

Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalarda Eritrosit Antioksidan Defans Mekanizmasındaki Değişimler

Namık Delibaş¹ Fehmi Özgüner² M. Numan Tamer³

¹Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

²Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA.

³Doç.Dr. SDÜ Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, ISPARTA.

Özet

Kronik böbrek yetmezliğinde (KBY), metabolizma sırasında üretilen reaktif oksijen türleri ile antioksidan ve radikal toplayıcıları arasındaki denge değişir. Antioksidan dengedeki bozulmanın, KBY'deki azalmış eritrosit yaşam süresi ve anemide bir etken olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, KBY'li ve normal kişilerin eritrositlerinde superoxide dismutase (SOD) ve glutathione peroxidase (GPx) enzim aktiviteleri ölçüldü. Hasta grubunda, SOD ve GPx aktiviteleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p < 0.001$). Hasta grubunda, enzim aktiviteleri ile hemodiyaliz süresi arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu (SOD için $r = 0.456$, GPx için $r = 0.401$). Sonuç olarak 1-KBY'li hastaların serbest radikal hasarına aday oldukları, 2- KBY'de düşük eritrosit antioksidan defans mekanizmalarının eritrosit membranlarında lipid peroksidasyonuna ve böylece hemoliz ve anemiye yol açabilen önemli bir faktör olduğu, 3-Uzun süreli hemodiyaliz tedavisinin antioksidan enzim aktivitelerini olumsuz etkilemeyeceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, hemodiyaliz, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx).

Changes in The Erythrocyte Antioxidant Defense Mechanisms in Patients with Chronic Renal Failure

Abstract

The equilibrium between reactive oxygen species generated during metabolism and their scavengers and antioxidants are changed in patients with chronic renal failure (CRF). The changed antioxidative homeostasis is thought to be a factor in decreased red blood cell survival and thereby of renal anemia in patients with CRF. In this study, activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes were determined in the erythrocytes obtained from patients with CRF and from healthy subjects. In the patients group, SOD and GPx activities were lower than control values ($p < 0.001$). In the patients group significantly positive correlation between the enzyme activities and durations of hemodialysis treatment were also found ($r = 0.456$ for SOD, $r = 0.401$ for GPx). Consequently it was considered that, 1-Patients with CRF are candidates for free radical damage, 2-Reduced antioxidant defense mechanisms in the erythrocytes are important factors leading to peroxidation in the membrane lipid structure of the erythrocytes and thereby to hemolysis and anemia in the patients with CRF, and 3-Long term hemodialysis therapy didn't influence the activity of antioxidant enzymes.

Key Words: Chronic renal failure, hemodialysis, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx).

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), heriki böbrek nefronlarının ilerlemiş yıkımına bağlı klinik bir tablodur. Normalde böbrek tarafından atılımı sağlanan metabolik artıkların birikimi, böbrek tarafından ayarlanan sıvı elektrolit ve asit-baz dengesi gibi bazı mekanizmaların bozulması, KBY'nin klinik tablosunu oluşturur (1).

Hemodiyaliz, yapay böbrek yardımı ile kanın toksik maddelerden temizlenmesi esasına dayanır. Kullanılan yarı geçirgen zar dializat sıvısının içinde bulunur. Kan diyaliz zarının içinde dolaşırken, üre, kreatinin ve diğer küçük molekül ağırlıklı maddeler konsantrasyon farkı nedeniyle bu sıvıya geçerler.

Hemodiyaliz uygulanan hastaların yaşam süreleri uzamakta ve böylece çeşitli organlardaki böbrek yetersizliğine bağlı komplikasyonların incelenmesi olanağı doğmaktadır. Bu komplikasyonlardan bir kısmı hemodiyalize bağlı olabilir. Çünkü filtrelerden toksik maddeler atılırken, küçük molekül ağırlıklı bazı yararlı maddelerde atılabilir. Bu maddelerin eksikliği de metabolik olaylarda bozukluğa yol açabilecektir.

Anemi KBY'nin yaygın bir bulgusudur. Aneminin derecesi böbrek yetmezliğinin ağırlığıyla orantılıdır. Anemi için eritropoietin eksikliği, kemik iliği gelişiminde yetersizlik gibi birçok faktör ileri sürülmüştür. KBY'li hastalarda eritrosit ömrünün kısalması, eritrosit membran değişimleri, lipid peroksidasyonu ve eritrosit defans mekanizmalarının zayıflaması rapor edilmiştir (2). Eritropoietin ve E vitamini verilen hemodiyaliz hastalarında antioksidan savunmanın güçlendiği bildirilmiştir (3).

