

**HİPERTANSİYONLU HASTALARDA ERİTROSİT İÇİ ANTİOKSİDAN ENZİM VE SERUM MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**  
**The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients**

**Nihayet M. BAYRAKTAR<sup>1</sup>, Süleyman KILIÇ<sup>2</sup>, İlknur ÖZDEMİR<sup>3</sup>,  
Songül AYDEMİR<sup>4</sup>, Ramazan ULU<sup>5</sup>**

**Özet :** Serbest oksijen radikalleri veya reaktif oksijen türleri (ROS), hipertansiyonun patogeneğinde rolü olduğuna inanılan ve endojen olarak vücutta sentez edilen metabolik yan ürünlerdir. Bu ürünler sentez edildikleri yerde hemen detoksifiye edilmezlerse zararlı etki oluşturabilirler. Son çalışmalarda hipertansiyonun, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynayan oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumuna yol açtığı belirtilmektedir.

Bu çalışmada 25'i erkek, 20'si kadın olmak toplam 45 esansiyel hipertansiyonlu hasta incelendi. Kontrol grubu tamamen sağlıklı 23'ü kadın, 22'si erkek toplam 45 kişiden oluşturuldu. Eritrosit örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), katalaz (CAT) ve serumda malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçüldü ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Hipertansif hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, eritrosit içi SOD, GSH-PX ve CAT değerlerinin hipertansif hastalarda anlamlı biçimde düşük olduğu ( $p<0.05$ ) gösterildi. Serum MDA değeri ise hipertansiyon grubunda anlamlı biçimde daha yüksekti ( $p<0.001$ ).

Bu verilerle hipertansif hastalarda serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir özellik sergileyen antioksidan enzim sistemlerinin normalden daha düşük olduğu, serbest oksijen radikallerinin arttığı, bu nedenlerle bu hastaların ciddi bir oksidatif stresle karşı karşıya oldukları ve dolaylı olarak da, bu sistemleri düzeltici girişimlerin hipertansiyonun önlenmesinde etkili olabileceği sonuçlarına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Hipertansiyon, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve malondialdehit.

**Summary :** Free oxygen radicals, produced endogenically through body metabolism play a role in the pathogenesis of hypertension. They have detrimental effects unless they are detoxified. Recent studies have demonstrated their role in cardiovascular diseases.

This study included 45 essential hypertension patients (25 males, 20 females) and 45 healthy controls (22 males, 23 females). The levels of serum malondialdehyde (MDA) and erythrocyte's superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-PX) and catalase (CAT) enzymes were all determined and statistically assessed.

Erythrocytes levels of SOD, GSH-PX and CAT were statistically decreased ( $p<0.05$ ) whereas serum level of MDA was statistically increased ( $p<0.001$ ).

The data demonstrated that the levels of antioxidant enzymes systems in hypertensive patients which have protective properties against the damaging effects of free radicals were reduced and therefore such patients are faced with a serious oxidative stress. It was concluded that interventions intended to regulate there antioxidant enzymes systems might be effective in preventing hypertension.

**Key words:** Hypertension, Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and malondialdehyde

<sup>1</sup> Öğr. Gör. Dr. İnönü Ün. Tıp Fak. Biyokimya AD, Malatya

<sup>2</sup> Öğr. Gör. Dr. İnönü Ün. Tıp Fak. Üroloji AD, Malatya

<sup>3</sup> Araş. Gör. Dr. İnönü Ün. Fen-Ed. Fak. Biyoloji Böl, Malatya

<sup>4</sup> Yrd. Doç. Dr. İnönü Ün. Fen-Ed. Fak. Biyoloji Böl, Malatya

<sup>5</sup> Araş. Gör. Dr. İnönü Ün. Tıp Fak. Nefroloji AD, Malatya

Bilindiği gibi hipertansiyon önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmasından dolayı halen çözüm bekleyen ciddi sağlık sorunlarından birisi olarak karşımızda durmaktadır (1,2). Dünyada ve ülkemizde hipertansif hasta sıklığına ve tedavi olan hastaların da ne kadarının yeterli tedavi edildiğine dair rakamlara baktığımızda, açığa çıkan tablonun ürkütücü olduğu görülmektedir (3,4).

