

ROMATOİD ARTRİTTE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ VE LİPİD PEROKSİT DÜZEYLERİ* Superoxide dismutase and lipid peroxide levels in rheumatoid arthritis

İhsan HALİFEOĞLU¹, Ahmet VAR², Nevin İLHAN², Vural KAVUNCU³, Necip İLHAN⁴

Özet: Yüksek aktiviteye sahip oksijen radikalleri hücrelerde çeşitli oksidatif hasarlara yol açmaktadırlar. Bu çalışmada; kronik bir multisistem hastalığı olan romatoid artritte eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) ve plazma lipid peroksit (LPO) düzeyleri tespit edildi. Çalışmamızda, romatoid artritli hastaların eritrosit SOD düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p < 0.001$). Romatoid artritli hastaların plazma LPO düzeyleri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.001$). Romatoid artritli hastaların eritrosit SOD düzeylerindeki azalma antioksidan bir cevabı göstermekte ve LPO düzeyindeki artışın ise doku hasarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla plazma LPO düzeyindeki artışın romatoid artrit prognozunu değerlendirmede yararlı olabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Lipid peroksit, Romatoid artrit, Süperoksit dismutaz

Abstract: Oxygen radicals with high activity cause various oxidative damages in cells. In this study, erythrocyte superoxide dismutase (SOD) and plasma lipid peroxide (LPO) levels were determined in rheumatoid arthritis (RA), a chronic multisystem disease. In our study, erythrocyte SOD levels of patients with RA were found to be lower than controls ($p < 0.001$). Plasma LPO levels of patients with RA were found to be higher than controls ($p < 0.001$). The decrease in erythrocyte SOD levels of patients with RA indicates an antioxidant response whereas increase in LPO level seems to be caused by tissue damage, thus we suggest that increased plasma levels of LPO will be helpful in evaluating the prognosis of RA.

Key Words: Lipid peroxide, Rheumatoid arthritis, Superoxide dismutase

Kimyasal ve metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan moleküler oksijenin canlılardaki toksik etkisinin gerçek nedeni, oksijenin aktif türleri olan serbest oksijen radikalleridir (SOR). Bunlar; süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), serbest hidroksil radikali ($HO\cdot$), serbest oksijen radikallerinin etkisi ile oluşan lipid peroksidleri (LPO) ve diğer benzer türevler olup, biyolojik sistemlerde antioksidan kapasitesini geçtiklerinde hücrelerde çeşitli derecelerde geçici veya kalıcı hasarlara yol açmaktadırlar (1-3). Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan (fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan)

poliansatüre yağ asitlerinin, SOR tarafından peroksidler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonu olup, bu reaksiyon yapısal hasarlar meydana getirmektedir (4,5). Yapısal hasar, membran hasarının şiddetiyle orantılı olarak kanda LPO düzeyini yükseltmekte ve artmış LPO'lar diğer doku ve organlarda da hasar oluşturarak sekonder bozuklukların göstergesi olmaktadır (6).

Organizmada pek çok tepkimelerde üretilebilen ve diğer radikallerin oluşumunu başlatan süperoksit radikalının birikmesinin önlenmesi bir metalloenzim olan süperoksit dismutaz (SOD:1.15.1.1) enziminin süperoksit radikalının dismutasyonunu katalizlemesi ile başarılmaktadır (1,2,7).

*XV. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 27-30 Mayıs 1997, Kayseri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi ELAZIĞ Biyokimya, Y.Doç.Dr.¹, Araş.Gör.Dr.², Doç.Dr.⁴, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Y.Doç.Dr.³.

Geliş tarihi: 30 Mayıs 1997

Etiyolojisi bilinmeyen bir multisistem hastalığı olan romatoid artrit (RA) serbest radikal oksidatif ürünleri arttırdığından (8) dolayı, on yıldan fazla bir zamandan beri oksijen radikallerinin RA'daki rolleri araştırılmaktadır (7,9). Bu düşünceyle RA teşhisi konulan hastalarda SOD ve LPO düzeylerinin tespiti ve irdelenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan plazma ve eritrosit örnekleri Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniği tarafından RA teşhisi konulan aktif durumda ve yaş ortalaması 49.1 ± 7.8 olan 24 (13 erkek, 11 kadın) hastadan, kontrol örnekleri ise laboratuvar bulguları normal bulunan ve hiç bir şikayeti olmayan yaş ortalaması 47.0 ± 9.6 olan 14 (8 erkek, 6 kadın) sağlıklı kişiden temin edilmiştir. Plazma LPO düzeyi olarak, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden malondialdehit (MDA) ölçüldü. Malondialdehitin tiyobarbitürik asit (TBA) ile vermiş olduğu pembe rengin şiddetinin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi pensibine göre tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi ile (10,11), eritrosit SOD aktivitesi ise RANDOX firmasının RANSOD kiti kullanılarak tayin edilmiştir. Metoda göre; ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikali 2-(4-iyodofenil)-3(4-

nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorür ile kırmızı renkli formazan boyasını verir. SOD kullanılarak formazan reaksiyonu inhibe edilmektedir. Bu reaksiyonun inhibisyon derecesinin spektrofotometrik olarak 505 nm'de ölçülmesi ise SOD aktivitesini vermektedir. SOD düzeylerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin değerleri düşük olduğundan, SOD'nin aritmetik ortalamasını etkileyen kontrol grubundan iki ve RA'li gruptan da üç kişi aşırı değer kabul edilerek değerlendirilmeye dahil edilmemiştir.

