

Klinik Çalışma

# Koah Evrelerinde Heme Oksijenaz Enzimi Son Ürünlerinin Düzeyleri

Hülya Günbatır\*, Nevra Güllü Arslan\*\*, Bünyamin Sertoğullarından\*, Selami Ekin\*

## Özet

**Amaç:** Heme oksijenaz 1; Tip-2 pnömosit ve alveoaler makrofajlardan salınan, akciğerde koruyucu görev yapan bir antioksidan enzimdir, Heme'i antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan 3 farklı son ürüne; bilirubin, karbon monoksit ve demire indirger. Çalışmamız; Heme oksijenaz 1 enziminin son ürünlerinin Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı hastalarında evrelere göre değişimini incelemek amacı ile yapıldı.

**Yöntem:** Çalışmaya Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı tanılı 55 hasta ve solunum fonksiyon testi normal olan 40 yaş üstü 21 gönüllü kişiden oluşan toplam 76 olgu dahil edildi. Hemogram, Total bilirubin ve serum demir düzeyleri merkez biyokimya laboratuvarı'nda çalışıldı. Spirometrik testler; zorlu vital kapasite (FVC), 1. saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV1) ve FEV1/FVC oranını içerdi. Postbronkodilatör FEV1 değerlerine göre hastalar hafif, orta, ağır, çok ağır olarak sınıflandırıldı.

**Bulgular:** Kontrol ve Çalışma grupları arasında bilirubin, demir, demir bağlama kapasitesi düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı evresi arttıkça bilirubin düzeyleri kendi aralarında artmış tespit edildi, istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi. Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı evresi arttıkça demir düzeyi istatistiksel olarak anlamlı azalmıştı.

**Sonuç:** Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı evresi ağırlaştıkça demir düzeyinin düşmesi Heme oksijenaz 1 enziminde azalmaya işaret edebilir. Bu konuda ileri çalışmaların yapılmasına gerek vardır.

**Anahtar kelimeler:** KOAH, HOX-1, demir

Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı (KOAH), kısmen geri dönüşebilir hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize, ilerleyici, kişisel yatkınlığın yanı sıra başta sigara olmak üzere çevresel zararlı partikül veya gazlara karşı anormal bir inflamatuvar yanıt sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır (1). Akciğerlerde ortaya çıkan proteinaz/anti-proteinaz ve oksidan/antioksidan dengesizliğinin de KOAH gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir (2).

Son yıllarda yapılan araştırmalar KOAH gelişiminde heme oksijenaz-1 (HOX-1) genine dikkat çekmektedir. HOX-1; heme, hipoksi, NO, endotoksin, proinflamatuvar sitokinler tarafından indüklenerek Tip-2 pnömosit ve alveoaler makrofajlardan salınan, akciğerde koruyucu

görev yapan bir antioksidan enzimdir. Heme'i antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan 3 farklı son ürüne; bilirubin, CO ve demire indirger. Yapılan çalışmalar HOX-1 geninin 5' bölgesindeki (GT)<sub>n</sub> uzunluğunun KOAH gelişme riskini ve hastalığın ciddiyetini artırdığını göstermektedir (3, 4).

Çalışmamız; HOX-1 enziminin son ürünlerinin KOAH hastalarında evrelere göre değişimini incelemek amacı ile yapıldı.

## Gereç ve Yöntem

Polikliniğimize başvuran hastalar randomize olarak seçildi. Çalışmaya katılan hastalar GOLD sınıflamasına göre hafif (grup 1), orta (grup 2), ağır (grup 3), çok ağır (grup 4) olarak sınıflandırıldı. Çalışmaya KOAH tanılı 55 hasta ve solunum fonksiyon testi normal olan 40 yaş üstü 21 gönüllü kişiden oluşan kontrol grubu toplam 76 olgu dahil edildi.

