

## KIZAMIKTA OKSİDATİF STRES

### OXIDATIVE STRESS IN MEASLES

Ayşe ERBAY<sup>1</sup> Ali Rıza ERBAY<sup>2</sup> Nurcan BAYKAM<sup>1</sup> Şebnem EREN<sup>1</sup> Başak DOKUZOĞUZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği;

<sup>2</sup> Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi; Ankara

**Anahtar Sözcükler:** Kızamık, oksidatif stres, erişkin

**Key Words:** Measles, oxidative stress, adults

## ÖZET

Oksijen radikalleri birçok infeksiyon hastalığının patogeneğinde anahtar moleküllerdir. Kızamıkta oksidatif stres varlığını araştırmak amacıyla, 25 kızamık hastası ve 25 sağlıklı kontrolde plazma malondialdehit (MDA), serum karbonil ve plazma total sülfidril düzeylerinin spektrofotometri ile ölçümü yapıldı. Plazma MDA ve serum karbonil düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı. Plazma sülfidril düzeyleri ise hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu. Kızamıkta oksidatif stresin arttığı ve tedavide anti-oksidan ajanların yararlı olabileceği görüşüne varıldı.

## SUMMARY

Oxygen radicals are key molecules in the pathogenesis of various infectious diseases. To investigate whether oxidative stress increases in measles or not, plasma malondialdehyde (MDA) levels, serum carbonyl levels and plasma total sulphhydryl levels were measured in 25 measles patients and 25 healthy controls by using spectrophotometry. Plasma MDA and serum carbonyl levels in patients with measles were detected higher than those in the control group. Plasma sulphhydryl levels were found to be lower in the patient group when compared with the control group. It is concluded that oxidative stress increases in measles and antioxidant agents can be beneficial in the treatment.

## GİRİŞ

Serbest radikaller organizmada hücresel metabolizma sonucunda veya çevresel faktörlerin etkisiyle oluşabilir (1). Serbest radikaller hemen tüm hücre bileşenlerini etkileyebilmektedir; lipitleri etkileyerek hücre membranlarının peroksidasyonuna, proteinleri etkileyerek sülfidril içeren enzimlerin oksidasyonu ile enzimlerin inaktivasyonuna, karbonhidratları etkileyerek polisakkarit depolimerizasyonuna, nükleik asitlerin ve yağ asit sentezinin inhibisyonuna, kofaktörlerin ve nörotransmitterlerin aktivasyonunda azalmaya, antioksidan vitaminlerin miktarında azalmaya neden olurlar (2, 3).

Organizmada çeşitli yollarla oluşan serbest oksijen radikallerine karşı oksidatif hasarı önleyen sınırlayan ya da kısmen tamir eden anti-oksidanlar olarak adlandırılan koruyucu mekanizmalar vardır (4). Sağlıklı bireylerde oluşan serbest oksijen radikalleri ile anti-oksidan savunma sistemi dengededir. Serbest radikallerin ve diğer oksidanların üretimi ile anti-oksidan savunma arasındaki dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu durumda ya anti-oksidan savunma zayıflamıştır ya da serbest oksijen radikallerinin üretimi artmıştır ya da her iki etki bir arada görülür. Akut ve kronik hepatitler, sepsis, meninjit gibi çeşitli hastalıklarda oksidatif stres gelişimi olduğu bildirilmektedir (4-8).

Bu çalışmada, kızamık seyri sırasında oksidatif stres gelişip gelişmediğini belirlemek amacıyla lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve anti-oksidan aktivite araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, kliniğe yatırılarak izlenen klinik bulguları ve ELISA kızamık IgM pozitifliği ile kızamık tanısı konulan 25 hastada yapıldı. Cinsiyet ayrımına dikkat edilmedi. Hastalar erişkin yaş grubundan seçildi. Ek hastalığı, öyküsünde sigara içimi bulunanlar ve herhangi bir ilaç kullanan olgular çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu olarak herhangi bir hastalığı olmayan, sigara içmeyen, herhangi bir ilaç kullanmayan 25 sağlıklı kişi seçildi.

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak plazma malondialdehit (MDA) düzeyi, protein oksidasyonunun göstergesi olarak serum karbonil düzeyi ve anti-oksidan aktivitenin göstergesi olarak plazma total sülfidril (SH) grupları ölçümleri yapıldı.

