

Beta Talasemi Minörlü Hastalarda Eser Element ve Oksidatif Hasar İlişkisi

Ali Rıza KIZILER^{a1}, Birsen AYDEMİR¹, Erdal KURTOĞLU², Ayşegül UĞUR³

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İSTANBUL

²T.C. Sağlık Bakanlığı Antalya Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, ANTALYA

³T.C. Sağlık Bakanlığı Antalya Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü, Biyokimya Laboratuvarı, ANTALYA

ÖZET

Amaç: Çalışmanın amacı beta talasemi minörlü (BTM) hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında eritrosit redükte glutatyon düzeylerinin, katalaz ve süperoksid dismutaz aktivitelerinin, plazma ve eritrosit malondialdehid düzeylerinin, serum çinko, bakır ve demir konsantrasyonlarının ölçümü, bu parametrelerin birbirleri ile olan ilişkileri her iki grupta karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: BTM olan 35 kişilik hasta grubu ile 40 kişilik normal sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunda eritrosit SOD, CAT aktiviteleri, GSH, MDA ve plazma MDA düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle ölçüldü. Serum Fe, Cu ve Zn alev atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçüldü.

Bulgular: Eritrosit SOD ve CAT aktiviteleri, GSH, serum Fe ve Zn düzeyleri, hematokrit, hemoglobin ve eritrosit sayısı hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.001$). Ancak plazma ve eritrosit MDA, serum Cu düzeyleri hasta grubunda kontrollere göre anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p<0.001$). BTM hasta grubunda plazma MDA ile serum Cu düzeyleri arasında pozitif anlamlı bir ilişki saptandı. Ancak eritrosit GSH ile serum Fe değerleri arasında negatif anlamlı bir ilişki saptandı. Plazma MDA değerleri ile Hct, hemoglobin ve eritrosit sayısı arasında da negatif anlamlı bir ilişki görüldü. Serum Cu konsantrasyonları ile Hct ve eritrosit sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğu saptandı.

Sonuç: Bulgular BTM'li hastalarda anlamlı olarak Zn ve Fe düzeyleri ile antioksidan sistem yetersizliğini, MDA ve Cu düzeylerinde artışı göstermektedir. Eser element takviyeli antioksidatif süreç, temizleyici enzim aktivitelerini artırabilir ve klinik belirtilerinde de iyileşme beklenebilir.

Anahtar Sözcükler: Beta talasemi minör, süperoksid dismutaz, katalaz, redükte glutatyon, malondialdehid, çinko, demir, bakır

ABSTRACT

Relationship Between Trace Element and Oxidative Damage in Patients with Beta-Thalassemia Minor

Objective: The aim of the present study was to determine levels of reduced glutathione, activities of catalase and superoxide dismutase, levels of malondialdehyde, concentrations of zinc, copper and iron in patients with beta-thalassemia minor (BTM) compared with healthy subjects, and to evaluate the relationships among these parameters.

Materials and Methods: The patients consisted of 35 patients with BTM. The control group consisted of 40 healthy subjects. SOD, CAT, GSH and MDA were measured by biochemical methods. Zn, Cu and Fe levels were determined by flame atomic absorption spectrophotometer.

Results: SOD and CAT activities, GSH levels, levels of Fe and Zn, hematocrit, hemoglobin and erythrocyte count in the beta-thalassemia minor subjects were found lower than those in control group ($p<0.001$). However, MDA and Cu levels were significantly higher in BTM subjects than those in the controls ($p<0.001$). There were significant positive correlations between MDA levels and Cu levels of BTM subjects. However, there were significant negative correlations between GSH and Fe levels. Moreover, there were significant negative correlations between plasma MDA and hematocrit and hemoglobin and erythrocyte count. There were also significant negative correlations between Cu and hematocrit and erythrocyte count.

Conclusion: These findings emphasize the significant deficiencies of antioxidant system, Zn and Fe levels and the significant elevation of MDA and Cu levels in patients with BTM. Therefore, supplementation with trace elements involved in the antioxidative processes may increase scavenger enzyme activities, and consequently, an improvement in clinical symptoms may be expected.

