

## SİĞARANIN HEMODİYALİZ HASTALARINDA OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

### THE EFFECTS OF SMOKING ON OXIDATIVE STRESS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

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

\*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

\*\*Afyon Özel Diyaliz Merkezi, AFYON

#### ÖZET

Hem hemodiyaliz hastalarında hem de sigara içenlerde serbest radikal oluşumu ile oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Biz bu çalışmamızda kronik hemodiyaliz (HD) hastalarında sigaranın oksidatif stres markerları olan malondialdehid (MDA), protein karbonil içeriği ve total sülfidril grupları üzerine etkisini araştırdık. Çalışmaya 10 sigara içen HD hastası (6 erkek, 4 kadın yaş:  $44 \pm 14$ ), 10 sigara içmeyen HD hastası (6 erkek, 4 kadın yaş:  $55 \pm 11$ ) ve kontrol olarak 10 sigara içmeyen sağlıklı kişi alındı. Çalışmanın sonucunda serum MDA ve protein karbonil içeriği hem sigara içen ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ) hem de içmeyen ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ) HD hastalarında kontrolden anlamlı olarak yüksek bulundu. MDA ve protein karbonil içeriği sigara içen HD hastalarında içmeyenlerden anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ). Total sülfidril grupları düzeyi ise her iki grupta da kontrolden anlamlı olarak düşüktü ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ). Sonuç olarak sigara, hemodiyaliz hastalarında oksidatif stresin daha da artmasına yol açmıştır.

**Anahtar sözcükler:** sigara, hemodiyaliz, oksidatif stress.

#### GİRİŞ

Hemodiyaliz (HD) hastalarının majör mortalite sebebinin kardiyovasküler hastalıklar olduğu bilinmektedir (1). Aterosklerotik kalp hastalığı ve sol ventrikül disfonksiyonu en sık rastlanan mortalite ve morbidite sebebidir (2). HD hastalarında aterosklerotik risk oluşturan faktörlerin başında yaş, sigara, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi gelmektedir.

Sigara kimyasal olarak reaktif ürünlerin açığa çıkmasına yol açarak biyolojik makromoleküllerin modifikasyonuna neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu aktif substantia™ lipid yapıları hasara uğratarak okside-LDL gibi proaterojenik partiküllerin ortaya çıkmasına yol açtığı ileri sürülmektedir (3). Bununla

#### SUMMARY

Oxidative stress has been shown in either hemodialysis patients or smokers in relation with an increased production of free radicals. We want to assess the effects of smoking on oxidative stress markers; malondialdehyde (MDA), protein carbonyl content and total sulfhydryl groups, in chronic hemodialysis (HD) patients. Ten smoker HD patients (6 men and 4 women, ages  $44 \pm 14$  years), ten non-smoker HD patients (6 men and 4 women, ages  $55 \pm 11$  years) and ten non-smoker healthy subjects as a control were recruited. The results showed that serum MDA and protein carbonyl levels were found to be significantly increased either in smoker HD patients ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) or in non-smoker HD patients ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). Also there was a significant difference in serum MDA and carbonyl content levels between smoker and non-smoker HD patients ( $p < 0.05$ ). Serum total sulfhydryl groups in smoker and non-smoker patients were significantly lower than those in controls. ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). Conclusion; We demonstrate smoking may aggravate oxidative stress in hemodialysis patient.

**Key Words:** smoking, hemodialysis, oxidative stress

beraber sigaranın vücuttaki bazı antioksidan vitaminlerin düzeyinde de azalmalara yol açtığı gösterilmiştir (4,5).

Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri (ROS) nükleik asit, lipid ve protein gibi makromoleküllerde değişikliklere yol açmaktadır. Protein karbonil içeriği protein oksidasyonunun, malondialdehid (MDA) ise lipid peroksidasyonunun bir ürünü olup üremik hastalarda arttığı gösterilmiştir (6,7). Glutasyon, sistein, albumin ve diğer protein yapılarıdaki sülfidril (SH) grupları da vücudu oksidatif stresten korumaya çalışan doğal antioksidanlardır. Hemodiyaliz hastalarında artan oksidatif stres nedeniyle SH grupları düzeyinin düştüğü görülmüştür (8).