Tüm kan örnekleri kol venasından açken alındı. Karbonil saptaması için serumdan çalışma yapıldı. Malondialdehit ve SH saptaması için EDTA'lı vacutainer tüplere 5 ml kan alındı. Kanlar alındıktan sonra 3000 g'de +4° C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan plazmada deneyler bekletilmeden yapıldı.

Serumda protein karbonil grubu saptaması; protein karbonil grupları ile 2,4-dinitrofenil hidrazinin reaksiyonu sonucu oluşan kararlı hidrazon bileşiklerinin 370 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayalı olarak yapıldı. Karbonil miktarı proteine bağlı verildiğinden 280 nm'de protein saptaması yapılarak karbonil miktarı nmol/mg protein şeklinde değerlendirildi (9).

Plazma MDA ölçümü MDA'nın tiyobarbitürik asit ile birleşmesi sonucu oluşan ürünün floresan şiddetinin florometrik olarak ölçülmesi esasına dayalı olarak yapıldı (10).

Plazma total SH gruplarının saptanmasında SH gruplarının 2-2- ditiyobisnitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek oluşturduğu 5-tiyo-2 nitrobenzoik asidin verdiği sarı rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi yöntemi kullanıldı (11).

Çalışmada kullanılan 2,4-dinitrofenil hidrazin, potasyum fosfat, guanidin HCl, 1,1,3,3-tetra etoksiporan, tiyobarbitürik asit, tris tampon Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, ABD) firmasından; asetik asit, n-butanol, triklorasetik asit, hidroklorik asit, etilasetat Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından; etanol Carlo Erba (Milano, İtalya) firmasından sağlandı.

İstatistiksel hesaplamalar "STATA 7.0 (College Station, Texas, ABD)" istatistik programı ile yapıldı. Grup karşılaştırmalarında bağımsız student t-testi kullanıldı.

## BULGULAR

Çalışmaya 16-37 yaşları arasında, yaş ortalamaları 21±5.3 olan, 18'i erkek ve yedisi kadın olmak üzere toplam 25 hasta alındı.

Fizik muayenede; hastaların hepsinde makülopapüler döküntü ve 38° C'nin üzerinde ateş saptandı. Onaltı (%64) hastada yanak mukozasında Koplik lekeleri vardı. İki (%8) olguda hepatomegali, beş (%20) olguda akciğer oskültasyonunda yaygın kreptan raller saptandı. Akciğer grafisinde pnömonik infiltrasyon sadece bir olguda izlendi.

Hastaların hemoglobin, hematokrit, trombosit değerleri normal sınırlardaydı. Ortalama beyaz küre sayısı 4740±1335/mm<sup>3</sup> bulundu. Hastaların tümünde transaminaz değerleri normalin üstünde saptandı. Ortalama AST düzeyi 60±17 IU/L, ALT 56±18 bulundu.

Olguların tümünde ELISA ile kızamık IgM pozitif saptandı.

Kontrol grubunu yaş ortalamaları 20.3±6.1 olan 15 erkek ve 10 kadın oluşturdu. Kontrol ve hasta grubunun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05).

Hasta ve kontrol gruplarında sırasıyla plazma MDA düzeyi 1.733±0.502 µmol/L ve 0.754±0.311 µmol/L olarak saptandı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.001).

Serum karbonil düzeyi hasta grubunda 3.472±0.521 nmol/mg protein ve hasta grubunda 0.997±0.329 nmol/mgprotein olarak saptandı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.001).

Plazma total SH düzeyi hasta grubunda 347.6±82.5 µmol/L ve hasta grubunda 567.8±60.5 µmol/L saptandı aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.001).

## TARTIŞMA

Serbest radikaller lipitler ve proteinler gibi hücre bileşenlerinde, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Serbest radikaller membranlarda lipit peroksidasyonuna yol açarak membranların bütünlüğünü değiştirir, membranlarda akıcılığın kaybına, permeabilite artışına, hücrenin parçalanmasına ve hücre içeriklerinin serbestleşmesine neden olur. Serbest radikallerin direkt olarak proteinlere saldırması veya lipit peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın proteinlerle reaksiyonu sonucu proteinlerde oksidatif hasar meydana gelmektedir. Sülfidril (SH) grupları serbest oksijen türler ve lipit peroksitleri ile reaksiyona girerek reaktif oksijen türlerini nötralize ederler, böylece oksidatif doku hasarını önlemiş olurlar (2).