Key words: Beta-thalassemia minor, superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, malondialdehyde, zinc, iron, copper

Beta talasemi, yaklaşık 200 gen mutasyonunun neden olduğu, yaygın bir klinik fenotip çeşitliliği gösteren beta globin geninde kalıtsal mutasyon sonucu oluşan hatalı hemoglobin yapımına bağlı bir hastalıktır. Hastalığın en belirgin özelliği anemi olup heterozigot ve homozigot tipine göre çok hafif ya da çok ağır olabilmektedir (1,2). Türkiye'nin de içinde bulunduğu tüm Akdeniz ülkelerinin önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, dünyadaki taşıyıcılık oranı %5.1 olup ülkelere ve ülkeler içindeki farklı yerleşim

birimlerine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin taşıyıcılık Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde (KKTC) %15'lerde, Azerbaycan'da %6.3, Bulgaristan'ın kuzeydoğu bölgesinde %30'dur. Ülkemizde genel taşıyıcılık oranı %2.1 olup Sağlık Bakanlığı ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi'nin (UHK) verilerine göre; Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerindeki 16 merkezde, toplam 377.339 sağlıklı kişinin taranması ile son beş yılda belirlenen oranlar %0.7-13.1 arasındadır (2).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış reaktif oksijen tür-

^a Yazışma Adresi: Dr. Ali Rıza KIZILER, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İSTANBUL

Tel: +90 216 5953140

Fax: +90 212 624 56 69

e-mail: ark@istanbul.edu.tr

lerinin (ROT) ve lipid peroksidasyonun, birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığını göstermektedir. Oksidatif hasarın diabetes mellitus, kalp damar, kanser, hematolojik hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir (1,3-5). Yapılan çalışmalarda ROT'nin alfa ve beta talasemili ve demir eksikliği anemisi olan hastaların eritrositlerinde yüksek oranda üretildiği ve oksidatif hasara maruz kaldıkları gösterilmiştir (6-9). Ayrıca demir eksikliği anemisinde eritrositlerin oksidanlara karşı hassasiyetinin arttığı ve yaşam sürelerinin kıaldığı belirtilmiştir (3-5). Oksidatif stres serbest radikallerin ve ROT'nin artması ile oluşur ve biyolojik makromoleküllerde şiddetli hasar oluşturarak metabolizmalarında ve fizyolojilerinde bozukluklar meydana getirir (3,10,11). ROT'nin hücre fonksiyonu için zararlı olan malondialdehit (MDA) oluşumuna ve membran lipid peroksidasyonuna neden oldukları bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu membran geçirgenliğini artırır. Aynı zamanda MDA moleküller içinde ve arasında çapraz bağlantılar oluşturarak membran transportunu inaktive eder (10-12). Eser elementlerinin normal fizyolojik sınırlarının değişmesi oksidan/antioksidan sistemine ve ROT üretimine etkilerinin olduğu bilinmektedir (10,13-16). Eser elementler normal fizyolojik sınırlar içinde çeşitli metabolik ve sinyal ileti süreçlerinde önemli roller üstlenmişlerdir. Demir (Fe), çinko (Zn) ve bakır (Cu) çeşitli metalloenzimlerin yapısında bulunan bileşenlerdir (10-13). Bu enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürürken, katalaz (CAT) da hidrojen peroksiti suya dönüştüren antioksidan enzimlerdir (10). Aşırı hidrojen peroksit ile birleşen Fe ve Cu gibi geçiş elementleri Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikali oluşumunu arttırmaktadır. Hidroksil radikali de aşırı okside edici bir reaktif radikal olup DNA hidroksilasyonuna, protein agregasyonuna, membran lipid peroksidasyonu neden olmakta ve çoğu biyomolekülle reaksiyona girebilmektedir (10,11).

