

Sławomir MICHALAK^{1,2}
 Radosław KAŹMIERSKI³
 Krystyna OSZTYNOWICZ¹
 Marcin KMIEĆKOWIAK^{3,4}
 Agnieszka WENCEL-WAROT⁵
 Wojciech KOZUBSKI⁵

Wpływ palenia tytoniu na aktywność arylesterazy i paraoksonazy w surowicach chorych z udarem mózgu

The effect of cigarette smoking on serum activities of paraoxonase and arylesterase in stroke patients

¹Zakład Neurochemii i Neuropatologii
 Katedra Neurologii, Uniwersytet Medyczny
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań
 Kierownik: Dr med. Sławomir Michalak

²Zespół Badawczo-Lecznicy
 Chorób Neuroimmunologicznych,
 Instytut Centrum Medycyny Doświadczalnej
 i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN,
 Poznań
 Kierownik: Prof. dr hab. med. Jacek Losy

³Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych
 Układu Nerwowego, Uniwersytet Medyczny
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań
 Kierownik: Dr hab. med. Radosław Kaźmierski

⁴Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych
 Układu Nerwowego
 ZOZ MSWiA
 im. prof. L. Bierkowskiego, Poznań
 Kierownik: Dr hab. med. Radosław Kaźmierski

⁵Katedra i Klinika Neurologii
 Uniwersytet Medyczny
 im. Karola Marcinkowskiego Poznań
 Kierownik:
 Prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski

Dodatkowe słowa kluczowe:

palenie tytoniu
 udar mózgu
 paraoksonaza
 arylesteraza

Additional key words:

cigarette smoking
 stroke
 paraoxonase
 arylesterase

Adres do korespondencji:
 Dr med. Sławomir Michalak
 Zakład Neurochemii i Neuropatologii
 Katedra Neurologii
 Uniwersytet Medyczny
 im. Karola Marcinkowskiego
 60-355 Poznań, ul. Przybyszewskiego 49
 Tel. (+61) 869 14 43; Fax. (+61) 869 14 44
 e-mail : slamic@yahoo.com

Palenie tytoniu jest jednym z istotnych modyfikowalnych czynników ryzyka udaru mózgu. Wśród patomechanizmów prowadzących do zwiększenia ryzyka udaru mózgu u palaczy tytoniu istotne znaczenie ma pobudzenie peroksydacji lipidów. Celem niniejszej pracy była ocena wpływu palenia tytoniu na aktywność enzymów o działaniu zapobiegającym oksydacji lipoprotein o niskiej gęstości (arylesteraza, paraoksonaza). Do badania włączono 431 chorych z udarem mózgu (niedokrwinnym i wtórnie ukrwotocznym) hospitalizowanych w Oddziałach Neurologii Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego i Szpitala MSWiA w Poznaniu w okresie od lutego 2007 do maja 2008. Grupę kontrolną stanowiło 16 zdrowych, niepalących ochotników. Aktywność paraoksonazy (PON) i arylesterazy (ARE) w surowicach chorych oznaczano spektrofotometrycznie. Chorzy z udarem mózgu natychmiast po zgłoszeniu się do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego poddani byli badaniu klinicznemu. Obejmowało ono ogólne badanie podmiotowe i przedmiotowe, badanie neurologiczne, ocenę w skali GCS (Glasgow Coma Scale) i w skali udaru mózgu Narodowego Instytutu Zdrowia (NIHSS, National Institute of Health Stroke Scale). W grupie chorych z udarem niedokrwinnym mózgu 26,7% stanowili aktywni palacze tytoniu, 31,3% – byli palacze, a 42% osoby nigdy nie palące tytoniu. Natomiast wśród chorych z wtórnym ukrwotocznieniem udaru niedokrwinnego 13,6% paliło aktywnie tytoń, 22,7% stanowili byli palacze, a 63,7% – osoby nigdy nie palące tytoniu. Analiza statystyczna wieku chorych w badanych podgrupach wykazała, że osoby palące tytoń w młodszym wieku doznają udaru mózgu ($p < 0,0001$). Aktywność arylesterazy była istotnie zmniejszona u palaczy tytoniu z udarem niedokrwinnym mózgu. U chorych z udarem niedokrwinnym palących tytoń aktywność ARE korelowała ujemnie z liczbą papierosów wypalanych dziennie ($r = -0,2133$; $p = 0,0322$). Aktywność ARE wzrastała proporcjo-

