

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DAHİLİ TIP BİLİMLERİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA
ORAL E VİTAMİNİ İLE E VİTAMİNİ KAPLI DİYALİZ MEMBRANININ
OKSİDAN STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA
ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

118519
118519

UZMANLIK TEZİ

Dr. Serkan YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Yard. Doç. Dr. Caner ÇAVDAR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İZMİR - 2002

ÖNSÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve birikimleriyle yetişmeme katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İlkay ŞİMŞEK olmak üzere tüm hocalarıma, tezimin her aşamasında büyük bir özveriyle yardımını esirgemeyen tez hocam Yard. Doç Dr. Caner ÇAVDAR'a, tezimin tamamlanmasında emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Canan ÇOKER ve Doç. Dr. Pınar TUNCEL'e, istatistiklerin hazırlanmasında titiz ve sabırlı bir çalışmayla beni destekleyen Uzm. Dr. Hülya ELLİDOKUZ ve Uzm. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca uyum içerisinde çalıştığım ve kendileri ile çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin yükünü bizlerle paylaşan hemşire ve yardımcı sağlık personeli arkadaşlara teşekkür ederim.

Tüm eğitim ve öğretim yaşantım boyunca her türlü desteklerini daima yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
HASTALAR VE YÖNTEM.....	24
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA.....	33
ÖZET	38
KAYNAKLAR.....	40

GİRİŞ VE AMAÇ

Oksidan stres reaktif oksijen partikülleri oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Reaktif oksijen partikülleri olarak hidrojen peroksit, hipoklorik asit, süperoksit ve hidroksil radikali in vivo koşullarda sürekli olarak oluşmaktadır. Sadece reaktif oksijen partiküllerinin saptanması oksidan stresi tanımlamaya yetmez. Süperoksit dismutaz, katalaz, ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin azalması da önemlidir (1). Birçok hastalığın patogeneğinde bu dengedeki bozulma da rol oynamaktadır (2). Hemodiyaliz hastalarında da oksidan stres artmıştır ve antioksidan savunma azalmıştır.

Hemodiyaliz hastalarında artmış olan oksidan stres, lipoprotein peroksidasyonuna yol açar, bu ise endotel hasarı ile birlikte ateroskleroz plağı oluşumunda anahtar rol oynar. Ayrıca tekrarlayan lökosit stimülasyonu, kompleman aktivasyonu ve sitokin sekresyonu ile birlikte kronik enflamasyon meydana gelir. Reaktif oksijen partiküllerinin eritrosit membranı üzerinde bulunan lipidlere karşı olan atağı intravasküler hemolize neden olur ve hemodiyaliz hastalarında eritropoietin ihtiyacını artırır (3).

E vitamini hayvan ve bitki dokularında bulunan ve yağda çözünen bir antioksidandır. Sekiz tipi içerisinde en aktif olanı alfa-tokoferoldür. Alfa-tokoferol elektronlar vererek serbest köklerin oksitlenmesini etkili biçimde önler (4). Bu etkisinden dolayı hemodiyaliz hastalarında per- oral ve parenteral E vitamini antioksidan olarak verilmiştir (5). Son yıllarda hemodiyaliz hastalarında E vitamini ile kaplanmış diyaliz membranları da kullanılmaya başlanmıştır (6).

Literatürün taranmasında hemodiyaliz hastalarında per-oral E vitamini ile E vitamini kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres üzerine etkilerini karşılaştıran yeterli sayıda çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmanın amacı hemodiyaliz hastalarında per- oral E vitamini ve E vitamini kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini karşılaştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

I - OKSİDAN STRES

A) TANIM

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri (ROP)” de denmektedir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunu etkisizleştirme gücü bir denge içindedir (7). Oksidan stres, ROP oluşumu ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit ($HOCl$), süperoksit (O_2^-) ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$) gibi ROP'lar in vivo koşullarda sürekli olarak oluşmaktadır. Sadece ROP'un saptanması oksidan stresini tanımlamaya yetmez. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim düzeylerinin azalması da önemlidir (1).

B) REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİNİN BİYOKİMYASI

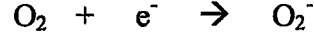
Hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolay geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle ROP, süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (8). Organizmada pek çok türde ROP oluşabilir (Tablo 1).

