

HOMOZİGOT BETA TALASEMİDE SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ DÜZEYLERİ VE YÜKSEK DOZ DESFERRİOKSAMİN TEDAVİSİNİN ETKİSİ

Mustafa Tekin* • Nejat Akar** • Ömer Uzunali*** • Şükrü Cin**

ÖZET

Bu çalışmada 15 homozigot beta talasemili hastada serumda MnSOD ve Cu/ZnSOD düzeylerinin 10 sağlıklı kontrole göre farklı olup olmadığı ve hastalara verilen yüksek doz damar içi desferrioksamin (150 mg/kg) tedavisiyle MnSOD, Cu/ZnSOD düzeylerinde değişiklik olup olmadığı araştırıldı. Hastalarda bu değerleri etkileyebilecek serum ferritin, plazma ve kırmızı küre çinkosu, serum bakır düzeyi, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz düzeyleri ve desferrioksamin tedavisi sırasında idrarla atılan çinko ve bakır değerleri de ölçüldü. Hastaların MnSOD ve Cu/ZnSOD düzeyleri kontrollerden yüksek bulundu ($p<0.01$). MnSOD düzeyleri ile ferritin düzeyleri arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$). Yüksek doz desferrioksamin uygulaması sonrasında MnSOD değerlerinde düşüş gözlemlendi ($p<0.01$), Cu/ZnSOD değerlerindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. MnSOD değerlerindeki azalma miktarıyla ferritin değerleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0.05$). Yüksek doz desferrioksaminin demir yükü fazla olan hastalarda, özellikle mitokondrielerde oksidanların oluşumuna neden olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Beta talasemi, süperoksit dismutaz, desferrioksamin tedavisi

SUMMARY

Superoxide Dismutase Level in Patients With Homozygous Beta Thalassemia And Desferrioxamine Treatment

In this study, the MnSOD and Cu/ZnSOD serum levels of 15 homozygous beta thalassemia patients have been compared with those of 10 healthy controls. The effect of high dose intravenous desferrioxamine (150 mg/kg) treatment on MnSOD, Cu/ZnSOD levels of thalassemia patients has been observed. Serum ferritin, plasma and erythrocyte Zn, serum Cu levels, alanin aminotransferase, aspartate aminotransferase levels and values of Zn and Cu excreted by the urine during desferrioxamine therapy that could affect the MnSOD and Cu/Zn SOD levels in thalassemia patients have been evaluated. MnSOD and Cu/ZnSOD levels of patients have been higher than the controls ($p<0.01$). MnSOD and ferritin levels were slightly correlated ($p<0.05$). After high doses of desferrioxamine treatment a decrease in MnSOD levels was observed ($p<0.01$), the differences in Cu/ZnSOD levels was not statistically significant. The rate of decrease in MnSOD and ferritin values was positively correlated ($p<0.05$). It has been concluded that high doses of desferrioxamine treatment in iron overloaded patients can cause the formation of oxydants especially in mitochondria.

Key Words: Beta thalassemia, superoxide dismutase, desferrioxamine treatment

Beta talasemi patogenezinde, serbest oksijen radikallerindeki artış önemli rol oynar¹. Talasemide, antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinin arttığı ve azaldığı yönünde değişik veriler vardır.¹ SOD, süperoksitin hidrojen peroksit dönüşümünü katalizler. Mangan içeren MnSOD mitokondride, bakır ve çinko içeren Cu/Zn SOD sitoplazmada

bulunur.² Talaseminin tedavisinde klasik olarak kullanılan demir bağlayıcı ilaç desferrioksamindir (DFO).³ Yüksek dozda (100 mg/kg üzerinde) DFO kullanımının talasemide organ hasarlarının bir kısmını geri döndürebileceği bulunmuştur.⁴ DFO'in yüksek dozda kullanılmasının ototoksisite, retinopati, katarakt gibi toksik etkilere yol açabileceği bildirilmektedir.^{5,6,7} Bu

* Araştırma Görevlisi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD

** Prof.Dr, AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediatrik Hematoloji Öğretim Üyesi

*** Kimyager, AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD

Tablo 1. Homozigot beta talasemili hastalarda çalışılan SOD ve ferritin değerleri

