

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Preddiplomski studij kemije

Silvija Bašić

**Utjecaj pušenja na biomarkere oksidacijskog
stresa**

Završni rad

Mentorica : doc.dr.sc. Katarina Mišković Špoljarić

Osijek, 2016

Sažetak:

Pušenje je navika opasna po zdravlje čovjeka. Cigarettni dim sadržava brojne opasne i karcinogene tvari koje utječu na zdravlje. Upravo zbog duhanskog dima dolazi do oslobađanja slobodnih radikala i reaktivnih kiskovih vrsta u tijelu. Oni su odgovorni za pojavu oksidacijskog stresa. Pušenje također uzrokuje brojne koronarne bolesti te aterosklerozu. Vrlo važnu ulogu u borbi protiv istog imaju antioksidansi koje bismo trebali unositi svakodnevno. U ovom radu opisat ćemo nastanak oksidacijskog stresa kao posljedice pušenja.

Ključne riječi: biomarkeri, oksidacijski stres, pušenje, duhanski dim, ateroskleroza

Abstract:

Smoking is habit that is dangerous for human health. Tobacco smoke contains many dangerous and carcinogenic compounds. Because of the tobacco smoke, free radicals and reactive oxygen species are made in organism. They are responsible for oxidative stress. Smoking causes many coronary diseases and atherosclerosis. Very important is consuming antioxidants to fight oxidative stress. In this paper, we will describe how smoking affect oxidative stress.

Key words: biomarkers, oxidative stress, smoking, tobacco smoke, atherosclerosis

Sadržaj:

1.	UVOD	1
2.	UTJECAJ PUŠENJA NA BIOMARKERE OKSIDACIJSKOG STRESA	2
2.1.	Izloženost duhanskom dimu	2
2.2.	Oksidacijski stres- OS	6
2.3.	Biomarkeri.....	11
2.4.	Utjecaj pušenja na biomarkere oksidacijskog stresa- ateroskleroza.....	12
2.5.	Prepoznavanje povećane razine oksidacijskog stresa u organizmu i kako ga umanjiti.....	13
3.	ZAKLJUČAK	15
4.	POPIS IZVORA	16

1. UVOD

Pušenje je način konzumiranja duhana. Duhan u sebi sadržava otrovne alkaloide, kao što je nikotin, a prilikom pušenja se stvara i katran. Pušenje je vrlo opasna navika ljudi jer štetno utječe na pluća, krvožilni sustav i pogoduje nastanku raznih bolesti. Pušenje je glavni rizični faktor za razvoj raka bronha, pluća, grkljana, jednjaka, bubrega, mokraćnog mjehura, a i rak vrata maternice i neki oblici leukemije su češći kod pušača. Također je poprilično nebitno radi li se o aktivnom ili pasivnom pušenju. Pušenje je povezano i sa nastankom oksidacijskog stresa u organizmu. Oksidacijski stres je stanje organizma u kojem dolazi do povećanog stvaranja izuzetno reaktivnih i opasnih slobodnih kisikovih čestica. One su glavni krivac za nastanak oksidacijskog stresa. Slobodni radikali kisika su vrlo reaktivni spojevi, a stvaraju se u organizmu tijekom fizioloških i patoloških metaboličkih procesa usred redukcije i ekscitacije kisika. Kod optimalnog funkcioniranja obrambenog antioksidacijskog sustava organizma i normalnog imunološkog odgovora, mehanizmom prilagodbe povećava se količina vlastitih antioksidansa koji onda neutraliziraju slobodne kisikove vrste (1).

Zapaljena cigareta stvara dim u kojem ima preko 4000 kemijskih spojeva, od kojih je 250 štetno, a 50 kancerogeno. Duhanu se dodaju brojne tvari kako bi se pospješilo djelovanje nikotina i na taj način pojačala ovisnost. Pušenje je povezano sa brojnim bolestima, izaziva puno, po život opasnih procesa u ljudskom organizmu. Jednako je štetno kako za pušača, tako i za njegovu okolinu (1,3).

Cilj ovog rada je objasniti povezanost pušenja, odnosno duhanskog dima sa oksidacijskim stresom kod čovjeka.

2. UTJECAJ PUŠENJA NA BIOMARKERE OKSIDACIJSKOG STRESA

2.1. Izloženost duhanskom dimu

Duhan je biljka iz porodice pomoćnica kojoj pripada 60 samoniklih vrsta. Potječe iz Amerike, a u Europu je prenesen tijekom 16. stoljeća pod imenom „tabaco“. Na početku je uzgajan kao rijetka ukrasna i ljekovita biljka usavršena do te mjere da su je smatrali svetom biljkom. Danas se duhan koristi prije svega za izradu cigareta. Dozreli listovi suše se i zatim prepuštaju fermentaciji zbog razaranja škroba i bjelančevina, a djelomično i nikotina. Tako prepariran proizvod se koristi za pušenje, šmrcaње i žvakanje (1).

Međutim, duhan je toksičan, sadrži alkaloid nikotin, koji podražuje živčani sustav, a u poljodjelstvu se njegove emulzije koriste za pripremu insekticida. Izloženost duhanskom dimu predstavlja globalni rizik za ljudsko zdravlje, a pogotovo za zdravlje pluća, kako navode Franjo Božić i Neven Pavlov u radu pod naslovom *Utjecaj pasivnog pušenja na učestalost infekcija dišnog sustava u djece predškolske dobi* (3).

