

# DİYABETİK VE DİYABETİK OLMAYAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİNDE DİNAMİK TİYOL DİSÜLFİT HOMEOSTAZI VE İLERİ PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİ (AOPPs)

*DYNAMIC THIOL DISULPHIDE HOMEOSTASIS AND ADVANCED  
OXIDATION PROTEIN PRODUCTS (AOPPs) IN DIABETIC AND  
NON-DIABETIC CHRONIC RENAL FAILURE DISEASE*

Cihan Coşkun<sup>1</sup>, Hümeyra Öztürk Emre<sup>1</sup>, Alper Gümüş<sup>1</sup>, Sami Uzun<sup>2</sup>,  
Serhat Karadağ<sup>2</sup>, Ahmet Behlül<sup>2</sup>, Muhammet Emin Düz<sup>1</sup>,  
Macit Koldaş<sup>1</sup>, Savaş Öztürk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü

<sup>2</sup> İstanbul Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniği

**Başlıca Yazar :** Cihan Coşkun

**Yazının Kategorisi :** Orijinal Klinik Araştırma

**Yazının İlişkili Olduğu Tıp Disiplini :** Nefroloji, Tıbbi Biyokimya

**Yazışma adresi :** İstanbul Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Tıbbi Biyokimya Bölümü,  
Aksaray Cad. 34130, Fatih/İstanbul.

**E-mail adres :** kuzeycihan2012@gmail.com

**GSM :** (505) 262 08 24

**Telefon :** (212) 529 44 00 (4059)

**Faks :** (212) 589 62 29

## ÖZET

**Amaç:** Kronik böbrek yetmezliği (KBY) ve tip 2 diyabet (DM)'in etyolojisinde oksidatif stresin önemli rolü bulunmaktadır. Tiyol grubu içeren bileşikler indirgeyici özellikleri ile oksidatif strese karşı savunmada önemli bir görev üstlenirler. Dinamik tiyol-disülfid homeostazının bozulması KBY ve DM dahil pek çok hastalığın gelişiminde rol oynar. Protein moleküllerinin oksidasyonu sonucunda oluşan ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPPs)'de biyolojik olarak aktif olup hem böbrek hasarı hem de diyabet gelişiminde önemli bir rol oynarlar.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 47 (28 erkek, 19 kadın) KBY, 27 (13 erkek, 14 kadın) KBY+DM hastasından oluşan hasta grupları ile 30 kişi (16 erkek, 14 kadın)'den oluşan kontrol grubu dahil edildi. Total ile serbest tiyol düzeyleri "Modifiye Ellman Metodu" ile tespit edildi. AOPPs düzeyleri ise, Witko-Sarsat'ın geliştirmiş olduğu metot ile çalışıldı.

**Bulgular:** Total tiyol, serbest tiyol ve AOPPs düzeyleri bakımından hasta grupları ile kontrol grubu arasında fark bulundu (her biri için,  $p<0.001$ ). KBY ve KBY+DM gruplarındaki AOPPs düzeyleri ile GFR değerleri arasında negatif ilişki (sırasıyla,  $r=-0.585$ , ve  $p<0.001$ ,  $r=-0.479$ ) var iken, AOPPs ile hsCRP düzeyleri arasında pozitif ilişki bulundu (sırasıyla,  $r=0.416$ ,  $p<0.001$  ve  $r=0.474$ ,  $p<0.001$ ).

**Sonuç:** KBY hastalarında DM'nin varlığı tiyol ve AOPPs sonuçlarını etkilemedi. Tiyol düzeyleri KBY hastalarındaki oksidan durum ile ilişkili iken, KBY hastalığının ilerlemesi ile ilişkili bulunmadı. AOPPs düzeyleri ise, KBY hastalığındaki oksidatif stresin yanı sıra, KBY hastalığının ilerlemesi ile de ilişkili bulundu.

**Anahtar kelimeler:** Tiyol-disülfid homeostazı, ileri oksidasyon protein ürünleri, oksidatif stres, kronik böbrek yetmezliği, tip 2 diyabet.

## ABSTRACT

**Objective:** Oxidative stress has important role in the etiology of chronic renal failure (CRF) and type 2 diabetes (DM). The compounds containing thiol groups with their reducing properties undertake an important task on the defense against oxidative stress. Disruption of dynamic thiol-disulfide homeostasis plays a role in the development of many diseases including CRF and DM. Advanced oxidation protein products (AOPPs) resulting from the oxidation of protein molecules are biologically active and play an important role in both kidney damage and DM development.

**Material and Methods:** Patient groups consist of 47 (28 male, 19 female) CRF and 27 (13 male, 14 female) CRF+DM subjects and control group consists of 30 subjects (16 male, 14 female) were included in the study. Total and native thiol levels were determined by "Modifiye Ellman Method". As for AOPPs levels were studied by the method developed by Witko-Sarsat.

