aşırı miktarlarda üretimi ise akciğer ve havayollarında inflamasyona neden olur. Oksidan moleküllerden olup reaktif oksijen türlerinin (ROS) alt gruplarındandır. Akciğerde oksidatif stres incelemelerinde NO yaygın olarak incelenmesine rağmen major limitasyonu farklı hastalıklarda son ürün olarak oluştuğu için spesifitesinin kötü olmasıdır. KOAH gelişimi ile NO düzeyinde yükselme olduğu gözlenmektedir. iNOS inhibitörleri gelecekte anti-inflamatuvar özelliği nedeniyle KOAH'da kullanılabilir (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda KOAH patogenezi için serbest oksijen radikallerinin rol

Specifier taken from patients with COPD than in controls increased oxidative stress and defense systems, which indicates that NO changes in total antioxidant capacity and a better understanding of the pathogenesis of COPD may be leading to the search for new treatments.

oynadığı gösterilmiştir. Oksidatif stresin inflamatuvar respiratuar hastalığın başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. İnsan organizması dışarıdan alınan ve organizmada oluşan oksidanlara yaşam süresince maruz kalmaktadır. KOAH'da oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulmuştur. KOAH'da artmış oksidan aktivitenin kaynağı, sigara dumanı ve aktifleşmiş nötrofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerden salınan oksidan maddelerdir. Oksidan moleküller bir başka deyişle ROS ekzojen olarak hava kirliliği, sanayi gazları, sigara dumanı ile dış ortamdan ulaşırken, metabolik aktiviteler ve fagositoz fonksiyonları sonucu oluşan oksidanlar da endojen yolla organizmanın oksidan yükünü artırır (6). KOAH hastalarında akciğerlerde ve sirkülasyonda sigara içen KOAH'ı olmayan olgulara göre daha fazla nötrofil vardır. Ataklarda ise bu yük daha da artar (7).

Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini TAOK (total antioksidan kapasite) yansıtır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu antioksidanların bir kısmının bir arada etki etmesi sonucu her birinin tek başına oluşturduğundan daha fazla antioksidan etki ortaya çıkar, yani aralarında sinerjistik etki vardır. Bu nedenle vücuttaki oksidan-antioksidan dengesinin belirlenmesi için tek tek antioksidanların ölçümünden önce TAOK ölçümü daha yararlıdır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit, vitamin E, bilirubin TAOK'ye ana katkıyı oluşturan moleküllerdir (8,9).

Erel'in geliştirdiği yöntemde olduğu gibi örnekteki TAOK ölçülmesine yönelik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde, bir radikal oluşturulup bu radikale karşı örnekteki antioksidan aktivite ölçülmektedir (9).

Bu çalışmada stabil KOAH'lı hastalar ile sağlıklı kontrol grubu serum örneklerinde oksidatif strese yol açan NO ve antioksidan sistemde meydana gelen olası değişiklikler açısından TAOK düzeyleri değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran ayakta yâda yatarak takip edilen stabil dönemde olan KOAH'lı 47 hasta ile aynı sayıdaki sağlıklı erişkin kontrol grubu olarak alındı. Çalışma için yerel etik kurul onayı alındı.

Hasta grubunda KOAH dışında kardiyak hastalık, böbrek hastalığı, kanser, son bir ayda geçirilmiş cerrahi gibi bir kronik hastalığı olan kişiler çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı bireyler alındı.

Hastaların KOAH tanımları ve sınıflandırılmaları "Global Initiation for chronic obstructive lung disease" kriterlerine göre yapıldı (10).

Hastalardan ve kontrol grubundan sabah açken alınan venöz kan örnekleri +4°C'de 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan serum örnekleri ependorf tüplere aktarıldı. Hazırlanan serumlar analiz yapılacak güne kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı ve çalışma günü oda ısısında bekletilerek çözüldü. NO düzeyleri Griess metodu ile (11), TAOK düzeyleri Erel'in geliştirdiği total antioksidan aktivite metodu kullanılarak çalışıldı (9).