Cigaretni je dim uzročnik najrazličitijih poremećaja koji uključuju rak pluća, sindrom iznenadne dojenačke smrti, srčane bolesti, kroničnu opstruktivnu plućnu bolest, infekcije srednjeg uha, astmu i bronhalnu hiperaktivnost. Naime, riječ je o vrlo složenoj mješavini više od 7000 najrazličitijih kemijskih sastojaka, što uključuje i visoku razinu koncentracije oksidansa. Velik broj istraživanja na stanicama *in vitro*¹ pokazao je kako sastojci duhanskog dima povećavaju koncentraciju reaktivnih kisikovih spojeva koji reagiraju sa staničnim proteinima, lipidima i deoksiribonukleinskom kiselinom (eng. deoxyribonucleic acid -DNA-om) (3).

Zbog oksidacijskog stresa koji može nastati i pod utjecajem cigaretnog dima dolazi do lomova DNA lanaca i oksidacijskih oštećenja DNA. Također, duhanski dim uzrokuje i fosforilaciju epidermalnog faktora rasta te posljedično nekontroliranu staničnu proliferaciju i malignu transformaciju, navode Božić i Pavlov (3).

¹ *in vitro*- istraživanja koja se izvode na stanicama ili biološkim molekulama, izvan njihovog normalnog biološkog okruženja

Sastojci koji se nalaze u cigaretnom dimu imaju i protuupalni učinak, te povećavaju razinu interleukina 6 i 8 i nuklearnog faktora κ B u ljudskim epitelnim stanicama. Treba svakako imati na umu kako cigaretni dim ne šteti samo aktivnim pušačima, već i onima koji se nalaze u njihovoj neposrednoj blizini, a posebno djeci koje se prečesto izlažu štetnim učincima istoga. Budući da djeca predstavljaju najosjetljiviju skupinu, duhanski dim njima uzrokuje najviše komplikacija (primjerice, značajno pridonosi morbiditetu i mortalitetu). Provedene studije potvrđuju kako broj popušanih cigareta pozitivno korelira s učestalošću infekcija gornjih dišnih putova, pogotovo kod djece. Prema nekim procjenama, od posljedica pasivnog pušenja na godinu umire oko 600 000 ljudi, od čega 165 000 djece (3). Pasivno pušenje možemo definirati kao nedobrovoljno izlaganje nepušača duhanskom dimu u okolini pušača. Godine 1981. po prvi je puta dokazano da je pasivna izloženost duhanskom dimu povezana s povećanom incidencijom karcinoma pluća u pasivnih pušača. Također, brojna su druga istraživanja upozorila na čitav niz različitih štetnih utjecaja pasivnog udisanja duhanskog dima na zdravlje nepušača. Pogotovo su česta oštećenja i komplikacije vezane uz dišni sustav. Prema posljednjem istraživanju Global Youth Tobacco Survey (skr. GYTS), koje je u Hrvatskoj provedeno 2011. godine, gotovo 67% mladih izloženo je duhanskom dimu kod kuće, dok njih 56% ima jednog ili oba roditelja pušača. Treba imati na umu i to da su nekad djeca izložena duhanskom dimu već intrauterino ukoliko majka puši tijekom trudnoće ili je pasivno izložena duhanskom dimu. Takva praksa može dovesti do niza komplikacija kao što su povećanje rizika od spontanog pobačaja, prijevremeni porođaj i sl. (9).

Znanstvenici neprestano upozoravaju na štetno termičko, kemijsko i mehaničko djelovanje pušenja duhana na zdravlje. Promjene koje izaziva duhanski dim obuhvaćaju cjelokupnu sluznicu dišnog, a djelomično i probavnog sustava. Promjenama na tvrdom i mekom tkivu usne šupljine uzrokovanim duhanskim dimom opisuje grupa autora u radu pod naslovom *Djelovanje pušenja duhana na tvrda i meka tkiva usne šupljine*. U radu je prikazano istraživanje provedeno na 50 dugogodišnjih pušača cigareta obaju spolova, te 100 nepušača u usporednoj skupini, podjednake životne dobi. Istraživalo se devet parametara relevantnih za prosudbu stanja zubala i sluznice usne šupljine. Rezultati koji su istraživanjem dobiveni upućuju na činjenicu da su promjene na tvrdim tkivima, kao i one na mekim značajno učestalije u pušača nego u nepušača. Lošim rezultatima doprinose uz duhanski dim i loša higijena, te posljedično smanjenje pH kao i učestala kserostomija² (4).

Osim izloženih učinaka, pušenje duhana djeluje i posredno suprimirajući imunološki sustav pušača, mijenja oralnu floru i povećava sklonost infekcijama, te značajno povećava opasnost

od oralnog karcinoma. Stoga ova, kao i sve slične studije, potiču na razmišljanje o zaštitnim mjerama (edukacija, odvikavanje od pušenja), te o mogućnostima uklanjanja već nastalih oštećenja (4).