Cigarette smoking is one of most important modifiable risk factors of stroke. Lipids peroxidation remains crucial among pathomechanisms leading to increased risk of stroke in tobacco smokers. Aim of the study: to evaluate the effect of cigarette smoking on the activity of paraoxonase and arylesterase as enzymes involved in protection against oxidation of low-density lipoproteins. We have included in the study 431 subsequent stroke patients hospitalized in Department of Neurology in Poznan in a period from February 2007 to May 2008. The control group consisted of 16 healthy, non-smoking volunteers. The activity of paraoxonase (PON) and arylesterase (ARE) in patients' sera was estimated by spectrophotometric methods. All patients admitted to emergency room underwent clinical examination. General examination, neurological examination and clinimetric assessment with the use of GCS (Glasgow Coma Scale) and NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) scales were performed. Results: The group of ischemic stroke patients consisted of 26.7% current smokers, 31.3% - ex-smokers, and 42% never-smokers. Among patients with hemorrhagic transformation of ischemic stroke 13.6 % actively smoked cigarettes, 22.7% were ex-smokers, and 63.7% - never-smokers. The statistical analysis of age of patients in all studied groups showed the younger onset of stroke in smokers ($p < 0.0001$). The activity of arylesterase was significantly disturbed by cigarette smoking in patients with ischemic stroke. In smokers with ischemic stroke ARE activity correlated negatively with number of cigarettes smoked daily ($r = -0.2133$; $p = 0.0322$). We have showed positive correlation of duration of smoking with ARE activity ($r = 0.2573$; $p = 0.0239$). In non-smoking ischemic stroke patients PON activity increased significantly ($p < 0.01$) comparing to controls. Tobacco smoking caused impairment of enzymatic antioxidant mechanisms related to paraoxonase activity, be-

nalnie do czasu, który upłynął od zaprzestania palenia ($r=0,2573$; $p=0,0239$). U chorych z udarem niedokrwiennym mózgu nie palących tytoniu obserwowano zwiększenie aktywności PON ($p<0,01$) w porównaniu go grupy kontrolnej. Natomiast palenie tytoniu powodowało również zaburzenie enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych związanych z paraoksonazą u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu, ponieważ nie obserwowano istotnego wzrostu aktywności PON w tej grupie. Aktywność arylesterazy jest istotnie niekorzystnie modyfikowana przez palenie tytoniu u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu. Palenie tytoniu powoduje zaburzenia enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych związanych z paraoksonazą u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu. Zaburzenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych może być odpowiedzialne za wcześniejsze występowanie udaru mózgu u osób palących tytoń.

Wstęp

Aktywne palenie tytoniu stanowi jeden z istotnych i modyfikowalnych czynników ryzyka udaru mózgu. Przeprowadzona metaanaliza [25] wykazała, że palenie tytoniu zwiększa ryzyko wszystkich postaci udaru mózgu (RR=1,5; RR - ang. *Relative Risk*), udaru niedokrwiennego (RR=1,9) i krwotoku podpajęczynówkowego (RR =2,9), pozostaje jednak bez wpływu na ryzyko krwotoku śródmózgowego (RR =0,7). Ocenie poddawano wybrane populacje palaczy. U mieszkańców Japonii płci męskiej, z których ponad połowa (53%) pali papierosy wykazano 3,6-krotne zwiększenie ryzyka krwotoku podpajęczynówkowego i 1,6-krotny wzrost ryzyka udaru niedokrwiennego [19]. Badanie katamnesticzne przeprowadzone w populacji chińskiej wykazało uzależnienie od liczby wypalanych papierosów zwiększenie ryzyka udaru mózgu [17]. W grupie palących 1 do 9 papierosów dziennie względne ryzyko udaru mózgu wynosiło 1,21, u palących 10 do 19 papierosów dziennie - 1,21 oraz 1,36 u palących ponad 20 papierosów dziennie [17].

Wśród patomechanizmów związanych z wpływem palenia tytoniu na zwiększenie ryzyka udaru mózgu uwzględnia się uszkodzenie ścian naczyń i rozwój miażdżycy tętnic szyjnych prowadzący do tworzenia skrzepin przyściennych i rozwoju zatorowości [13]. Bezpośredni i krótkotrwały wpływ palenia tytoniu polega na zwiększeniu stężenia fibrynogenu, agregacji płytek krwi [16], wzroście hematokrytu [29], skurczu naczyń tętniczych i zmniejszeniu przepływu mózgowego [30].

Istotnym mechanizmem toksycznego wpływu dymu tytoniowego jest nasilenie procesów prooksydacyjnych w tkankach osób uzależnionych. Dym tytoniowy zawiera znaczną ilość wolnych rodników, które bezpośrednio lub pośrednio wzbudzają procesy peroksydacji, zwłaszcza lipidów [6]. Nasilenie peroksydacji lipidów osocza obserwowane u palaczy tytoniu [4] prowadzi wraz z zaburzeniami w układzie krzepnięcia do patologii istotnie zwiększającej ryzyko rozwoju udaru mózgu. Oksydacja lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) stanowiąc może istotne ogniwo patomechanizmów zwiększających ryzyko udaru mózgu u palaczy. Jednakże wyniki dotychczasowych badań nie są jednoznaczne. Z jednej stro-

cause there was no significant ($p>0,05$) up-regulation of PON activity in smokers with ischemic stroke. The activity of arylesterase is modified by tobacco smoking in ischemic stroke patients. Smoking causes disturbances in paraoxonase - associated enzymatic antioxidant effects in ischemic stroke patients. Abnormalities of activities of antioxidant enzymes may cause earlier onset of stroke in tobacco smokers.

ny wykazano u palaczy tytoniu zwiększoną podatność LDL na procesy oksydacji [11, 24], jednak wyniki innych badań nie wykazały różnic w oksydacji LDL pomiędzy palaczami tytoniu a osobami niepalącymi [20,26].