Çalışmamızın hasta ve kontrol grubu için dışlama kriterleri;

- Total bilirubin değerini etkileyecek bilinen hematolojik, karaciğer, safra kesesi hastalığının olması
- Serum demir değerini etkileyecek bilinen hematolojik hastalık olması

\*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Van, Türkiye

\*\*Samsun Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Hastanesi, Samsun, Türkiye

**Yazışma Adresi:** Uzm. Dr. Hülya Günbatır  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi  
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Kampüs, Van, Türkiye  
Tel: 05065118827

E-mail: hulyagunbatir@hotmail.com

Makalenin Geliş Tarihi: 30.01.2013

Makalenin Kabul Tarihi: 01.03.2013

- Kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, malignite gibi multisistemik hastalığın olması, olarak belirlendi.

Total bilirubin ve serum demir düzeylerinin biyokimyasal analizi için 300µL periferik venöz kan hastalardan alındı. Analizler hastanemiz merkez biyokimya laboratuvarı'nda Roche Moduler P Biyokimya Otoanalizöründe spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Referans değerler: total bilirubin için 0.1-1.2 mg/dL; serum demiri için erkeklerde 60-170 µg/dL, kadınlarda 50-140 µg/dL idi.

Spirometrik testler; zorlu vital kapasite (FVC), 1. saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1) ve FEV1/FVC oranını içerdi. FEV1/FVC oranının %70'den küçük olması KOAH olarak kabul edildi. Postbronkodilatör FEV1 değerlerine göre hastalar hafif, orta, ağır, çok ağır olarak sınıflandırıldı.

**İstatiksel Analiz:** Verilerin analizi SPSS for Windows 16 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normalliği Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği bağımsız grup sayısı iki olduğunda Student's t testi ile ikiden fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Tek Yönlü Varyans analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arasında ortanca değerler yönünden farkın anlamlılığı ise bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testi ile ikiden fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle araştırıldı. Tek Yönlü Varyans analizi veya Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde farka neden olan durumları belirlemek amacıyla; post hoc Tukey veya parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Nominal değerşkenler Pearson'un Ki-Kare testi ile değerlendirildi. p<0.05 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

### Bulgular

GOLD sınıflamasına göre olguların 3'ü hafif (Grup 1), 19'u orta (Grup 2), 25'i ağır (Grup 3),

8'i çok ağır (Grup 4) evre KOAH hastası idi. Kontrol ve çalışma Grupları arasında yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu (p<0.05). Olguların demografik ve laboratuvar değerleri Tablo 1'de belirtilmiştir.

Kontrol ve Çalışma grupları arasında demir, demir bağlama kapasitesi, total ve direkt bilirubin, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (p>0.05).

Tablo 1. Tüm olguların demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları

	KOAH (n=55)	Kontrol (n=21)
Yaş (yıl)	61.2	60.9
Serum demir (µg/dL)	70.2	80.4
DBK	251.5	244.6
Total bilirubin (mg/dL)	0.72	0.71
Direk bilirubin (mg/dL)	0.26	0.24
hematokrit	46.1	42.4
hemoglobin	15.5	14.5

Bilirubin düzeylerinin KOAH evreleri arasında evre ağırlaştıkça normalin üst sınırına yaklaştığı izlendi. Grup 1-2-3-4'ün ortalama bilirubin düzeyleri 0.56 mg/dL, 0.69 mg/dL, 0.73 mg/dL, 0.80 mg/dL idi.

Hasta grupları arasında demir düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0.01). Söz konusu farka ne den olan grup araştırıldığında, Grup 1 ve 2'e göre Grup 3 ve 4'ün demir düzeyinin anlamlı olarak daha düşük olduğu belirlendi (p<0.05). Grup 1-2-3-4'ün ortalama demir düzeyleri 73.0 µg/dL, 92.4 µg/dL, 60.3 µg/dL ve 42.8 µg/dL idi. KOAH evresi ağırlaştıkça hematokrit değerinde istatistiksel anlamlı artış izlendi (p<0.05). KOAH'lı Olguların evrelerine göre Demir ve Bilirubin Düzeyleri Tablo 2' de izlenmektedir.