Serbest radikaller vücutta birçok reaksiyon sırasında oluşabilen ve eşleşmemiş bir elektrona sahip atom veya moleküllerdir. Süperoksit anyonu ve H_2O_2 serbest radikaller olup, aslında kendileri çok fazla reaktif değildir. Ancak, oldukça toksik bir serbest radikal türü olan, hidroksil radikali oluşturma potansiyellerinden dolayı önem taşırlar (3-5). Vücutta hidroksil radikalini kullanabilen enzim sistemleri olmadığı için, hücrelerin koruyucu çabası hidroksil radikali üretimini önlemeye yöneliktir (6). Süperoksit anyonu ve H_2O_2 enzimatik olarak nötralize edilir. Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit anyonunu H_2O_2 'ye çevirirken, glutatyon peroksidaz (GPx) ise, H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene çevirerek hücreler serbest radikallerin toksik etkilerinden korunmuş olur. Değişik nedenlere bağlı olarak, SOD veya GPx aktivitelerindeki düşme süperoksit anyonu ve H_2O_2 artışına yol açar. Bunlar da Fenton ve Haber-Weiss tipi reaksiyonlarla, hidroksil radikali oluşturabilirler. Hidroksil radikali, oluştuktan sonra membran lipid tabakasında, lipid peroksidasyonu reaksiyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu, zincirleme ve ilerleyici özelliği ile bütün membrana yayılabilir ve sonuçta zarın yapısal bütünlüğü bozulur, membran geçirgenliği artar, iyon transportu bozulur ve sonuçta hücre yıkımı ile anemi meydana gelir.

Biz de bu çalışmada, antioksidan defans mekanizmasındaki değişimleri araştırmak amacıyla, düzenli hemodiyalize giren KBY'li

hastalarda eritrosit SOD ve GPx aktivitelerini ölçerek normal kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Materyal ve Metod

Çalışmaya, 1-5 yıl süreyle, düzenli hemodiyaliz uygulanan 38 kronik böbrek yetmezlikli hasta alındı.

Kontrol grubu, herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 30 kişiden oluşturuldu.

Venöz kan örnekleri, sabahları aç karnına heparinli tüplere alındı. Bir miktar kan Hb ölçümleri için, hematoloji laboratuvarına gönderildi. SOD ölçümleri için hızlı bir şekilde hemolizat hazırlandı. Derin dondurucuda -20°C'de saklanarak, birer hafta arayla gruplar halinde çalışıldı. SOD aktivitesi ölçümleri Randox Laboratories Ltd'nin Ransod kitiyle çalışıldı. Yöntemin çalışma prensibi; ksantin-ksantin oksidaz süperoksit radikali üretir. Süperoksit radikalleri 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolyum klorid (INT) ile reaksiyona girerek kırmızı renkli formazan oluşumuna yol açar. SOD aktivitesi formazan oluşumunun inhibisyon derecesi ile ölçülür. SOD aktivitesi, formazanın 560 nm'deki absorbansı ile ters orantılıdır.

GPx ölçümleri, Randox Laboratories Ltd'nin Ransel kitiyle çalışıldı. GPx aktivitesi ölçüm esası, 340 nm'deki NADPH absorbansındaki düşmeye dayanır. GPx, glutatyonun cumen hidroperoksitle oksidasyonunu katalizler. Glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında okside glutatyon, redükte forma çevrilirken, NADPH ise NADP'e dönüşür. Absorbans düşüşü, GPx aktivitesi ile orantılıdır.

Sonuçların değerlendirilmesinde Student's t testi ve korelasyon analiz testi uygulandı. İstatistikler Microstat istatistik programıyla bilgisayarda yapıldı.

Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verildi.

Bulgular

Hasta grubunun yaş ortalaması 46.6 ± 15.4 yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise 45.9 ± 13.6 yıl idi. İki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p < 0.05$).

KBY'li hastaların hemodiyalize girme

süreleri 1.9 ± 1.2 yıl idi.

SOD aktivitesi, hasta grubunda 126.3 ± 44.9 U/ml, kontrol grubunda 172.9 ± 42.4 U/ml ölçüldü. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (t: 4.343, $p < 0.001$).