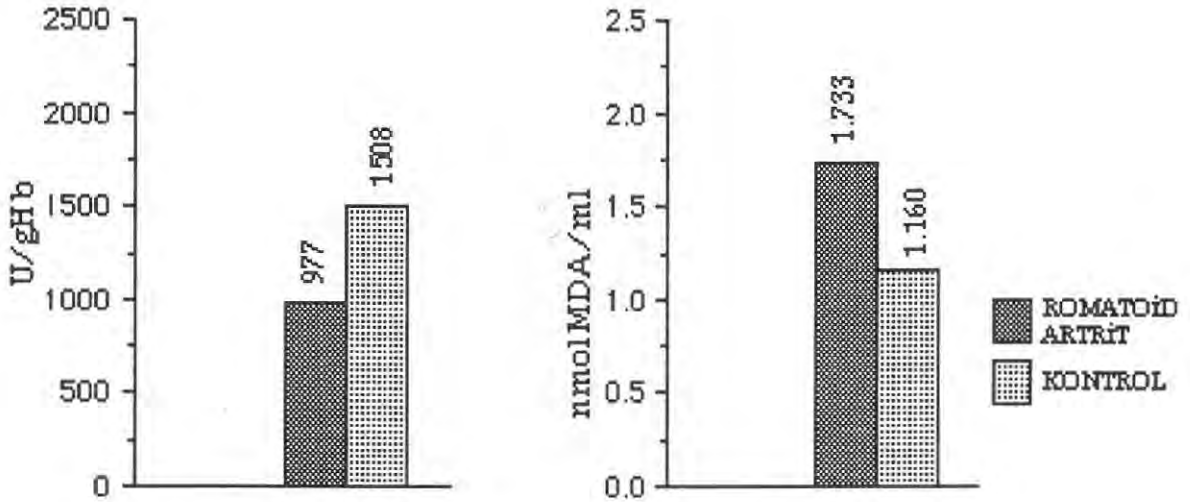
İstatistiksel hesaplamalar için Student t testi kullanıldı.

BULGULAR

Romatoid artritli hasta ve kontrol grubunun eritrosit SOD ve plazma LPO düzeyleri tablo 1 ve şekil 1'de özetlenmiştir. Bu çalışmada bir ml plazmada nmol olarak bulunan malondialdehit (MDA) miktarı lipid peroksit düzeyi olarak tanımlanmıştır. Tablo I ve şekil 1a da romatoid artritli hastaların eritrosit SOD düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşük ($p < 0.001$) ve tablo I ile şekil 1b de ise lipid peroksidasyonu sonucu oluşan plazma MDA düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek ($p < 0.001$) olduğu görülmektedir.

Tablo I. Romatoid artrit (RA) ve kontrol grubunun eritrosit SOD ve plazma LPO düzeylerinin karşılaştırılması

PARAMETRELER	n	GRUPLAR		KONTROL ($X \pm SD$)	p
		RA ($X \pm SD$)	n		
Eritrosit SOD (U/gHb)	21	977 ± 176	12	1508 ± 253	< 0.001
Plazma LPO (nmolMDA/ml)	24	1.733 ± 0.361	14	1.160 ± 0.198	< 0.001



Şekil 1. Romatoid artritli hasta ve kontrol grubunda; a) eritrosit SOD düzeyleri, b) plazma LPO düzeyleri

TARTIŞMA

Süperoksit gibi SOR ile hidroksil radikallerinin inflamasyonda önemli rollerinin olduğu son yıllarda kabul edilmektedir (7). Aralarında romatoid artrit de bulunduğu 50 kadar hastalıkta serbest radikallerin önemli derecede etkili oldukları konusunda kesin kanıtlar mevcuttur (10). Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek selüler ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etki göstererek, hücre organelleri ve zarlarında, bu zarlarda bulunan enzimlerde önemli yapısal hasarlara sebep olmaktadır (2,4).

Bu çalışmada romatoid artritli hastaların eritrosit SOD ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA düzeyleri tespit edildi. Tablo I de görüldüğü gibi eritrosit SOD düzeyi kontrole göre anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) ve plazma MDA düzeyleri ise kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Şekil 1a ve 1b incelendiğinde kontrol ile RA arasındaki farklılıklar sayısal olarak net görülmektedir.

