

OKSİDATİF STRES GÖSTERGESİ OLARAK SERUMDA TOTAL SÜLFİDRİL DÜZEYLERİ VE GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ

Öznur KANBAĞLI, Semra DOĞRU-ABBASOĞLU, Gül ÖZDEMİRLER,
Gülçin AYKAÇ-TOKER, Müjdat UYSAL

ÖZET

Serbest radikaller birçok hastalığın etyopatogenezinde etkin bir rol oynamaktadır. Çalışmamızda yaşlı kişilerde, koroner arter hastalarında, kolon ve prostat kanserli hastalarda prooksidan-antioksidan denge incelendi. Bu amaçla serumda malondialdehit (MDA) düzeyleri, antioksidan aktivite (AOA), total sülfidril içeriği (t-SH) ve glutatyon peroksidaz aktivitesi (GSH-Px) ölçüldü. Serum MDA ve AOA incelediğimiz hasta gruplarında değişmemekle birlikte, tüm gruplarda serum GSH-Px aktivitesi ve t-SH içeriğinde anlamlı bir azalma saptandı. Sonuçlarımıza göre, serumda GSH-Px aktivitesi ve t-SH içeriğini belirlemenin prooksidan-antioksidan dengeyi incelemeye yararlı bir gösterge olabileceği ileri sürülebilir.

Anahtar kelimeler: Total sülfidril içeriği, glutatyon peroksidaz, oksidatif stres, serum.

SUMMARY

Total thiol levels and glutathione peroxidase activity as parameters of oxidative stress. Free radicals play an important role in the pathogenesis of several diseases. We investigated prooxidant-antioxidant balance in serum of old men and of patients with coronary artery diseases, colorectal and prostat cancer. For this reason, malondialdehyde (MDA), antioxidant activity (AOA), total thiol groups and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity were measured in serum. Although serum MDA levels and AOA did not change, total thiol groups and GSH-Px activity were found to decrease in all patients. These results may indicate that the determination of total thiol groups and GSH-Px activity may be used as markers to investigate prooxidant-antioxidant balance in serum.

Key words: Total thiol groups, glutathione peroxidase, oxidative stress, serum.

GİRİŞ

Serbest radikaller ve lipit peroksidleri yaşlanmada, aterosklerozda ve kanser oluşumunda etkin bir rol oynamaktadır (6). İnsanlarda (2,3,8,10,13) ve deney hayvanlarında (1,4,10) yaptığımız çalışmalar belirtilen koşullarda prooksidan-antioksidan dengenin bozulduğunu göstermiştir. İnsanlarda prooksidan-antioksidan dengeyi incelemek için genellikle kan örnekleri kullanılmaktadır. Bu amaçla, serumda malondialdehit (MDA) ve dien konjugatı düzeyleri, protein karbonil grupları, serumun total antioksidan aktivitesi (AOA), vitamin E ve C gibi antioksidan mo-

leküllerin düzeyleri ölçülmektedir (5,19). Bunların yanısıra, serumda aktiviteleri düşük olmakla birlikte, süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzim aktiviteleri de bu amaçla değerlendirilmeye çalışılmaktadır (5,19).

Çalışmamızda yaşlı kişilerde, koroner arter hastalarında, kolorektal ve prostat kanserli hastalarda serumda lipit peroksid düzeyleri ve AOA'nin yanısıra, total sülfidril grupları ve GSH-Px aktivitelerindeki değişimlerin oksidatif stresi göstermede yararlı olup olmayacağı araştırıldı.