Wykazano korzystny wpływ suplementacji witaminą E i/lub witaminą C na procesy oksydacji lipidów osocza i LDL, jednakże efektywność tego postępowania nie była zadowalająca [9]. Powyższe obserwacje wskazują na złożoność patomechanizmów związanych ze szkodliwym wpływem palenia tytoniu zarówno na procesy oksydacji, jak i na ryzyko i przebieg udaru mózgu.

Z tego powodu podjęliśmy badania aktywności paraoksonazy i arylesterazy w surowicach chorych z udarem mózgu uwzględniając wpływ palenia tytoniu. Paraoksonaza 1 i 3 (PON1 i PON3) są enzymami występującymi w cząsteczkach lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) [31], natomiast paraoksonaza 2 (PON 2) jest enzymem niezwiązanym z HDL [21]. Paraoksonaza jest zależną od jonów wapnia esterazą klasy A [1]. Jej istotną funkcją jest działanie antyoksydacyjne prowadzące przede wszystkim do ochrony LDL przed procesami utleniania [21,31]. Mutacje genu dla paraoksonazy prowadzą do zwiększonego ryzyka wystąpienia udaru mózgu, co wskazuje na istotną, ochronną rolę tego enzymu [23]. Natomiast arylesteraza (ARE) jest karboksylesterazą, która katalizuje reakcje rozkładu aromatycznych estrów kwasów tłuszczowych [2]. Arylesteraza jest izoenzymem paraoksonazy, który wykazuje specyficzną aktywność wobec substratu jakim jest octan fenylu [7]. Jej hydrolityczne działanie odpowiedzialne jest za antyoksydacyjny efekt, czyniąc ten enzym istotnym elementem układu chroniącego przed procesami peroksydacji lipidów osocza. Współdziałanie obu enzymów w aktywności antyoksydacyjnej było powodem podjęcia ich analiz w niniejszym badaniu.

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu palenia tytoniu na aktywność enzymów o działaniu zapobiegającym oksydacji lipoprotein o niskiej gęstości u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu oraz z wtórnym jego ukrwotoczeniem.

Materiał i metody

Do badania włączono 431 chorych z udarem mó-

zgu hospitalizowanych kolejno w Oddziale Neurologii Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego w Poznaniu w okresie od lutego 2007 do maja 2008. W grupie tej 409 osób stanowili chorzy z udarem niedokrwiennym mózgu, a 22 chorzy z wtórnym ukrwotoczeniem udaru niedokrwiennego. W badaniu nie uczestniczyli chorzy z krwotokiem śródmózgowym lub podpajęczynówkowym. W grupie chorych z udarem niedokrwiennym mózgu 109 (26,7%) osób stanowili aktywni palacze tytoniu, 128 osób (31,3%) – byli palacze, a 172 (42%) osoby nigdy nie palące tytoniu. Natomiast wśród chorych z udarem niedokrwiennym wtórnym ukrwotoczeniem 3 osoby (13,6%) paliły aktywnie tytoń, 5 osób (22,7%) stanowili byli palacze, a 14 (63,7%) – osoby nigdy nie palące tytoniu. Charakterystykę demograficzną powyższych grup przedstawiono w tabeli I.

Chorzy z udarem mózgu natychmiast po zgłoszeniu się do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego poddani byli badaniu klinicznemu. Obejmowało ono ogólne badanie podmiotowe i przedmiotowe, badanie neurologiczne, ocenę w skali GCS (*Glasgow Coma Scale*) oraz w skali udaru mózgu Narodowego Instytutu Zdrowia (NIHSS, *National Institute of Health Stroke Scale*). U każdego chorego wykonywano badanie tomografii komputerowej głowy. Pobierano również krew na skrzep, a uzyskaną surowicę zamrażano w -70°C do czasu analiz.

Grupę kontrolną stanowiło 16 (9 kobiet, 7 mężczyzn) zdrowych, niepalących ochotników.

Aktywność paraoksonazy (PON) i arylesterazy (ARE) oznaczano spektrofotometrycznie wykorzystując jako substraty odpowiednio paraokson i octan fenylu [3,10].

Na przeprowadzenie powyższych badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Oceny statystycznej dokonywano przy użyciu licencjonowanej wersji oprogramowania MedCalc. W pierwszym etapie analiz statystycznych oceniano normalność rozkładu wyników testem *Kolmogorowa-Smirnowa*. Następnie grupy wyników o rozkładzie normalnym porównywano testem *t-Studenta*, a wyniki o rozkładzie niegaussowskim porównywano nieparametrycznym testem *Manna-Whitney'a*.