Hasta	Yaş	Cins	DFO Öncesi MnSOD (ng/ml)	Sonra MnSOD	Değişim% Cu/ZnSOD (ng/ml)	DFO Öncesi Cu/ZnSOD	Sonra	Değişim% (ng/ml)	Ferritin
1	14	E	20,61	19,91	-3,4	204,42	231,56	+13,28	997
2	11	E	21,78	10,7	-4,96	356,22	258,4	-27,46	1400
3	23	K	20,45	20,25	-0,98	301,14	348,58	+15,75	1500
4	32	K	22,92	20,95	-8,6	234,78	361,26	+53,87	3000
5	17	K	20,41	20,18	-1,13	224,32	310,78	+38,54	896
6	21	E	19,59	19,46	-0,66	263,74	273,08	+3,54	1290
7	28	K	24,14	20,92	-13,34	347,28	350	+0,78	1700
8	10	E	22,41	20,6	-8,08	361,26	306,96	-15,03	1500
9	15	E	19,6	19,32	-1,42	220,7	143,4	-35,02	1500
10	15	E	20,35	19,53	-4,03	310,98	258,6	-16,84	1109
11	13	E	21,67	19,95	-7,94	312,9	247,34	-20,95	1372
12	11	E	19,94	19,78	-0,8	168,84	269,96	+59,89	1430
13	17	K	20,56	20,52	-0,19	346,28	279,82	-19,19	968
14	28	K	20,48	19,85	-3,08	359,34	361,76	+0,67	1506
15	10	K	21,88	21,45	-1,96	360,74	263,14	-27,05	1474

çalışmanın amacı homozigot beta talasemili hastalarda kontrollere göre MnSOD ve Cu/ZnSOD değerlerinin farklı olup olmadığının saptanması ve yüksek dozda DFO kullanımı sırasında bu değerlerde değişiklik olup olmadığının araştırılmasıdır.

MATERYAL-METOD

Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji bölümünde yapıldı. Hasta grubu olarak klinik, hematolojik ve genetik olarak homozigot beta talasemi tanısıyla izlenen 15 hasta (8 erkek, 7 kız) alındı. Hastaların yaş ortalaması 17.67 ± 7.15 bulundu. Kontrol grubu olarak bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, tam kan sayımı normal olan, 6 kız, 4 erkek toplam 10 birey alındı. Yaşları 8-32 arasında değişmekteydi (ortalama 17.8 ± 8.03). Hastaların hemoglobinleri DFO uygulamasından 24 saat önce eritrosit süspansiyonu verilerek 10-14 g/dl'e getirildi. Daha sonra 150 mg/kg DFO 500cc izotonik sodyum klorür içinde 12 saatte infüze edildi. DFO infüzyonu öncesinde MnSOD ve Cu/ZnSOD düzeyleri, ferritin, kırmızı küre Zn, plazma Zn, serum Cu, AST ve ALT için kan ör-

nekleri alındı. Desferrioksamın infüzyonuyla birlikte deiyonize suyla yıkanmış plastik kaplara 24 saatlik idrar toplandı ve Zn ve Cu değerleri çalışıldı. Desferrioksamın infüzyonu bittiği anda MnSOD ve Cu/ZnSOD için serum örnekleri alındı.

MnSOD ve Cu/ZnSOD, serumda ELISA yöntemiyle daha önce bildirilen tekniklere uygun olarak çalışıldı (Bender Med Systems)^{8,9}. Plazma ve kırmızı küre Zn, idrar Zn, Serum Cu ve idrar Cu atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle (Perkin-Elmer model 2380) daha önce tanımlanan tekniklerle çalışıldı.^{10,11}

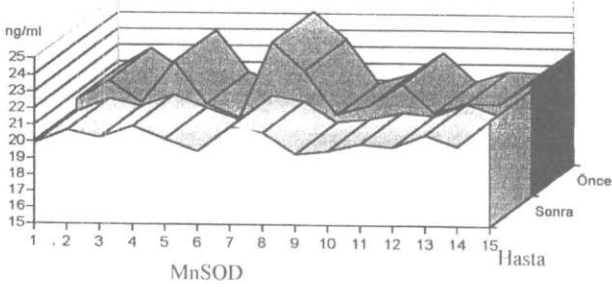
Hasta ve kontrol gruplarının arasındaki farklılık students' t testi ile, DFO tedavisi ile olan değişikliklerin anlamlılığı paired t testiyle değerlendirildi.