Da bi ljudski živčani sustav normalno funkcionirao iznimno je važna njegova kontinuirana i adekvatna opskrba krvlju. Poznato je da pušenje na više načina uzrokuje i probleme s cirkulacijom, različite vrste poremećaja koji mogu dovesti do čitavog niza zdravstvenih problema. Moždani udar nalazi se među tridesetak pušačkih bolesti. Rizik od istoga može se smanjiti prestankom pušenja, kako su pokazale brojne studije. Ipak, nedovoljan broj pušača shvaća ozbiljnost posljedica koje pušenje može izazvati. Na svjetskoj razini svakih deset minuta netko umre kao žrtva pušenja. Najnovija istraživanja čak pokazuju da je rizik od pušenja znatno veći od onoga što su pokazivala ranija istraživanja. Pušači koji nastavljaju s pušenjem imaju znatno veću stopu smrtnosti nego nepušači u svim životnim razdobljima (4). Kako navodi Nevenka Čop u radu pod nazivom *Pušenje i moždani udar*, iznenadne smrti su u većini slučajeva kod pušača povezane upravo s uporabom duhana. Problem predstavlja i činjenica što se štetne posljedice pušenja na zdravlje najčešće ne očituju odmah nakon upotrebe kao što je to slučaj s većinom drugih opasnih supstancija. Javnost još uvijek neopravdano podcjenjuje rizik od pušenja i zapravo je neshvatljivo da proizvod poput duhana, koji ubija kad se rabi na način na koji se rabi, može biti legalan (5).

Nađena je povezanost između pušenja i poremećaja razgradnje masnoća. Ustanovljeno je da pušači imaju značajno višu razinu totalnog kolesterola, triglicerida te VLDL³ i LDL-kolesterola⁴. Istodobno je koncentracija HDL-kolesterola⁵ i apolipoproteina A1 koji imaju zaštitnu funkciju snižena. Kod pušača nakon masnog obroka ne dolazi do povišenja koncentracije HDLkolesterola, što se normalno događa kod nepušača. Moguće je objašnjenje da nikotin stimulira oslobađanje adrenalina, povišuje se koncentracija slobodnih masnih kiselina koje potiču hepaticku sekreciju VLDL-kolesterola. Koncentracija HDL-kolesterola mijenja se inverzno s koncentracijom VLDL-kolesterola. Kod pušača je nađena i povišena koncentracija tromboksana A2 te povećana reaktivnost trombocita. Povišena je i razina faktora VII i fibrinogena. Osim toga kod dugogodišnjih je pušača ustanovljen i poremećaj u oslobađanju prostaciklina i EDR-faktora⁶ koji reguliraju bazalni tonus krvnih žila (5).

²kserostomija- suhoća usne šupljine; ³VLDL-eng. very low density lipoprotein- lipoprotein vrlo male gustoće; ⁴LDL- eng. low density lipoprotein- lipoprotein male gustoće; ⁵HDL- eng. high density lipoprotein- lipoprotein visoke gustoće. „dobri kolesterol“; ⁶EDR-faktor- erythroid differentiation regulator- faktor stresa

Tablica 1. Neki od opasnih sastojaka dima prosječne cigarete koja uključuje 12 000 različitih tvari (11)

SPOJEVI	KONCENTRACIJA mg
Ugljikov dioksid	45-65
Ugljikov monoksid**	10-23
Dušikov oksid**	0,1-0,6
Butadien*	0,025-0,04
Benzen*/**	0,012-0,05
Formaldehid**	0,02-0,1
Acetaldehid*/**	0,4-1,4
Metanol**	0,08-0,18
Hidrocyan**	1,3
Nikotin**	0,8-3
Policiklički aromatski hidrokarbonati*	
Aromatski amini*	
N-nitrosamini*	

*karcinogeni spojevi **otrovni spojevi

2.2. Oksidacijski stres- OS

Oksidacijskom stresu nije se pridavala dovoljna pažnja sve do nedavno. Od pedesetih godina 20. stoljeća pa do danas u svijetu se o ovoj temi dosta govori, naročito o oksidacijskom stresu pri različitim bolestima i trovanjima. Ukoliko smo svjesni kompleksnosti ovog patofiziološkog mehanizma i njegovog značaja u brojnim patologijama, onda ove teme ne smijemo zanemarivati. Posebnu pažnju treba, među ostalim, obratiti na značaj i ulogu slobodnih radikala, tj. na reaktivne kemijske vrste koje imaju karakter slobodnih radikala (8).

Kako navodi Danijela Kolenc u radu *Imunohistokemijska koekspresija 4-hidroksinonenala i prominina-1 u glijalnim tumorima mozga*, molekularni je kisik neophodan za život aerobnih organizama. Međutim, kada njegova koncentracija u tkivima i organima postane pretjerana, tj. veća od normalne, on postaje toksičan. Molekula kisika je biradikal, sadrži dva nesparena elektrona u vanjskoj ljusci. Kisik može biti toksičan prije svega zato što posjeduje svojstvo stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta (8).

Glavni razlog toksičnosti kisika je njegovo svojstvo stvaranja ROS-a⁷ – reaktivne kisikove vrste koje zbog prisutnosti nesparenih elektrona nazivamo slobodnim radikalima. Slobodne radikale definiramo kao molekule ili atome koji u vanjskoj ljusci imaju jedan ili više nesparenih elektrona koji su uzrokom davanja ili uzimanja elektrona drugim molekulama zbog čega su izrazito nestabilni i visoko reaktivni (reagiraju i s organskim i s anorganskim spojevima). Kako navodi autorica, slobodni radikali nastaju uslijed apsorpcije energije zračenja, u redukcijско-oksidacijskim reakcijama tijekom patoloških i normalnih fizioloških procesa (npr. oksidacijske fosforilacije u mitohondrijima, prijenosa elektrona u sistemu citokroma P-450 u endoplazmatskom retikulumu, fagocitoze itd.). Nadalje, slobodni radikali mogu nastati tijekom enzimske oksidacije i autooksidacije različitih kemijskih spojeva poput tiola, oksihemoglobina, hidrokinona ili kateholamina. U takvim situacijama dolazi do redukcije molekularnog kisika i nastajanja superoksida (najčešće uz prisutnost metana) (7,8).