Toplanan veriler istatistiksel analiz için SPSS 12 (SPSS Inc., Chicago, IL) paket istatistik programında değerlendirildi. Sonuçlar "aritme-

tik ortalama ± standart sapma" olarak verildi. Parametrelerin karşılaştırılması Student's t test testi ile yapıldı. P<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

BULGULAR

KOAH hasta grubu 47 kişiydi (27 erkek, 20 kadın) ve yaş ortalaması 66.7±8.3 yılı. Kontrol grubu da 47 kişiydi (28 erkek, 19 kadın) ve yaş ortalaması 63.2±9.4 yılı ve iki grup yaş ve cinsiyet açısından arasında fark saptanmadı (p<0.05).

En sık saptanan semptom ise nefes darlığıydı 44 hasta (%93.6). İkinci sıklıkta ise öksürük saptandı 39 hasta (%82.9).

KOAH grubunda 27 kişi (%57.4) sigara kullanılmaktaydı. Kontrol grubu ile arasında sigara kullanımı açısından fark yoktu (p<0.05).

Hastaların ortalama KOAH süreleri 13.2±6.8 yılı. Hastalarda en sık saptanan GOLD evresi evre 3 idi (18 hasta %38.3). Evre 1-2 ise 17 hastada saptandı (%36.2).

Hasta ve kontrol grubu arasındaki NO ve TAOK düzeyleri sonuçları ile istatistiki karşılaştırmaları Tablo 1'de sunulmuştur. Çalışmamızın sonuçlarında NO düzeyleri KOAH hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0.001). Saptanan TAOK düzeyleri de KOAH hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p<0.001).

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunda ortalama NO, TAOK sonuçları

Parametre	KOAH n=47	Kontrol n=47	P değeri
Yaş	66.7±8.3	63.2±9.4	>0.05
NO (milimol/dl)	169.1	87.1	<0.001
TAOK	0.98	0.75	<0.001

TARTIŞMA

KOAH'da yapılan çalışmalarda antioksidan düzeylerindeki değişiklikler farklı sonuçlarla rapor edilmiştir. Bunun nedeni antioksidan düzeyinin savunma cevabı olarak artması veya oksidanlar tarafından nötralize olması nedeniyle azalması ya da yeterli rezerv varsa değişmemiş olarak bulunması olabilir.

Bir çalışmada KOAH ve astım olgularında TEAC (Plasma Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) düzeylerini normalden düşük bulmuşlardır. Akut ataktaki KOAH ve astımlılarda ise bu düşüklüğün çok daha belirgin olduğu bildirilmiştir (7).

Antioksidan savunma sistemi organizmayı oksidatif stresten korur. Fakat KOAH'da artmış oksidatif strese karşılık antioksidan seviyelerinde de azalma olduğu gösterilmiştir (12).

KOAH'da oksidatif stres ile antioksidan kapasite arasındaki dengesizlik ve bunun KOAH gelişimi, hastalık şiddeti ve hastalık progresyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. KOAH'lı hastaların ekspire ettikleri havada ve bronşiyal lavaj materyallerinde oksidatif stres ürünlerinin saptanması ile bu konudaki araştırmalar hız kazanmıştır. Ancak sonuçlar çelişkili olup yapılan çalışmaların bir bölümünde hastalarda TAOK'da belirgin düşüklük gözlenirken, bir bölümünde tam tersi yüksek TAOK seviyeleri saptanmış, bir kısmında ise değişiklik tespit edilmemiştir (13,14).

Yapılan bir çalışmada akciğer kanserli hastalarda antioksidan aktiviteyi belirlemek amacıyla TAOK düzeyi serumda ve bronkoskopik lavajda ölçüldü. Serum TAOK düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre düşüktü. Bu çalışmada farklı olarak yalnızca serumda değil hava yollarını temsil eden lavaj sıvısında da TAOK düzeyi ölçülmüştü. Lavaj TAOK seviyeleri hasta grubunda kontrol

grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştu ($p=0.003$). Bu çalışmada akciğer kanserli hastalarda sistemik dolaşımda antioksidan aktivite azalırken lokal dokuda artmış olarak bulundu. Bu sonuçlar antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde bronkoskopik lavajın yol gösterici olabileceğini düşündürmektedir (15). Bu çalışmada da KOAH hastalarında TAOK seviyeleri anlamlı yüksek saptandı.

