

Eser Element Düzeyindeki Değişiklikler Doku Hipoksisini Açıklar Mı?

Cengiz Köksal*, Caner Arslan*, Meltem Ercan**, Dildar Konukoğlu***, Kamran Kazımoğlu*, Kürşat Bozkurt*, Ayla Gürel Sayın*

* İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

*** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Lipid peroksidasyonu ve eser elementlerin kronik iskemide rollerini araştırmak amacıyla, 25 periferik damar hastasından ve damar hastalığı bulunmayan 25 bireyden alınan kan örneklerinde plazma lipid peroksidasyonu, demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu) seviyeleri, viskozite ve eritrosit membran deformibilitesi (EMD) ölçüldü. Periferik arter hasta grubunda Fe, Cu ve lipid peroksidasyon düzeyleri istatistiksel anlamlı yüksek, Zn düzeyi, viskozite ve EMD değerleri düşük bulundu. Bu sonuçlara göre, aterosklerotik tıkanıklığın distalindeki doku hipoksisinde, eser element düzeylerinin ve oksidatif stresin, viskositeden daha önemli etkenler olduğu anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Eser element, ateroskleroz.

SUMMARY

DOES CHANGES IN TRACE ELEMENTS LEVELS EXPLAIN TISSUE HYPOXIA?

Plasma lipid peroxidation, iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu) levels, viscosity and erythrocyte membrane deformability (EMD) were measured in blood samples taken from 25 patients with peripheral vascular disease and 25 healthy individuals, to investigate the roles of lipid peroxidation and trace elements in chronic ischemia. In group with peripheral vascular disease, Fe, Cu and lipid peroxidation levels were found high, in contrast to low levels of Zn, viscosity and EMD. The differences were statistically meaningful. According to these results, levels of trace elements and oxidative stress were more important than viscosity in hypoxia distal to atherosclerotic arterial occlusion.

Key Words: Trace elements, atherosclerosis.

Alt ekstremitenin kronik iskemisi, aterosklerotik darlıkların yanında, oksidatif ve reolojik faktörlerden de kaynaklanabilir. Yapılan çalışmalar, periferik arter hastalarında (PAH) koagülasyon aktivasyonunun, hematokrit (Hct) yüksekliğine bağlı viskozite artışının, eritrosit membran deformibilitesinde (EMD) azalmanın ve lökosit aktivasyonunda artışın olabileceğini göstermektedir (1,2,3). Edinburgh Arter Çalışmasında, anke-brakial basınç indexinin, klodikasyon mesafesi ve reaktif hiperemi testi ile sadece kısmi paralellik gösterdiği saptanmıştır (1).

Reolojik faktörlerin, arteriyel darlığın distalindeki iskemiyeye katkıları henüz netlik kazanmamıştır. Oksidatif stresi yönlendiren plazma Fe seviyesi ve EMD ile paralellik gösteren plazma

Zn seviyesinin hipoksi nedenlerinden olabileceğini düşünmek yanlış olmaz. Çalışmamızın amacı PAH grubunda iskeminin nedeni olarak lipid peroksidasyonu ve Fe, Cu, Zn plazma seviyelerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

PAH grubuna, klinik olarak femoral arter tıkanıklığı tespit edilen 25 hasta dahil edildi (5 kadın, 20 erkek, ort. Yaş 54±3.2). Hastaların hepsi femoropopliteodistal revaskülarizasyona adaydı ve klodikasyon (5 hasta), istirahat ağrısı (12 hasta), iskemik yara (8 hasta) şikayetleri vardı. Kontrol grubu (n:25, 7 kadın, 18 erkek, ort. Yaş 32±2.1) klinik olarak aterosklerotik damar hastalığı saptanmayan sağlıklı bireylerden seçilmişti. Çalışmaya katılan hastaların, hemore-

olojik parametreler ve trombosit fonksiyonunu etkileyebilecek ilaçları en az 7 gün önceden kesilmiştir.