Tablo 1: Reaktif Oksijen Partikülleri:

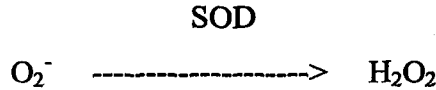
1- Radikaller:	Süperoksit radikal (O_2^-)
	Hidroksil radikal (OH^-)
	Alkoksil radikal (LO^-)
	Peroksil radikal (LOO^-)
2- Radikal olmayanlar:	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
	Lipidhidroperoksit ($LOOH$)
	Hipoklorik asit ($HOCl$)
3- Diğer:	Singlet Oksijen

a) Süperoksit Radikal (O_2^-) :

Oksijen molekülüne bir elektron alınmasıyla oluşur.



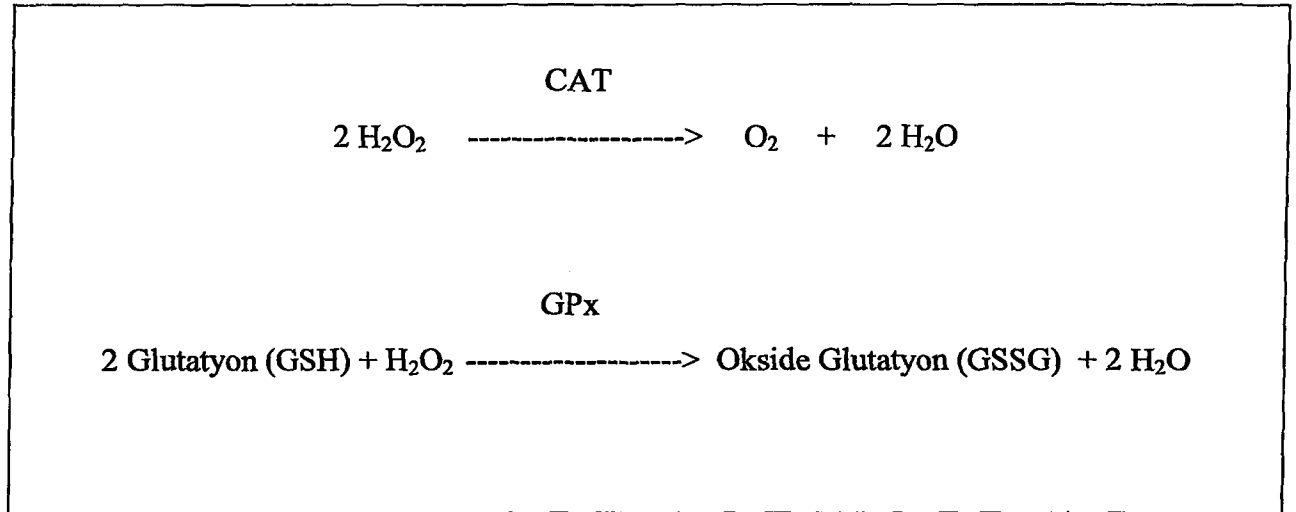
Süperoksit (O_2^-) hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oluşur. Temel oluşum kaynağı mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi yapılarda bulunan elektron taşıma sistemlerinde oksijene elektron aktarılmasıdır. Bu durum ortamın oksijen konsantrasyonu ile ilişkilidir. Süperoksit (O_2^-) fagositik hücrelerin aktivasyonu sonucunda da oluşmaktadır. NADPH oksidaz aracılığı ile fagositik radikal oluşumunun vücuda giren zararlı bakterilerin yok edilmesinde etkili bir savunma mekanizması olabileceği belirtilmektedir. NADPH oksidaz dışında ksantin oksidaz, koenzim Q, vitamin K ve sitokrom P450 de endojen olarak süperoksit (O_2^-) oluşturabilir. Oluşan süperoksit (O_2^-) spontan dismutasyonla veya SOD yolu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür. SOD'un sitozol ve mitokondride yer aldığı bilinmektedir (9).



b) Hidrojen peroksit (H_2O_2)