**Results:** It was found between patient groups and control group in terms of levels of total thiol, free thiol and AOPPs ( $p<0.001$  for each group). While there was negative correlation between AOPPs levels and GFR values in CRF and CRF+DM groups ( $r=-0.585$ ,  $p<0.001$  and  $r=-0.479$ ,  $p<0.001$ , respectively), it was found positive correlation between AOPPs and hsCRP levels ( $r=0.416$ ,  $p<0.001$  and  $r=0.474$ ,  $p<0.001$ , respectively).

**Conclusion:** The presence of DM in CRF patients did not affect the results of thiols and AOPPs. While thiol level was associated with oxidant status in patients with CRF, it was not found associated with progression of CRF disease. As for AOPPs level was also found associated progression of CRF as well as oxidative stress in the CRF disease.

**Key words:** Thiol disulphide homeostasis, advanced oxidation protein products, oxidative stress, chronic renal failure, type 2 diabetes.

## GİRİŞ

Aerobik canlılarda normal metabolik süreçte sürekli olarak reaktif türler meydana gelir. Elektron transport zinciri, sitokrom P450 enzimleri, nikotinamid adenin dinükleotid oksidaz kompleksi, ksantin oksidaz ve peroksizomların katıldığı pek çok enzim aracılı reaksiyonda oksidatif ürünler oluşur. Ultraviyole ışınlar maruziyet, çeşitli kimyasal bileşikler, çevre kirliliği ve sigara gibi pek çok dış etken de oksidatif ürünlerin oluşmasına neden olur. Bu ürünler sinyal iletimi, enzim aktivasyonu, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, gen ekspresyonu, yeni sentezlenen proteinlerin katlanması esnasında disülfit bağlarının oluşumu, apoptozis gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde görevde alırlar (1). Oksidan ürünlerin aşırı üretimi ise, kanser (2), kronik böbrek yetmezliği (KBY) (3), tip 2 diyabet (DM) (4), kalp damar hastalıkları (5), nörodejeneratif hastalıklar (6), iskemi reperfüzyon hasarı (7) ve immun sistem hastalıkları (8) gibi pek çok hastalığın etyolojisinde yer alır. Oksidan ürünlerin aşırı üretimini engellemek için çeşitli enzim ya da enzim dışı antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır (9). Oksidan ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stres durumunda oluşan oksidan ürünler özellikle proteinler, lipitler ve nükleik asitler başta olmak üzere birçok biyolojik moleküle zarar verir (10). Geçmiş yıllardaki yapılan çalışmalarda multifaktöriyel inflamatuvar bir hastalık olan kronik böbrek yetmezliği (KBY)'nin etyolojisinde oksidatif stresin rolünün olduğu bildirilmiştir. Oksidatif ürünlerin defektif antioksidan savunma mekanizmasına bağlı olarak aşırı üretimi kronik oksidatif strese neden olmakta ve bu durum KBY gelişiminde önemli bir faktör olan inflamasyonu arttırmaktadır (11). Ayrıca, dünya genelinde en sık görülen kronik hastalıklardan biri olan tip 2 diyabetes mellitus (DM) ve buna bağlı gelişen nefropati ve retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlar ile inme, koroner ve periferik arter hastalıkları gibi makrovasküler komplikasyonların oluşmasında oksidatif stresin rolü gösterilmiştir (4). Tiyol grubu içeren bileşikler indirgeyici özellikleri ile oksidatif strese karşı savunmada önemli görevi olan organik maddelerdir. Plazmada bulunan başlıca tiyoller albümin tiyolleri, protein tiyolleri