GPx aktivitesi, hasta grubunda 39.5 ± 15.6 U/l, kontrol grubunda ise 69.8 ± 33.8 U/l idi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (t: 4.901, $p < 0.001$).

Hasta grubunun Hb düzeyleri 9.1 ± 1.6 gr/dl iken, kontrol grubunda 12.0 ± 1.4 gr/dl idi.

Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (t: 7.685, $p < 0.001$).

İki gruba ait yaş, hemodiyaliz süreleri ve biyokimyasal ölçüm sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Hasta grubunda yapılan korelasyon analizinde SOD ve GPx aktiviteleri ile hemodiyaliz süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulundu (sırasıyla r: 0.456, r: 0.401). Korelasyon testi sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo1. Hasta ve kontrol grubuna ait toplu sonuçlar.

	Hasta n:38	Kontrol n:30	t	p
Yaş (Yıl)	46.6 ± 15.4	45.9 ± 13.6	0.200	ad
H. süresi (Yıl)	1.9 ± 1.2	-		
SOD (U/ml)	126.3 ± 44.9	172.9 ± 42.4	4.343	$<0.001a$
GPx (U/l)	39.5 ± 15.6	69.8 ± 33.8	4.901	$<0.001a$
Hb (g/dl)	9.1 ± 1.6	12.0 ± 1.4	7.658	$<0.001a$

Student's t testi uygulanmıştır

ad: Anlamlı değil

a: Anlamlı

H. süresi: Hemodiyaliz süresi

Tablo2. Hasta grubuna ait korelasyon katsayıları tablosu.

	Yaş	H.süresi	SOD	GPx	Hb
Yaş	1.000				
H.süresi	0.008	1.000			
SOD	0.271	0.456a	1.000		
GPx	0.012	0.401a	0.197	1.000	
Hb	-0.113	0.213	0.146	0.031	1.000

a: Anlamlı

H. süresi: Hemodiyaliz süresi

Tartışma

KBY'li hastaların hemodiyalizle ömürleri uzamakla birlikte anemi, enfeksiyonlar, aterosklerotik hastalıklar ve kanser gibi birçok komplikasyonun görülme sıklığı da artmıştır. Bunlardan çoğunun nedeni tam açıklanabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda, değişik sonuçlar bulunmuştur. Turi ve arkadaşları üremik hastalarda eritrosit SOD aktivitesinin düşük olduğunu bildirmiştir (7). Elde edilen sonuçlarda, KBY'li hastalarda eritrosit ve plazma SOD aktivitesi kontrole göre düşük bulunurken, MDA gibi serbest radikal reaksiyon ürünleri ise yüksek bulunmuş ve hemodiyaliz hastalarında, KBY ile ilgili bazı komplikasyonların, etkin olmayan antioksidan sistem veya artmış oksijen serbest

radikalleri üretimine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (8-11).

Kronik hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada, antioksidan kapasitenin düştüğü, bunun da anemi ve eritrosit ömrünün kısalmasında etkili bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (12). Bu sonuçtan antioksidan moleküllerin diyaliz esnasında kaybı sorumlu tutulmuştur.

KBY'de pentoz fosfat yolu aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu azalma KBY'li hastalarda enfeksiyona eğilimi artırıcı bir faktör olarak kabul edilmiştir (13). Pentoz fosfat yolunun düzenli çalışmaması, indirgeyici güç üretimini azaltacağı için, antioksidan savunma

mekanizmasını zayıflatarak, anemide etkili olabilir.

Durak ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, hemodiyaliz tedavisi uygulanan KBY'li hastalarda eritrosit SOD ve GPx aktivitesinin kontrole göre belirgin bir şekilde azaldığını bildirmiştir (2). KBY'li hastalarda antioksidan sistemin zayıflaması, selenyum veya çinko gibi, antioksidan enzimlerin aktivasyonunda rol alan elementlerin eksikliğine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (2).

Bizim çalışmamızda, hasta grubunda eritrosit SOD ve GPx aktiviteleri kontrollere göre belirgin düşük bulundu. Bu sonuçlar yukarıdaki birçok çalışma ile uyumlu idi. Hasta grubunda Hb değerleri de kontrole göre belirgin bir şekilde düşük bulundu.