Son çalışmalar serbest oksijen radikallerinin salınımındaki artışın infeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Özellikle viral infeksiyonların patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin anahtar moleküller olduğu bildirilmektedir (12). Kızamıkta oksidatif stresin varlığı ile ilgili olarak yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamakla birlikte, oksidatif stresin hepatit, influenza ve AIDS gibi birçok viral infeksiyonun patogeneğinde yer aldığına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır (8, 12, 13).

Endojen oksidasyon reaksiyonları konak savunmasında lökosit içi mikrobiyal öldürme mekanizmasında yer alırlar. Bununla birlikte, reaktif oksijen türleri anti-oksidan savunma sistemi ile kontrol altında olmamaları durumunda normal dokuları zedeleyebilir. Veriler anti-oksidanların ve özellikle anti-oksidan potansiyeli arttıran tedavilerin infeksiyon hastalıklarının kliniğinde büyük bir düzelmeye sağladığını göstermektedir (14, 15). Organizmada oluşan reaktif oksijen türleri anti-oksidan savunma sistemi ile

uzaklaştırılmaktadır. A, C ve E vitaminlerinin diyetle verilmesi anti-oksidan savunma üzerinde düzelmeye sağlamaktadır (16).

Çalışmada, kızamık infeksiyonu seyrinde lipit peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda artış ve plazma anti-oksidan aktivitesinde ise azalma olduğu saptanmıştır.

Çocuklarda kızamık infeksiyonunda vitamin A uygulaması ile morbidite ve mortalitede azalma olduğunu gösteren çok sayıda klinik çalışma bulunmaktadır (17, 18). A vitamini zayıf anti-oksidan özelliği olan bir vitamindir (19). Ancak kızamık seyrinde daha potent antioksidanların kullanımı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, kızamıkta MDA ve karbonil düzeylerindeki artış lipit peroksidasyonunun ve protein oksidasyonunun arttığını göstermektedir. Plazma total sülfidril gruplarının düzeyinde ise oksidatif strese bağlı olarak azalma saptanmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Freeman BA, Crapo JD. Biology disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-26.
2. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: Source biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 3C): 149-235.
3. Athar M, Abdulla M, Sultanz S, et al. Free radicals and trace elements. *J Trace El Exp Med* 1993; 6: 67-73.
4. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-928.
5. Farinati F, Cardin R, De Maria N, et al. Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepato* 1995; 22: 449-56.
6. Higuera V, Raya A, Rodrigo JM, et al. Interferon decreases serum lipid peroxidation products of hepatitis C patients. *Free Radic Biol Mec* 1994; 16: 131-3.
7. Goode HF, Webster NR. Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit Care Med* 1993; 21: 1770-6.
8. Fehér J, Vereckei A, Lengyel G. Role of free-radical reactions in liver diseases. *Acta Physiol Hung* 1992; 80: 351-61.
9. Levine RL, Gorland D, Oliver CN, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Method Enzymol* 1990; 186: 464-78.
10. Wojciech W, Neve 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* 1983; 39: 2522-6.
11. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 1994; 233: 380-5.
12. Akaïke T. Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation. *Rev Med Virol* 2001; 11: 87-101.
13. Fuchs J, Schofer H, Milbrat R, et al. Studies on lipoate effects on blood redox state in human immunodeficiency virus infected patients. *Arzneimittelforschung* 1993; 43:1359-62.
14. Winterbourn CC, Buss IH, Chan TP, Plank LD, Clark MA, Windsor JA. Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 143-9.
15. Keusch GT. Antioxidants in infection. *J Nutr Sci Vitaminol* 1993; 39 (Suppl): S23-33.
16. Preiser JC, Van Gossom A, Berre J, Vincent JL, Carpentier Y. Enteral feeding with a solution enriched with antioxidant vitamins A, C, and E enhances the resistance to oxidative stress. *Crit Care Med* 2000; 28: 3828-32.
17. Villamor E, Fawzi WW. Vitamin A supplementation: implications for morbidity and mortality in children. *J Infect Dis* 2000; 182 (Suppl 1): S122-33.
18. Semba RD. Vitamin A as "anti-infective" therapy, 1920-1940. *J Nutr* 1999; 129: 783-91.
19. Bendich A. Physiological role of antioxidants in the immune system. *J Dairy Sci* 1993; 76: 2789-94.