Hipertansiyon, felç ve koroner kalp hastalığı için önemli bir risk faktörüdür. Morbidite ve mortaliteye çok büyük bir oranda bu iki sistem üzerinden neden olmaktadır. Hipertansiyon tedavisinde amaç morbidite ve mortaliteyi düşürmektir (5).

Hipertansiyon tedavisi ilaç kullanımının yanı sıra, olmazsa olmaz diyebileceğimiz yaşam biçimindeki olumlu değişikliklerle (şişmansa zayıflatma, düzenli egzersiz, tuz alımının sınırlanması gibi) yapılmaktadır(5). Hipertansif hastalarda orta düzey egzersizin (yürüyüş, yüzme, vb) düzenli yapılması durumunda arteriyel kan basıncı önemli oranda düşmektedir (3). Serbest radikallerin etkileri son zamanlarda tıbbın her sahasında araştırılan, hipertansiyonda da yoğun olarak gündeme gelen konulardandır (6). Serbest radikal oluşumu lipit peroksidasyonu tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal bir olaydır. Serbest oksijen radikalleri ve proteolitik enzimler özellikle hücre zarında hasara yol açan lipit geçirgenliğini artırarak ve lipoproteinlerin tamamının kana geçişine neden olurlar. Bu monosit ve makrofajların damar duvarına geçişini daha da arttırarak aterogenezi hızlandırır (7, 8). Hipertansiyonda reaktif oksijen radikallerinin, damar düz kas hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını uyardığı gösterilmiştir (6). Hipertansiyonun damarsal hastalıklara yol açmasında rol oynayan başlıca fizyopatolojik mekanizmalar, vasküler endotel hasarı, düz kas hücre hipertrofisi, lipoproteinlerin endotelial geçişinde artma, akut plak yırtılması yapabilecek hemodinamik stres, miyokard duvar gerilimi ve oksijen ihtiyacında artıştır (5).

Çalışmamızın temel amacı hipertansiyonlu hastalarda eritrosit içi antioksidan enzim ve serbest oksijen radikali düzeylerini belirlemek suretiyle hücre membranı hasarında ve etiyolojik aterosklerozda önemli rol oynadığı bilinen oksidatif stres düzeyini belirlemek ve bu stresin hipertansiyon etiyopatogenezindeki rolünü araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi dahiliye ve nefroloji polikliniklerinde esansiyel hipertansiyon tanısı konulan ve herhangi bir tedavi görmeyen, 25 erkek, 20 kadın toplam 45 hasta dahil edildi. Kardiyovasküler sistemi veya kan basıncını etkileyecek başka hastalığı olan olgular ve akut enfeksiyonu bulunan hastalar çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu tamamen sağlıklı, yapılan klinik ve laboratuvar muayeneleri sonucu herhangi bir hastalık belirtisi taşımayan 23 kadın, 22 erkek toplam 45 kişiden oluşturuldu.

Alınan kan örnekleri 3000g'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve steril tüpe alındı. MDA analizi için tüplere koruyucu olarak EDTA 1.34 mmol/L ve GSH 0.65 mmol/L eklenerek bu tüpte analiz yapılncaya kadar -30 °C'de derin dondurucuda saklandı. Analizler Sinnuber yöntemine göre yapıldı (9,10). Serumlar ayrıldıktan sonra eritrositler izotonik solüsyonla üç defa yıkandıktan sonra 3 ayrı steril tüpe paylaştırıldı. Analiz yapılncaya kadar -30 °C'de derin dondurucuda saklanan örnekler çözülükten sonra toplu olarak Oberley yöntemiyle SOD, Aebi yöntemiyle CAT ve Paglia yöntemiyle GSH-PX ölçümleri yapıldı (11-13). Gruplar arasındaki farkı analiz etmek için bağımsız gruplar için t testi uygulandı. p < 0.05 istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi (14).

