

Tek Doz Tromboferez Bağışçılarında Oksidatif Stresin Belirlenmesi

Determination Of Oxidative Stress In One Dose

Öz

* Mümin POLAT
** Serdal ÖĞÜT
*** Güçhan ALANOĞLU

* Mehmet Akif Ersoy
University, Faculty of Health
Sciences, Department of
Emergency and Disaster
Management, 15100,
Burdur/Turkey

** Adnan Menderes University,
Faculty of Health Sciences,
Department of Nutrition and
Dietetics, 09100, Aydın/
Turkey.

*** Süleyman Demirel
University Faculty of
Medicine, Isparta/Turkey

Amaç: Bu çalışmanın amacı; tek doz aferez trombosit bağışçılarında oluşabilecek oksidatif stres ile trombosit bağıışı arasındaki ilişkinin belirlenmesidir. **Metod:** Çalışmaya katılmayı kabul eden ve onam formu dolduran 26 gönüllü aferez bağışçısına tek doz tromboferez işlemi uygulanmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen veriler SPSS 15.0 programı içerisinde t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Araştırma sonunda bağışçıların serum TAS değerlerinde anlamlı bir artış (p:0.001) hesaplanırken, TOS ve MDA değerlerinde ise anlamlı bir değişim saptanmamıştır. **Sonuç:** Elde ettiğimiz veriler; tek doz tromboferez işleminin oksidatif stres açısından zararı olmayabileceğini, aksine artan antioksidan miktarına bakarak yararlı olabileceği fikrini düşündürmektedir. Reaktif oksijen türleri ve hücreyel yapılar üzerine etki mekanizmalarına yönelik çok sayıda araştırma yapılmasına karşın birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili bulunduğu halen güncelliğini koruyan bir alandır. Bu yönüyle yeni ve daha kapsamlı çalışmaların gelecekte hastalıkların kliniğini açıklamada önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tromboferez, Antioksidan, Oksidatif Stres

Abstract

Purpose: The purpose of this study is; Is the determination of the relationship between oxidative stress and platelet donation that may occur in single dose apheresis platelet donors. **Methods:** Twenty-six volunteer apheresis donors who agreed to participate in the study and completed the proclamation form received a single dose of thrombopheresis. The data obtained within the study were evaluated using the t-test in the SPSS 15.0 program. **Results:** At the end of the study, a significant increase (p: 0.001) was found in donor serum TAS values, while no significant change was found in TOS and MDA values. **Conclusion:** The data we have obtained; Suggests that the single dose thrombopheresis treatment may not be harmful to the oxidative stress, but may be beneficial by looking at the amount of antioxidant that is increasing. Despite numerous studies on reactive mechanisms of oxygen species and cellular structures, it is still a field that remains updated as it is associated with the pathogenesis of many diseases. It is thought that new and more comprehensive studies in this direction will play an important role in explaining the clinic of diseases in the future.

Keywords: Thrombopheresis, Antioxidant, Oxidative Stress

Yazışma Adresi:
Mümin POLAT
Mehmet Akif Ersoy University,
Faculty of Health Sciences,
Department of Emergency and
Disaster Management, 15100,
BurdurTurkey.
Phone: +90 248 213 35 50
E-mail: mpolat@mehmetakif.edu.tr

Giriş

Kanın farklı bileşenlerinin olması nedeniyle ihtiyaca özel olarak hasta ya da gönüllü vericiye ait kanın, tıbbi bir cihazdan geçirilmek sureti ile gerekli olan bir veya birden fazla bileşene ayrıldığı ve kalanın geriye döndürüldüğü işlem aferez olarak adlandırılmaktadır. Donör aferezi, terapötik aferez ve kök hücre aferezi olmak üzere üç çeşit aferez işlemi bulunmaktadır. Donör aferezi içinde yer alan "trombosit aferez" gönüllü bağışçının kanındaki trombositlerin aferez cihazı yardımıyla toplanması ve kanının kalan kısmının tekrar geri verildiği işlemdir (1-5). Reaktif oksijen türlerinin (ROT), kimyasal veya metabolik oluşumuna yol açan hücre içi ve/veya hücre dışı koşullar, oksidatif stres olarak adlandırılır. Serbest radikallerdeki aşırı yüklenme vücut için tehlike oluşturur. Ancak vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için gereklidirler. Serbest radikaller vücutta çok hassas bir dengeyle kontrol edilmektedirler. Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidan adı verilmektedir (6). Reaktif oksijen türlerinin hücre içerisinde artışı veya antioksidanların patolojik süreçler sonucunda azalmasına bağlı olarak oksidatif denge bozulur (7). ROT miktarındaki bu artış hücre membranlarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar. Reaktif oksijen türleri biyolojik membranlarda bulunan poliansatüre yağ asitlerinde oksidasyon-a yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar (8). Antioksidanlar oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup başta mitokondriyum olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler (9-11). Antioksidanların etki mekanizmaları; oksijeni ortamdan uzaklaştırır veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar, katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırırlar, süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip ROT'u ortamdan uzaklaştırır veya daha zayıf moleküllere çevirirler, serbest

radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engeller ve serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı etkiler gösterme şeklindedir (12).