MATERYAL ve METOD

Çalışmalarımız aşağıda belirtilen gruplarda yapıldı;

a) Yaşlı Kişiler: 60-85 yaşları arasındaki (ort \pm SD; 69.2 ± 6.0) 20 yaşlı erkek, 20-35 yaşları arasındaki (26.5 ± 4.6) 20 genç erkek çalışmaya alındı. Bu kişiler benzer sosyoekonomik koşullara ve diyetel alışkanlıklara sahipti. Hiçbirinde serebrovasküler veya iskemik hastalık, diyabet, obezite, karaciğer ve böbrek hastalığı veya hematolojik bir bozukluk yoktu. Prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyecek bir ilaç kullanmıyorlardı.

b) Koroner Arter Hastaları: Anjiyografik incelemeleri İ.Ü. Kardiyoloji Enstitüsünde yapılan 37-75 yaşları arasında (57.4 ± 10.1) 50 koroner arter hastası ve yaşları 40-75 arasında değişen (55.0 ± 9.7) 17 sağlıklı kişi incelendi. Ana koroner arter dallarında %50 ve üzerinde tıkanıklık oluşuna göre, hastaların %30'unda 1 damar, %40'unda 2 damar ve %30'unda 3 damar hastalığı mevcuttu.

c) Kolorektal kanserli hastalar: İstanbul Tıp Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalına başvuran ve histopatolojik olarak kolorektal kanser tanısı konan 12 hastanın (54.2 ± 8.2) ameliyat öncesi alınan serum örnekleri kullanıldı. Kontrol grubunu prooksidan-antioksidan dengeyi etkilemediği bilinen koşullara sahip 20 sağlıklı (50.4 ± 7.4) kişi oluşturdu.

d) Prostat kanserli hastalar: İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalına başvuran ve histopatolojik olarak prostat kanseri tanısı konan 19 hasta (67.9 ± 7.5) incelendi. Kontrol grubunu ise prooksidan-antioksidan dengeyi etkilemediği bilinen koşullara sahip 20 sağlıklı (63.2 ± 8.3) kişi oluşturdu.

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi tayini yapıldı (21,22). Serumda total AOA tayinleri, serumda mevcut antioksidanların, in vitro koşulda oksidan sistem tarafından oluşturulan radikal-leri uzaklaştırma gücünü ölçmeye dayan-

maktadır (11,20). Serumda total sülfidril grubu içeriği 2,2-ditiyobisnitrobenzoik asit kullanılarak saptandı (7). Serumda GSH-Px tayini için substrat olarak kümenhidroperoksit kullanıldı (14).

İstatistik değerlendirmeler Student's t-testi ve Mann-Whitney U-testi testine göre yapıldı.

BULGULAR

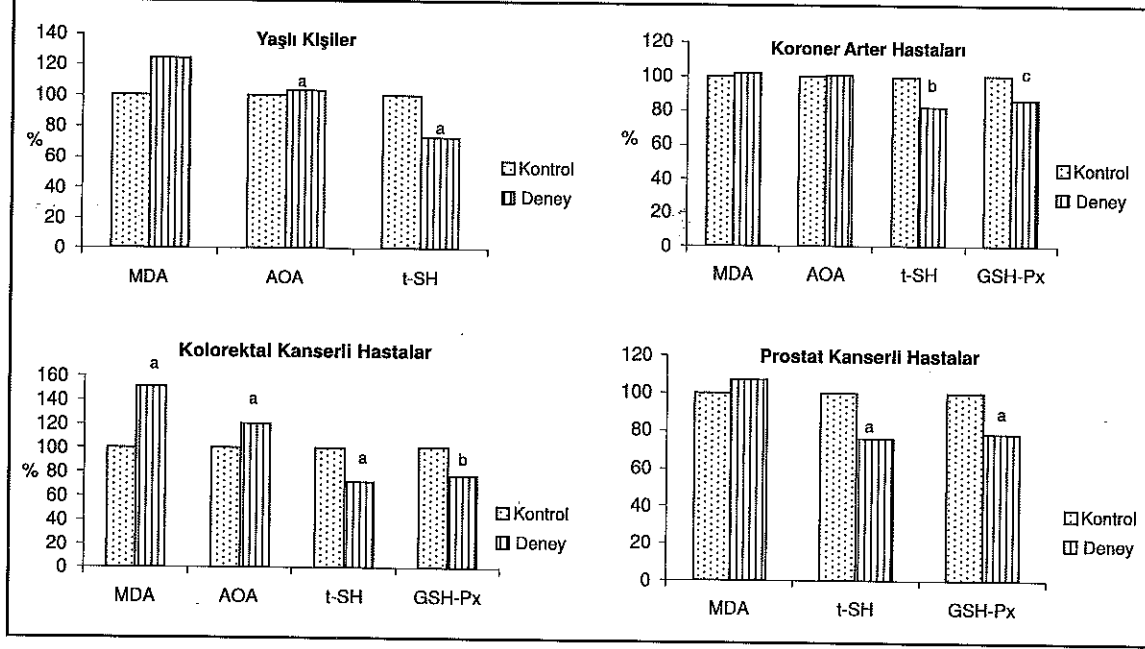
Serum MDA düzeyleri yaşlı kişilerde ve kolorektal kanserli hastalarda arttığı halde, koroner arter hastalarında ve prostat kanserli hastalarda değişmedi. Serum AOA sadece kolorektal kanserli hastalarda anlamlı bir artış gösterdi. Buna karşılık serum total tiol içeriği ve GSH-Px aktivitesi yaşlı kişilerde, koroner arter hastalarında, kolorektal ve prostat kanserli hastalarda anlamlı azalmalar gösterdi (Şekil 1).