## BULGULAR

Hipertansiyon ve kontrol gruplarındaki hastaların yaş ortalamaları sırasıyla  $45.00 \pm 13.00$  ve  $34.00 \pm 11.00$  idi ve iki grup arasında bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttu ( $p < 0.05$ ).

Hipertansif hastaların tanısının konulması ve şiddetinin derecelendirilmesinde kullanılan kan basıncı sınıflaması Tablo I'de görülmektedir (2). Bu sınıflamaya göre bu çalışmada incelenen hipertansiyonlu hastalar Evre 2'ye girmektedir. Bu çalışmada arteriyel kan basıncı takibi bir hafta süreyle günde 2-3 sefer ölçülmek üzere hastaların kendileri tara-

findan evlerinde yapıldı. Aynı şekilde kontrol grubundaki kişilerde evlerinde kan basıncı ölçümü uyguladılar. Evdeki kan basıncı takibi sonucu bulunan sistolik ve diastolik kan basıncı ortalamaları sırasıyla hipertansiyon grubunda  $165 \pm 6$  mmHg ve  $107 \pm 5$  mmHg, normotansif kontrol grubunda ise  $122 \pm 2$  mmHg ve  $83 \pm 3$  mmHg idi.

Hipertansiyonlu hastalar ve kontrol grubunun eritrosit içi SOD, GSH-PX, CAT ve serum MDA seviyeleri Tablo II'de görülmektedir. Buna göre hasta grubunda SOD, GSH-PX, CAT seviyelerinin kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük, ancak MDA seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edildi.

**Tablo I.** Arteriyel kan basıncına göre hipertansiyon sınıflaması

	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)
<b>Kategori</b>		
Optimal	<120	<80
Normal	<130	<85
Yüksek-normal	130-138	85-88
<b>Hipertansiyon</b>		
Evre 1	140-149	90-99
Evre 2	160-179	100-109
Evre 3	>180	>110

**Tablo II.** Hipertansif hastalar ve kontrol grubunun eritrosit içi SOD, GSH-PX, CAT ve serum MDA seviyeleri

Ölçümler	Kontrol grubu (n:45) (Ortalama $\pm$ SD)	Hipertansif hastalar (n:45) (Ortalama $\pm$ SD)	p	T test
SOD (U/gr Hb)	$1227.33 \pm 128.59$	$1160.41 \pm 28.18$	<0.05	2.28
GSH-PX (U/gr Hb)	$1.77 \pm 0.11$	$0.77 \pm 0.10$	<0.05	13.36
Katalaz (katal/gr Hb)	$82.08 \pm 9.64$	$67.27 \pm 9.66$	<0.05	4,49
MDA (mmol/L)	$1.83 \pm 0.30$	$3.91 \pm 0.55$	<0.05	4.57

## TARTIŞMA

Hipertansiyon dünyada ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte ve hipertansiyon hastalarının ancak %20-29'u gerçek anlamda tedavi edilmektedir. Diğerleri ise ya hiç tedavi almamakta ya da yetersiz tedavi almaktadır (2,3). Hipertansiyon tedavisinde özellikle sistolik kan basıncı kontrolü ile daha önce yapılmış bazı çalışmalarda bu tür ölçüm hatalarının ihmal edilebilir olduğu ve sonuçları anlamlı etkilemediği vurgulanmıştır (4). Koroner arterlerde ateroskleroz gelişmesi sonucunda koroner arter hastalığı (KAH) ortaya çıkar. KAH miyokardın oksijen ve besin ihtiyacının karşılanmasında bozukluğa neden olur (4). Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi, hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Savunma sistemleri çeşitli radikal tutucular ve bazı enzimlerden oluşmaktadır. SOD, GSH-PX ve CAT gibi bazı antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşmasını ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir (15). SOD, serbest oksijen radikallerinin, katalaz ve GSH-PX ise hidrojen peroksidin metabolize olmasını sağlarlar. Bu enzimlerin aktivitesi ile, zararlı oksijen kaynaklı hidroksil radikalinin oluşumu engellenir (16,17). Burada sunulan çalışmada hipertansif hastalarda eritrosit içi SOD, GSH-PX ve CAT değerleri incelenmiş, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (Tablo II).