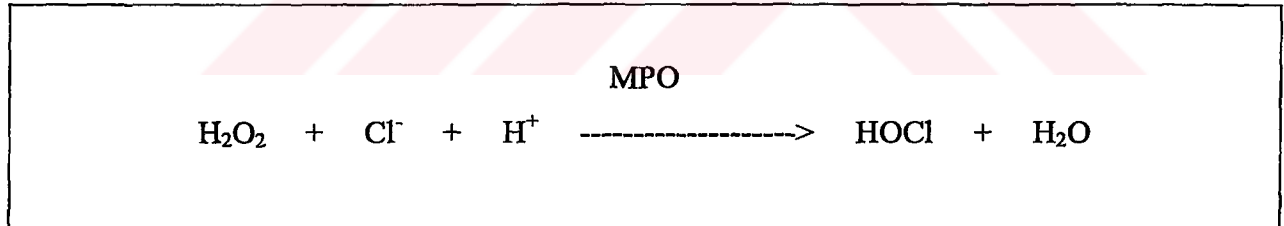
Süperoksit (O_2^-)'in dismutasyonu sonucu hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumu fagositlerde, mitokondrilerde ve mikrozomal yapılarda saptanmıştır. Ayrıca insanlarda göz lensinde ve solunum sisteminde muhtemelen pulmoner makrofajlardan kaynaklanan düşük konsantrasyonlarda hidrojen peroksit (H_2O_2) belirlenmiştir.

Hidrojen peroksiti (H_2O_2) hücrelerden CAT ve GPx enzimleri uzaklaştırabilir (10).

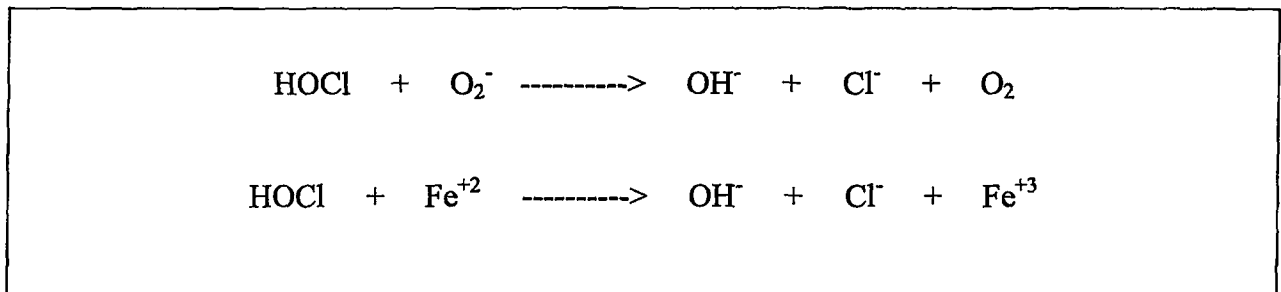


c) Hipoklorik asit (HOCl)

Hipoklorik asit (HOCl) vücutta aktive olmuş nötrofillerde bulunan güçlü bir oksidandır. Fagosit sitoplazmasında miyeloperoksidaz (MPO) aracılığı ile oluşur. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile birlikte ortamda klor olması halinde MPO aracılığı ile hipoklorik asit (HOCl) oluşur (11):



Hipoklorik asit (HOCl)'in demire bağımlı ve demirden bağımsız olarak hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) oluşturduğu belirtilmiştir.



Hipoklorik asit (HOCl) potent oksidan bir ajandır. Primer aminlerle reaksiyona girerek N-kloroaminleri oluştururlar (RNHCl). Hipoklorik asit (HOCl) ve N-kloroaminlerin sitotoksitesi, sülfidril grupların oksidasyonu, hemoproteinlerin ve sitokromların inaktivasyonu, DNA'nın pürin bazlarının klorlanması ve proteinlerle aminoasitlerin parçalanması şeklindedir (12).

d) Hidroksil radikali (OH[•])

Hidroksil radikali (OH[•]) en etkili ROP'dur. İn vivo oluştuğunda, oluşum bölgesi ve yakın çevresinde etkili olur. Bundan dolayı yapacağı hasar oluştuğu bölgeye bağlıdır. İn vivo olarak oluşan bu radikallerin çoğu, iyonize edici radyasyon dışında, hidrojen peroksit (H₂O₂)'in yıkımından oluşur (12).



C) ORGANİZMADA REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİNİN OLUŞUM

KAYNAKLARI

Tablo 2’de ROP’ların in vivo ortamda oluşum kaynakları görülmektedir (7).