⁷ROS- eng. reactive oxygen species- reaktivne kisikove vrste

Pri staničnom disanju molekularni se kisik na unutrašnjoj strani mitohondrija procesom oksidacijske fosforilacije u sistemu citokrom C oksidaza reducira do vode. Tijekom te reakcije oslobađa se mala, ali značajna količina reaktivnih spojeva kao međuprodukt. Kada govorimo o oksidacijskom stresu -OS, onda mislimo na stanje u kojemu oksidacijski procesi prevladaju antioksidacijske sposobnosti stanica tkiva ili organizama. Do oštećenja stanica dolazi djelovanjem slobodnih radikala koji nastaju tijekom aerobne respiracije stanice u oksidacijskom stresu (8). U ravnotežnim uvjetima slobodni radikali se razgrađuju enzimatskim i neenzimatskim proteinima. Do pomicanja ravnoteže može doći ukoliko je smanjena antioksidacijska sposobnost organizma ili ako je povećano stvaranje radikala. Oksidacijski stres predstavlja upravo takav poremećaj ravnoteže prooksidansa i antioksidansa u korist prooksidansa. Do povećanja aktivnosti i koncentracije slobodnih radikala dolazi kod patoloških procesa što je posredovano ekstracelularnim otpuštanjem RKV-a iz granulocita, aktivacijom ksantin oksidaze i fosfolipaze, promjenom u transportnom lancu elektrona u mitohondrijima itd. Postoji niz razlika između patološkog i fiziološkog oksidacijskog stresa, a odnose se na razne promjene na makromolekulama, pojedinačnim stanicama, ali i na čitavom organizmu. Razmjeri oštećenja koja su nastala kao posljedica oksidacijskog stresa ovise o stupnju i mehanizmu kojim je on izazvan, kao i o trajanju te organskom sustavu koji je pogođen. Ukoliko je oksidacijski stres težeg oblika, dolazi do niza ozbiljnih oštećenja staničnih struktura što na kraju rezultira staničnom smrću (7). Lipidna peroksidacija je autokatalitički proces potaknut OS pri čemu se oštećuju lipidi i posljedično dolazi do stvaranja visoko reaktivnih spojeva poput 4-hidroksinonenala (4-HNE). HNE se smatra sekundarnim toksičnim glasnikom jer oštećuje stanice i dovodi do njihove smrti. Tijekom OS nastali HNE smatraju se važnim čimbenikom inicijacije i promocije karcinogeneze (8). Složeni proces karcinogeneze, kojim se normalna stanica pretvara u malignu, odvija se u tri faze koje se razlikuju na biološkoj i molekularnoj razini:

a) Inicijacija

Riječ je o ireverzibilnom procesu koji započinje mutacijom u genomu stanice pri čemu dolazi do promjena molekulske strukture stanične DNA. Tvari ili fizikalne pojave koje mogu dovesti do takvih promjena nazivaju se mutageni. Ukoliko pri mutacijama nastaju tumori, te tvari nazivamo karcinogenima, a riječ može biti o kemijskim karcinogenima, ionizacijskim i neionizacijskim zračenjima te virusima. Tijekom ove faze dolazi do aktivacije brojnih protoonkogenih i inaktivacije tumorsupresorskih gena (8).

b) Promocija

U ovome stadiju dolazi do genske ekspresije i prijenosa signala iz okoline i selektivne klonalne ekspanzije stanica koje izbjegavaju kontrolne mehanizme rasta i diferencijacije. Kako se navodi u radu Kolenc i sur., superoksidni anion i vodikov peroksid smatraju se tumorskim inicijatorima, njihova aktivnost temelji se na smanjenoj staničnoj antioksidacijskoj zaštiti. Budući da ROS imaju važnu ulogu u nastajanju, ali i u daljnjem razvoju tumora, tumori predstavljaju stanje oksidacijskog šoka. Iako su tumorske stanice više izložene oksidacijskom šoku od normalnih, one su na njega otporne (8).