Hipertansiyonlu hastalarda oluşan hidroksil radikalleri eritrosit harabiyetinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmamız Wassmann ve arkadaşlarının çalışmasıyla (18) uyum göstermektedir. Serbest radikallerin reaktif yapıları ve kısa ömürlü oluşları direkt tayinlerini güçleştirmektedir (19). Plazma antioksidan kapasitesinin değişmesi hipertansiyonu olan hastalarda kardiyovasküler bozuklukların artmasına neden olabilir (18). Hipertansiyon hastalarında kardiyovasküler hastalık insidansı yüksektir. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalık insidansını artırmaktadır (19). Ancak hasta seçimi yöntemimiz nedeniyle burada sunulan çalışmada bu sonuca varmak mümkün değildir. Mevcut hastalarımızın ancak uzun dönemli takipleriyle, yada daha heterojen hasta gruplarında çalışmak suretiyle bu konuda bir sonuca ulaşabileceğimizi düşünüyoruz.

Josep ve arkadaşları hipertansif hastalarda eritrosit içi GSH-PX'in arttığını göstermişlerdir (21). Bu sonuçlara göre oksidan aktivite hipertansiyonlu hastalarda oksidatif hücre harabiyetine neden olmaktadır (8, 22). Katalaz ve peroksidazlar hidrojen peroksidin konsantrasyonunu düşürürler, böylece, hidrojen peroksidin sitotoksik gücünü büyük ölçüde azaltırlar. SOD enzim sistemi organizmayı serbest radikal harabiyetine karşı koruyucu bir sistemdir (23). Antioksidanlar burada koruma mekanizması olarak rol oynarlar (21). Serbest radikaller kolesterole, araşidonik ve deoksihegzanete bağlanır ve lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu sürecin başladığının en iyi göstergelerinden olan MDA, renal harabiyete ve kardiyovasküler bozukluklara neden olur (6,24). Hipertansiyonlu hastalarda nonenzimatik sistemin yetersizliği, antioksidatif sistemde yetersizlik olması, bunun sonucu olarak da sülfidril grubunun azalması hücre harabiyetine neden olmaktadır (6). Suematsu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hipertansiyonlu hastalarda lipid peroksidasyonunun göstergelerinden olan MDA'nın arttığı gösterilmiştir (26). Çalışmamızda serum MDA değerleri incelendiğinde hipertansiyonlu hastalarda sağlıklı kontrollere göre, istatistiksel olarak anlamlı biçimde MDA seviyesinin arttığı görülmektedir (Tablo-2). Hipertansiyon sonucunda gelişen doku hasarı sebebiyle antioksidan enzim sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin (MDA) yüksek olması bu hastaların belirgin oksidatif strese maruz kaldıklarını ortaya koymaktadır. Literatürde hipertansiyon ve aterosklerozis ile meydana gelen endotel zayıflamasının serbest radikallerin neden olduğu hasarla ilişkili olduğu ve hipertansiyon hastalarında KAH riskinin çok daha yüksek olduğu genel kabul gören bir görüş olmasına rağmen bizim çalışma grubumuzda artan oksidatif stresin kardiyovasküler hastalık insidansı üzerindeki etkisini değerlendirmek için uzun dönemli takip sonuçlarına ihtiyaç vardır. Ayrıca, oksidatif stresin hipertansiyon patogenezindeki kesin rolünü değerlendirmek için antihipertansif ilaçların ve çeşitli antioksidan maddelerin hipertansiyon, antioksidan enzimler ve serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkinliklerinin değerlendirildiği kontrollü çalışmaların yapılması gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Marques-Vidal P, Tuomilehto J. Hypertension awareness, treatment and control in the community: Is the 'rule of halves' still valid? *Hum Hypertens* 1997, 11:213-220.
2. Rudd P, Hagar W. Hypertension: mechanisms, diagnosis and therapy. In: Topol EJ. *Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia Lippincott-Raven 1998, pp 109-144.
3. Singh JP, Larson MG, Manolio TA, et al. Blood pressure response during treadmill testing as a risk factor for new-onset hypertension: the framingham heart study. *Circulation* 1999, 99:1831-1836.
4. Messerli FH, Oparil S, and Feng Z. Comparison of efficacy and side effects of combination. Therapy of angiotensin converting enzyme inhibitor (Benazepril) with calcium antagonist (Either Nifedipine or Amlodipine) versus high- dose calcium antagonist monotherapy for systemic Hypertension. *Am J Cardiol* 2000, 86:1182-1187.
5. Kostis JB, Shindler DM, Moreyra AE, et al. Differential exercise effects of captoril and nadolol in patients with essential hypertension. *J Vasc Disease* 1981, 11:389-395.
6. Ruiz-Gutierrez V, Vazquez CM, Santa-Maria C. Liver Lipid composition and antioxidant enzyme activities of spontaneously hypertensive rats after ingestion of dietary fats (fish, olive and high-oleic sunflower oils). *Biosci Rep* 2001, 21:271-285.
7. Carneado J, Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C, et al. Simvastatin improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats through a superoxide dismutase mediated antioxidant effect. *J Hypertens* 2002, 20:429-437.
8. Iqbal M, Cawthon D, Beers K, et al. Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. *Poult Sci* 2002, 81:252-260.
9. Sinnuber RO, Yut C, Chang YT. Characterization of the red pigment formed in the thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Res* 1958, 23:626-632.
10. Sakawa T, Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test of detecting lipids hydroperoxides. *Lipids* 1980, 15:137-144.
11. Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34:497-450.
12. Aebi H Catalase. In Bergmeyer, U., ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press W, New York and London.1974, pp 673-677.
13. Paglia DE, Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967, 70: 158-169.
14. Valentine Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fak. Biyoistatistik Bilim Dalı, 4 Basım Özdemir Yayıncılık LTD Şirketi, Ankara 1993, ss 70- 99.
15. Gianetti J, Pedrinelli R, Petrucci R, et al. Inverse association between carotid intima-media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis. *AM Heart J* 2002, 143: 467-474.
16. Yakobson MG, Antonov AR, Golovatyuk AV, et al. Iron content and parameters of blood antioxidant activity in rats with hereditary arterial hypertension during experimental myocardial infarction. *Bull Exp Biol Med* 2001, 1041-1049.