Tablo 2. KOAH'lı Olguların evrelerine göre Demir ve Bilirubin Düzeyleri

	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
Hematokrit (%)	42.5	44.9	46.5	50.3
Hemoglobin(g/dL)	14.6	15.3	15.8	16.2
Total bilirubin(mg/dL)	0.56	0.69	0.73	0.80
Direk bilirubin(mg/dL)	0.20	0.25	0.26	0.28
Demir (µg/dL)	73	94.5	60.4	42.8
Demir Bağlama Kapasitesi	227.3	243.8	249.8	284.2

## Tartışma

KOAH önemli bir küresel sağlık sorunu olmasına karşın; hastalığın hüresel, moleküler ve genetik nedenleri konusunda ciddi bilgi eksiklikleri bulunmaktadır. KOAH'ın inflamatuvar bir hastalık olduğu ve akciğerler dışında sistemik etkilerinin de olduğu kabul edilmiş olsa da bu etkilerin ortaya çıkış mekanizmalarını tanımlayan az sayıda çalışma mevcuttur. Özellikle artan oksidan yüküne karşılık antioksidan enzimlerin yetersiz kalmasına bağlı olarak kanda inflamatuvar mediatörlerin artması, üzerinde en çok durulan mekanizmalardan biridir.

Çalışmamız antioksidan enzimler arasında yer alan HOX-1 enziminin son ürünlerinin KOAH evreleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapıldı.

Bilirubin doğal bir antioksidandır. Bu etkisini; dokularda lökosit infiltrasyonunu, T hücre proliferasyonunu azaltmak, proinflamatuvar sitokinleri azaltıp anti-inflamatuvar sitokinleri artırmak, proinflamatuvar gen transkripsiyonundan sorumlu NFκB'yi inaktive etmek gibi farklı mekanizmalar üzerinden gerçekleştirebildiği bildirilmiştir (5-7). Normalin alt sınırına yakın bilirubin düzeylerinin; damar hastalığı açısından risk faktörü olanlarda, diabetik hastalarda, erkeklerde koroner arter hastalığı (KAH) gelişimine yakınlık sağladığı gösterilmiştir (8-10).

Çalışmamızda hasta grupları ve kontrol grubu arasında bilirubin düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak hasta gruplarının kendi içlerinde bilirubin değer ortalamalarına bakıldığında; hafif evreden ağır-çok ağır evreye doğru artış olduğu belirlenmiştir (0.56 mg/dL, 0.69 mg/dL, 0.80 mg/dL). Laura ve arkadaşları (11) normal aralıkta bilirubin seviyesi olan hastalar arasında nispeten yüksek seviyedekilerin solunum hastalığı ve tüm nedenlere bağlı ölüm riski daha azalmış olarak tesbit edilmiştir. Bu sonuç; bilirubin de aralarında yer aldığı antioksidanların düzeylerinin benzer sigara hikâyesi, yaş ortalaması, cinsiyet dağılımına sahip gruplar arasında hastalığın ciddiyetinin farklı seyretmesini açıklayacak etkenlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Bizim verilerimizde normal aralıkta bilirubin değerleri tespit ettik, gruplar arasında KOAH ağırlaştıkça bilirubin yükselmesi Laura ve arkadaşlarının çalışması ile ters düşmektedir. Relatif olarak artan bilirubin kronik hipoksiye sekonder karaciğerde bilirubin sentezinde bozulmanın bir sonucu olarak yorumlandı.

Demir; ferritin gibi önemli bir hücre koruyucu olduğu düşünülen molekülü aktive edip