Hücreler, ROT'un zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri ile korunurlar. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, serbest oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, kurşun zehirlenmesi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, aminoglikozid-ağır metal nefrotoksitesi gibi çeşitli ilaç/toksinle oluşan reaksiyonlarda, glomerülonefritte, hepatit B'de, iskemide, vitamin (C ve E) eksikliğinde, kanser, amfizem, hiperoksidasyon, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatit ve romatoid artrit gibi birçok hastalığın patogenezinde etkilidir (13,14). Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak da tanımlanabilir (15-17). Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması da oksidatif strese yol açar (18-20). Antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px vb.) ölçümünün yapılabilmesinin yanında değişik antioksidanların ortak etkilerinin ölçümü yani "total antioksidan kapasitenin" bilinmesi de önem arz etmektedir (21-23).

Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinde sorumludur (24). Son yıllarda bu alanda gittikçe artan sayıda çalışmaya rağmen halen oksidatif stresin hücre içi yapılar üzerine etkisi bütün yönleriyle bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı; tek doz aferez trombosit bağışçılarında oluşabilecek oksidatif stres ile trombosit bağışı arasındaki ilişkinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metod

Çalışmaya katılmayı kabul eden ve onam formu dolduran 26 gönüllü aferez bağışçısına tek doz tromboferez işlemi uygulanmıştır. Çalışmanın yapılabilmesi için Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Tromboferez işlemleri Haemonetics MSC+ 9000 system aferez

cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Tromboferez işlemi kriterlerine uyan aferez bağışçuları çalışmaya dahil edilmişlerdir. İşlem öncesi ve sonrası; malondialdehit (MDA), toplam oksidan (TOS) ve toplam antioksidan seviyeleri (TAS) spektrofotometre (Perkin Elmer UV/Vis Spectrophotometer model lambda 20) ile ölçülmüş, oksidatif stres indeksleri belirlenmiştir. TAS ve TOS ölçümü, Erel tarafından geliştirilen (17), hazır kitler (Paraoxonase kiti - Rel Assay - Türkiye) ile MDA ölçümü ise Besler ve arkadaşlarının (7) geliştirdiği metoda göre yapılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen veriler SPSS 15.0 programı içerisinde t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya 26 tromboferez bağışçısı dahil edilmiştir. Bağışçıların 23'ü erkek, 3'ü kadındır, yaş ortalaması 36,3 yıl ve kilo ortalamaları 77.9 kg'dır. Bağışçıların karakteristik özellikleri ve aferez işleminin bazı verileri Tablo 1'de verilmiştir. İşlem öncesi ve sonrası trombosit, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde anlamlı düşme ($p=0.001$) belirlenmiştir. İşlem öncesi ve sonrası bağışçıların tam kan sayım seviyeleri ve p değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Araştırma sonunda bağışçıların serum TAS değerlerinde anlamlı bir artış ($p:0.001$) hesaplanırken,

TOS ve MDA değerlerinde ise anlamlı bir değişim saptanmamıştır. Bağışçıların işlem öncesi ve sonrası serum TAS, TOS ve MDA seviyeleri ve p değerleri tablo 3'te verilmiştir. İşlem öncesi ve işlem sonrası oksidatif stres indeksi (TOS/TAS x100) değerleri karşılaştırıldığında $p=0.039$ bulunmuştur. Yapılan regresyon analizinde trombosit düşmesi ile TAS $r= -0.361$ $p=0.07$ ve TOS $r=0.296$ $p=0.141$ arasında ki fark anlamsız bulunmuştur. Antioksidan seviyesinde ki artışın nedeninin kısa süreli, hızlı trombosit kaybından kaynaklandığı düşünülmektedir. Trombositlerin regülasyonunda rol oynayan antioksidanların, trombosit azalması ile artışa geçtiği düşünülmektedir. Yine istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmese de TOS seviyesindeki azalmanın TAS seviyesindeki artışı tetikleyebileceği de düşünülmektedir. Tek doz trombosit aferezi vericilerinde oksidatif hasar belirlenmemiş, aksine oksidatif hasarda rejeneratif ajanlar olarak rol oynayabilen toplam antioksidan miktarında işlem öncesine oranla sonrasında artış belirlenmiştir. Bu da, tek doz tromboferez işleminin oksidatif stres açısından zararı olmayabileceğini, aksine artan antioksidan miktarına bakarak yararlı olabileceği fikrini düşündürmektedir. Reaktif oksijen türleri ve hücrel yapılar üzerine etki mekanizmalarına yönelik çok sayıda araştırma yapılmasına karşın birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili bulunduğu halen güncelliğini koruyan bir alandır. Bu yönüyle yeni ve daha kapsamlı çalışmaların gelecekte hastalıkların kliniğini açıklamada önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir.