Wyniki

Analiza statystyczna wieku chorych w badanych podgrupach (tabela I) wykazała, że osoby palące tytoń w młodszym wieku doznają udaru mózgu ($p<0,0001$), a zależność ta utrzymuje się przy uwzględnieniu typu udaru. Chorzy z udarem niedokrwiennym mózgu są młodsi ($p<0,0001$) niż osoby niepalące z udarem i podobnie u palaczy tytoniu z udarem wtórnym ukrwotoczeniem objawy występowały wcześniej ($p<0,01$) niż u chorych niepalących. W grupie chorych z udarem niedokrwiennym, którzy porzucili palenie tytoniu udar występuje istotnie póź-

Tabela I

Charakterystyka demograficzna chorych z udarem mózgu i grupy kontrolnej.

Demographic data of stroke patients and controls.

	Kontrola	Palący z udarem mózgu	Niepalący z udarem mózgu	Palący z UN	Niepalący z UN	Byli palacze z UN	Palący z UK	Niepalący z UK	Byli palacze z UK
Wiek (lata) Średnia±SD	40 ± 19	63,4 ± 11,3 #	72,4 ± 11,4	58,2 ± 9,6 #, +	72,4 ± 11,5	67,8 ± 10,6	49,7 ± 11,2 **, *	72,4 ± 10,4	70,8 ± 8,2
Kobiety n (%)	9 (56%)	32 (28,6%)	121 (65%)	30 (27,5%)	111 (64,5%)	36 (28%)	2 (66,7%)	10 (71,4%)	2 (40%)
Mężczyźnin (%)	7 (44%)	80 (71,4%)	65 (35%)	79 (72,5%)	61 (35,5%)	92 (72%)	1 (33,3%)	4 (28,6%)	3 (60%)

Udar niedokrwienny (UN), udar wtórnie ukrwotoczniiony (UK); ** - p<0,01 (palący vs niepalący); # - p<0,0001 (palący vs niepalący); + - p<0,0001 (palący vs byli palacze);

* - p<0,05 (palący vs byli palacze)

Tabela II

Aktywność arylesterazy (ARE) i paraoksonazy (PON) u palących i niepalących chorych z udarem mózgu.

Arylesterase and paraoxonase activity in smokers and non-smokers with stroke.

	Kontrola	Palący z udarem mózgu	Niepalący z udarem mózgu	Palący z UN	Niepalący z UN	Byli palacze z UN	Palący z UK	Niepalący z UK	Byli palacze z UK
ARE μM/min/ml średnia±SD	1,28± 086	1,47±0,47 *, **	1,50±0,46**	1,01±0,64*	1,50 ± 0,46+	1,48 ± 0,48+	1,46 ± 0,611	1,59 ± 0,54#	1,38 ± 0,40
PON nM/min/ml mediana; zakres międzykwartyłowy	42,34; 36,06-56,60	63,70; x 38,60- 145,90	68,80; xx 41,90- 150,08	57,00; 38,60- 145,90	71,25;§§ 41,90 -147,60	77,10;§ 39,40-49,22	16,80 10,10-235,60	59,95 40,20-158,50	68,80 24,52-187,0

Udar niedokrwienny (UN), udar wtórnie ukrwotoczniiony (UK).

* - p = 0,083 (palący z UN vs grupa kontrolna); ** - p < 0,001 (palący z udarem mózgu [UN+UK], niepalący z udarem mózgu [UN+UK] vs grupa kontrolna)

+ - p < 0,001 (byli palacze z UN, niepalący z UN vs grupa kontrolna); # - p = 0,096 (niepalący z UK vs grupa kontrolna)

x - p < 0,05 (palacze tytoniu z udarem mózgu [UN+UK] vs grupa kontrolna); xx - p < 0,01 (niepalący tytoniu z udarem mózgu [UN+UK] vs grupa kontrolna)

§ - p < 0,05 (byli palacze z UN vs grupa kontrolna); §§ - p < 0,01 (nie palący tytoniu z UN vs grupa kontrolna)

Tabela III

Aktywność paraoksonazy u palących i niepalących chorych z udarem mózgu.

Paraoxonase activity in smokers and non-smokers with stroke.

PON nM/min/ml	Kontrola	Palący z udarem mózgu	Niepalący z udarem mózgu	Palący z UN	Niepalący z UN	Byli palacze z UN	Palący z UK	Niepalący z UK	Byli palacze z UK
mediana;	42,34;	63,70; *	68,80; **	57,00;	71,25; ++	77,10; +	16,80;	59,95;	68,80;
zakres międzykwartyłowy	36,06- 56,60	38,60 - 145,90	41,90 -150,08	38,60 -145,90	41,90 -147,60	39,40 -149,22	10,10 -235,60	40,20 -158,50	24,52 -187,0

Udar niedokrwienny (UN), udar wtórnie ukrwotoczniiony (UK).