Aç karna alınan kan örneklerinden tam kan sayımı yapıldı. Plazma ve eritrosit lipid peroksit seviyelerine Buege ve August tarafından tarif edilen yöntem ile bakıldı ve değerler tiobarbitürik asit reaktif madde şeklinde ifade edildi (TBARS) (4). Serum Fe, Cu ve Zn seviyeleri atomik absorpsiyon spektrofotometri ile incelendi (Shimadzu-AA680, Japan). Eritrosit membran deformabilitesi Amin ve arkadaşları tarafından tarif edilen stroboskopik kayıt santrifuj yöntemi ile değerlendirildi (Movistrop 2000 N, Bamberg+Bormnn electronic, Germany) (5).

Kan viskozitesi rotasyonel viskometre ile ölçüldü (Welb Brookfield Viscometer, Model LV-DV III, Brookfield Laboratories, Stoughton, Massachusetts). 6.00 sn⁻¹ ile 225 sn⁻¹ arası yırtılma kuvvetleri (shear rate) kullanılarak değişik hızlarda kan viskozitesine bakıldı. Plazma viskozitesi ölçümleri Harkness viskometre ile yapıldı (Coulter electronics LTD., England) Her iki grubun istatistiksel değerlendirilmesi student-t testi ile yapıldı ve p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Ortalama kan sayımı, EMD, plazma ve kan viskozitesi değerleri Tablo-I'de gösterilmiştir. Hct, Hemoglobin (Hb), değerleri, eritrosit sayısı (RBC) karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. PAH grubunda lökosit sayısı (WBC) anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.01). Her iki grup karşılaştırıldığında plazma viskozitesi değerleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Çalışmamızda, damar çapının kan viskozitesine etkisini araştırmak amacı ile,

kan viskozitesi 3 ayrı yırtılma kuvvetinde (shear rate) hesaplanmıştır. Kapiller viskoziteyi gösteren 6.00 sn⁻¹ yırtılma kuvveti (shear rate) ve orta çaplı damarlardaki kan viskozitesini gösteren 22.5 sn⁻¹ yırtılma kuvveti (shear rate) ölçümleri PAH grubunda anlamlı azalmış olarak bulunmuştur (p<0.001, p<0.01). Fakat büyük damarlardaki kan viskozitesini gösteren 225 sn⁻¹ yırtılma kuvveti (shear rate) ölçüm değerlerinde, her iki grup arasında anlamlı farklılığa rastlanmamıştır. Eritrosit membran deformabilite değerleri PAH grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düşük bulunmuştur (p<0.001).

Ortalama eritrosit ve plazma Fe, Cu, Zn ve lipid peroksit değerleri Tablo II'de gösterilmiştir. Eritrosit ve plazma Fe seviyeleri PAH grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.001, p<0.05). Aynı şekilde eritrosit Cu değerleri de PAH grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.001). Bunun yanında EMD ile korele ettiği gösterilen plazma ve eritrosit Zn değerleri, PAH grubunda anlamlı düşük olarak bulunmuştur (p<0.001, p<0.05). Plazma ve eritrosit lipid peroksidasyon düzeyleri PAH grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.001, p<0.001).

TARTIŞMA

Aterosklerotik darlığın dışında, kandaki reolojik ve biokimyasal faktörler, kapiller dolaşımda tromboz ve obstruksiyona yol açarak, iskemi-yi arttırabilirler. Yapılan bir çalışmada aynı anjiyografik lezyonu olan (sup. femoral arterde) 12 hastanın değişik klodikasyon mesafeleri tarif ettiği bildirilmiştir (6). Aynı çalışmada kladükasyon mesafesindeki değişikliğin nedeni olarak hastaların kan viskozitelerindeki farklılıklar bildirilse de, distal kas iskemisinin tek nedeni olarak aterosklerotik darlığın gösterilemeyeceği açıktır.