Antioksidan sistem denilen ve vücutta oksidatif hasar oluşturan çeşitli oksidanlara karşı mücadele veren, eksojen ve/veya endojen kaynaklı pek çok antioksidandan oluşan, oldukça hızlı ve etkin bir şekilde çalışan koruyucu bir mekanizma bu amaca yönelik fonksiyon görmektedir. Antioksidanlardan olan redükte glutatyon (GSH) eritrositlerde bol miktarda bulunmaktadır. GSH dokuları serbest radikallere karşı lipid peroksidasyonunu sınırlandırarak korumaktadır. Eritrositlerde artan membran rijiditesi, azalan deformabilite ve hemoliz oksidatif hasarın bir sonucudur (4,5). Literatürde homozigotik beta talasemili ve demir eksikliği anemisinde oksidan/antioksidan sistem ve eser elementler arasındaki ilişkiyi gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (5,14,17). Çalışmamızda BTM tanısı konmuş hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşturulan kontrol grubunda oksidatif hasar belirteci olan MDA plazma ve eritrositlerde, antioksidan sistemin en önemli bileşenleri olan SOD ve CAT aktiviteleri, GSH düzeylerini eritrositlerde, serumda Zn, Cu ve Fe konsantrasyonları ölçülerek aralarındaki ilişki araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kan örnekleri, Antalya Devlet Hastanesi Dahiliye Bölümü Polikliniğine başvuran fizik muayene ve rutin biyokimyasal tetkikler sonucunda BTM tanısı konulan hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşturulan kontrol grubundan temin edildi. Kontrol grubu herhangi bir kronik hastalığı olmayan, normal fizik muayene ve rutin tetkikleri olan sağlıklı gönüllü bireylerden oluşturuldu. BTM'li hasta grubu 35 kişilik 16'sı kadın ve 19'u erkek bireyden oluşup, ortalama yaşı 37.46±4.11 yıldır; kont-

rol grubu 40 kişilik 21'i kadın ve 19'u erkek bireyden oluşup, ortalama yaşı 38.90±3.71 yıldır. Çalışmaya alınan tüm bireylerin sigara ve alkol kullanmamasına, son üç aydır folik asit, glutatyon, E ve C vitamini, selenyum, çinko, demir takviyesi almamasına dikkat edildi. Çalışma ile ilgili olarak İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi etik kurul onayı alınarak, tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirildi. Çalışma gruplarını oluşturan tüm olgulardan sabah aç karna 8.00-9.00 saatleri arasında, antikoagulan olarak K₃EDTA içeren ve herhangi bir antikoagulan içermeyen vakumlu tüplere venöz kan örnekleri iki ayrı tüpe alındı. Kan örnekleri 400xg'de 20 dakika 2-8°C de santrifüj edildi. Antikoagulansız tüpteki üst fazdan serum alınarak eser element ölçümleri için -20°C deki derin dondurucuya kaldırıldı. EDTA'lı olan kanın üst fazından plazma MDA ölçümü için ayrıldı, dipteki eritrosit pelleti üç defa % 0.9' luk NaCl ile yıkanarak -70°C deki derin dondurucuda MDA, GSH, SOD ve CAT ölçümü yapılmaya kadar saklandı. EDTA'lı alınan kan örneklerinde Hb, Hct ve eritrosit sayımı otoanalizörde yapıldı (Coulter Hmx Hematology Flow Cytometer, Beckman Inc., CA, USA).

Eritrosit SOD aktivitesi 560nm'de Sun ve ark.'nın, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit anyonlarının nitro blue tetrazolium'u (NBT) indirgemesi esasına dayalı metodu ile ölçüldü (18). Bir ünite SOD, %50'lik NBT inhibisyonu meydana getiren enzim miktarı olarak belirlendi. Sonuçlar hemoglobin başına ünite olarak verildi (U/g Hb).

CAT aktivitesi, hidrojen peroksitin (H₂O₂) CAT tarafından parçalanması esasına dayanan UV spektrofotometrik yöntem ile aktivite belirlendi (19). 1ml H₂O₂ çözeltisi üzerine (son konsantrasyon 10mM H₂O₂) 50µl paket eritrosit eklenerek karıştırıldı. Katalaz peroksit reaksiyonunda zamanın bir fonksiyonu olarak azalan absorpsiyon değerleri 30sn aralıklarla 3dk boyunca 240nm'de ölçüldü. CAT aktivitesi için ekstinsiyon katsayısı (46.3M⁻¹cm⁻¹) kullanılarak, aktivite U olarak Hb gram başına hesaplandı.