KBY'li hastalarda, antioksidan savunma mekanizması yukarıda belirtildiği gibi birçok araştırmacı tarafından zayıf bulunmuştur. Hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda bu zayıflama, diyalizle antioksidan maddelerin kaybına bağlanmıştır. Ancak, uzun süreli hemodiyalize giren hastalarda SOD aktivitesinin arttığı, hemodiyaliz süresi ile SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (14). Benzer şekilde, lökosit fagositoz aktivitesinin de hemodiyaliz hastalarında, uzun dönemde normale yaklaştığı bildirilmiştir (13). Bizim çalışmamızda da, GPx ve SOD aktiviteleri ile hemodiyaliz süreleri arasında pozitif bir korelasyon bulundu. Bazı çalışmalarda hemodiyaliz hastalarında antioksidan sistem zayıf bulunurken, bazı çalışmalarda ise hemodiyaliz süreleri ile antioksidan enzim düzeylerinin pozitif korelasyon göstermesi, bu sonucun diyalizde kullanılan membran tipine bağlı olabileceğini düşündürdü. Bu konu netlik kazandığında, uygun zar seçimi ile oksidan-antioksidan dengenin bozulması önenebilecektir.

Sonuç olarak, KBY'li hastalarda değişik nedenlere bağlı olarak, antioksidan sistemin zayıflayabileceği, buna bağlı olarak, oluşan serbest radikallerin birikmesi sonucu vücutta değişik serbest radikal aracılı bozukluklar görülebileceği düşünüldü. Bu çalışmada da tespit edilen KBY'li hastalardaki aneminin, antioksidan sistemdeki zayıflamayla ilgili olabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- 1-Ömür M, Tezel İ, Hızalan İ. Kronik böbrek yetmezliğine bağlı işitme kayıpları ve bazı serum içerikleri ile ilişkisi. *Türk ORL Derneği XVI. Milli Kongresi, Trabzon, 1981.*
- 2-Durak İ, Akyol Ö, Başeşme E, Canbolat O, Kavutcu M. *Reduced erythrocyte defense mechanisms against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. Nephron 1994; 66 (1): 76-80.*
- 3-İnal ME, Kanbak G, Akyüz F, Şen S. *The effects of erythropoietin and vitamin E treatment on the superoxide dismutase and catalase activities in haemodialysis patients. International Congress on Free Radicals in Health and Disease. 6-10 September, 1995, İstanbul.*
- 4-Mc Cord JM. *Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem 1993; 26 (5): 351-7.*
- 5-Srivastava SK, Ansari NH, Liu S, et al. *The effect of oxidants on biomembranes and cellular metabolism. Mol Cell Biochem 1989; 91: 149-57.*
- 6-Southorn PA, Powis G. *Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions. Mayo Clin Proc 1988; 63: 381-9.*
- 7-Turi S, Nemeth I, Vargha I, Matkovicks B, Dubos E. *Erythrocyte defense mechanisms against free oxygen radicals in hemodialysed uraemic children. Pediatr Nephrol 1991; 5: 179-83.*
- 8-Paul JL, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. *Membrane phospholipid peroxidation in renal insufficiency and chronic hemodialysis. Nephrologie 1991; 12: 4-7.*
- 9-Grinshtein I, Lundina TA, Knubovets TL, Sibel'dina LA, Sedov KR. *Free radical oxidation and tubular dysfunctions in patients with chronic kidney failure (Abstract). Ter Arkhiv 1991; 63: 62-5.*
- 10-Haklar G, Yegenaga I, Yalçın AS. *Evaluation of oxidant stress in chronic hemodialysis patients: use of different parameters. Clin Chim Acta 1995; 234: 109-14.*

11-Taylor JE, Scott N, Bridges A, Henderson IS, Stewart WK, Belch JJ. Lipid peroxidation and antioxidants in continuous ambulatory dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* 1992; 12: 252-6.

12-Schmidtman S, Muller M, von Baehr R, Precht K. Changes of antioxidative homeostasis in patients on chronic haemodialysis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 1991; 6 (Suppl 3): 71-4.

13-Vanholder R, Biesen WV, Ringoir S. Contributing factors to the inhibition of phagocytosis in hemodialysed patients. *Kidney International* 1993; 44: 208-14.

14-Grzeszczak W, Galwas B, Jendryczko A, Pachelski J, Zukowska-Szzechowska E. Effect of prolonged hemodialysis therapy on activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes and leucocytes of patients with chronic renal failure (Abstract). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 1994; 91: 167-75.

Yazışma adresi:

Yrd.Doç.Dr. Namık Delibaş

SDÜ Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

32040/ISPARTA