ve sistein, sisteinilglisin, glutatyon, homosistein ve  $\gamma$ -glutamil sisteinin yer aldığı düşük molekül ağırlıklı tiyollerdir (12, 13). Organizmada oluşan reaktif oksijen türleri gibi oksidatif ürünler fazla elektronlarını tiyol içeren bileşiklere aktararak indirgenirken (14) tiyol grupları okside olur. Tiyol gruplarının okside olması disülfit bağlarının oluşmasına neden olur. Ancak bu geri dönüşümlü bir reaksiyondur ve oluşan disülfit bağları tekrar tiyol gruplarına indirgenebilir. Böylece dinamik tiyol-disülfit homeostazı sağlanmış olur. Dinamik tiyol-disülfit homeostazı antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptozis, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi ve hücrel sinyal iletiminde kritik rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu homeostazın bozulmasının KBY, DM, kalp damar hastalıkları, kanser, kronik inflamatuvar eklem hastalıkları ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir. Dinamik tiyol-disülfit homeostazının ölçülmesi ile normal veya anormal pek çok biyokimyasal sürece ilişkin bilgiler elde edilebilir (12). Protein moleküllerinin oksidasyonu sonucunda oluşan ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPPs) ditirozin içeren çapraz bağlar içerir ve genellikle albümine bağlı olarak bulunur. Bu ürünler biyolojik olarak aktif olup hem renal hasar hem de DM gelişimde rol oynamaktadır (15). Yapılan çalışmalarda KBY (16) ve DM hastalarında (17) AOPPs seviyelerinin artmış olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada DM'si olmayan KBY (KBY) ve DM'si olan KBY (KBY+DM)'li hastalar ile kontrol grubundan oluşan çalışma gruplarının tiyol-disülfit homeostazı ile ilişkili olarak total, serbest ve disülfit seviyeleri ile AOPPs seviyelerini değerlendirdik. Ayrıca bu parametreler ile yaş, vücut kitle indeksi (VKİ) ile glomerüler filtrasyon hızı (GFR), yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein (hsCRP), serum kreatinin, üre, albümin, fosfor, LDL kolesterol ve glukoz düzeyleri ile arasındaki ilişkiyi değerlendirdik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniği tarafından takip edilen 47 kişi (28 erkek, 19 kadın) KBY, 27 kişi (13 erkek, 14 kadın) KBY+DM hastası olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu KBY ve DM hastalığı olmayan 30 gönül-

lü bireyden (16 erkek, 14 kadın) oluşmaktaydı. Çalışma protokolü Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Hastalara çalışma ile ilgili bilgilendirme yapıldı ve onamları alındı. KBY grubundaki 14 hasta kronik glomerülonefrit, 8 hasta hipertansiyon (HT), 7 hasta interstisyel nefrit, 4 hasta polikistik böbrek hastalığı ve 14 hasta nedeni bilinmeyen KBY tanısına sahip iken, KBY+DM grubundaki 24 hasta diyabetik nefropati, 1 hasta HT ve 2 hasta nedeni bilinmeyen KBY tanısı almıştı. Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş, cinsiyet gibi demografik bilgileri, geçirdiği hastalıklar ve kullandığı ilaçlar sorgulandı ve kaydedildi. Hastaların boy ve kilo bilgilerinden VKİ, kg/m<sup>2</sup> standart formülü ile hesaplandı. DM mevcudiyeti Dünya Sağlık Örgütü tarafından tanımlanan kriterlere göre değerlendirildi. Çalışmaya KDIGO 2012 kılavuzu (Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease) kriterlerine göre GFR değeri <90 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> ile ≥30 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> olan KBY hastaları dahil edildi. GFR değeri <30 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> olan ileri düzey KBY hastaları ile ≥ 90ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> olan erken evre KBY hastaları, diyaliz (hemodiyaliz veya periton diyalizi) tedavisi gören böbrek hastaları, kronik karaciğer, akciğer ve enflamatuvar eklem hastalığı olanlar ile malignite, immun sistem, inme ve nörodejeneratif hastalığı olanlar ve yakın tarihte geçirilmiş travma ve enfeksiyon öyküsü olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Tüm örnekler 8-12 saatlik açlık sonrasında sabah 8:00-9:00 saatleri arasında alındı. Biyokimyasal test çalışmaları için serum örnekleri düz jelli tüplere (Becton Dickinson and Company, New Jersey, USA) alınırken tiyol-disülfid homeostaz ve AOPPs testleri için plazma örnekleri EDTA'lı tüplere (Becton Dickinson and Company, New Jersey, USA) alındı. Tüm örnekler 1000×g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra çalışma gününe kadar -70 °C'de saklandı. Biyokimyasal testler AU 2700 otoanalizöründe (Beckman Coulter, Inc, USA) spektrofotometrik ve immünotürbidimetrik yöntemler ile çalışıldı.

#### Tiyol düzeyi ölçümü:

Total ve serbest tiyol ölçümü için Erel ve arkadaşlarının "Modifiye Ellman Yöntemi" kullanıldı. Total ve serbest tiyol ölçümünde kullanılacak ilk reaktifler [(total tiyol ölçümü için reaktif 1 (R1),