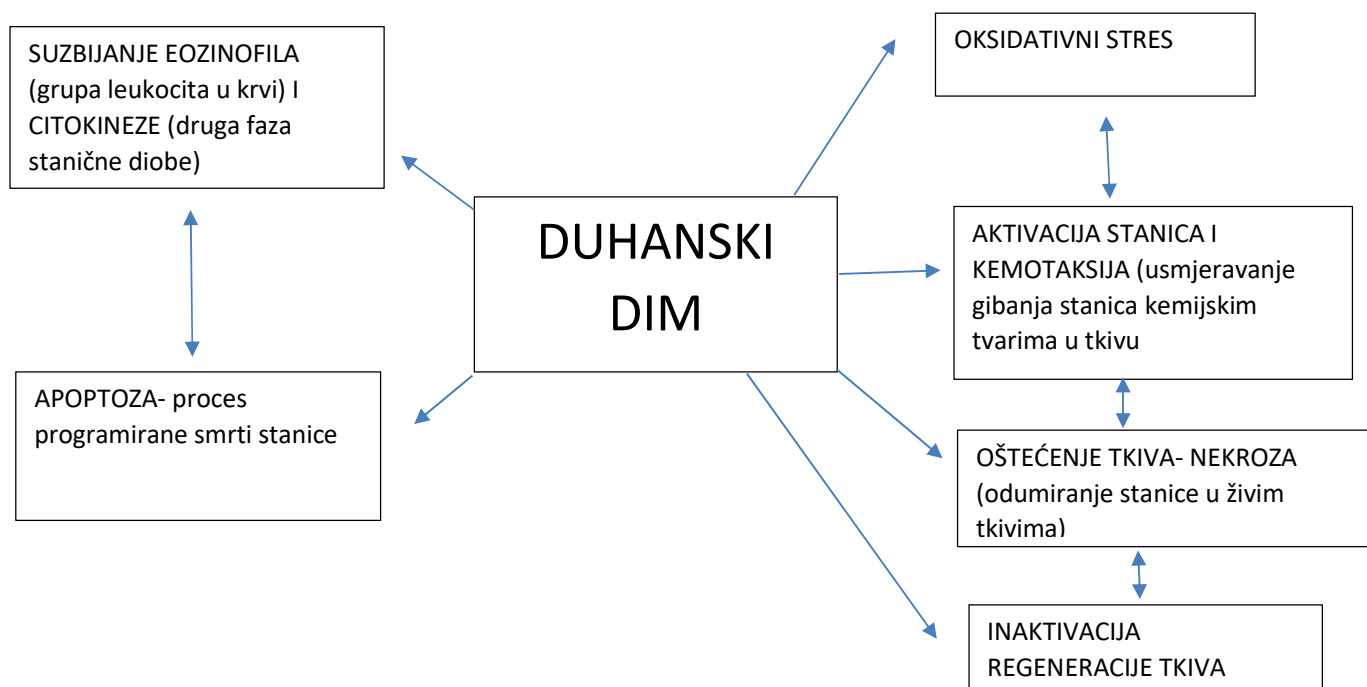
c) Progresija

Stalni oksidacijski stres može dovesti do kontinuirane aktivacije transkripcijskih čimbenika, što uzrokuje izrazitu staničnu proliferaciju uslijed promijenjene pojavnosti određenih gena, navodi autorica (8).

Tumorske stanice su više izložene OS u usporedbi s normalnim stanicama, ali su i otporne na OS. Mehanizam nastanka otpornosti nije jasan, ali prema nekim istraživanjima mogao bi se temeljiti na stvaranju glutationa u tumorskim stanicama. Stalni OS u tumorskim stanicama može dovesti do kontinuirane aktivacije transkripcijskih čimbenika, što uzrokuje izrazitu staničnu proliferaciju uslijed promijenjene pojavnosti određenih gena. Kad govorimo o utjecaju oksidacijskog stresa na središnji živčani sustav, treba imati na umu da je mozak, koji koristi petinu ukupnog kisika cijeloga organizma, vrlo osjetljiv na citotoksično djelovanje ROS-a (8). Moždane stanice većinu energije stvaraju u dišnom lancu unutar mitohondrija, a pri tome se oslobađa vodikov peroksid. U moždanom tkivu smanjena je aktivnost katalaza, pa se kisik i vodikov peroksid ne mogu brzo katalizirati kao što je to moguće u drugim tkivima i organima. Kada je riječ o pušenju i oksidacijskom stresu, onda je jasno da su najugroženija pluća (8).

Smatra se da više od polovice pušača dobiva kronični bronhitis karakteriziran bakterijskom kolonizacijom dišnih putova i ponavljanim respiratornim infekcijama. S obzirom na široko rasprostranjenu naviku pušenja i značajan porast onečišćenosti zraka posljednjih su desetljeća prevalencija i mortalitet od KOPB-a⁸ diljem svijeta u značajnom porastu. U nerazvijenim dijelovima svijeta ta je tendencija i dalje prisutna. Smatra se da je prevalencija KOPB-a u razvijenim zemljama 3-17%, a u nerazvijenima čak 13-27% . Danas je KOPB četvrti najčešći uzrok smrti odraslih, a SZO predviđa da će do 2020. godine KOPB postati trećim najčešćim uzrokom smrtnosti (10).

Usporedno s istraživanjima o učincima kronične izloženosti pušenju na funkciju pluća i upalu dišnih puteva, postoje i studije koje se bave učincima akutne izloženosti. Kako se navodi u radu *Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review* pregledom literature uočen je čitav niz studija koje se bave istraživanjem upravo takvih učinaka pušenja na upale i oksidacijski stres kod čovjeka, životinja ili na *in vitro* modelima (2). Tzv. *acute smoking model* relativno je jednostavna i osjetljiva metoda istraživanja specifičnih učinaka dima cigareta na oksidacijski stres i upale. Akutna izloženost dimu može dovesti do oštećenja tkiva, što se očituje i u povećanju produkata lipidne peroksidacije i produkata razgradnje proteina izvanstaničnog matriksa. Na ovaj način cigaretni dim ima supresijski učinak na broj eozinofila i nekoliko upalnih citokina. *Acute smoking model* služi i kao dobra nadopuna drugim oblicima i metodama proučavanja učinaka pušenja (2).