* - p < 0,05 (palacze tytoniu z udarem mózgu [UN+UK] vs grupa kontrolna); ** - p < 0,01 (niepalący tytoniu z udarem mózgu [UN+UK] vs grupa kontrolna); + - p < 0,05 (byli palacze z UN vs grupa kontrolna); ++ - p < 0,01 (nie palący tytoniu z UN vs grupa kontrolna)

niej (p<00001) niż wśród aktywnych palaczy, podobna zależność (p<0,05) utrzymuje się w grupie chorych z udarem ukrwotoczniionym (tabela I).

Ocena chorych z udarem niedokrwiennym mózgu w skali GCS nie wykazała istotnych (p>0,05) różnic pomiędzy osobami palącymi (punkcja GCS 15; 14-15; mediana; zakres międzykwartyłowy) i niepalącymi tytoniu (15; 13-15; mediana; zakres międzykwartyłowy).

Podobnie w przypadkach chorych z udarem ukrwotoczniionym wyniki oceny w skali GCS u palaczy (15; 10-15; mediana; zakres międzykwartyłowy) nie różniły się istotnie (p>0,05) od uzyskanych u osób niepalących tytoniu (13; 11,5-15; mediana; zakres międzykwartyłowy).

Badanie w oparciu o skalę udaru mózgu Narodowego Instytutu Zdrowia (NIHSS) nie wykazało istotnych statystycznie różnic (p>0,05) pomiędzy chorymi z udarem niedokrwiennym mózgu, którzy palą aktywnie tytoń (5 punktów; 3-10; mediana, zakres międzykwartyłowy) a niepalącymi tytoniu (5; 3 - 11; mediana, zakres międzykwartyłowy).

U chorych z wtórnym ukrwotoczniieniem udaru niedokrwiennego wyniki oceny w skali NIHSS również nie różniły się istotnie statystycznie (p>0,05), gdy porównywano palaczy (8; 2-11; mediana, zakres międzykwartyłowy) i osoby niepalące tytoniu (11; 4,75-16,25; mediana, zakres międzykwartyłowy).

Wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego nie różniły się istotnie (p>0,05) u palaczy z udarem niedokrwiennym (152 ± 31 i 90 ± 16 mmHg, odpowiednio) od wartości zmierzonych u chorych niepalących (159 ± 30 i 91 ± 14 mmHg, odpowiednio). Natomiast u chorych z udarem ukrwotoczniionym ciśnienie rozkurczowe było istotnie statystycznie (p = 0,004) wyższe u palaczy (110 ± 46 mmHg) w porównaniu z chorymi niepalącymi (93 ± 14 mmHg). Nie odnotowano istotnych statystycznie (p>0,05) różnic w wartościach ciśnienia skurczowego pomiędzy palącymi (173 ± 55 mmHg) i niepalącymi tytoniu (167 ± 32 mmHg) z wtórnym ukrwotoczniieniem udaru niedokrwiennego.

Wyniki analiz aktywności arylesterazy w badanych grupach chorych przedstawiono w tabeli II.

Aktywność arylesterazy u palących tytoń z wszystkimi typami udaru mózgu nie wykazało istotnej różnicy (p>0,05) w porównaniu z chorymi niepalącymi. U wszystkich chorych z udarem mózgu niezależnie od palenia lub niepalenia tytoniu aktywność ARE była wyższa niż w grupie kontrolnej (p < 0,001).

U palących chorych z udarem niedokrwiennym wykazano tendencję (p = 0,083) do zmniejszenia aktywności ARE, natomiast u osób, które zaprzestały palenia tytoniu lub niepalących z udarem niedokrwiennym aktywność enzymu była istotnie (p < 0,001) podwyższona w porównaniu z grupą kontrolną. Aktywność ARE w grupie chorych z udarem niedokrwiennym mózgu nie zależała od palenia tytoniu (p>0,05).

U chorych z udarem niedokrwiennym palących tytoń aktywność ARE korelowała ujemnie z liczbą papierosów wypalanych dziennie (r=-0,2133; p=0,0322). Wykazaliśmy także dodatnią korelację pomiędzy długością czasu palenia tytoniu a aktywnością ARE (r=0,2573; p=0,0239).

W grupie chorych z udarem wtórnie

ukrwotocznionym wykazano jedynie tendencję ($p=0,096$) do wzrostu aktywności ARE u osób niepalących tytoniu w porównaniu z grupą kontrolną. U chorych z wtórnym ukrwotocznieniem, którzy zaprzestali palenia tytoniu aktywność arylesterazy korelowała dodatnio (na granicy istotności statystycznej) z czasem niepalenia wyrażonym w latach ($r=0,8664$; $p=0,0574$).

Porównania aktywności ARE w pozostałych podgrupach chorych z udarem ukrwotocznionym nie wykazało istotnych statystycznie różnic ($p>0,05$). Ponadto nie wykazano różnic ($p>0,05$) w aktywności ARE zarówno u palących, niepalących oraz u osób, które zaprzestały palenia, gdy porównywano je w zależności od typu udaru (nie-dokrwienny vs ukrwotoczniony).