antioksidan mekanizmalara katkı sağlarken, diğer yandan fazla miktarda serbest durumda ( $Fe^{+2}$ ) bulunması ile serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek oksidatif strese neden olmaktadır. Akut enfeksiyonlarda ise, karaciğerden salgılanan akut faz reaktanlarından biri olan hepsidin bir yandan  $Fe$ 'in bağırsaklardan emilimini diğer yandan makrofajdan salımını engelleyerek serum düzeyinde azalmaya neden olur (12). Karadağ ve ark.'nın (13) KOAH'lı hastalarda oksidatif streste yer alan bakır (Cu), çinko (Zn),  $Fe$  gibi elementlerin düzeylerini inceledikleri çalışmada; düşük Zn, yüksek Cu düzeylerini hastalığın ciddiyeti ile ilişkili,  $Fe$  düzeyini ise ilişkisiz bulmuşlardır. McKeever ve ark.'nın (14) yaptığı çalışmada KOAH'lı hastalarda yüksek serum antioksidan vitamin ve  $Fe$  düzeyleri, yüksek FEV<sub>1</sub> değerleriyle bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda ise gruplar arasında demir düzeyleri arasında anlamlı fark olduğu, orta ve ağır-çok ağır evredeki hastaların demir düzeylerinin hafif evredeki hastalardan düşük saptandı. Ayrıca hastaların bir kısmı atak döneminde geldikleri sırada çalışmaya dahil edildi ve kan örnekleri alındı. İleri evrelerde daha sık atak görülmesi ve  $Fe$ 'in negatif bir akut faz reaktanı olmasının da bu sonuçların bir bölümünde etkili olmuş olabileceğini düşündük. Vücut savunma mekanizmasının bir parçası olarak da bilinen inflamasyon anemisi, azalmış demir ve demir bağlama kapasitesi (transferrin), artmış ferritin ve kemik iliği makrofajlarında demirin varlığı ile karakterizedir. Bu durum depolardan demir mobilizasyonunun bozulmuş olduğunun bir göstergesidir. İnflamasyon anemisinin patogenezi demir dengesinde meydana gelen değişikliklerle kısmen açıklanabilir (15).

KOAH'ta beslenme yetersizliği, artan enerji ihtiyacının diyetle karşılanamaması sonucu ortaya çıkar. Hipoksi gastrointestinal sistemden besin emilimi azaltırken, çiğneme ve yutma işi dispneyi arttırmaktadır. Dolu mide diafragma hareketlerini kısıtladığı için hastalar yemek yemekten kaçınırlar. Hastaların %20-25'inde bulunan peptik ulkus, tedavide kullanılan semptomimetikler ve teofilinin gastrik irritasyon yapıcı etkileri, beslenme üzerine olumsuz etkide bulunur (16). Çalışmamızda demir eksikliğine beslenme yetersizliğinin de katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çoğu çalışmada KOAH'daki polisitemiye benzer şekilde polisitemia vera'da demir eksikliği izlenmektedir (17). Bu komplikasyon artmış eritropoez ve tekrarlayan flebotomiler ile açıklanmaktadır (18, 19). Biz de polisitemik ağır KOAH'lı hastalarda artmış eritropoezinde

tüketime bağlı olarak demir eksikliği gelişiminde rol oynadığı düşünceindedir.

Özellikle hastalık gelişimi açısından birden fazla risk faktörüne sahip olup solunum fonksiyonları normale yakın hastaların takibinde, hastalığın progresyonu ile ilgili öngörüde bulunmak için Fe düzeyi takibinin yapılabileceği; Fe eksikliğinin olduğu grupta replasman tedavisi ile hastalığın progresyonu ve alevlenme sayılarında azalma sağlanabileceği görüşündedir. Demirin doğru şekilde kullanılamaması nedeniyle demir takviyelerinin zararlı olması olasıdır ve sistemik oksidatif stresi artırabilir (20).

Sonuç olarak; Fe; bir yandan oksidatif hasarın prekürsörü olması diğer yandan ferritin oluşumunu uyarması nedeniyle, enzimin antioksidan etkinliğiyle çelişen bir son üründür. Demirin KOAH ile ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu konuda daha çok ve geniş çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünölmüştür.

## Heme oxygenase products levels in stages of chronic obstructive pulmonary disease

### Abstract

**Aim:** Heme oxygenase 1 is derived from alveolar macrophages and serves in the lung as a protective anti oxydant enzyme, reserves heme three antioxydant and anti-inflammatory final product; bilirubin, carbon monoxide and iron. The aim of our study was to examine Heme oxygenase 1 enzyme latest products in Chronic Obstructive Pulmonary Disease patients according to stages.

**Methods:** The study included a total of 76 cases; 55 patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and 21 volunteers older than 40 years old with normal lung function tests. Complete blood count, total bilirubin and serum iron levels were determined. Spirometric tests included forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV1) and FEV1/FVC rate. Patients were classified as mild, moderate, severe and very severe according to Postbronchodilator FEV1 values.