Eritrositlerdeki GSH konsantrasyonları Beutler ve ark.'nın yöntemine göre 5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit ile oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (20). Eritrosit GSH konsantrasyonları %mg olarak hesaplandı.

Eritrosit ve plazma MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü (21,22). Yöntemin prensibi MDA ile tiyobarbitürikasit (TBA) reaksiyonu sonucu oluşan pembe renk absorpsiyonunun spektrofotometrik ölçümüne dayanır. Konsantrasyonlar absorpsiyon değerleri okunduktan sonra MDA-TBA kompleksinin absorpsiyon sabiti (1.56x10³M⁻¹cm⁻¹) kullanılarak hesaplandı. Hemoglobin ölçümleri Drabkin çözeltisi ve hemoglobin standardı kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

Serum örneklerinden Shimadzu Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AA-680, Tokyo, Japan) ile Fe, Zn ve Cu eser element düzeyleri ölçüldü (10). Element ölçümleri için Titrisol 1000±0.002 gr (Merck) standart stok solüsyondan demir için 1 ve 2, çinko için 0.5 ve 1, bakır için 1 ve 2 mg/l'lik standart çözeltiler hazırlandı. Blank olarak bidistile su kullanıldı. Her elemente ait özel dalga boyunda ışık veren HCL (Hallow Cathod Lamp) lambaları, hava-asetilen gaz karışımı, slit aralığı ve BGC (Back Ground Correction) modları cihaz üzerinde seçildi. Blank ve standart çözeltiler cihaza verilerek kalibrasyon grafikleri çizdirildi. Sonuçlar µg/dl olarak hesaplandı.

Verilerin analizi SPSS 11.5 for Windows bilgisayar paket programı ile yapıldı. Ortalamalar arasındaki farkın önem kont-

rolü, student's *t* testi ile yapıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı fark olarak kabul edildi. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Hct, Hb, eritrosit sayısı, Zn, Cu, Fe, MDA, GSH, SOD ve CAT konsantrasyonları arasındaki ilişkilerin varlığı Pearson korelasyon testleri ile kontrol edildi.

BULGULAR

Tablo 1'de çalışma gruplarına ait yaş, cinsiyet, hematokrit, hemogloblin ve eritrosit sayısı göstermektedir. Kontrol ve hasta grupları hematokrit, hemogloblin ve eritrosit sayıları karşılaştırıldığında hasta grubunda anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$, sırasıyla). Tablo 2 ise kontrol ve hasta gruplarının oksidan ve antioksidan parametreleri verilmiştir. Plazma ve eritrosit MDA değerlerinin hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$, sırasıyla). Buna rağmen eritrosit GSH düzeyleri, eritrosit SOD ve CAT aktiviteleri hasta grubunda anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi ($p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$, sırasıyla). Serum eser element konsantrasyonları Tablo 3'te verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda serum Fe ve Zn konsantrasyonlarının düşük, Cu konsantrasyonlarının ise yüksek olduğu belirlendi ($p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$, sırasıyla).

Tablo 1. Kontrol ve beta talasemi minör hasta gruplarına ait istatistiksel yaş, cinsiyet, Hct, Hb ve eritrosit sayısı değerleri

Parametre	Kontrol Grubu (n=40)	Hasta Grubu (n=35)
Yaş	38.90 \pm 3.71	37.46 \pm 4.11
Cinsiyet (K/E)	21/19	16/19
Hct (%)	39.80 \pm 2.60	32.77 \pm 2.22*
Hb (g/dl)	12.97 \pm 0.40	10.90 \pm 1.02*
Eritrosit Sayısı (10 ⁶ /mm ³)	4.46 \pm 0.35	3.64 \pm 0.28*

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol ve hasta grupları karşılaştırıldığında * $p < 0.001$.