Tablo 2: Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşum Kaynakları

I – Normal biyolojik işlemler

- 1 – Oksijenli solunum
- 2 – Katabolik ve anabolik işlemler

II – Oksidan stres yapıcı durumlar

- 1 – İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, intoksikasyon
- 2 – Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a) İn hale edilenler
 - b) Alışkanlık yapan maddeler
 - c) İlaçlar
- 3 – Oksidan enzimler
 - a) Ksantin oksidaz
 - b) İndolamin dioksigenaz
 - c) Triptofan dioksigenaz
 - d) Galaktoz oksidaz
 - e) Siklooksigenaz
 - f) Lipooksigenaz
 - g) Monoamino oksidaz
- 4 – Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- 5 – Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelyal hücreler)
- 6 – Uzun süreli metabolik hastalıklar
- 7 – Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

III – Yaşlanma süreci

Organizmada ROP oluşumu endojen ve eksojen olmak üzere iki yolla olmaktadır (13).

a) Endojen ROP Oluşum Kaynakları:

Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda ROP oluşabilir. Her ne kadar ROP yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, aşağıda belirtilen bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için oluşumları kaçınılmazdır

- 1- Mitokondrial elektron taşıma sistemi: Fizyolojik şartlarda ROP'ların en önemli kaynağı mitokondrial elektron taşıma sistemidir. Normalde elektron taşınım zincirinde oksijen dört elektron alarak suya indirgenir ve ROP oluşmaz. Ancak bu indirgenme reaksiyonu esnasında oksijenin % 5'i kadarından ROP oluştuğu düşünülmektedir.
- 2- Hücre içi membran sistemleri: Endoplazmik retikulum ve nükleer membranlar da ROP oluşumu gerçekleştirmektedir.
- 3- Otooksidasyon reaksiyonları: Hücrelerde bulunan bir çok molekül oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına katılmaktadır. Bunlar aynı zamanda hücre içi ROP oluşumuna da katılırlar. Tiyoller, hidrokarbonlar, ketokolaminler ve tetrahidropterinler bu tür molekülerdir. Bunlar oksijen molekülünü indirgeme özelliğine sahiptirler.
- 4- Oksidan enzim reaksiyonları: Bazı enzimlerin katalizörlüğündeki reaksiyonlar sonucunda da ROP oluşabilir. Örneğin ksantin oksidaz tarafından katalizlenen reaksiyonun ürünleri ürik asit ve süperoksit (O_2^-)'dir.
- 5- Plazma membran kaynaklı ROP oluşumu: Fagositik hücrelerin plazma membranında bulunan NADPH oksidaz enziminin katalizörlüğünde süperoksit (O_2^-) oluşur.

b) Ekzojen ROP Oluşum Kaynakları:

Organizmanın X ve Y ışınları ile elektromanyetik radyasyonu veya parçacık radyasyonu (elektronlar, nötronlar, alfa ve beta parçacıkları) ile etkileşmesi sonucu su gibi moleküllere enerji aktarılır. Bunun sonucunda primer radikaller oluşur. Primer radikaller de daha sonra çözünmüş oksijen ya da hücresel moleküllerle reaksiyona girebilirler.

Fotokimyasal kirlilik, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar, adriamisin ve daunorubisin gibi kemoterapötik ilaçlar ve sigara dumanı da bazı ekzojen ROP oluşum kaynaklarındandır.



D) REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİNİN ETKİLERİ

ROP'lar paylaşılmamış elektronlarından dolayı protein, karbohidrat, nükleik asit ve lipid gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar. Tablo 3'te ROP'ların doku ve hücrelerdeki etkileri özetlenmiştir.

Tablo 3: ROP'ların Doku ve Hücrelerdeki Etkileri

-
- a) DNA hasarı
 - b) Nükleotid yapılı enzimlerin yıkımı
 - c) Protein ve lipidlerle kovalan bağlanma
 - d) Enzim inaktivasyonu
 - e) Proteinlerin oksidatif hasara uğraması
 - f) Lipid peroksidasyonu
 - g) Zar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi
 - h) Yaşlılık pigmentlerinin birikimi
 - i) Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü yapılardaki oksidasyon ve redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşumu
 - j) Zar proteinlerinin hasarı ve transport sistemlerinin bozulması
-

Lipidler: ROP'lar hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Peroksidasyon sonucunda ise malondialdehit (MDA) gibi hücre için zararlı aldehyitler oluşur.

Eikosanoid sentezi ve yağ asidi oksidasyonu sonucu oluşan siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmakla birlikte hemoglobin (Hb) ve miyoglobin aracılığı ile de oluşum gerçekleşebilir (14).