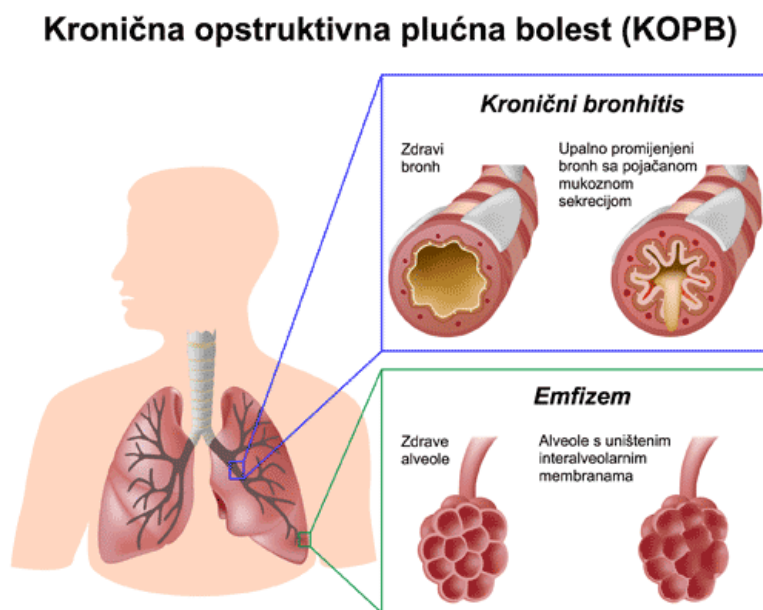


Slika 1. Posljedice akutne izloženosti duhanskom dimu (2)

⁸KOPB- kronična opstruktivska bolest pluća

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) među vodećim je svjetskim uzrocima smrti. U posljednjih desetak godina istraživanja usmjerena na patofiziološke mehanizme na kojima se temelji razvoj KOPB-a provedena su nad kroničnim pušačima. Nedostatak takvog proučavanja učinaka stvarne izloženosti dimu u postojanih pušača odnosi se na već razvijene strukturne promjene u dišnim putovima koje su nastale kao posljedica utjecaja cigaretnog dima. Stoga je važno proučiti način na koji reagiraju pluća koja se po prvi puta izlažu dimu kako bi se otkrile i procijenile relevantne promjene koje mogu imati ulogu u prvim koracima KOPB-a (10).

Danas općenito prihvaćen naziv kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) nastao je u ranim 60-im godinama prošlog stoljeća s ciljem lakšeg snalaženja u raznolikom nazivlju kojim su opisivana, osobito u anglosaksonskoj medicini, slična klinička stanja. Naziv se čini prikladnim jer označava činjenicu da su bolešću zahvaćeni ne samo dišni putovi nego i plućni parenhim i krvožilje (10). Prema GOLD-u, KOPB je klinički entitet karakteriziran progresivnom opstrukcijom dišnih putova koja nije potpuno reverzibilna, a uzrokovan je neprimjerenim upalnim odgovorom na dugotrajnu izloženost štetnim tvarima i plinovima. Ta se izloženost poglavito odnosi na pušenje duhana koje je glavni čimbenik rizika od nastanka KOPB-a, a dugotrajna izloženost dišnog sustava produktima izgaranja duhana inicijalni je pokretač kompliciranih patofizioloških mehanizama nastanka ove bolesti. Smatra se da više od polovice pušača dobiva kronični bronhitis karakteriziran bakterijskom kolonizacijom dišnih putova i ponavljanim respiratornim infekcijama (10).



Slika 2. Prikaz bronha i alveola kod kroničnog bronhitisa i emfizema (14)

2.3. Biomarkeri

Biomarkere možemo definirati kao objektivno mjerene i evaluirane pokazatelje normalnog biološkog procesa, patološkog procesa ili odgovora na terapijsku intervenciju. U biomarkere ubrajamo različite molekule (metaboliti, proteini ili geni), fiziološke parametre poput krvnog tlaka ili srčane frekvencije, te podatke dobivene magnetskom rezonancom i sličnim tehnikama (6).

Katarina Ilić i Vesna Kuntić u radu pod nazivom *Uloga biomarkera i surogatnih parametara u pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima lekova* navode kako se biomarkeri koriste za dijagnozu i prognozu bolesti, klasificiranje različitih podtipova nekog oboljenja, procjenu rizika neke bolesti, za procjenu efikasnosti i toksičnosti terapije itd. Biomarkeri se koriste kako za ranu dijagnozu kroničnih bolesti, tako i za dijagnozu akutnih stanja. Naročito su značajni pri dijagnosticiranju bolesti kod kojih je rano postavljanje dijagnoze od velikog značenja za uspješnost terapije i liječenja, te kod kojih dijagnostički testovi ne omogućuju detekciju bolesti dovoljno rano. Također, biomarkeri veliko značenje imaju i kod praćenja progresije kroničnih bolesti, kao što su karcinomi i dijabetes. Pri tome je važno da apsolutne vrijednosti biomarkera koreliraju s težinom bolesti (6).

Biomarkeri imaju široku primjenu u modernoj medicini i biologiji. Oni su promijenili način dijagnosticiranja i klasifikacije bolesti, praćenja efekata terapije, određivanja toksičnosti, a imaju i sve veću primjenu u razvoju novih lijekova. Karakteristike biomarkera određuju i njihovu primjenu. Biomarkeri koji imaju malu moć predviđanja korisnosti tretmana koriste se u ranim fazama razvoja lijekova za preliminarni skrining. Biomarkeri velike moći predviđanja mogu biti primjenjeni kao surogatni parametri u procjeni efikasnosti i sigurnosti tretmana (6).