SONUÇLAR

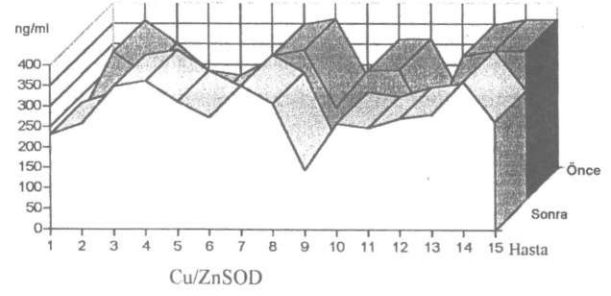
Hastalarda çalışılan SOD ve ferritin düzeyleri tablo 1'de görülmektedir. Hastaların ve kontrollerin MnSOD, Cu/ZnSOD ortalamaları ve istatistiksel olarak farkları tablo 2'de görülmektedir. Hastaların DFO öncesi MnSOD değerleriyle ferritin düzeyleri arasında zayıf bir pozitif korelasyon olduğu bulundu ($r=0.538$

Tablo 2. Hasta ve kontrollerin serum SOD düzeyleri ortalamaları ve istatistiksel farklılıkları

	Mn SOD(ng/ml)	Cu/Zn SOD(ng/ml)
Hasta (DFO öncesi)	21,119 ± 1,307	291,529 ± 66,352
Kontrol grubu	19,627 ± 0,233	220,314 ± 50,447
p (Hasta-Kontrol)	<0,01	<0,01
Hasta (DFO sonrası)	20,224 ± 0,619	284,309 ± 58,381
p (Hastalarda DF Öncesi-Sonrası)	<0,01	>0,05



Şekil 1. Yüksek doz DFO tedavisiyle MnSOD düzeylerinde oluşan değişiklikler



Şekil 2. Yüksek doz DFO tedavisiyle Cu/ZnSOD düzeylerinde oluşan değişiklikler

$p < 0.05$). Diğer parametrelerle MnSOD arasında bir korelasyon bulunamadı. Cu/Zn SOD değerleriyle hiçbir parametre arasında korelasyon kurulamadı. Yüksek doz DFO tedavisiyle MnSOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu bulundu. Cu/ZnSOD düzeylerindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. MnSOD'daki DFO tedavisiyle oluşan düşüşler ile hastalarda çalışılan diğer parametreler karşılaştırıldığında başlangıç ferritin düzeyleriyle zayıf bir pozitif korelasyon olduğu görüldü ($r=0.5$, $p < 0.05$). Yirmidört saatte atılan çinko ve bakır değerleri, AST, ALT değerleriyle anlamlı korelasyon kurulamadı. Cu/ZnSOD'daki değişikliklerle hiçbir parametre arasında korelasyon kurulamadı. (Şekil 1-2)

TARTIŞMA

Beta talasemili hastalarda serbest radikal hasarının arttığını gösteren pek çok bulgu vardır. Örneğin lipid peroksidasyon ürünü malonildialdehit düzeyleri yüksektir¹, E vitamini düzeyleri düşük bulunmuştur.¹² Bizim çalışmamızda MnSOD ve Cu/ZnSOD düzeyleri talasemili hastalarda kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Süperoksit dismutaz geninin indükleyicilerinden birisi oksidan stresdir.¹³ Başta demir fazlalığı olmak üzere birçok nedenle oksidan stresin arttığı talasemide SOD düzeylerinin yüksek olması sürpriz değildir. MnSOD düzeylerinin demir yükünü gösteren ferritin düzeyleriyle korelasyonu olması, demirin MnSOD geninin indüklenmesinde bir ölçüde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarda talasemide kanda çinko düzeyleri düşük, ba-