Tablo 1. Tam kan sayımı, EMD, plazma ve kan viskozitesi

	PAH grubu	Kontrol grubu	P değerleri
Hct(%)	41.05±6.96	41.07±4.53	NS
Hb (g/dl)	14.0±2.49	13.43±1.10	NS
WBC (103/mm3)	6.650±1.620**	6.160±1.030	<0.01
RBC (106/mm3)	4.695±0.770	4.724±0.627	NS
EMD(%Hct sn ⁻¹) (cp)	11.94±3.380	18.3±3.481***	<0.001
Plazma vis. (6.00 sn ⁻¹)	1.337±0.137	1.32±0.11	NS
Kan vis. (cp) (6.00sn ⁻¹)	5.418±1.32***	9.61±2.84	<0.001
(cp) (22.5 sn ⁻¹)	4.277±0.611**	6.64±1.91	<0.01
(cp) (225 sn ⁻¹)	3.952±0.575	4.15±0.67	NS

p<0.01, *p<0.001, ortal±SS

EMD (Eritrosit membran deformabilitesi)

Tablo 2. Plazma ve eritrosit eser element düzeyleri

	PAH grubu	Kontrol grubu	P değ.
Plazma Fe (mg/dl)	159.87±125.80*	77.91±23.77	<0.05
Cu (mg/dl)	126.80±45.83	100.81±17.24	NS
Zn (mg/dl)	59.37±23.32	77.08±14.56*	<0.05
Eritrosit Fe ((mg/dl)	128.62±4.17***	83.90±2.75	<0.001
Cu (mg/dl)	42.70±12.25***	23.34±9.31	<0.001
Zn (mg/dl)	72.23±25.86	177.35±27.66***	<0.001

*p<0.05, ***p<0.001

Edinburgh Arter Çalışmasında, kan viskozitesinin determinantlarından olan, Hct ve RBC değerlerinin yüksekliğini, PAH grubunun şikayetlerinin ağırlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (1). Bir başka çalışmada ise Hct değerleri ile PAH kliniği arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir (7). Çalışmamızda her iki grup karşılaştırıldığında Hct ve RBC değerleri arasında anlamlı farklılık gösterilmemiştir. PAH grubunda anlamlı yüksek WBC değerlerine rağmen kan viskozitesindeki azalmanın nedeni olarak, azalmış EMD gösterilebilir. Deformibilite özelliği azalan eritrositler kapiller düzeyde parçalanır ve viskozite bu bölgede azalır.

Eser elementlerin (Zn, Fe, Cu) lipid peroksidasyon üzerine önemli etkileri vardır (8). Lipid peroksidasyonu otokatalitik bir süreçtir ve hücre duvarını etkileyerek membran geçirgenliğini artırır, sonuç ise hücre ölümüdür (9). Eser element düzeylerindeki değişikliklerin, antioksidan savunma mekanizmasını zayıflatarak, serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerine hücreyi duyarlı kıldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, Fe yüksekliğinin oksidatif hasarı artırdığı ve damar duvarına zarar verdiği gösterilmiştir (10, 11). Ayrıca Salonen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada plazma Cu düzeyi yüksek insanlarda, myokardiyal enfarktüs riskinin 4 kat fazla olduğu bildirilmektedir (12). Çalışmamızda PAH grubundaki yüksek Cu ve Fe değerleri literatürdeki sonuçlarla uyumludur.

Superoksit dizmutazın ko-faktörü olan Zn, serbest oksijen radikal temizleme (scavenger) sisteminde önemli rol oynar ve EMD'yi artırır (13). Deneysel olarak Zn tuzları ile EMD'nin artırılabilceği gösterilmiştir (14). Sporcular üzerinde yapılan klinik araştırmada Zn tuzlarının, laktat birikimini azaltarak veya EMD'yi artırarak kan reolojisi üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (13). Literatürlerin ışığı altında, düşük Zn düzeylerinin EMD'yi azaltarak doku hipoksisini arttırabileceğini söylemek yanlış olmaz.

617 klodikasyon tarif eden hasta grubunda yapılan bir çalışmada; yaş, cinsiyet ve sigara içme süresi gibi faktörlerden bağımsız olarak viskozitenin klodikasyon riski ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (15). Ayrıca aynı çalışmada viskoziteyi azaltmanın, kan akımını artırarak klodikasyon mesafesini azaltacağı belirtilmektedir. Diğer bir çalışmada ankle-brakial basınç indeksi ile viskozite arasındaki bağlantıya dikkat çekilmektedir (1). Çalışmamızda, her iki grup arasında kan viskozite değerleri arasındaki istatistiksel değerlendirme sonuçları literatür ile uyumlu değildir. Bunun nedeninin, PAH grubunda bulunan azalmış EMD değerleri olduğunu düşünmekteyiz. Viskozitenin major determinantlarından olan EMD'nin azalmasının nedeni artmış oksidatif strestir. EMD azalması sonucu kapiller bölgede esnekliğini kaybeden eritrositler parçalanır. Sonuç olarak, kapiller bölgede viskozite azalırken, doku oksijenasyonu da bozulur.

