

HEMODİYALİZİN PROTEİN KARBONİL İÇERİĞİ VE SÜLFİDRİL GRUPLARI DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECTS OF HEMODIALYSIS ON PROTEIN CARBONYL CONTENT AND SULPHYDRYL GROUP LEVELS

Tülay Köken, Ahmet Kahraman,
Mustafa Serteser, Güldane Çetinkaya*

*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,
* Afyon Özel Diyaliz Merkezi, AFYON

ÖZET

Bir hemodiyaliz seansının protein karbonil içeriği ve protein sülfidril (SH) grupları üzerine etkisini 28 hasta grubu, 14 kontrol grubu kullanarak araştırdık.

Karbonil içeriği kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalarda kontrol grubuna göre artmış bulundu ($p<0.001$). Fakat hemodiyaliz öncesi ile hemodiyaliz sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Protein SH grupları KBY'de belirgin olarak azalmış bulundu ($p<0.001$). Hemodiyaliz sonrasında ise öncesi ile kıyaslandığında anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p<0.001$).

Bu bulgulara dayanarak hemodiyalizin protein karbonil içeriklerini uzaklaştıramadığı fakat protein SH gruplarının artışına yol açtığı sonucuna varabiliriz.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, karbonil içeriği, protein sülfidril grupları

GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliğinde (KBY) oksidatif stres ile oksidan - antioksidan dengenin bozulduğu gösterilmiştir (1). Artan oksidatif stres lipid ve karbohidrat yapıların yanı sıra protein yapılarında da oksidasyona sebep olmaktadır. Yapılan son çalışmalar oksidatif stresin nonenzimatik olarak geri dönüşümsüz protein modifikasyonlarına yol açtığını göstermiştir (2). Bunun yanı sıra karbohidrat ve lipid yapıların oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif karbonil bileşikleri (RCOs) de protein modifikasyonlarına yol açmaktadır (3). Protein karbonil içeriği, protein oksidasyonunun bir ürünü olup üremik hastalarda arttığı gösterilmiştir. Glutatyon, sistein, albumin ve diğer

SUMMARY

We have assessed the effect of a single episode of hemodialysis on protein carbonyl content and protein sulfhydryl (SH) groups in 28 patients and 14 control subjects.

In chronic renal failure (CRF) patients the carbonyl content increased when compared to the controls ($p<0.001$). But there were no statistically significant changes found between pre-hemodialysis and post-hemodialysis. The protein SH groups decreased significantly in CRF patients ($p<0.001$). After hemodialysis the protein SH groups increased significantly ($p<0.001$).

Base on these findings, it can be concluded that hemodialysis does not lead to any loss in protein carbonyl content but increases the protein SH groups.

Key Words: Hemodialysis, carbonyl content, protein sulfhydryl groups.

protein yapılarıdaki SH grupları da vücudu oksidatif stresten korumaya çalışan doğal antioksidanlardır.

Biz bu çalışmamızda kronik böbrek yetmezliğinin son evresinde olan hemodiyaliz hastalarında hemodiyalizin protein oksidasyonu ile protein SH grupları üzerine etkisini araştırdık. Bu amaçla protein oksidasyon ürünü olan karbonil içeriği ile doğal antioksidan savunmanın bir parçası olan total SH grupları düzeylerine hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası bakıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya yaşları 20 ile 70 arasında olan (ortalama \pm SD:4414) son dönem böbrek yetmezliği

teşhisi ile haftada üç seans hemodiyaliz programına alınan 28 hasta (15 erkek, 13 kadın) alındı. Hastaların ortalama hemodiyaliz süresi 2616 ay idi ve hastalar hemodiyaliz sırasında diyaliz solüsyonu olarak bikarbonatlı diyalizat ve polysulfone membran kullanmaktaydılar. Kontrol grubu yaşları 25 ile 61 arasında olan (ortalama±SD:3811) 14 (8 erkek, 6 kadın) sağlıklı kişiden oluşturulmuştur.

Hastaların venöz kanları sabah aç karına hemodiyalizden önce ve hemodiyalizden sonra alındı. Serum kreatinin düzeyleri aynı gün çalışıldı ve diğer testler çalışılınca kadar -200C'de saklandı.