kır düzeyleri yüksek bulunmuştur.¹⁴ Bizim hastalarımızda bu elementlerin kandaki değerleriyle Cu/ZnSOD arasında korelasyon kurulamaması enzim düzeylerini belirlemede çinko ve bakırdaki değişikliklerin demir kadar önemli rol oynamadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada yüksek doz DFO kullanımının MnSOD düzeylerinde düşüş yaptığı, Cu/ZnSOD'ı etkilemediği bulunmuştur. Desferrioksamin, özellikle demir yüklenmesinin fazla olmadığı hastalarda ototoksitesite, göz toksisitesi gibi yan etkiler yapmaktadır. Demir ile birleşmeyen serbest DFO'in buna neden olduğu,^{5,6,7} bakır dağılımında olan değişikliklerin de rolü olabileceği öne sürülmektedir.¹⁵ Bizim çalışmamızda MnSOD'daki düşüşle ferritin değerleri arasında zayıf bir pozitif korelasyon saptandı. Bu bulgu demir yükü fazla olan hastalarda DFO'in mitokondrilerde antioksidan düzeylerinde daha fazla düşüş yaptığını göstermektedir. Bu düşüşün nedeni demirin MnSOD geni üzerinde direkt etkili olması ve DFO etkisiyle vücuttaki demir miktarının azalmasıyla bu etkinin azalması olabilir. Daha önceki çalışmalarda DFO etkisiyle bakır ve çinkonun idrarla atılımında değişiklikler olabileceği gösterilmiştir.^{15,16,17} Ancak çalışmamızda bu değerlerle MnSOD ve Cu/ZnSOD arasında bir korelasyon kurulamadı.

Sonuç olarak beta talasemide serumda MnSOD ve Cu/ZnSOD düzeyleri normalden yüksektir. Tedavide kullanılan yüksek doz DFO özellikle demir yükünün fazla olduğu hastalarda MnSOD değerlerinin düşüşüne neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Shinar E, Rachmilëwitz E.A. Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Semin Hematol*, 1990;27(1):70-82
2. Yu B.P. Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*,1994;74(1):139-162
3. Fosburg M.T, Nathan D.G. Treatment of cooley's anemia. *Blood*, 1990;76(3):435-444
4. Cohen A.R, Mizanin J, Schwartz E. Rapid removal of excessive iron with daily, high dose IV chelation therapy. *J Pediatr*,1989;115:151-5
5. Davies S.C, Marcus R.E, Hungerford J.L, Miller M.H, Arden G.B, Huehns E.R. Ocular toxicity of high dose intravenous desferrioxamine. *Lancet*,1983;July 23;181-84
6. Cohen A, Martin M, Mizanin J, Konkle D.F, Schwartz E. Vision and hearing during desferrioxamine therapy. *J Pediatr*,1990;117:326-30
7. Olivieri N.F, Buncic J.R, Chew E. et al. Visual and auditory neurotoxicity in patients receiving SC DF infusions. *N Engl J Med*,1986;314:869-73
8. Porstmann T, Wietschke R, Schmechta R et al. A rapid and sensitive enzyme immunoassay for Cu/Zn superoxide dismutase with polyclonal and monoclonal antibodies. *Clin Chim Acta* 1988;171:1-10
9. Kawaguchi T, Suzuki Y, Matsuda T et al. Serum manganese-superoxide dismutase:normal values and increased levels in patients with acute myocardial infarction and several malignant diseases determined by an enzyme-linked immunosorbent assay using a monoclonal antibody. *J Immunol Meth* 1990;127:249-254.
10. Perkin-Elmer. Clinical methods for atomic absorption spectroscopy, determination of copper in serum, determination of zinc in serum. Perkin-Elmer, Norwalk 1971.
11. Mazotta D, Guarneri M, Fagioli F. Determination of zinc in serum, hair and urine in homozygous thalassemic patients by atomic absorption spectrophotometry. In:Mazotta D: *Il Parmaco Ed Pr*, 1986;41-42, 397-403
12. Rachmilewitz E.A., Shifter A, Kahane I. Vitamin E deficiency in beta thalassemia major. Changes in hematological and biochemical parameters after a therapeutical trial with alfa tocopherol. *Am J Clin Nutr*,32:1850,1979
13. Shull S, Heintz N.H, Periasamy M. et al. Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants. *J Biol Chem*, 1991;266:24398-24403
14. Arcasoy A, Çavdar A.O. Changes of trace minerals(Serum iron, zinc, copper and magnesium) in thalassemia. *Acta Haemat*, 1975;53:341-346
15. Virgilis S.D, Congia M, Turco M.P. et al. Depletion of trace elements and acute ocular toxicity induced by DF in patients with thalassemia. *Arch Dis Child*, 1988;63:250-255
16. Uysal Z, Akar N, Dinçer N, Cin Ş, Arcasoy A. Urinary zinc excretion in beta thalassemia major patients with and without hepatitis. *Trace Elements Med*,1994; 11(3):153-154
17. Uysal Z, Akar N, Kemahlı S, Dinçer N, Arcasoy A. Desferrioxamine and urinary zinc excretion in beta thalassemia major. *Ped Hematol Oncol*,1993;10:257-260