Tablo 1 Tromboferez Bağışçıların Karakteristik Özellikleri ve Aferez İşlemlerinin Bazı Verileri (n=26)

Özellikler	$\bar{X} \pm SS$
Yaş (yıl)	36,3 ± 9,8
Boy (cm)	172,6 ± 7,2
Ağırlık (kg)	77,9 ± 11,8
Ürün miktarı ($10^{11}/mL$)	3,3 ± 0,6
Kullanılan ACD (mL)	272,8 ± 26,3
İşlem süresi (dk)	66,5 ± 9,9

Tablo 2 Tromboferez bağışçılarının işlem öncesi ve sonrası tam kan sayım değerleri (n=26).

	Hb (g/dl)	Hct (%)	Plt (10 ³ /mL)	BK (mg/L)
İşlem öncesi	15,4 ± 1,3	44,2 ± 4,2	247,6 ± 37,3	8,2 ± 1,8
İşlem sonrası	15,0 ± 1,4	43,3 ± 4,4	195,7 ± 36,3	8,0 ± 1,7
P değeri	0,001	0,001	0,001	0,165

Tablo 3 İşlem öncesi ve sonrası bağışçıların serum TAS, TOS ve MDA seviyeleri (n=26).

	TAS $\bar{X} \pm SS$	TOS $\bar{X} \pm SS$	MDA $\bar{X} \pm SS$
İşlem öncesi	1,649 ± 0,02	1,616 ± 0,02	0,635 ± 0,31
İşlem sonrası	1,662 ± 0,03	1,614 ± 0,02	0,635 ± 0,03
P değeri	0,001	0,224	0,878

Kaynaklar

- Aktaş M, Değirmenci U, Ercan SK, Tamer L, Atik U. Redükte glutasyon ölçümünde hplc ve spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2005;3(3):95-99.
- McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant /antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993;26:351-357.
- Draper HH, Hadley M Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-431.
- Joswiak Z, Jasnowska B. Changes in oxygenmetabolizing enzymes and lipid peroxidation in human erythrocytes as a function of age of donor 2011;77-83.
- Aslan R, Şekeroğlu MR, Tarakçıoğlu M, Köylü H, Besler HT, Comoglu S, et al. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Nutr Neurosci* 2002;5(3): 215–20.
- Freedman EJ. Oxidative stress and platelets. *Arterioscler Vasc Biol* 2007;28: 11-16.
- Besler HT, Comoglu S, Okcu Z. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Nutr Neurosci* 2002;5(3): 215–20.
- Öğüt S, Polat M, Alanoğlu G. Çift Doz Eritrosit Aferezi Donörlerinin Kanlarındaki Malondialdehit (MDA) ve Redükte Glutasyon (GSH) Seviyeleri. 5. Ulusal Hemaferes Kongresi, Kongre Kitapçığı, 2010; S:239, Girne, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.
- Özdem SS, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg* 1994;11:63-7.
- Yamamoto Y, Yamashita S, Fujisawa A, Kokura

- S, Yoshikawa T. Oxidative stress in patients with hepatitis, cirrhosis, and hepatoma evaluated by plasma antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247(1): 166-70.
11. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2002 202(3): 227-35.
12. Janssen YM, Van Houten B, Borm PJ, Mossman BT. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest* 1993;69(3): 261-74.
13. Polat G, Tamer K, Tanrıverdi E, Gürkan F, Baslamışlı F, Atik U. Levels of malondialdehyde, glutathione and ascorbic acid in idiopathic thrombocytopenic purpura. *East African Medical Journal* 2002;79: 446-49.
14. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91(3C): 31S-8S.
15. Gupta RK, Patel AK, Shah N. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:4405-4409.
16. Yan LJ, Sohal RS. Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:896-901.
17. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37(2): 112-9.
18. Yan LJ. Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biol* 2014;9:165-169.
19. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: Reference interval and effects of lifestyle factors. *Clin Chem* 1997;43: 1209-1214.
20. Motor S, Ozturk S, Ozcan O. Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R, et al. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. *Int J Clin Exp Med* 2014;7: 1089-1093.
21. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H. Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;183:23-27.
22. Özcan O, Erdal H, Çakırca G ve Yönden Z. "Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri", *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015;6 (3): 331-336.
23. Moriya K, Nakagawa K, Santa T. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61(11): 4365-70.
24. Kurt, N. Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve Malondialdehit (MDA) Seviyesinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana. 2008;S:18-20.