Wyniki aktywności paraoksonazy przedstawiono w tabeli II. Nie zaobserwowano istotnych ($p>0,05$) różnic aktywności paraoksonazy pomiędzy palącymi tytoniu a niepalącymi chorymi z udarem mózgu, natomiast zwiększała się ona zarówno u palących tytoniu ($p<0,05$), jak i niepalących ($p<0,01$) z udarem mózgu w porównaniu z grupą kontrolną (tabela II).

Zwiększenie aktywności paraoksonazy obserwowano również u chorych z udarem niedokrwiennym, którzy nie palą tytoniu ($p<0,01$) lub zaprzestali palenia ($p<0,05$), podczas gdy u aktywnych palaczy tytoniu aktywność enzymu nie zmieniała się ($p>0,05$) w porównaniu z grupą kontrolną. Różnica aktywności PON pomiędzy palaczami tytoniu i niepalącymi chorymi z udarem niedokrwiennym mózgu nie była istotna ($p>0,05$). W grupie chorych z udarem niedokrwiennym palących tytoniu aktywność PON korelowała dodatnio z liczbą papierosów wypalanych dziennie ($r_{\text{Spearmana}} = 0,219$, $p=0,0287$; $\tau_{\text{Kendalla}}=0,160$, $p=0,0179$).

U chorych z udarem ukrwotocznionym nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic ($p>0,05$) w aktywności PON w badanych podgrupach.

Omówienie wyników

W niniejszym badaniu podjęliśmy próbę oceny wpływu palenia tytoniu na czynniki związane z peroksydacją lipidów u chorych w pierwszej dobie udaru mózgu. Wśród badanych chorych przeważały osoby z udarem niedokrwiennym mózgu, a chorzy udarem ukrwotocznionym stanowili 4,99% ogólnej liczby włączonych do badania. Odsetek ten zbliżony jest niższy od obserwacji pochodzących z innych badań [5, 12, 18, 32], w których wtórne ukrwotocznienie dotyczyło 10 do 43% chorych. Należy jednak podkreślić, że wśród naszych chorych z wtórnym ukrwotocznieniem znalazły się tylko przypadki klinicznie jawne, a ponadto nie stosowano leczenia trombolitycznego.

W grupie palaczy z udarem niedokrwiennym, jak też i wśród osób, które zaprzestały palenia i doznały udaru niedokrwiennego przeważali mężczyźni, natomiast w grupie osób niepalących z udarem niedokrwiennym dominowały kobiety.

Natomiast u chorych z wtórnym ukrwotocznieniem udaru niedokrwiennego większość stanowiły osoby niepalące, w przeważającej liczbie - kobiety.

W przeprowadzonym w populacji

szwedzkiej badaniu [14] odsetek palących kobiet w populacji szwedzkiej był większy (19%) niż palących tytoniu mężczyzn (16%). W naszym badaniu kobiety stanowiły 28,6% palących chorych z udarem mózgu i odsetek ten zbliżony jest do danych pochodzących z badania ankietowego przeprowadzonego na zlecenie Wielkopolskiego Centrum Chorób Płuc i Gruźlicy przez PRESTO Agencję Badań Marketingowych Sp. z o.o. Poznaniu w 2000 roku, w którym palące kobiety stanowiły 29,9% populacji Wielkopolski [22]. Natomiast, palący mężczyźni stanowili w naszym badaniu 71,4% chorych z udarem mózgu i odsetek ten znacznie przekraczał dane z badania PRESTO (41,9%) [22] wskazując na istotnie większe znaczenie palenia tytoniu dla rozwoju ryzyka udaru mózgu wśród mężczyzn.

Osoby palące tytoniu w młodszym wieku doznawały udaru mózgu, a zależność ta utrzymywała się przy uwzględnieniu typu udaru. Chorzy z udarem niedokrwiennym mózgu oraz z udarem wtórnym ukrwotocznionym włączeni do naszego badania byli młodszy niż osoby niepalące tytoniu. Znaczenie palenia tytoniu dla wieku wystąpienia udaru mózgu potwierdza obserwacja osób, które zaprzestały palenia tytoniu. Doznawali oni udaru niedokrwiennego, jak i wtórnego ukrwotocznienia w późniejszym wieku niż aktywni palacze. Wyniki naszego badania odnieść można do obserwacji w populacji holenderskiej [28], w której wśród aktywnych palaczy ryzyko udaru mózgu malało z wiekiem. U mężczyzn w wieku 65 do 77 lat względne ryzyko wynosiło 3,96, w wieku 75 do 84 - 3,04, w wieku powyżej 85 roku życia - 2,17. Natomiast u palących kobiet w wieku 65 do 74 względne ryzyko osiągało wartość 1,42, w wieku 75 do 84 - 3,66, a w wieku powyżej 85 roku życia - 2,41 [28]. Jakkolwiek należy zaznaczyć, że ryzyko to było we wszystkich grupach wiekowych wyższe niż u osób niepalących.