Nitrik oksit oldukça labil bir molekül olduğu için gerçek düzeylerin tespiti oldukça zor olmaktadır. Literatürlerde farklı NO düzeylerinin tespiti altında yatan en önemli nedenlerden birisi de metodolojik farklılıklardır. Aynı zamanda hem artan hem de azalan NO düzeylerinin her ikisinin de artmış hasara neden olabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Erdem ve ark. KOAH atak ve stabil dönem ile kor pulmonale gruplarında NO düzeylerini kontrol grubundan düşük olarak tespit etmelerine rağmen istatistiksel açıdan bir farklılık gözlemediler. Bu durum NO molekülünün labil olması ve ölçüm yönteminden kaynaklanan bir durum olabileceği gibi literatürlerde de belirtilen artmış NOS aktivitesinin baskılanması sonucu NO düzeylerinin değişmemiş olmasından da kaynaklanmış olabilir (16).

KOAH'da NO düzeyi soluk havasında sık çalışılmış ise de periferik kan çalışmaları sınırlı sayıdadır. Kersul ve ark. KOAH'da ekshale havada nitrik oksit (FeNO) ile balgamda TAOK düzeylerini inceledikleri çalışmalarında atak hastalarında FeNO düzeyini artmış olarak saptadılar. Balgamda TAOK düzeyleri ise stabil döneme göre atak hastalarında daha düşüktü ancak sağlıklı kontrollere göre daha yüksekti (17).

Biz çalışmamızda stabil KOAH hastalarında serum NO kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulduk ($p<0.001$).

Oksidan stres ve antioksidan kapasite arasındaki denge uzun yıllardır araştırılmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin sağlıklı işlemesi ve oksidan moleküllerle arasındaki hassas dengenin korunması organizma açısından çok önemlidir. Oksidan-antioksidan dengedeki bozulma hastalıkların etyopatogenezinde neden olabileceği gibi sonuç da

olabilir ancak bunun ayrımının yapılması oldukça güçtür. Sonuç olarak KOAH patogenezini daha iyi anlamamız ve yeni tedavi arayışları için bozulmuş bu dengenin rolünü ortaya koymak yol gösterici olabilir. Bundan dolayı geniş kapsamlı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Agusti AGN. COPD, multicomponent disease; implication for management. *Respir Med* 2005; 99(6): 670-82.
2. Türk Toraks Derneği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Uzlaşısı Raporu. Mayıs 2010;(11): 16-21.
3. Kirkham P, Rahman I. Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther* 2006 111(2): 476-94.
4. Sugiura H, Ichinose M. Nitrate stress in inflammatory lung diseases. *Nitric oxide* 2011 Apr 2.
5. Louhelainen N, Myllarniemi M, Rahman I, Kinnula VL. Airway biomarkers of the oxidant burden in asthma and COPD: Current and future perspectives. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2008; 3(4): 585-603.
6. Owen CA. Proteinases and Oxidants as Targets in the treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 373-85.
7. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-60.
8. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84(4): 407-12.
9. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37(2): 112-9.
10. <http://www.goldcopd.com/Guidelineitem.asp?l1=2&l2=1&intId=2003> (access date:01.06.2011).
11. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-3.
12. Rahman I, MacNee W. Oxidant/antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1996; 51: 348-50.
13. Mark JCW. Pathogenesis of COPD. Part 2. Oxidative-antioxidative imbalance. *Int J Tuberc Lung Disease* 2008; 12(4): 368-74.
14. Nadeem A, Raj HG, Chhabra SK. Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in chronic obstructive pulmonary disease. *Inflammation* 2005; 29(1): 23-32.
15. Uygungül D, Çimen B, Güneş G, Ulubaş B. Akciğer kanserli hastalarda bronkoskopik lavaj ve serumda total antioksidan, paroksana ve arylesterase düzeylerinin değerlendirilmesi. 32. TÜSAD Ulusal Kongresi 2010 Bildiri Özetleri kitabı Elektronik Poster-031, S 51.
16. Erdem S, Kanat F, Ünlü A. Akut Atak, Stabil KOAH ve Kor Pulmonale Hastalarında ADMA, Arjinin ve NO Düzeylerinin Belirlenmesi. *Selçuk Tıp dergisi* 2010; 26(1): 9-13.
17. Kersul AL et al. Molecular mechanisms of inflammation during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Bronconeumol* 2011; 47(4): 176-83.

Yazışma Adresi:

Dr. A. Çetin TANRIKULU
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı,
21280 DİYARBAKIR
Tel : 0.412. 248 80 01-4760
Faks: 0.412. 248 84 40
e-posta: cetintanrikulu@hotmail.com