serbest tiyol ölçümü için reaktif 1' (R1')] farklı iken, diğer iki reaktif aynıydı. R1, çalışma gününde 378 mg sodyum borohidrat (NaBH<sub>4</sub>) son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde, 1000 ml su-metanol solüsyonu (1/1 hacim oranında) içinde çözülerek taze olarak hazırlandı ve kullanıldı. R1', son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde 585 mg sodyum klorür (NaCl), 1000 ml su-metanol solüsyonu (1/1 hacim oranında) içinde çözülerek hazırlandı. Reaktif 6 ay +4°C'de saklanabilir özellikteydi. Reaktif 2 (R2), hem total tiyol hem de serbest tiyol ölçümünde kullanıldı. 0.5 ml formaldehit (son konsantrasyonu 6.715 mM) ve 3.8 gr EDTA (son konsantrasyonu 10 mM), 1000 ml Tris tamponunda, 100 mM ve pH 8.2'de çözülerek hazırlandı. Bu reaktif +4°C'de 6 ay stabildi. Reaktif 3 (R3)'de hem total hem de serbest tiyol ölçümünde kullanıldı ve çalışma gününde 3.963 gr 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB), 1000 ml metanol içinde çözülerek DTNB'nin son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde hazırlanarak taze olarak kullanıldı.

Total ve serbest tiyol ölçüm prensibi: Total tiyol ölçümü için 10 µl R1 (serbest tiyol ölçümü için 10 µl R1' kullanılır) ile 10 µl numune karıştırıldı. Sonrasında R2 ve R3 ilave edilerek ilk absorban (A1) okuması 415 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapıldı (Schimadzu UV-1201 spektrofotometre, Kyoto, Japonya). İkinci absorban (A2) okuması ise reaksiyonun plato yaptığı 10. dakikada aynı dalga boyunda gerçekleştirildi. A2-A1 absorban farkı elde edilerek ölçüm tamamlandı (12). Total ve serbest tiyol düzeylerinin hesaplanmasında 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'in molar ekstinksiyon katsayısı olan 14.100 mol/L<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> kullanıldı. Disülfid düzeyi, (total disülfid-serbest disülfid)/2 formülünden hesaplandı. Tüm sonuçlar litrede mikromol (µmol/L) olarak raporlandı (18).

#### AOPPs düzeyi ölçümü:

200 µl plazma phosphate-buffered saline (PBS) içinde dilüe edildi. Her tüpe 10 µl, 1.16 M potasyum iyodit (KI) eklendi. 25 saniye sonra 20 µl asetik asit eklendi. Reaksiyon karışımını absorbanı 340 nm'de köre karşı okundu. Kör, PBS, KI ve asetik asit içermekteydi. Kloramin T solüsyonu kalibratör olarak kullanıldı. Kloaramin T absorbanı 0-100 µmol/L arası 340 nm'de okundu. AOPPs

düzeyleri  $\mu\text{mol/L}$ 'de Kloramin T ekivalanı olarak hesaplandı (11).

### İstatistiksel metot:

İstatistiksel değerlendirmede SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 programı (IBM, New York, USA) kullanıldı. Tüm sonuçlar ortalaması±standart sapma olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler Ki-Kare testi ile değerlendirildi. Tiyol ve AOPPs gibi sürekli değişkenler ANOVA testi, POST-Hoc olarak ise Tukey testi ile değer-

lendirildi. Değişkenler arasındaki ilişki düzeyinin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon testi kullanıldı. Tüm sonuçlarda  $p<0.05$  düzeyi anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR:

Çalışma grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımları bakımından anlamlı fark bulunmaz iken, VKİ diyabetik hastalarda yüksek bulunurken, HT kontrol grubunda anlamlı düzeyde düşüktü (Tablo 1).

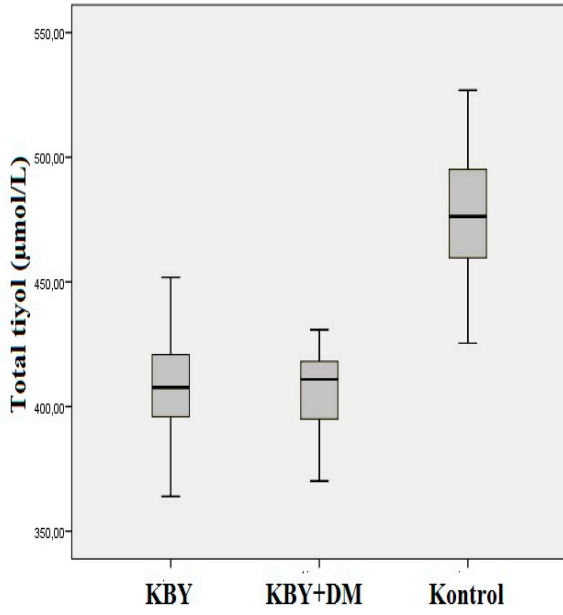
**Tablo 1.** Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

	KBY (n=47)	KBY±DM (n=27)	Kontrol (n=30)	p değeri
Yaş (yıl)	59.7±8.9	61.4±7.8	60.1±9.6	0.746
Erkek, n (%)	28 (59.6)	13 (48.1)	16 (53.3)	0.625
Kadın, n (%)	19 (40.4)	14 (51.9)	14 (46.7)	
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	23.0±1.6	25.2±2.4	20.9±1.2	<0.001
Sigara n (%)	6 (12.8)	3 (11.1)	4 (13.3)	0.679
HT n (%)	29 (59.6)	18 (66.6)	11 (36.7)	<0.001
KAH	8 (17)	5 (18.5)	5 (16.6)	0.573