Zjawisko mniejszej zapadalności na udar w starszych grupach wiekowych można tłumaczyć występowaniem maksymalnego wskaźnika zapadalności na udar u osób podatnych w znacznie młodszych grupach wiekowych. W większości badań, także w naszym, osoby palące zapadały na udar znacznie wcześniej niż niepalące. W naszym badaniu różnica ta sięgała aż 14 lat u chorych z udarem niedokrwiennym i 13 lat we wtórnym jego ukrwotocznieniu.

Wyższe ryzyko wystąpienia udaru mózgu u młodszych palaczy wskazuje na istotne znaczenie dymu tytoniowego wśród patomechanizmów chorób naczyń zaopatrujących mózgowie i sugeruje, że jest to niezależny czynnik ryzyka. Znany jest, bowiem fakt narastania z wiekiem częstości występowania innych czynników ryzyka udaru mózgu, takich jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca czy migotanie przedsionków.

Przeprowadzona przy użyciu skali klinicznych ocena stanu chorych w Szpitalnym Oddziale Ratunkowym natychmiast po zgłoszeniu się z powodu udaru mózgu nie wykazała istotnego statystycznie wpływu palenia tytoniu na punktację w skali GCS i NIHSS, zarówno u chorych z udarem niedokrwiennym, jak i wtórnym ukrwotocznionym.

Zwraca natomiast uwagę istotny wpływ palenia tytoniu na wartości ciśnienia rozkurczowego u chorych z wtórnym ukrwotocznieniem udaru niedokrwiennego. Wzrost ciśnienia tętniczego jest znany czynnikiem ryzyka wtórnego ukrwotocznienia udaru niedokrwiennego mózgu [5].

Główny cel niniejszego badania stanowiła ocena wpływu palenia tytoniu na aktywności arylesterazy i paraoksonazy. Na niekorzystny wpływ palenia tytoniu wskazuje tendencja do obniżania aktywności arylesterazy u palaczy tytoniu z udarem niedokrwiennym mózgu oraz uzależnienia tego efektu od ilości wypalanych dziennie papierosów. Odstawienie palenia tytoniu wpływało na zwiększenie aktywności tego enzymu o działaniu antyoksydacyjnym u chorych z udarem niedokrwiennym powodując. Tendencja ku zwiększeniu aktywności ARE u chorych z udarem wtórnym ukrwotocznionym niepalących tytoniu w porównaniu z grupą kontrolną oraz dodatniej korelacji aktywności tego antyoksydacyjnego enzymu z czasem od zaprzestania palenia, wskazują pośrednio na niekorzystny wpływ nałogu na mechanizmy obronne.

Zwiększenie aktywności paraoksonazy u chorych z udarem niedokrwiennym, którzy nie palą lub odstawił palenie tytoniu przy braku zmian u aktywnych palaczy tytoniu wskazuje na upośledzenie w tej grupie enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych. Zjawisko takie obserwowano u osób z chorobą wieńcową, u których zaprzestanie palenia korzystnie wpływało na poprawę antyoksydacyjnej aktywności PON [15]. U osób bez chorób układu krążenia, które odstawiły palenie tytoniu obserwowano również zwiększenie aktywności PON wskazujące na poprawę wydolności enzymatycznego układu antyoksydacyjnego [8] będąc w zgodności z naszymi obserwacjami u chorych z udarem mózgu.

Palenie tytoniu zaburza także inne enzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne. U palaczy bez chorób układu krążenia obserwowano nie tylko zmniejszenie aktywności PON, ale również peroksydazy glutationu oraz wzrost aktywności reduktazy glutationu [27].

Podsumowując, wykazano wpływ palenia tytoniu na enzymatyczny układ antyoksydacyjny, którego zaburzenie u chorych z udarem mózgu prowadzi do indukcji patomechanizmów nasilających peroksydację lipidów, a zwłaszcza lipidów o niskiej gęstości (LDL).

Wnioski

1. Aktywność arylesterazy jest istotnie niekorzystnie modyfikowana przez palenie tytoniu u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu.

2. Palenie tytoniu powoduje zaburzenia enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych związanych z paraoksonazą u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu.

3. Zaburzenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych może być odpowiedzialne za wcześniejsze występowanie udaru mózgu u osób palących tytoniu.