Tablo 2. Kontrol ve beta talasemi minör hasta gruplarına ait istatistiksel plazma ve eritrosit MDA, eritrosit GSH, eritrosit SOD ve eritrosit CAT aktivitesi değerleri

Parametre	Kontrol Grubu (n=40)	Hasta Grubu (n=35)
Plazma MDA (μ mol/l)	9.12 \pm 1.00	11.26 \pm 2.37*
Eritrosit MDA (nmol/g Hb)	26.00 \pm 4.99	32.72 \pm 4.47*
Eritrosit GSH (%mg)	23.09 \pm 6.08	16.59 \pm 2.67*
Eritrosit SOD (U/g Hb)	1452.18 \pm 406.75	822.77 \pm 196.33*
Eritrosit CAT (U/g Hb)	1460.05 \pm 255.55	758.20 \pm 150.80*

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol ve hasta grupları karşılaştırıldığında * $p < 0.001$.

Tablo 3. Kontrol ve beta talasemi minör hasta gruplarına ait istatistiksel serum Fe, Cu ve Zn değerleri

Parametre	Kontrol Grubu (n=40)	Hasta Grubu (n=35)
Fe (μ g/dl)	133.12 \pm 22.47	90.57 \pm 13.10*
Cu (μ g/dl)	106.08 \pm 15.04	135.23 \pm 17.08*
Zn (μ g/dl)	108.77 \pm 18.81	79.90 \pm 15.33*

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol ve hasta grupları karşılaştırıldığında * $p < 0.001$.

Pearson korelasyon analizi ile parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde hasta grubunda plazma MDA ile serum Cu düzeyleri arasında pozitif bir ilişkinin varlığı belirlenmiştir ($r=0.457$; $p < 0.01$). Yine Hct'in hemogloblin ve eritrosit sayısı arasında pozitif bir ilişkinin varlığı görülmüştür ($r=0.774$, $p < 0.01$; $r=0.768$, $p < 0.01$). Eritrosit GSH ile serum Fe değerleri arasında negatif bir ilişki saptanmıştır ($r=-0.342$, $p < 0.05$). Plazma MDA değerleri ile Hct, hemogloblin ve eritrosit sayısı arasında da negatif bir ilişkinin varlığı belirlenmiştir ($r=-0.351$, $p < 0.05$; $r=-0.419$, $p < 0.05$; $r=-0.499$, $p < 0.05$). Serum Cu konsantrasyonları ile Hct ve eritrosit sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğu saptanmıştır ($r=-0.603$, $p < 0.01$; $r=-0.567$; $p < 0.01$).

Kontrol grubunda ise plazma MDA'nın eritrosit GSH, serum Fe konsantrasyonları ve eritrosit SOD aktivitesi arasında negatif bir korelasyon ($r=-0.392$, $p < 0.05$; $r=-0.329$, $p < 0.05$; $r=-0.359$, $p < 0.05$) saptanmıştır. Serum Fe konsantrasyonu ile eritrosit CAT aktivitesi arasında negatif bir ilişkinin varlığı görülmüştür ($r=-0.411$, $p < 0.05$). Ancak serum Zn ile eritrosit SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır ($r=0.446$, $p < 0.01$).

TARTIŞMA

Çalışmamızda BTM'lü hastalarda antioksidan parametrelerden olan GSH, SOD ve CAT, ve oksidatif hasarı gösteren lipid peroksidasyon markeri olan MDA, eser elementlerden Fe, Cu ve Zn düzeyleri ölçülerek aralarındaki ilişkiler araştırıldı. Literatürde BTM tanısı konmuş hastalarda oksidatif hasara ilişkin çalışmalar oldukça sınırlı sayıda bulunmasına rağmen, çeşitli çalışmalarda demir eksikliği anemisi, major alfa ve beta talasemili hastalarda oksidatif stresin arttığını gösterilmiştir (1,3-5). Oksidatif hasar, çeşitli hastalıklarda ve kanser türlerinde birçok patofizyolojik sürecin erken evrelerinde önemli rol oynamaktadır. Talasemi otozomal resesif geçiş gösteren heterozigot formda taşıyıcılığa, homozigot formda hastalığa yol açan kronik hemolitik bir anemidir. Globin zincirlerinin yapımındaki şiddetli dengesizlikler farklı talasemi fenotiplerinin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Talasemik eritrositlerin ROT ile oluşan oksidatif hasarı, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve antioksidan savunma sistemi bileşenleri ile belirlenebilir. Talasemili hastalarda globin zinciri sentezine bağlı defektlerden dolayı eritrosit membranı oksidatif hasara maruz kalmaktadır. Morfolojik, biyokimyasal ve metabolik değişikliklerden dolayı talasemik eritrosit membranındaki hasar sonucu anemi ortaya çıkmaktadır. Vives ve ark. tarafından BTM'lü hastalarda oksidatif hasarın arttığını göstermişlerdir (23). Organizmada pek çok hücrede olduğu gibi eritrositlerde de ROT üretimine neden olan kaynaklar vardır. Eritrositlerde bulunan SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler hücre içinde süperoksit ve hidrojen peroksitin