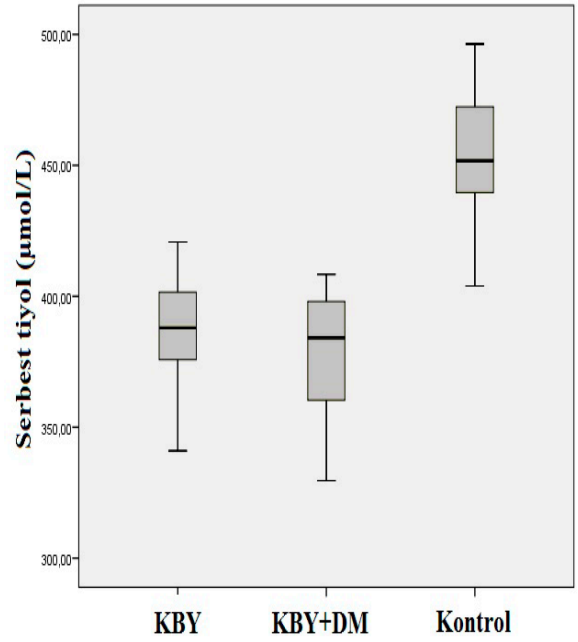
**Kısaltmalar:** KBY: kronik böbrek yetmezliği; DM: tip 2 diyabet; VKİ: vücut kitle indeksi; HT: hipertansiyon; KAH: koroner arter hastalığı. Veriler ortalaması±standart sapma, sayısal (n) ve yüzdesel (%) olarak verildi.  $p<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışma gruplarının total tiyol düzeyleri KBY grubunda  $408.1\pm17.9 \mu\text{mol/L}$ , KBY+DM grubunda  $400.4\pm17.6 \mu\text{mol/L}$  ve kontrol grubunda  $474.9\pm23.4 \mu\text{mol/L}$  idi. Gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.001$ ). Bu farklılık hasta grupları ile kontrol grubu arasındaydı (her biri için,  $p<0.001$ ). Her iki hasta grubu arasında ise anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.681$ ) (şekil 1). Çalışma gruplarındaki serbest tiyol düzeyleri KBY grubunda  $387.2\pm18.6 \mu\text{mol/L}$ , KBY+DM grubunda  $377.9\pm24.0 \mu\text{mol/L}$  ve kontrol grubunda  $452.9\pm23.2 \mu\text{mol/L}$  idi. Gruplar arası karşılaştırmada anlamlı düzeyde farklılık tespit edildi ( $p<0.001$ ). Bu farklılık hasta grupları ile kontrol grupları arasındaydı (her biri için,  $p<0.001$ ) (şekil 2). Hasta grupları arasında ise anlamlı fark yoktu ( $p=0.178$ ). Çalışma gruplarının disülfid düzeyleri KBY grubunda  $10.6\pm2.8 \mu\text{mol/L}$ , KBY+DM grubunda  $13.2\pm11.3 \mu\text{mol/L}$  ve kontrol grubunda  $10.9\pm2.5 \mu\text{mol/L}$  olarak bulundu. Gruplar arasın-

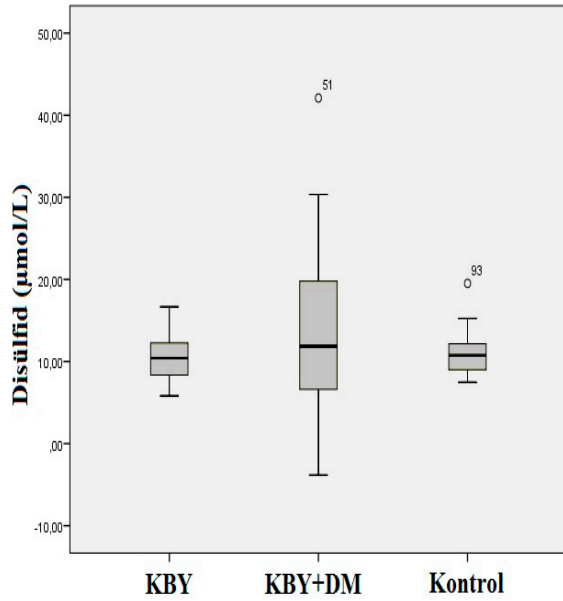
da anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0.191$ ) (şekil 3). Çalışma gruplarının AOPPs düzeyleri ise, KBY grubunda  $81.4\pm18.3 \mu\text{mol/L}$ , KBY+DM grubunda  $89.1\pm15.4 \mu\text{mol/L}$  ve kontrol grubunda  $31.5\pm13.2 \mu\text{mol/L}$  olarak bulundu. Gruplar arası karşılaştırmada anlamlı düzeyde farklılık tespit edildi ( $p<0.001$ ). Bu farklılık hasta grupları ile kontrol grubu arasındaydı (her biri için,  $p<0.001$ ). Hasta grupları karşılaştırıldığında fark bulunmadı ( $p=0.130$ ) (şekil 4). Total tiyol ve serbest tiyol ile AOPP düzeyleri arasında ileri düzeyde anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla;  $p<0.001$ ;  $r=-0.789$ ,  $p<0.001$ ;  $r=-0.788$ ).