Piśmiennictwo

1. **Aldridge W.N.:** Serum esterases I. *Biochem. J.* 1953, 53, 110.
2. **Augustinsson K.B.:** Multiple forms of esterase in vertebrate plasma. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1961, 94, 844.
3. **Aviram M., Billecke S., Sorenson R. et al.:** Paraonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraonase activities. Selective action of human paraonase allozymes Q and R. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998, 18, 1617.
4. **Brown K.M., Morrice P.C., Duthie G.G.:** Vitamin E supplementation suppresses indexes of lipid peroxidation and platelet counts in blood of smokers and nonsmokers but plasma lipoprotein concentrations remain unchanged. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994, 60, 383.
5. **Castellanos M., Leira R., Serena J. et al.:** Plasma metalloproteinase-9 concentration predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Stroke* 2003, 34, 40.
6. **Chuch D.F., Pryor W.A.:** Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect.* 1985, 64, 111.
7. **Eckerson H.W., Wyte C.M., La Du B.N.:** The human serum paraonase/arylesterase polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 1983, 35, 1126.
8. **Erguder I.B., Erguder T., Ozkan C. et al.:** Short-term effects of smoking cessation on blood antioxidant parameters and paraonase activity in healthy asymptomatic long-term cigarette smokers. *Inhal. Toxicol.* 2006, 18, 575.
9. **Fuller C.J., May M.A., Martin K.J.:** The effect of vitamin E and vitamin C supplementation on LDL oxidizability and neutrophil respiratory burst in young smokers. *J. Am. Coll. Nutr.* 2000, 19, 3, 361.
10. **Gan K.N., Smolen A., Eckerson H.W. et al.:** Purification of human serum paraonase/arylesterase. *Drug Metab. Dispos.* 1991, 19, 100.
11. **Gouaze V., Dousset N., Dousset J.-C. et al.:** Effect of nicotine and cotinine on the susceptibility to in vitro oxidation of LDL in healthy non smokers and smokers. *Clin. Chim. Acta* 1998, 277, 25.
12. **Hornig C.R., Dorndorf W., Agnoli A.L.:** Hemorrhagic cerebral infarction: a prospective study. *Stroke* 1986, 17, 179.
13. **Howard G., Wagenknecht L.E., Burke G.L. et al.:** Cigarette smoking and progression of atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *JAMA* 1998, 279, 119.
14. **International Network of Women Against Tobacco:** Women and tobacco in Sweden. <http://www.inwat.org/eurfactsheetswede.htm>, 2004.
15. **James R.W., Leviev I., Righetti A.:** Smoking is associated with reduced serum paraonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000, 101, 2252.
16. **Kannel W.B., Wolf P.A., Castelli W.P. et al.:** Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: the Framingham Study. *JAMA* 1987, 258, 1183.
17. **Kelly T.N., Gu D., Chen J. et al.:** Cigarette smoking and risk of stroke in the Chinese adult population. *Stroke* 2008, 39, 1688.
18. **Lyden P.D., Zivin J.A.:** Hemorrhagic transformation after cerebral ischemia: mechanisms and incidence. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.* 1993, 5, 1.
19. **Mannami T., Iso H., Baba S. et al.:** For the Japan public health center-based prospective study on cancer and cardiovascular disease group: Cigarette smoking and risk of stroke and its subtypes among middle-aged Japanese men and women. *The JPHC Study Cohort I. Stroke* 2004, 35, 1248.
20. **Marangon K., Herbeth B., Artur Y. et al.:** Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper induced oxidation are not notably modified in smokers. *Clin. Chim. Acta* 1997, 265, 1.
21. **Ng C.J., Wadleigh D.J., Gangopadhyay A. et al.:** Paraonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 4444.
22. **PRESTO Agencja Badań Marketingowych Sp. z o.o.** Wyniki badań świadomości i zachowań związanych z paleniem przeprowadzonym w związku z akcją "Rzuć palenie razem z nami" wśród mieszkańców Wielkopolski. Poznań, 2000.
23. **Ranade K., Kirchgessner T.G., Iakoubova O.A. et al.:** Evaluation of the paraonases as candidate genes for stroke Gln192Arg polymorphism in the paraonase 1 gene is associated with increased risk of stroke. *Stroke* 2005, 36, 2346.
24. **Scheffler E., Huber L., Fruhbis J. et al.:** Alteration of plasma low density lipoprotein from smokers. *Atherosclerosis* 1990, 82, 261.
25. **Shinton R., Beevers G.:** Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *BMJ* 1989, 298, 789.
26. **Siekmeier R., Wulfroth P., Wieland H. et al.:** Low density lipoprotein susceptibility to in vitro oxidation in healthy smokers and nonsmokers. *Clin. Chem.* 1996, 42, 524.
27. **Solak Z.A., Kabaroglu C., Çok G. et al.:** Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paraonase 1 activity in healthy people. *Clin. Exp. Med.* 2005, 5, 99.
28. **Struijs J.N., van Genugten M.L.L., Evers S.M.A.A. et al.:** Modeling the Future burden of stroke in the Netherlands, impact of aging, smoking, and hypertension. *Stroke* 2005, 36, 1648.
29. **Wannamethee G., Perry I.J., Shaper A.G.:** Haematocrit, hypertension and risk of stroke. *J. Intern. Med.* 1994, 235, 163.
30. **Wannamethee S.G., Shaper A.G., Whincup P.H. et al.:** Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. *JAMA* 1995, 274, 155.
31. **Watson A.D., Berliner J.A., Hama S.Y. et al.:** Protective effect of high density lipoprotein associated paraonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 1995, 96, 2882.
32. **Yamaguchi T., Minematsu K., Choki J.I. et al.:** Clinical and neuroradiological analysis of thrombotic and embolic cerebral infarction. *Jpn. Circ. J.* 1984, 48, 50.