Bu çalışmada, doku iskemisine, reolojik, hematolojik faktörlerin ve eser element düzeyinin etkisini araştırmayı amaçladık. Bulunan sonuçlar incelendiğinde viskozitenin, arteriyel darlığın distalindeki doku hipoksisini etkileyen major etken olmadığı görülmektedir. Azalmış doku hipoksisinin nedeni olarak yüksek plazma Fe, Cu ve düşük Zn seviyeleri ile artan ve EMD'yi azaltan oksidatif stres olduğunu düşünmekteyiz.

Eser element düzeyindeki değişiklikler, doku hipoksisini açıklamada yeni bir bakış açıdır. Eser element düzeyi-oksidatif hasar-EMD arasındaki bağlantı düşünülünce doku hipoksisinin nedenlerinden birinin de eser element düzeyindeki değişiklikler olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Lowe G.D.O., Fowkes F.G.R., Dawes J. et al: Blood viscosity, fibrinogen and activation of coagulation and leukocytes in peripheral arterial disease and the normal population in Edinburgh Artery Study. Circulation 87: 1915-20, 1993.

2. Smith F.B., Lowe G.D.O., Fowkes F.G.R. et al: Smoking, haemostatic factors and lipid peroxides in a population case control study of peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 102: 155-62, 1993.
3. Dormandy J.A., Hoare E., Khattab A.H. et al: Prognostic significance of rheological and biochemical findings in patients with intermittent claudication. *BMJ* 4: 581-83, 1973.
4. Buege JA, Aust SD: Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 12: 302-10, 1979. Amin T.M., Sirs J.A. Turner P.: Measurement of erythrocyte deformability using stroboscopic recording centrifuge. *Phys Med Biol* 28: Suppl. 3, 269-75, 1983.
6. Dormandy JA, Hoare E., Colley J et al.: Clinical, haemodynamic, rheological and biochemical findings in 126 patients with intermittent claudication. *BMJ* 4: 576-81, 1973.
7. Criqui M.H., Browner D., Fronek A., Klauber M.R., Couglin S.S., Barrett-Connor E., Gabriel S.: Peripheral arterial disease in large vessels in epidemiologically distinct from small vessel disease. *Am J Epidemiol* 129(6): 1110-19, 1989.
8. Halliwell B., GuHeridge J.M.C.: Oxygen Toxicity, oxygen radicals transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14, 1984.
9. Halliwell B., Borish E.T., Pryor W.A., Ames E.N., Soul R.L.: Oxygen Free radicals and human disease. *Ann Intern Med* 107: 526-45, 1987.
10. Voest E.E., Vreugdenhil G., Marx J.J.M.: Iron-chelating in non-iron overload conditions. *Ann Intern Med* 120: 490-99, 1994.
11. Yagi K.: Increased lipid peroxides initiate atherosclerosis. *Bioassays* 1: 58-60, 1984.
12. Salonen J.T., Salonen R., Korpela H., Suntuinen S., Tuomiletho J.: Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: A prospective study in men in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 134: 268-71, 1991.
13. Khaled S., Brun J.F., Bardet M.L., Cassanas G., Monnier J.F., Orsetti A.: Serum zinc and blood rheology in sportsmen. *Clin Hemorheol Microcirc* 17: 47-58, 1997.
14. Brun J.F., Fons C., Fussellier M., Bardet L., Orsetti A.: Zinc salts improve in vitro erythrocyte flexibility. *Rev Port Hemorreol.* 5(2): 131-38, 1991.14
15. Lee A.J., Fowkes F.G.R., Rattray A. et al: Haemostatic and rheological factors in intermittent claudication: The influence of smoking and extent of arterial disease. *Br J Haematol* 92: 226-230, 1996.