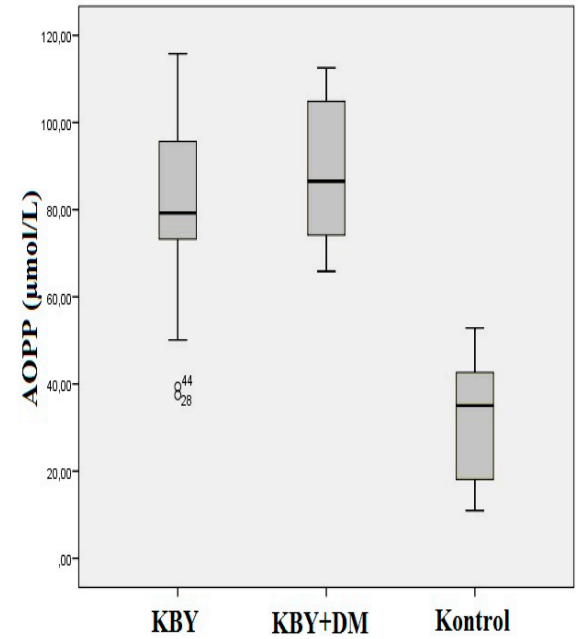
Şekil 1. Tüm grupların total tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta grafiği



Şekil 2. Tüm grupların serbest tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta grafiği



Şekil 3. Tüm grupların disülfid düzeylerini gösteren kutu-nokta grafiği



Şekil 4. Tüm grupların AOPPs düzeylerini gösteren kutu-nokta grafiği

Glukoz düzeyi, KBY+DM grubunda diğer gruplara göre yüksek iken ( $p < 0.001$ ), hsCRP ( $p < 0.001$ ), kreatinin ( $p < 0.001$ ), üre ( $p < 0.001$ ), total kolesterol (TK) ( $p = 0.016$ ), trigliserit (TG) ( $p = 0.032$ ) ve

düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-K) ( $p = 0.009$ ) düzeyleri KBY ve KBY+DM grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (Tablo 2).

**Tablo 2.** Çalışma gruplarındaki biyokimyasal parametrelerin düzeyleri ve p değerleri

Değişkenler	KBY	KBY+DM	Kontrol	p değeri
T. Tiyol (µmol/L)	408.1±17.9	400.4±17.6	474.9±23.4	<0.001
S. Tiyol (µmol/L)	387.2±18.6	377.9±24.0	452.9±23.2	<0.001
Disülfit (µmol/L)	10.6±2.8	13.2±11.3	10.9±2.5	0.759
AOPPs (µmol/L)	81.4±18.3	89.1±15.4	31.5±13.2	<0.001
hsCRP (mg/L)	2.8±0.9	3.0±1.4	1.9±0.6	<0.001
Kreatinin (mg/dl)	1.32±0.91	1.47±1,10	0.84±0.13	<0.001
Üre (mg/dl)	52±26	57±31	29±18	<0.001
Albümin (g/dl)	4.2±0.4	4.1±0.3	4.0±0.6	0.301
T. Protein (g/dl)	7.3±1.2	7.2±0.5	7.0±0.9	0.219
Glukoz (mg/dl)	98±17	132±29	86±21	<0.001
HbA1c (%)	6.8±0.3	7.3±0.6	6.6±0.4	<0.001
T. Kolesterol (mg/dl)	241±47	259±41	217±51	0.016
Trigliserit (mg/dl)	179±86	183±114	151±72	0.038
LDL-K (mg/dl)	161±49	189±53	135±86	0.009

**Kısaltmalar:** T. Tiyol: total tiyol; S. Tiyol: serbest tiyol; AOPPs: ileri oksidasyon protein ürünleri; T. Protein: total protein; HbA1c: Glikehemoglobin; T Kolesterol: total kolesterol; LDL-K: düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. İstatistiksel değerlendirilmede p<0.05 anlamlı kabul edildi.