TARTIŞMA

Serbest radikallerin ve lipit peroksidlerinin çeşitli hastalıkların etyopatogenezindeki rolü birçok klinik ve deneysel çalışma ile aydınlatılmaya çalışılmıştır (6,9). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle kan örnekleri kullanılmış, serbest radikallerin lipit, protein ve DNA moleküllerini etkilemesiyle oluşan ürünler veya antioksidan bileşiklerin düzeyleri incelenmiştir (5,6). Ayrıca serumun antioksidan kapasitesini oluşturmada etkinliği düşük olmasına rağmen SOD, GSH-Px, CAT ve glutatyon S-transferaz (GST) gibi enzimlerin aktivitesindeki değişimler de bu amaçla incelenmeye çalışılmaktadır (19).

Son yıllarda, mide-kolon (16), akciğer (18) kanserlerinde ve akut lenfoblastik lösemilerde (17) serumda GSH-Px aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. Öte yandan, miyokard infarktüsü geçirmiş kişilerde eritrosit GSH-Px aktivitesi değişmemesine rağmen, plazma ve

Şekil 1. Yaşlı kişiler, koroner arter hastaları, kolorektal ve prostat kanserli hastalarda serum MDA, AOA, t-SH ve GSH-Px yüzde değişiklikleri. a: $p < 0.001$, b: < 0.01 , c: $p < 0.05$.



trombositlerde GSH-Px aktivitesinin aktivitesinin azaldığı bulunmuş ve GSH-Px aktivitesindeki bu azalmanın iskemik kalb hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (15). Koroner kalb hastalarında (12) ve bazı kanserli hastalarda (16,18) serum selenyum düzeylerinde saptanan azalmaların da GSH-Px aktivitesindeki azalma da etkili olabileceği ileri sürülmüştür.

Plazma proteinleri, özellikle serum albumin yapısındaki serbest sülfidril grupları nedeniyle oksidasyona çok duyarlıdır (7,19). Buna dayanarak, proteinlere bağlı sülfidril grubunu ölçmenin oksidatif stresi belirlemede önemli bir gösterge olabileceği ileri sürülmüştür (7,19). Çalışmalarımız yaşlı kişilerde (10), koroner kalb hastalarında (3), kolorektal (8) ve prostat (2) kanserli hastalarda prooksidan-antioksidan dengenin prooksidasyon yönünde değiştiğini göstermiştir. Bu çalışmalarımızda serum MDA düzeyleri ve AOA incelediğimiz hasta gruplarının tümünde değişmemekle birlikte, bütün gruplarda serum GSH-Px aktivitesi ve total sülfidril içeriğinde anlamlı bir azalma saptanmıştır. Sonuçla-

rımıza göre, daha ileri çalışmalar gerektirmekle birlikte, serumda GSH-Px ve total sülfidril içeriğini belirlemenin insanlarda prooksidan-antioksidan dengeyi incelemede yararlı bir gösterge olabileceği ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR

1. Bulur H, Özdemirler G, Öz B, Toker G, Öztürk M, Uysal M: High cholesterol diet supplemented with sunflower seed oil but not olive oil stimulates lipid peroxidation in plasma, liver and aorta of rats. *Nutr Biochem* 6:547 (1995).
2. Doğru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Koçak T, Ünlüer E, Uysal M: Antioxidant enzyme activities with benign prostatic hyperplasia or prostate cancer are not predictive. *J Cancer Res Clin Oncol* 125:402 (1999).
3. Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Bulur H, Babalık E, Öztürk S, Aykaç-Toker G, Uysal M: Lipid peroxides and antioxidant status in serum of patients with angiographically defined coronary atherosclerosis. *Clin Biochem* 32:671 (1999).
4. Doğru-Abbasoğlu S, Tamer-Toptani S, Uğurnal B, Koçak-Toker N, Aykaç-Toker G, Uysal M: Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in livers and brains of aged rats. *Mech Age Develop* 98:177 (1997).
5. Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 41:1819 (1995).
6. Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford Science Publications, Oxford, 3. Baskı (1999).

7. Hu ML: Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Method Enzymol* 233:380 (1994).
8. Kanbağlı Ö., Özdemirler G., Bulut T., Aykaç-Toker G., Uysal M: Mitochondrial lipid peroxides and antioxidant enzymes in colorectal adenocarcinoma tissues. *Japan J Cancer Res (Baskida)*.
9. Knight JA: Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Ann Clin. Lab Sci* 25:11 (1995).
10. Mehmetçik G., Özdemirler G., Kanbağlı Ö., Toker G., Uysal M: Age-related changes in plasma lipid peroxidation and antioxidant system in humans and rats. *Arch Gerontol Geriatr* 25:305 (1997).
11. Miller NJ, Rice-Evans Ca: Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Report* 2:161 (1996).
12. Moore JA, Noiva R, Wells IC: Selenium concentrations in plasma of patients with arteriographically defined coronary atherosclerosis. *Clin Chem* 30:1171 (1984).
13. Özdemirler G., Pabuçcuoğlu H., Bulut T., Buğra D., Uysal M., Toker G: Increased lipid peroxide levels and antioxidant system in colorectal cancer. *J Cancer Clin Oncol* 124:555 (1998).
14. Paglia DE, Valentine WN: Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70:158 (1967).
15. Porter M, Pearson DJ, Suarez-Mendez VJ, Blann D: Plasma platelet and erythrocyte glutathione peroxidases as risk factors in ischemic heart disease in man. *Clin Sci* 83:343 (1992).
16. Psathakis D, Wedemeyer N, Oevermann E, Krug F, Siegers CP, Bruch HP: Blood selenium and glutathione peroxidase status in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 41:328 (1998).
17. Rzymowska J: Activities of enzyme transducing extracellular signals-gamma glutamyltransferase and enzymes metabolizing glutathione in acute lymphoblastic and myeloid human leukemias. *Neoplasma* 42:53 (1995).
18. Sattar N, Scott HR, McMillan DC, Talwar D, O'Reilly DS, Fell GS: Acute-phase reactants and plasma trace element concentrations in non-small cell lung cancer patients and controls. *Nutr Cancer* 28:308 (1997).
19. Stocker R, Frei B: Endogenous antioxidant defences in human blood plasma, "Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants, editör: Sies H, Academic Press, London (1991)", sayfa: 213.
20. Stocks J, Gutteridge JMC, Sharo KJ, Dormandy JL: Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. *Clin Sci Mol Med* 47:215 (1974).
21. Wasowicz W, Ne'Ve J, Peretz A: Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem* 39:2522 (1993).
22. Yagi K, Nishigaki, Ohama H: Measurement of serum TBA value. *Vitamins (Japan)* 37:105 (1968).