Trendovi koje biomarkeri pokazuju od pregleda do pregleda često posluže kao znatno bolji pokazatelji pravog stanja bolesti od njegove apsolutne vrijednosti. Primjerice, kako navode autorice, povećan, ali stabilan tumorski marker može ukazivati na stabilnost bolesti kod osobe sa karcinomom dok povećanje tumorskog markera tijekom nekoliko uzastopnih pregleda ukazuje na ponovni rast tumora. Biomarkeri su značajni i za procjenu prognoze bolesti. Nedavno provedene studije pokazale su kako četiri biomarkera mogu potvrditi smrtnost od kolorektalnog karcinoma nezavisno o stadiju, lokalizaciji, godinama ili spolu bolesnika. Riječ je, naime, o vrstama proteina koji su rezultat genske ekspresije i koja se može koristiti za procjenu prognoze preživljavanja nakon kirurških zahvata i donošenja odluke o tome je li

potrebno da pacijent nakon zahvata bude na dodatnoj kemoterapiji. Biomarkeri oksidacijskog stresa predstavljaju osjetljive i rane indikatori oksidacijskih promjena u normalnim i patološkim stanjima. Kao oksidansi dovode do sprječavanja nastanka oksidacijskog stresa u patogenezi⁹ mnogih bolesti (6).

2.4. Utjecaj pušenja na biomarkere oksidacijskog stresa- ateroskleroza

Znanstveni rad "*Alterations in oxidative stress biomarkers associated with mild hyperlipidemia and smoking*" čiji je cilj bio procijeniti promjene u biomarkerima oksidacijskog stresa kod pušača i nepušača, proveden je od strane nekoliko znanstvenika. U istraživanje je uključeno 139 odraslih, zdravih muškaraca sa normalnom razinom lipida u krvi (normolipidemijom) i sa povišenom razinom lipida u krvi (hiperlipidemijom). Mjerilo se 5 biomarkera. Razine triglicerida su bile povezane sa razinom 8-izo-prostaglandina u plazmi. Pušači sa povišenom razinom kolesterola (hiperkolesterolemija), povišenom razinom triglicerida (hipertrigliceridemijom) i kombiniranom hiperlipidemijom su imali promjene u 1,3 i 2 biomarkeru oksidacijskog stresa u usporedbi sa nepušačima sa normalnom razinom lipida u krvi. Pušači su imali viši plazma FRAP (ferric reducing antioxidant power) i veću aktivnost eritrocit katalaze, dok su imali manju aktivnost eritrocit glutation peroksida (12).

Reaktivni oblici kisika (ROS), uključujući i slobodne radikale su uključeni u normalnim biokemijskim procesima, ali njihova prevelika količina može uzrokovati štete raznim makromolekulama. Oksidacijski stres je uzrokovan disbalansom između proizvodnje reaktivnih oblika kisika i sposobnosti čovjeka da ukloni takve štetne oblike. Oksidacijski stres može uzrokovati nekoliko ljudskih bolesti. Njegov učinak je posebno vidljiv kod koronarnih te srčanih oboljenja. Oksidacijski stres neovisan od drugih rizičnih faktora je povezan sa pojavom ateroskleroze. Hiperlipidemija je povezana sa konstantnim povećanjem kolesterola i/ili triglicerida u krvi i glavni je faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti. Povećana razina kolesterola u krvi potiče proizvodnju reaktivnih oblika kisika (npr. superoksidnog aniona) uz pomoć enzima NADPH oksidaze. Nekoliko znanstvenika je potvrdilo da biomarkeri oksidacijskog stresa su povećani kod genetskih oboljenja od hiperkolesterolemije (12).

⁹patogeneza- mehanizam nastanka patološkog procesa

Rezultati do kojih su znanstvenici u ovom eksperimentu došli su da pušenje cigareta doprinosi razvoju kardiovaskularnih bolesti i ateroskleroze. Dim cigareta sadrži puno oksidansa i može se povezati sa oksidacijskim stresom kod pušača. Njihovi rezultati su također pokazali da je umjerena hiperlipidemija povezana sa promjenama u biomarkerima oksidacijskog stresa. Povrh toga, pušači u eksperimentu koji imaju umjerenu hiperlipidemiju su skloniji promjenama tih biomarkera (12).

2.5. Prepoznavanje povećane razine oksidacijskog stresa u organizmu i kako ga umanjiti

Znakovi povećane razine oksidacijskog stresa u organizmu su vrlo nespecifični. Znakovi povećanog oksidacijskog stresa često se zanemaruju. Neki od znakova su: kronični umor, slabost, malaksalost, nesanica, smetnje u pamćenju te depresija. Postoji egzaktna metoda dijagnosticiranja mjerenjem oksidacijskog stresa. Laboratorijskim analizama uzoraka krvi može se izmjeriti razina oksidacijskog stresa, odnosno razina slobodnih kisikovih vrsta u našem organizmu (ROS), kao i sposobnost organizma da se od njih brani. Kod nas je najpoznatiji d-ROMs test (Reactive Oxygen Metabolites test). To je spektrofotometrijski test kojim se mjeri razina oksidacijskog stresa mjerenjem koncentracije hidroperoksida (ROOH) u krvi. Povišene vrijednosti navedenog parametra znak su povišene razine oksidacijskog stresa i nemogućnosti organizma da se sopstvenim snagama bori protiv slobodnih radikala. Preventivno, d-ROMs test bi se trebao periodički ponavljati kod zdravih osoba kao rutinsku pretragu uz sistematski pregled svakih godinu dana. Ovakve vrste mjerenja i testova imaju veliku ulogu kod kontrole zdravlja pušača i alkoholičara (13).