birikmesini engellemektedirler. Anemi ve talasemilerde yapılan çalışmalarda SOD ve CAT aktivitelerine ait çelişkili bulgular mevcuttur (6,9-12). Çalışmamızda BTM'lü hastaların eritrosit SOD ve CAT enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi. Bu azalmanın artan oksidatif stres nedeniyle antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığını göstermektedir. Artan oksidatif stres, SOD ve CAT aktivitelerindeki değişikliği beraberinde getirebilir. Araştırmamızda SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesinde görülen azalma, serbest oksijen radikallerinin tam olarak detoksifiye edilemeyeceği ve bunun sonucunda da eritrosit membranı ve diğer hücre yapılıarda ciddi hasarın ortaya çıkması ile açıklanabilir.

GSH enzimatik olmayan bir antioksidan olup, eritrositlerin en önemli indirgeyici ajanı olarak hemoglobini oksidasyondan, eritrosit membranını da lipid peroksidasyonundan korumaktadır. Yılmaz ve ark. demir eksikliği anemisinde GSH miktarının azaldığını göstermişlerdir (5). Çalışmamızda eritrosit GSH düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük, plazma ve eritrosit MDA düzeylerinin yüksek olduğu gözlemlendi. Selek ve ark. yaptıkları çalışmada BTM tanılı hasta grubunda kontrollere göre antioksidan enzim olan paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerinin serumda azaldığını, serum lipid hidroperoksit düzeylerinin arttığını saptamışlardır (1). BTM'lü hastalarda GSH düzeyinin azalması ve MDA düzeylerinin artması talasemik eritrositlerin oksidatif hasara maruz kaldıklarını göstermektedir.

SOD enziminin aktivitesi için esansiyel elementlerden olan Cu ve Zn, CAT enziminin de yapısında yer alan Fe, antioksidan sisteme önemli katkıda bulunurlar. Cu aynı zamanda GSH ile ilişki bir metaldir. Eritrositlerde Cu transportunda GSH önemli rol oynamaktadır. GSH yapısında bulunan SH grupları birçok metale affinite göstermekte, metallerin reaksiyona girmesini azaltabilir ya da konjugat oluşturarak hücre dışına atılmalarına neden olabilir (15). Cu, Fe'in bağırsaklardan emilimi ve dokulardan plazmaya dağılımını etkilemektedir. Ayrıca Fe'in Hb oluşumunda kullanılabilmesi ve eritrosit yapımı için gerekli bir elementtir. Zn metabolik olaylarda protein, karbonhidrat, enerji, nükleik asit, lipid ve heme sentezinde, gen ekspresyonu, doku sentezi ve embriyogenezde önemli roller üstlenmiştir (13). Ayrıca Zn hücre membranı ve damar endotelinin stabilizasyonunu sağlamaktadır. Redoks aktivitesi olmadığı için bağlandığı proteini dayanıklı hale getirir. Oysaki redoks aktif metaller olan Fe ve Cu RNA ve DNA'a kilitlenir ve radikal reaksiyonları başlatır ve bu reaksiyonlar nükleik asitlerin hasara uğramasına neden olur. Cu ve Fe hidroksil radikal oluşumunu artırarak lipid peroksidasyonuna neden olurken, Zn lipid peroksidasyonunu engelleyen bir metal olarak görev almaktadır. Redoks aktif geçiş metallere olan Fe ve Cu oksidatif hasarı arttırdığını gösteren ya da eksikliklerinde antioksidan savunmanın azaldığını gösteren bulgular mevcuttur (14,24,25). Beta talasemili hastalarda demir yüklemesi sonucunda serum Fe konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak hücre ve organel membranlarında peroksidatif hasarın arttığı gösterilmiştir (17). Talasemik hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre serum MDA ve protein karbonil düzeyle-