17. El Midaoui A, De Champlain J. Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 2002, 39: 303-307.
18. Wassmann S, Lausf U, Muller K, et al. Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002, 22: 300-305.
19. Park JB, Touyz RM, Chen X, Schiffrin EL. Chronic treatment with a superoxide dismutase mimet prevents vascular remodeling and progression of hypertension in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2002, 15: 78-84.
20. Schulze PC, Lee RT. Oxidative stress and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2005, 7: 242-248.
21. Redón J, Oliva MR, Tormos C, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension* 2003, 41:1096-1101.
22. Kim CH, Vaziri ND. Hypertension promotes integrin expression and reactive oxygen species generation by circulating leukocytes. *Kidney Int* 2005, 67: 1462-1470.
23. Johnson P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002, 133:493-505.
24. Behathena RK, Anklesaria BS, Ganatra AM, Pinto R. The influence of transdermal oestradiol replacement and medroxyprogesterone acetate on serum lipids and lipoproteins. *Br J Clin Pharmacol* 1998, 45: 170-172.
25. Vaziri ND, Lin CY, Farmand F, Sindhu RK. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NADPH oxidase in lead-induced hypertension. *Kidney Int* 2003, 63:186-94.
26. Suematsu M, Suzuki H, Delano FA, Schmid-Schonbein GW. The inflammatory aspect of the microcirculation in hypertension: oxidative stress, leukocytes/endothelial interaction, apoptosis. *Microcirculation* 2002, 9: 259-76.

*Hipertansiyonlu hastalarda eritrosit ii antioksidan enzim ve serum malondialdehit duzeylerinin araştırılması*