Protein karbonil içeriği Levine ve arkadaşlarının yöntemine göre (4) Shimadzu UV-1601 spektrofotometrisi ile ölçüldü. Total protein SH düzeyleri Koster ve arkadaşlarının yöntemi (5) modifiye edilerek Hitachi 911 otoanalizöründe çalışıldı. Protein ve kreatinin düzeyleri de Hitachi 911 otoanalizöründe Roch diagnostic kitleri kullanılarak tayin edilmiştir.

İstatiksel Değerlendirme

Çalışmamızda tüm değerler ortalama standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol grubu ile hemodiyaliz hastaları arasındaki karşılaştırma Mann-Witney U testi ile, hemodiyaliz öncesi ve sonrası arasındaki karşılaştırma Paired t testi ile yapılmıştır.

SONUÇLAR

KBY olan hastaların kreatinin düzeyleri (mg/dl) hemodiyaliz öncesi 7.8 ± 2.96 , hemodiyaliz sonrası 4.01 ± 1.57 idi. Hemodiyaliz öncesi protein karbonil düzeyleri sağlıklı kişilerden anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.001$) (Tablo 1). Hemodiyaliz sonrası ise kontrolden anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen ($p < 0.001$) hemodiyaliz öncesinden anlamlı farklılık göstermedi. Protein SH grupları düzeyinin hemodiyaliz öncesi sağlıklı kişilerden daha düşük olduğu ($p < 0.001$), hemodiyaliz sonrası ise öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği ($p < 0.001$) ve sağlıklı kişiler ile arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Tablo 1).

Tablo 1: Protein karbonil ve SH grupları düzeyleri

	Protein Karbonil Düzeyleri (nmol/mg protein)	Protein SH Grupları Düzeyi (nmol/mg protein)
Kontrol (n=14)	0.62 0.08	8.86 0.77
Hemodiyaliz Öncesi (n=28)	1.17 0.34*	6.48 2.00*
Hemodiyaliz Sonrası (n=28)	1.29 0.35*	8.64 2.32**

* $p < 0.001$ Kontrol ile karşılaştırıldığında (Mann-Witney U test)

** $p < 0.001$ Hemodiyaliz öncesi ile karşılaştırıldığında (Paired t test)

TARTIŞMA

Hemodiyalize giren KBY hastaların plazmalarında lipid, karbonhidrat ve protein yapılarının oksidasyon ürünlerinin artması oksidatif stresin varlığını desteklemekle birlikte mekanizması halen tamamen anlaşılabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda hemodiyaliz membranlarının komplement yolunu (6) ve polimorfonükleer lökositleri (7) aktive ederek reaktif oksijen ürünlerinin ortaya çıkmasına yol açtığı ileri sürülmektedir. Bununla birlikte henüz diyalize girmemiş KBY'li hastaların plazmalarında da yüksek düzeyde oksidasyon ürünlerine rastlanmıştır. Bu da bize üremenin de tek başına oksidatif strese yol açabildiğini göstermektedir. KBY'li hastalarda renal antioksidan enzim sentezinin bozulması (8), demir tedavisi (9) ve besin kısıtlamasına bağlı olarak selenyum ve glutatyon (GSH) eksikliği (10) oksidatif stresin nedenleri olarak ileri sürülmektedir.

Bizim çalışmamızda KBY'li hastalarda protein karbonil içeriğini sağlıklı kişiler ile kıyaslandığımızda artmış olarak bulduk. Miyata ve arkadaşları (3) bunun mekanizmasının iki şekilde olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Birincisi oksidatif strese bağlı olarak RCO'sinin oluşumunun artması ikincisi ise RCO'sinin detoksifikasyonunun azalmasıdır. Hemodiyaliz sonrası protein karbonil içeriğinin değişmediği gözlemlendi. Bu da bize hemodiyaliz ile karbonillerin plazmadan uzaklaştırılmadığını ve hemodiyaliz işleminin protein oksidasyonuna yol açmadığını göstermektedir. Zoccali ve arkadaşları (11) uzun süre diyalize giren üremik hastaların geç komplikasyonlarından olan amiloidozun ve kardiyovasküler hastalıkların muhtemel oluşum mekanizması olarak bu oksidasyon ürünlerinin birikmesini öne sürmektedirler.