rinin arttığı, A ve E vitamini, β -karoten ve likopen gibi antioksidan miktarlarını azaldığı saptanmıştır (17). Rao ve ark. Fe eksikliğinde karaciğer dokusunda MDA konsantrasyonlarının azaldığını belirtmişlerdir (12). Beydoğan ve ark. demir eksikliği anemisi tanısı konmuş bir hastada Fe ve Zn preparatı tedavisi ile anemi tablosunun düzeldiğini tespit etmişlerdir (26). Öktem ve ark. yaptıkları çalışmada çocuklarda beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak hematolojik parametreler ile Fe ve Zn elementleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (27). Sosyoekonomik düzeyleri iyi olan çocuklarda sosyoekonomik düzeyleri kötü olan çocuklara göre Fe ve Zn düzeyleri ile hematokrit değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Hematolojik parametreler ile eser elementler arasında herhangi bir ilişki görülmemiştir. Ayrıca gastrointestinal sistemden Zn absorpsiyonu Cu ile yarışma halindedir. Çalışmamızda beta talasemik hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hastalarda Fe ve Zn miktarının azaldığı, Cu miktarlarının da arttığı belirlendi. Ayrıca hasta grubunda plazma MDA ile serum Cu düzeyleri arasında pozitif, eritrosit GSH ile serum Fe değerleri arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Kontrol grubunda ise plazma MDA'nın eritrosit GSH, serum Fe konsantrasyonları ve eritrosit SOD aktivitesi arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Serum Fe konsantrasyonu ile eritrosit CAT aktivitesi arasında negatif bir ilişkinin varlığı görülmüştür. Ancak serum Zn ile eritrosit SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Bulgularımız BTM'lü hasta grubunda Zn, Cu ve Fe düzeylerindeki bu değişikliklerin artan oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kontrol grubunda eser element ve antioksidan enzim aktiviteleri arasındaki ilişki normal hemoglobin yapısına ve miktarına sahip olmaları nedeniyle hasta grubundaki oksidatif strese göre daha az maruz kalması, antioksidan sistem parametreleri ile eser element düzeylerinin normal fizyolojik sınırlarda bulunmasıyla açıklanabilir.

Hematokrit, hemoglobin ve eritrosit sayısı hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Selek ve ark. yaptıkları çalışmada BTM'lü hasta grubunda hemoglobin, hematokrit, MCV değerlerinin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir (1). Hasta grubunda plazma MDA değerleri ile Hct, hemoglobin ve eritrosit sayısı arasında negatif bir korelasyon, serum Cu konsantrasyonları ile Hct ve eritrosit sayısı arasında da negatif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu bulgular yapılan çalışmalarda belirtilen artmış oksidatif strete kan parametreleri üzerine olan etkileri göstererek bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Çalışmamızın bulguları doğrultusunda artan oksidatif stres ve buna bağlı olarak antioksidan sistemdeki zayıflama ve eser element konsantrasyon dengesindeki değişikliklerde BTM'lü hastalarda görülen anemiye karşı antioksidan sistemin güçlendirilmesi ve azalan Zn ve Fe miktarlarının takviyesi ile katkıda bulunabileceği ileri sürülebilir. BTM'lü hastalarda ortaya çıkan anemiye karşı eser element ile oksidan/antioksidan sistemler arasındaki dengeyi sağlayan mekanizmaların daha iyi açıklanabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Selek S, Aslan M, Horoz M, et al. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. Clin Biochem. 2007; 40: 287-291.
2. Yaprak I. Beta Talasemi Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. STED. 2004; 13:58-59.