Imadaya ve arkadaşları (7) romatoid artritli kişilerin eritrosit SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerini sağlıklı kontrollere göre

düşük bulmuşlardır. Uysal ve arkadaşları (11) ise benzer çalışmalarında SOD düzeyini düşük bulduklarını ifade etmektedirler. Scudder ve ark. (12) ile Olivieri ve ark. (13) ise SOD düzeylerini normal bulduklarını bildirmektedirler. Imadaya ve arkadaşları ile Uysal ve arkadaşlarının çalışmaları ile bizim çalışmamız arasında bir uyum görülmektedir. SOD düzeyindeki azalma antioksidan cevabın gelişmesine bağlı olabilir. Hem sinovial sıvıda hemde serumda lipid peroksidasyon ürünlerinin bulunması serbest oksijen radikallerinin romatoid artrite sebep olduklarını gösteren kanıtlar olarak kabul edilmektedir(14). Lipid peroksidasyonunun yapısal hasara yol açtığı (4) ve sinovial sıvıda bulunan hyaluronik asidi degradasyona uğrattığı (15) düşünlüğünde kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulduğumuz lipid peroksidasyonu ürünlerinden MDA düzeyleri daha fazla önem kazanmaktadır. Hücre ve doku harabiyeti sonucu, peroksidasyonu stimüle edebilen geçiş metal iyonlarının bu hücrelerden salınması, söz konusu hücrelerdeki antioksidan mekanizmaların zayıflamasına yol açtığından peroksidasyon ürünleri artmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin en önemli etkisi, poliinsatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu şeklinde olduğundan üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu

malondialdehit (MDA) ile sonlanmaktadır (4). MDA bir reaktif karbon bileşiği olduğundan TBA reaksiyonu ile MDA ölçümü dokulardaki lipid peroksidasyon derecesini belirlemektedir (16). Winrov ve arkadaşları (5) romatoid artritli hastalarda MDA düzeyinin kontrole göre yüksek olduğunu belirtmektedirler.

Radikallere ve radikal oluşumuna karşı koruyucu enzim olan SOD eksikliğinde sayısız toksik etkinin görülebileceği düşünüldüğünde, spesifik olmadığının bildirilmesine rağmen (8), plazma LPO düzeylerinin tespiti romatoid artritlin prognozu hakkında faydalı bilgiler verebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992;3:243-250.
2. Kılınç K. Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 10:60-89.
3. Kılınç K. Kanserde Oksijen Radikalleri ve Süperoksit Dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986;3:59-76.
4. Köse K, Doğan P. Lipid Peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi Ek-1* 1992;340-350.
5. Winrow V R, Winyard P G, Moris C J, Blake D R. Free Radicals in Inflammation: Second Messengers and Mediators of Tissue Destruction. In: Cheesemen KH, Slater TF (eds), *British Medical Bulletin. The British Council, London* 1993;pp 507-522.
6. Dingiloğlu N, Özmen D, Bayındır O, Kutay F, Yılmaz C. Diabetiklerde Eritrosit ve Plazma Lipid peroksidatları, Eritrosit GSH ve Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Düzeyleri. *Biyokimya Dergisi* 1993; 3:13-18.
7. Imadaya A, Terasawa K, Tosa H, Okamoto M, Toruzuka K. Erythrocyte Antioxidant Enzymes are Reduced in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 1988; 11: 1628-1631.
8. Leff J A. Autoimmune and Inflammatory Diseases. In: Armstrong D (ed), *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. Plenum Press, New York 1994, pp 199-213.
9. Kakimoto K, Kojima Y, Ishi K, Onoue K, Maeda H. The suppressive effect of gelatin-conjugated superoxide dismutase on disease development and severity of collagen-induced arthritis in mice. *Clin Exp Immunol* 1993;94:241-246.
10. Miesel R, Zuber M. Copper-dependent antioxidase defences in inflammatory and autoimmune rheumatic diseases. *Inflammation* 1993; 3:283-294.
11. Uysal F, Aytimur M, Sözman E Y, Erer F, Onat T. Osteoartroz ve romatoid artritte antioksidan enzim değişiklikleri. *Türk Biyokimya Derneği XIII. Ulusal Biyokimya Kongresi Özet Kitabı* 1996;C-344.
12. Scudder P, Stocks J, Dormandy T L. The relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and erythrocyte copper levels in normal subjects and in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 1976; 69: 397-403.
13. Oivieri O, Girelli D, Teravisan M T, et al. Red Blood Cell Susceptibility to lipid peroxidation, membran lipid composition and antioxidant enzymes in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991;8:1263-1264.
14. Situnayake R D, Thurnham D I, Kootatthep S, et al. Chain breaking antioxidant status in rheumatoid arthritis: clinical and laboratory correlates. *Ann Rheum Dis* 1991;50:81-86.
15. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals in human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107:526-545.
16. Draper HH, Hadly M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186:421-427.