Lineer regresyon analizi sonucunda, KBY+DM grubunun total tiyol düzeyi ile VKİ arasında negatif ilişki bulundu ( $r=-0.496$ ,  $p<0.001$ ). KBY ve KBY+DM gruplarındaki AOPPs düzeyleri ile GFR değerleri arasında negatif ilişki (sırasıyla,  $r=-0.585$ ,  $p<0.001$  ve  $r=-0.479$ ,  $p<0.001$ ) bulunurken, AOPPs ile hsCRP düzeyleri arasında pozitif ilişki bulundu (sırasıyla,  $r=0.416$ ,  $p<0.001$  ve  $r=0.474$ ,  $p<0.001$ ).

## TARTIŞMA

Çalışmamızda, KBY, KBY+DM ve kontrol gruplarının dinamik tiyol-disülfit homeostazını yeni kolorimetrik metot ile değerlendirdik. Aynı zamanda bu gruplarda oksidatif stres belirteci olan AOPPs düzeyleri ölçüldü. Yapılan pek çok çalışmada KBY hastalığının gelişimi ve ilerlemesinde oksidatif stresin rolü ortaya konarken, KBY'de görülen kronik inflamasyon ile oksidatif stres arasındaki ilişkide gösterildi (19). Benzer şekilde önceki çalışmalarda, DM hastalığı ve DM hastalığına bağlı

oluşan KBY gibi komplikasyonların gelişmesinde oksidatif stresin önemi bildirilmiştir (4, 20). Hipergliseminin indüklediği oksidatif strese bağlı kronik inflamasyon gelişimi de yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (21). Çalışmamızda antioksidan durum hakkında bilgi veren total ve serbest tiyol düzeylerinin KBY ve KBY+DM hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük olduğunu bulduk. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak, Jeevan K ve arkadaşları kontrol grubuna göre KBY hastalarında tiyol düzeylerinin düşük olduğunu (22), Matteuchi E ve arkadaşları ise tiyol redoks homeostazının bozulmasının DM ve DM'e bağlı komplikasyonların ortaya çıkmasında önemli bir faktör olduğunu bildirmişlerdir (23). Çalışmamızda her iki hasta grubundaki AOPPs düzeyleri kontrol grubuna göre yüksekti. Benzer şekilde, Witko-sarsat ve arkadaşları (11) ve Mezzano ve arkadaşları (24) KBY hastalarında, Baskol ve arkadaşları (25) ile Kalousova ve arkadaşları (26) ise DM hastalarında, AOPPs düzeyi-

nin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Baskol ve arkadaşları, çalışmamızda bulduğumuz sonuçtan farklı olarak, total tiyol düzeyinin DM hastalarında değişmediğini bildirmişlerdir (25). Ayrıca, KBY+DM grubunun total tiyol düzeyi ile VKİ arasında negatif ilişki bulduk. Uzun ve arkadaşları da morbit obesler üzerinde yaptıkları bir çalışmada plazma tiyol düzeyleri ile VKİ arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (27). Hasta gruplarımızdaki total ve serbest tiyol düzeyleri ile GFR değerleri arasında ilişki bulamadık. Oberk ve arkadaşlarının bildirdiği gibi, belirteç olarak kullanılan birçok solüt madde glomerüler filtrasyondan önce böbrek tübüllerinde metabolize edilmektedir. Örneğin, düşük molekül ağırlıklı tiyol içeren amino asitler büyük oranda proksimal tübüllerde metabolize olmaktadır (28). Tiyol içeren bileşiklerin glomerüler filtrasyonları yanı sıra, proksimal tübüllerden metabolize olması gibi farklı düzenlenmeleri tiyol düzeyleri ile GFR arasında ilişki bulunmamasını açıklayabilir. Bununla birlikte çalışmamızda AOPPs ile GFR arasında negatif ilişki tespit ettik. Bulduğumuz bu sonucu destekler bir biçimde Witko-Sarsat ve arkadaşları, AOPPs düzeylerindeki artışın KBY'nin erken evrelerinde başladığını ve böbrek yetmezliğinin ilerlemesi ile artış gösterdiğini ve böylece, AOPPs ile GFR arasında negatif bir ilişkinin olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca, AOPPs düzeylerinin sadece böbreğin boşaltım fonksiyonu ile ilgili değil, pek çok enflamatuvar belirteç ile de ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (29). Biz de çalışmamızda hasta gruplarının AOPPs düzeyleri ile, kronik enflamasyon belirteci olan hsCRP düzeyleri arasında pozitif ilişki saptadık. Aynı zamanda, hsCRP her iki hasta grubunda yüksek bulundu.

## SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda KBY hastalarında DM'nin varlığının tiyol ve AOPPs sonuçlarını etkilemediği görüldü. Ayrıca, total ve serbest tiyol düzeyleri ile GFR arasında ilişki bulunmaz iken, AOPPs düzeyleri ile GFR arasında negatif ilişki tespit edildi. Ayrıca AOPPs, kronik enflamasyon ile de ilişkiliydi. Özet olarak total ve serbest tiyol, KBY hastalarındaki oksidan durum ile ilişkili iken, KBY hastalığının ilerlemesi ile ilişkili bulunmadı. AOPPs ise, KBY hastalığındaki oksidatif stresi göstermenin yanı sıra, KBY hastalığının ilerle-

mesi ile de ilişkili bulundu. Bu anlamda AOPP'nin KBY hastalığının ilerlemesinin takibinde kullanılabileceği sonucuna vardık.

## KAYNAKLAR

1. Venus S, Teresa M, Rosa S, Rosanna P, Hiroshi K, Matilde EL. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res Rev* 2013; 12: 376-390.
2. Subash CG, David H, Sridevi P, Byoungduck P, Wonil K, Bharat BA. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy. *Antioxi Redox Signal* 2011; 16: 1295-1322.
3. Jan G. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2135-2137.
4. Suziy MB, Lucas JSF, Glaucivane SG, Luíza AR, Marília OFG, Sandra MLV. Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus. *Int J Mol* 2013; 14: 3265-3284.
5. Tohru F, Masuko UF. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxi Redox Signal* 2011; 15: 1583-1606.
6. Aksenova MV, Aksenov MY, Payne RM, Trojanowski JQ, Schmidt ML, Carney JM, Butterfield DA, Markesbery WR. Oxidation of cytosolic proteins and expression of creatine kinase BB in frontal lobe in different neurodegenerative disorders. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10: 158-165.
7. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defences. *Mol Cell Biochem* 2000; 205: 1-11.
8. Gottlieb RA, Mentzer RM. Autophagy during cardiac stress: joys and frustrations of autophagy. *Annu Rev Physiol* 2010; 72: 45-59.
9. Marian V, Dieter L, Jan M, Mark TD, Milan M, Joshua T. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B Journal* 2007; 39: 44-84.



10. Esra B, Umit MS, Cansin S, Serpil E, Omer K. Oxidative stress and antioxidant defense. *WAO Journal* 2012; 5: 9–19.
11. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeille-re-Blandin C et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304–1313.
12. Ozcan E, Salim N. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem* 2014; 47: 326–332.
13. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 244–253.
14. Gumusyayla S, Vural G, Bektas H, Deniz O, Neselioglu S, Erel O. A novel oxidative stress marker in patients with Alzheimer's disease: dynamic thiol–disulphide homeostasis. *Acta Neuropsychiatr* 2016; 4: 1–6.
15. Katarina S, Kristina K, Juliana F, Juraj H, L'udmila P, August H. Advanced oxidation protein products and advanced glycation end products in children and adolescents with chronic renal insufficiency. *J Renal Nutr* 2012; 22: 143–148.
16. Wei C, Fan FH, Jing N. AOPPs and the progression of kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2014; 4: 102–106.
17. Agnieszka P, Maria KK, Maria W. AOPP and its relations with selected markers of oxidative/antioxidative system in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 77: 188–192.
18. George E, Hiro L. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal Biochem* 1979; 93: 98–102.
19. Jonathan H, Ellen M, Elizabeth M. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2000; 58: 2571–2578.
20. Fowler MJ. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clin Diabetes* 2008; 26: 77–82.
21. Antonio C, Roberto T. Antioxidant anti-inflammatory treatment in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 232–236.
22. Jeevan KS, Mungli P, Sudeshna T, Manish V, Nagaraj KS, Pampapathy S. Serum paraoxonase activity and protein thiols in chronic renal failure patients. *Asian J Biochem* 2007; 2: 274–278.
23. Matteucci E, Giampietro O. Thiol signalling network with an eye to diabetes. *Molecules* 2010; 15: 8890–8903.
24. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Olga P, Patricio D, Mireya O, Rodrigo T, Fernando G, Teresa Q, Soledad C, Federico L, Jaime P. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001; 60: 1844–1850.
25. Baskol G, Gumus K, Oner A, Arda H, Karakucuk S. The role of advanced oxidation protein products and total thiols in diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 2008; 18: 792–798.
26. Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res* 2002; 51: 597–604.
27. Uzun H, Konukoğlu D, Gelişgen R, Zengin K, Taşkın M. Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2007; 17: 1367–1373.
28. Oberg BP, Mcmenamin E, Lucas FL, Mcmagnaghe E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004; 65: 1009–1016.
29. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Khoa TN, Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Tilman D, Beatrice DL. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol* 1998; 161: 2524–2532.