**Results:** The control and study groups displayed no statistically significant differences in terms of bilirubin and iron levels, and iron binding capacity. Bilirubin levels were increased with increasing stage of Chronic Obstructive Pulmonary Disease among themselves, no statistically significant difference was detected. Iron levels were significantly decreased while the stage of Chronic Obstructive Pulmonary Disease increased.

**Conclusion:** Increased Chronic Obstructive Pulmonary Disease stage with decreasing iron levels could point to decreasing Heme oxygenase 1 enzyme levels. Further studies on this subject are necessary.

**Key words:** COPD, HOX-1, iron

## Kaynaklar

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global strategy for diagnosis, management and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 2009: 535-545.
2. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: molecular and cellular mechanisms. Eur Respir J 2003; 22(4): 672-688.
3. Fu WP, Zhao ZH, Fang LZ, Sun C, Liu L, Zhang JQ, et al. Heme oxygenase-1 polymorphism associated with severity of chronic obstructive pulmonary disease. Chin Med J 2007; 20(1):12-16.
4. Fu WP, Sun C, Dai LM, Yang LF, Zhang YP. Relationship between COPD and polymorphisms of HOX-1 and mEPH in a Chinese population. Oncol Rep 2007; 17(2):483-488.
5. Yamashita K, McDaid J, Ollinger R, Tsui TY, Berberat PO, Usheva A, et al. Biliverdin, a natural product of heme catabolism, induces tolerance to cardiac allografts. FASEB J 2004; 18(6):765-767.
6. Sarady-Andrews JK, Liu F, Gallo D, Nakao A, Overhaus M, Ollinger R, et al. Biliverdin administration protects against endotoxin-induced acute lung injury in rats. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2005; 289(6):1131-1137.
7. Soares MP, Seldon MP, Gregoire IP, Vassilevskaia T, Berberat PO, Yu J et al. Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. J Immunol 2004; 172(6):3553-3563.
8. Kaneda H, Ohno M, Taguchi J, Togo M, Hashimoto H, Ogasawara K et al. Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with coronary artery disease in Japanese patients with coronary risk factors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002; 22(10):1680-1685.
9. Chen YH, Lin SJ, Lin MW, Tsai HL, Kuo SS, Chen JW et al. Microsatellite polymorphism in promoter of heme oxygenase-1 gene is associated with susceptibility to coronary artery disease in type 2 diabetic patients. Hum Genet 2002; 111(1):1-8.
10. Novotný L, Vitek L. Inverse relationship between serum bilirubin and atherosclerosis in men: a meta-analysis of published studies. Exp Biol Med (Maywood) 2003; 228(5):568-571.
11. Horsfall JL, Rait G, Walters K, Swallow MD, Pereira PS, Nazareth I et al. Serum Bilirubin and Risk of Respiratory Disease and Death. JAMA 2011; 305(7):691-697.
12. Munoz M, Villar I, Garcia-Erce JA. An update on iron physiology World J Gastroenterol 2009; 15(37):4617-4626.

13. Karadag F, Cildag O, Altinisik M, Kozaci LD, Kiter G, Altun C. Trace elements as a component of oxidative stress in COPD. *Respirology* 2009; 9(1):33-37.
14. McKeever TM, Lewis SA, Smit HA, Burney P, Cassano PA, Britton J. A multivariate analysis of serum nutrient levels and lung function. *Respir Res* 2008; 9:67.
15. Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: the hepcidin link. *Curr Opin Hematol* 2005; 12(2):107-111.
16. Tüzel EÖ, Zeren ZU, Telliöglu E, Biçmen C, Meral Aİ, Tibet G. KOAH'lı Olgularda Biyokimyasal Beslenme Parametreleri ile Hastalığın şiddeti Arasındaki ilişki. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 2012; 26(3):157-163.
17. Kwapisz J, Zekanowska E, Jasiniewska J. Decreased serum prohepcidin concentration in patients with polycythemia vera. *J Zhejiang Univ Sci B* 2009; 10(11):791-795.
18. Pearson TC, Grimes AJ, Slater NG, Wetherley-Mein G. Viscosity and iron deficiency in treated polycythaemia. *Br J Haematol* 1981; 49(1):123-127.
19. Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood* 2002; 100(13):4272-4290.
20. McCord JM. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Semin Hematol* 1998; 35(1):5-12.