Protein SH grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardır. Protein yapısında olup vücutta oldukça fazla miktarda bulunan albuminin güçlü bir ekstraselüler antioksidan olduğu gösterilmiştir (12). Plazma protein SH grupları oksidatif hasara karşı hassas olup koroner arter hastalığı (13), romatoid artrit (14), diabetes mellitus (15) gibi oksidatif hasarın olduğu hastalıklarda düştüğü gösterilmiştir. KBY'li hastalarda da oksidatif hasarın arttığı, antioksidan aktivitenin azaldığı gösterilmiştir (16). Çalışmamızda da hemodiyaliz öncesi KBY'li hastalarda protein SH grupları düzeyinde azalma görüldü. Mimic-Oka ve arkadaşları (1) çalışmalarında protein SH gruplarını düşük bulmuşlar ve bu düşüşü lipid peroksid radikallerinin ve malondialdehid (MDA) gibi yıkım ürünlerinin birikimi sonucu proteinlerin oksidasyonuna bağlamışlardır. Peuchant ve arkadaşları (9), hemodiyaliz sonrası diyalizat serbest MDA düzeylerinin arttığını ve bu artışın MDA-protein kompleksinin diyaliz esnasında yıkılmasından kaynaklandığı ve

proteinlerin de serbest hale geçtiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda hemodiyaliz sonrası protein SH gruplarındaki artış, diyaliz ile proteine bağlı oksidan ajanların uzaklaştırılarak proteinlerin ve protein SH gruplarının serbest hale geçmesi ile açıklanabilir. Jackson ve arkadaşlarının da diyaliz sonrası protein SH gruplarını artmış olarak bulmaları bizim bu düşüncemizi desteklemektedir (17).

Sonuç olarak, hemodiyaliz artmış protein karbonil grupları düzeyinde herhangi bir değişikliğe yol açmazken, düşmüş protein SH düzeylerini arttırarak antioksidan etkinin artmasına yardımcı olmuştur.

KAYNAKLAR

1. Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L . et al. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1999;51:233-241.
2. Stadman ER, Oliver CN. Metal catalyzed oxidation of proteins: Physiological consequences. *J Biol Chem* 1991;266:2005-2008.
3. Miyata T, Van Ypersele De Strihou C, Kurokawa K et al. Alterations in non-enzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of 'carbonyl stress' in long-term uremic complications. *Kidney Int* 1999;55:389-399.
4. Levin RL, Garland D, Oliver CN et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464-478.
5. Koster JF, Biemond P, SwaakJG. et al. Intracellular and extracellular sulphhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1986;45:44-46.
6. Nguyen AT, Lethias C, Zingraff J et al. Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo within micro amount of whole blood. *Kidney Int* 1985;28:157-167.
7. Kuwahara T, Markert M, Wauters JP. Neutrophil oxygen radical production by diyaliz membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1988;3:661-665.
8. Yoshimura S, Suemizu H, Nomoto Y. et al. Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction. *Nephron* 1996;73:207-211.
9. Peuchant E, Carbonneau MA, Dubourg L. et al. Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing hemodialysis: Vitamins A,E iron status. *Free Radic Biol Med* 1994;16:339-346.
10. Girelli D, Olivieri O, Stanzial AM. et al. Low platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in patients with chronic renal failure:Relationship between dialysis treatments, diet and cardiovascular complication. *Clin Sci.*1993;84:611-617.
11. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. AGEs and carbonyl stress: potential pathogenetic factors of long-term uraemic complications. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(Suppl2):7-II.
12. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991;91(Suppl. 3C):114-122.
13. Kadota K, Yui Y, Hattori R. et al. Decreased sulphhydryl groups of albumin in coronary artery disease. *Jpn. Circ. J.* 1991;55(10):937-941. •
14. Lorber A, Pearson CM, Wrother L. et al. Serum sulphhydryl determinations and significance in connective tissue diseases. *Ann Int Med.* 1964;61:423-434.
15. Collier A, Wilson R, Bradley H. et al. Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabet Med* 1990;7(1):27-30.
16. Dasgupta A, Hussai S, Ahmad S. Increased lipid peroxidation in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 1992;60:56-69.
17. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH. et al. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1995;41(8):1135-1138.