U svakodnevnom životu, kako bismo pomogli organizmu da se brani od slobodnih radikala, trebamo uzimati što više antioksidansa. Najviše ih ima u kuhanim rajčicama, borovnicama, brusnicama, košticama grožđa, matičnoj mliječi, propolisu, klinčiću i crnom vinu. Antioksidansi se na tržištu nalaze kao dodaci prehrani u obliku različitih preparata- vitamin C (prooksidant), vitamin E, vitamin A, OPC (oligoprocijanid iz koštica crnog grožđa), resveratrol, likopen, fenoli i flavonoidi (čokolada), EPCG (epigalokatehingalat iz zelenog čaja). Oksidacijski stres je okidač u slijedu promjena koje dovode do nastanka sa stresom povezanih bolesnih stanja. Smatra se da je, ako se ne kompenzira, jedan od najvažnijih razloga oštećenja funkcija svih stanica te početka brojnih bolesti, trajnih, kroničnih procesa, kao i stanične smrti.

Dosadašnja istraživanja su pokazala sljedeće:

1. antioksidanti imaju najbolji učinak u prevenciji bolesti koje su izazvane oksidacijskim stresom (šećerna bolest, moždani i srčani infarkt, ateroskleroza, Alzheimer – staračka demencija)
2. antioksidanti imaju veći učinak na početku bolesti
3. antioksidanti usporavaju razvoj bolesti
4. antioksidanti ne djeluju u terminalnoj fazi bolesti (13).

3. ZAKLJUČAK

Cigaretni dim, koji predstavlja složenu mješavinu različitih kemijskih sastojaka, uzrokuje različite vrste poremećaja i bolesti dišnih sustava. Velik broj istraživanja na stanicama *in vitro* pokazao je kako sastojci duhanskog dima povećavaju koncentraciju reaktivnih kisikovih spojeva koji reagiraju sa staničnim proteinima, lipidima i DNA-om. Zbog oksidacijskog stresa koji može nastati i pod utjecajem cigaretnog dima dolazi do lomova DNA lanaca i oksidacijskih oštećenja DNA. Također, duhanski dim uzrokuje i fosforilaciju epidermalnog faktora rasta te posljedično nekontroliranu staničnu proliferaciju i malignu transformaciju. Duhanski dim je uzročnik brojnih poremećaja, uključujući koronarne bolesti, aterosklerozu te nastanak oksidacijskog stresa. Oksidacijski stres u organizmu je iznimno loša pojava jer dovodi do nastanka slobodnih radikala i reaktivnih kisikovih vrsta. Smatra se da su oni uzročnici raznih oboljenja. Vrlo je važno ljude informirati o posljedicama pušenja. Također, značajno je za napomenuti važnost antioksidansa koji se „bore“ protiv slobodnih radikala i vraćaju ravnotežu koja je neophodna za normalni rad organizma.

4. POPIS IZVORA

- (1) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Pu%C5%A1enje> (3.9.2017.)
- (2) *Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review.*
<http://thorax.bmj.com/search?fulltext=Acute+effects+of+cigarette+smoke+on+inflammation+and+oxidative+stress%3A+a+review&submit=yes&x=0&y=0>
(Pristupljeno 6. srpnja 2016.)
- (3) Božić, Franjo; Pavlov, Neven. 2014. Utjecaj pasivnog pušenja na učestalost infekcija dišnog sustava u djece predškolske dobi. *Paediatrica Croatica*, Vol. 58, No. 3, str. 184-188.
- (4) Brkić, Hrvoje i dr. 1994. Djelovanje pušenja duhana na tvrda i meka tkiva usne šupljine. *Acta stomatologica Croatica*, Vol. 28, No. 4, str. 287-294.
- (5) Čop, Nevenka. 2001. Pušenje i moždani udar. *Medicus*, Vol. 10, No. 1, str. 55-62.
- (6) Ilić, Katarina; Kuntić, Vesna. 2007. *Uloga biomarkera i surogatnih parametara u pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima lekova.*
<http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0042-8450/2007/0042-84500708561I.pdf>
(Pristupljeno 6. srpnja 2016.)
- (7) Kode, Aruna; Yang, Se-Ran; Rahman, Irfan. 2006. *Differential effects of cigarette smoke on oxidative stress and proinflammatory cytokine release in primary human airway epithelial cells and in a variety of transformed alveolar epithelial cell.*
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1634855/>
(Pristupljeno 6. srpnja 2016.)
- (8) Kolenc, Danijela. 2010. *Imunohistokemijska koekspresija 4-hidroksinonenala i prominina-1 u glijalnim tumorima mozga [The coexpression of 4-hydroxynonenal and prominin-1 in glial tumors of the brain].*
<http://medlib.mef.hr/866/>
(Pristupljeno 6. srpnja 2016.)
- (9) Pavić, Ivan i dr. 2015. Pasivno pušenje i poremećaji dišnog sustava u djece. *Paediatrica Croatica*, Vol. 59, No. 1, str. 25-31.
- (10) Tudorič, Neven. 2005. Antibiotici u liječenju akutnih egzacerbacija kronične opstruktivne plućne bolesti. *Medicus*, Vol. 14, No. 1, str. 121-126.
- (11) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Cigareta> (3.9.2017.)
- (12) Ramin Miri; Hamideh Saadati; Pegah Ardi; Omidreza Firuzi: Alterations in oxidative stress biomarkers associated with mild hyperlipidemia and smoking
<https://mail.google.com/mail/u/0/#sent/155d0a26e3f8af06?projector=1>

- (13) <http://poliklinikasvecnjak.com/oksidativni-stres/> (3.9.2017.)
- (14) <https://www.astrazeneca.hr/sto-ja-kopb> (3.9.2017.)