3. Altan N, Diñel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Türk Biyokimya Dergisi. 2006; 31:51-56.
4. Bartal M, Mazor D, Dvilansky A, Meyerstein N. Iron deficiency anemia: recovery from in vitro oxidative stress. Acta Haematol. 1993; 90:94-98.
5. Yılmaz K, Kahraman A, Bodur S, et al. Demir Eksikliği Anemisinde Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri. T Klin J Med Sci. 2004; 24:305-308.
6. Scott MD. H₂O₂ injury in beta thalassemic erythrocytes: protective role of catalase and the prooxidant effects of GSH. Free Radic Biol Med. 2006; 40:1264-1272.
7. Dhawan V, Kumar KhR, Marwaha RK, Ganguly NK. Antioxidant status in children with homozygous thalassemia. Indian Pediatr. 2005; 42:1141-1145.
8. Naithani R, Chandra J, Bhattacharjee J, et al. Peroxidative stress and antioxidant enzymes in children with beta-thalassemia major. Pediatr Blood Cancer. 2006; 46:780-785.
9. Chakraborty D, Bhattacharyya M. Antioxidant defense status of red blood cells of patients with beta-thalassemia and E beta-thalassemia. Clin Chim Acta. 2001; 305:123-129.
10. Aydemir B, Kızılar AR, Onaran I, et al. Impact of Cu and Fe concentrations on oxidative damage in male infertility. Biol Trace Elem Res. 2006; 112:193-204.
11. Gutteridge JMC. Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides. FEBS Lett. 1986; 201:291-295.
12. Rao J, Jagadeesan V. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in iron deficiency and effect of carcinogen feeding. Free Radic Biol Med. 1996; 21:103-108.
13. O'Dell BL. Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins. Nutr Rev. 1992; 50:48-50. Review.
14. Nasr MR, Ali S, Shaker M, Elgabry E. Antioxidant micronutrients in children with thalassaemia in Egypt. East Mediterr Health J. 2002; 8:490-495.
15. Steinkühler C, Pedersen JZ, Weser U, Rotilio G. Oxidative stress induced by a di-Schiff base copper complex is both mediated and modulated by glutathione. Biochem Pharmacol. 1991; 42:1821-1827.
16. Sevim S, Ünal Ö, Tamer L, et al. Can serum levels of copper and zinc distinguish Alzheimer's patients from normal subjects? Journal of Neurological Sciences (Turkish) 2007; 24:197-205.
17. Livrea MA, Tesoriere L, Pintaudi AM, et al. Oxidative stress and antioxidant status in beta-thalassemia major: iron overload and depletion of lipid-soluble antioxidants. Blood. 1996; 88:3608-3614.
18. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem 1988;34; 497-500.
19. Aebi H. Catalase in vitro. Bergmeyer, U., ed. Methods of enzymatic analysis. New York and London: Academic Press, 1974; pp.673-667.
20. Beutler E, Duron O, Kelly B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med. 1963; 61:882-888.
21. Stocks J, Dormandy TL. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. Br J Haematol. 1971; 20:95-111.
22. Buege JA, Aust STD. Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymol 1978; 52:302-310.
23. Vives Corrons JL, Miguel-García A, Pujades MA, et al. Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. Eur J Haematol. 1995; 55:327-331.
24. Chan AC, Chow CK, Chiu D. Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. Proc Soc Exp Biol Med. 1999; 222:274-282. Review.
25. Ashour MN, Salem SI, El-Gadban HM, et al. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. Eur J Clin Nutr. 1999; 53:669-673.
26. Beydoğan M, Afşar ÇU, Pilancı KN, et al. Çinko Eksikliği ve Anemi: Bir Olgu Sunumu. T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2006; 7 (1).
27. Öktem F, Yavrucuoğlu H, Türedi A, Tunç B. Çocuklarda Beslenme Alışkanlıklarının Hematolojik Parametreler ve Eser Elementler Üzerine Etkisi. S. D. Ü. Tıp Dergisi 2005; 12:6-10.

Kabul Tarihi: 11.11.2008