Biz bu çalışmamızda ROS'un açığa çıkmasına yol açtığı ileri sürülen sigaranın hemodiyaliz hastalarında oksidatif stres üzerine etkisini araştırmak için serum MDA ile protein karbonil içeriği ve total SH grupları düzeylerini inceledik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya son dönem böbrek yetmezliği tanısı ile haftada üç seans hemodiyaliz tedavisi alan 20 hasta alındı. Hastaların 10'u (6 erkek, 4 kadın; yaş:44 ± 14) en az bir yıldır günde en az 10 adet sigara içerken 10'u (6 erkek, 4 kadın; yaş:55 ± 11) hiç sigara içmemiştir. Çalışma grubu kronik enflamatuvar hastalık, diabetes mellitus ve kronik karaciğer hastalığı olmayan hemodiyaliz hastalarından seçilmiştir. Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet yönünden eş olan sigara içmeyen 10 hastane çalışmaya alınmıştır.

Hastaların venöz kanları sabah aç karna diyaliz girmeden önce alındı. Serum kreatinin ve protein düzeyleri aynı gün çalışıldı ve diğer testler çalışılmaya kadar -20°C de saklandı.

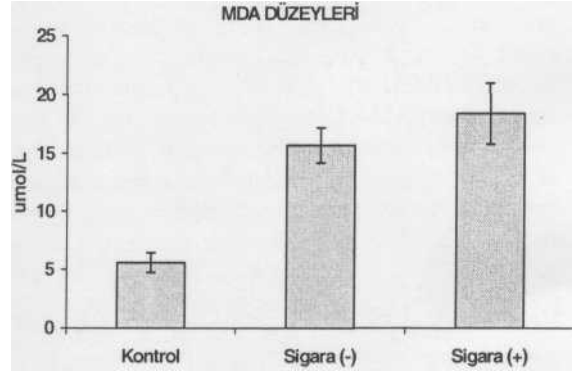
MDA tiobarbitürikasit metodu ile (9), total SH grupları Ellman reaktifi (5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoik asit) kullanılarak (10), protein karbonil içeriği ise dinitrofenilhidrazin ile reaksiyon prensibine dayalı yöntem ile spektrofotometrik olarak ölçüldü (11).

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar Wilcoxon rank testi kullanılarak belirlenmiştir.

## BULGULAR

Sigara içen hasta grubunun kreatinin düzeyleri ( 10,81 ± 2,86 mg/dl.) ile diyaliz süreleri (18 ± 8 ay) sigara içmeyen grubun kreatinin ( 9,09 ± 2,13 mg/dl) ve diyaliz süreleri (21 ± 7ay) ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA, **Şekil I'de** görüldüğü gibi hem sigara içen HD hastalarında (18,37 ± 2,6 mmol/L) hemde içmeyen HD hastalarında (15,67 ± 1,5 mmol/L) kontrol grundan (5,59 ± 0,84 mmol/L) anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0,05). Sigara içen HD hastalarının MDA düzeyleri ise içmeyen HD hastalarının düzeylerinden anlamlı olarak yüksekti (p<0,05). Protein oksidasyonunun bir göstergesi olan karbonil içeriği de **Şekil II'de** görüldüğü gibi hem sigara içen HD hastalarında (1,20 ± 0,23 nmol/mg protein) hemde sigara içmeyen HD hastalarında (0,86 ± 0, nmol/mg protein) kontrolden (0,63 ± 0,08 nmol/mg protein) anlamlı olarak yüksekti (p<0,05). Sigara içen HD hastalarında protein oksidasyonu içmeyen HD hastalarından anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,05). Antioksidan aktivitenin göstergesi olan total SH grubu düzeyleri hem sigara içen (4,41 ± 0,88 nmol/mg protein) hemde içmeyen (4,94 ± 0,91 nmol/mg

protein) HD hastalarında kontrolden (8,6 ± 0,67 nmol/mg protein) anlamlı olarak düşüktü (p<0.05). Sigara içen HD hastaları ile içmeyen HD hastaları arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı (**Şekil II**).

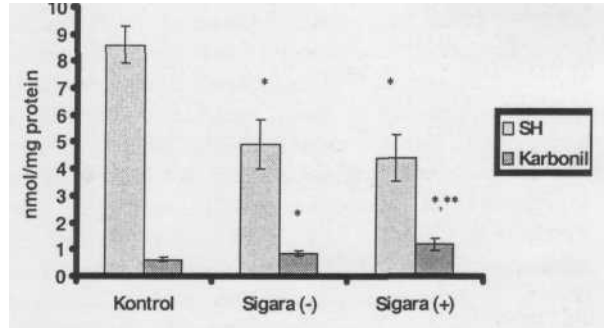


\* p<0.05 Kontrol ile kıyaslandığında,

\*\* p<0.05 Sigara (-) ile kıyaslandığında

**Şekil 1:** Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastalarının serum malondialdehid (MDA) düzeyleri

TOTAL SH VE PROTEİN KARBONİL İÇERİĞİ



\* p<0.05 Kontrol ile kıyaslandığında

\*\* p<0.05 Sigara (-) ile kıyaslandığında

**Şekil II:** Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastalarının serum total SH ve protein karbonil içeriği düzeyleri

## TARTIŞMA

Hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastaların plazmalarında lipid ve protein oksidasyon ürünlerinin artması oksidatif stresin varlığını desteklemekle birlikte mekanizması halen tamamen anlaşılabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda hemodiyaliz membranlarının komplement yolunu ve polimorfonükleer lökositleri aktive ederek reaktif

oksijen ürünlerinin ortaya çıkmasına yol açtığı ileri sürülmektedir (12,13). 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. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda renal antioksidan enzim sentezinin bozulması, demir tedavisi ve besin kısıtlamasına bağlı olarak selenyum ve glutasyon eksikliği oksidatif stresin nedenleri olarak ileri sürülmektedir (14-16).

Sigara, böbrekler üzerine akut etkisini sempatik aktivasyon ile yaparken, uzun dönem hasarını ise vasküler endotelial hücre hasarına yol açarak gösterir (17,18). Ayrıca sigara aterosklerotik arter lezyonuna yol açarak iskemik nefropatinin oluşmasına da neden olur (19,20). Çalışmamızda HD hastalarında artan MDA düzeyi ve protein karbonil içeriği sigara içimi ile anlamlı olarak artmıştır. HD hastalarında sigara içimi oksidatif stresin artmasına neden olmuştur. Durak ve arkadaşları da aterosklerotik hastalar üzerinde yaptıkları çalışmalarında sigara içen kontrol grubunun eritrosit MDA düzeylerini sigara içmeyenlerden yüksek bulmuşlardır (21). Sigara içiminin oksidatif stresi arttırdığını gösteren diğer bir çalışmada da sigara içen kişilerde eritrosit süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz enzim aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (22). Sigara içenlerde seruloplazmin ferrokسيدaz aktivitesinin azalması, glutasyon peroksidaz aktivitesi ile yakında ilişkili olan selenyum konsantrasyonunda düşüş ve serbest radikallerin oluşturduğu zincirleme reaksiyonları kırdığı bilinen serum vitamin E ve vitamin C düzeylerindeki azalma ve redükte glutasyon düzeyinin düşmesi antioksidan kapasitedeki azalmanın bir göstergesidir (4,5,23-25). Orth ve arkadaşları son dönem böbrek yetmezliğindeki hastalarda sigaranın kardiyovasküler komplikasyonları arttırdığını öne sürmüşlerdir (26). Bir başka çalışmalarında da sigaranın inflamatuvar ve non-inflamatuvar renal hastalıklarda son dönem böbrek yetmezliği gelişme riskini arttırdığını göstermişlerdir (27). Çalışmamızda bulduğumuz sonuçların ışığı altında sigaranın hem kardiyovasküler sistem hem de renal fonksiyonlar üzerine etkisinin oksidatif stresi arttırarak gerçekleştirdiği fikri uyanmaktadır.

Sonuç olarak sigara, HD hastalarında artmış olan oksidatif stresin daha da artmasına yol açarak HD hastalarının prognozunda etkili bir faktör olabileceği görüşünü desteklememize yol açmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. London GM, Drüeke TB. Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1997;51:1678-1695

2. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD. et al. Outcome and risk factors of ischemic heart disease in chronic uremia. *Kidney Int* 1996;49:1428-1434
3. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis? *Kidney Int* 1994;45:876-883
4. Smith JL, Hodges RE. Serum levels of vitamin C in relation to dietary and supplemental intake of vitamin C in smokers and nonsmokers. *Ann NY Acad Sci* 1987;489:144-152
5. Prince HMG, van Poppel G, Vogelesang C. et al. Supplementation with vitamin E but not beta-carotene in vivo protects low density lipoprotein from lipid peroxidation in vitro. Effect of cigarette smoking. *Arterioscler Thromb* 1992;12:554-562
6. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int* 2001; 59 (Suppl 78); S 108-113.
7. Dasgupta A, Hussai S, Ahmad S. Increased lipid peroxidation in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 1992;60:56-69
8. 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.
9. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.
10. Koster JF, Biemond P, Swaak AJ et al. Intracellular and extracellular sulfhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1986;45: 44-46.
11. Levine RL, Garland D, Oliver CN. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990; 186: 464-478.
12. 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.
13. Kuwahara T, Markert M, Wauters JP. Neutrophil oxygen radical production by diaysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1988;3:661-665.
14. Yoshimura S, Suemizu H, Nomoto Y et al. Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction. *Nephron* 1996;73:207-211.
15. 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* 1996;16:339-346.
16. 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.
17. Ritz E, Benck U, Franek E, et al. Effects of smoking on renal hemodynamics in healthy volunteers and in patients with glomerular disease. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1798-1804

18. Blann AD, McCollum CN. Adverse influence of cigarette smoking on the endothelium. *Thromb Haemostas* 1993;70:707-711
19. Appel RG, Bleyer AJ, Reavis S et al. Renovascular disease in older patients beginning renal replacement therapy. *Kidney Int* 1995;48:171-176
20. Oberai B, Adams CWM, High OB. Myocardial and renal arteriolar thickening in cigarette smoking. *Atherosclerosis* 1984;52:85-190.
21. Durak I, Kaçmaz M, Cimen MY et al. Blood oxidant/antioksidant status of atherosclerotic patients. *Int J Cardiol* 2001;77(2-3):293-297
22. Zhou JF, Yan XF, Guo FZ et al. Effects of cigarette smokig and smokig cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative strees. *Biomed Environ Sci* 2000;13:44-55
23. Pacht ER, Davis WB. Decreased ceruloplasmin ferroxidase activity in cigarette smokers. *J Lab ClinMed* 1988;111:661-668
24. Nadif R, Orszyn MP, Fradier-Dusch M. Cross sectional and longitudinal study on selenium, glutathione peroxidase, smoking and occupational exposure in coal miners. *Occup Environ Med* 2001;58:239-245
25. Srou MA, Bילו YY, Juma M. Susceptibility oferythrocytes from non-insulin-dependent diabetes mellitus and hemodialysis patients, cigarette smokers and normal subjects to in vitro oxidative stress and loss of deformability. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000;22:173-180
26. Orth SR, Viedt C, Ritz E. Adverse effects of smoking in the renal patient. *Tohoku J Ex Med* 2001; 194:1 -15
27. Orth SR, Stockmann A, Conradt C. Smoking as a risk factor for end-stage renal failure in men with primary renal disease. *Kidney Int* 1998;54:926-931