Proteinler: Hücre zarında iyon taşınımından sorumlu proteinlerin oksidasyonu hücre içi serbest kalsiyum miktarını artırırken, NAD^+ ve ATP miktarını azaltır. Enzim aktiviteleeri de protein oksidasyonundan etkilenir. Bütün bu olaylar hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir (15).

Karbohidratlar: Fizyolojik pH ve ısıda glukoz gibi monosakkaritlerin otoksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksitler ve oksoaldehyitler oluşur. Glikozaminoglikan yapısında olan ve sinovial sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalünorik asit, süperoksit (O_2^-) tarafından depolimerize edilerek, bağ dokusunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olur (16).

Nükleik Asitler: Artmış süperoksit (O_2^-) oluşumu hücrelerde bulunan DNA yapıları üzerinde olumsuz etkiler gösterir. Bu ise apoptotik hücre ölümü ve hücre çoğalması arasındaki dengenin bozulmasına yol açar (17).

II - ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Aerobik organizmalar, oksijenin toksik etkisinden enzimatik ya da enzimatik olmayan savunma mekanizmalarıyla korunurlar (18).

Organizmada mevcut antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasında bir denge bulunmaktadır. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidan hasar gelişebilmektedir. Antioksidan savunma mekanizmaları SOD, GPx ve CAT gibi enzimatik ya da E vitamini (E vit.), C vitamini (C vit.), beta karoten, ürik asit ve bilirübin gibi nonenzimatik yapıda olabilmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar sonucunda hücre içi antioksidan savunmadan genellikle enzimlerin sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. Plazmada etkili olan antioksidanlar ise E vit., C vit., beta karoten, ürik asit, albumin ve bilirübin gibi moleküllerdir (10). Antioksidan sistemler üç grupta incelenebilir.

- 1) **Primer antioksidanlar:** ROP'ları, biyolojik önemi olan moleküllerle etkileşmeden önce daha zararsız bileşiklere dönüştürerek veya başka moleküllerden radikal üretimini engelleyerek etkilerini gösterirler. SOD, GPx ve CAT gibi enzimler bu grupta yer almaktadır.
- 2) **Sekonder antioksidanlar:** Bunlar radikalleri yakalayıp oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engeller. E vit., C vit., beta karoten, ürik asit, bilirübin ve albumin sekonder antioksidanlardır.
- 3) **Tersiyer antioksidanlar:** Etkilerini serbest radikallerin neden olduğu biyomoleküler hasarı onararak gösterirler. DNA onarım enzimleri (glikozilaz, endonükleaz, ekzonükleaz) ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu gruptandır. Hücrede oluşan radikallerin detoksifikasyonu başlıca enzimatiktir. Antioksidan savunmanın önemli bir kısmını süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)' i temizleyen spesifik enzimler oluşturur. Bunlar SOD, CAT ve GPx enzimleridir.

Tablo 4'te antioksidan savunma sistemleri özetlenmiştir.

Tablo 4: Antioksidan Savunma Sistemleri

A) Antioksidan enzimler:

- Süperoksit dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon redüktaz
- Glutasyon – S - transferaz

B) Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar:

- E vitamini
- Beta karoten
- C vitamini
- Ürik asit
- Glutasyon
- NADPH

C) Antioksidan proteinler:

- Serüloplazmin
 - Transferrin
 - Albumin
 - Haptoglobulin
-

SOD, süperoksit (O_2^-)' in hidrojen peroksit (H_2O_2)' e dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. Memeli hücrelerinde bakır, çinko ve manganez içeren tipleri vardır. Molekül ağırlığı 32.000 daltondur. Mitokondri ve sitosolde bulunur. Süperoksit (O_2^-) 'in potansiyel substratlarla reaksiyona girmesi ve daha toksik olan hidroksil (OH^-) oluşumu SOD tarafından önlenir.

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ise CAT ve GPx enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Düşük hidrojen peroksit (H_2O_2) seviyelerinde esas olarak bir metaloenzim

olan GPx fonksiyona sahiptir. Yüksek hidrojen peroksit (H_2O_2) seviyelerinde ise CAT ile aktive olur.

Glutasyon, glutamik asit, glisin ve sisteinden oluşan intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutasyon hücreyi endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korur. GPx, glutasyonu kullanarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ve diğer ROP'ları indirger. Böylece oksitlenmiş glutasyon disülfid (GSSH) ve H_2O oluşur.



III - REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİNİN HASTALIKLARDAKİ ROLÜ

Çoğu hastalıklarda artmış ROP'lar hastalığın sebebi değildir, primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneze yer alırlar. Tablo 5'te patogenezinde ROP'ların da rol aldığı düşünülen ilgili klinik durumlar özetlenmiştir (2).

Tablo 5: Reaktif Oksijen Partikülleriyle İlişkili Hastalıklar:

1 - Multi-organ Tutulumu:

İnflamatuvar – İmmün hasar: Glomerülonefrit, vaskülitler, sepsis

İskemi – reperfüzyon hasarı

İlaç ve toksinlerle oluşan hasarlanma

Demir depolanması: Hemakromatoz, Talasemi

Nutrisyonel faktörler: E vitamini eksikliği

Alkol

Radyasyon hasarı

Kanser

Amiloidoz

2 – Tek Organ Tutulumu:

Eritrositler: Kurşun zehirlenmesi, orak hücreli anemi

Akciğer: Sigara içilmesi, bronkopulmoner displazi, erişkin tip solunumsal yetmezlik sendromu, bleomisin toksisitesi

Kardiyovasküler sistem: Ateroskleroz, doksorubisin toksisitesi, alkol kardiyomyopatisi

Böbrek: Antiglomerüler bazal membran hastalığı, aminoglikozid nefrotoksitesisi, renal allograft rejeksiyonu

Gastrointestinal sistem: Endotoksin ve karbontetraklorür ile karaciğer hasarı, pankreatit, stres ülseri, inflamatuvar barsak hastalıkları

Eklemler: Romatoid artrit

Beyin: Nörotoksinler, senil demans, parkinson, serebral travma, demyelinizan hastalıklar, alüminyum birikimi

Göz: Katarakt, hemorajiler, dejeneratif retinal hasar

Deri: Solar radyasyon, termal hasar, porfiri

IV - HEMODİYALİZ HASTALARINDA OKSİDAN STRES – ANTİOKSİDAN

SAVUNMA

Genel olarak hemodiyaliz (HD) hastalarında oksidan stres artmış ve antioksidan savunma ise azalmıştır.

Tablo 6’da HD hastalarında artmış oksidan stres ve azalmış antioksidan savunma nedenleri özetlenmiştir.

Tablo 6: Hemodiyaliz Hastalarında Artmış Oksidan Stres ve Azalmış Antioksidan Savunma Nedenleri:

ARTMIŞ OKSİDAN STRES

- 1) Üremiye bağlı toksik metabolitler
- 2) Hemodiyalizin etkisi
 - a) Hemodiyaliz membranlarında lökosit ve kompleman sistemin aktivasyonu
 - b) Heparinin etkisiyle serbest yağ asidi artımı
 - c) Diyaliz sıvısı (kloramin ve iz elementlerin konsantrasyon farkı)
 - d) Diyaliz sırasında hastalardan iz element ve vitamin kaybı
 - e) Termal hasar

AZALMIŞ ANTİOKSİDAN SAVUNMA

- 1) Üremik hastalarda beslenme bozukluğu sonucu eksik alım, hemodiyalizde kayıpla plazmada E vitamini ve iz elementlerin (bakır – çinko – selenyum) eksikliği
- 2) Eritrosit Na^+ - K^+ ATP-az asetil kolin esteraz enzim aktivitesinde azalma
- 3) Eritropoietin eksikliği (veya etkisine direnç)
- 4) Üremiye bağlı toksik metabolitlerin antioksidan savunma enzimlerini inhibe etmesi
- 5) Renal antioksidan enzim fonksiyonlarında azalma

Bu dengenin bozulmasında birçok etken rol oynamakla birlikte HD tedavisi en önemli faktörlerdendir. HD tedavisi sırasında antioksidan enzimler artarken üremik ortam nedeniyle lipid peroksidasyonu azalmayabilir (19).

Yapılan çalışmalarda HD tedavisi uygulanmayan üremik hastaların eritrositlerinde SOD aktivitesinin düşük olduğu ve bunun HD ile anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (20). Üremik toksinler antioksidan enzimleri inhibe ederken, HD ile üremik toksinlerin düzeyinin azaltılması sonucunda antioksidan enzimlerin arttığı düşünülebilir. HD membranında nötrofil ve kompleman sisteminin aktivasyonu, antikoagülasyon için kullanılan heparinin lipoprotein lipaz enzimini aktive etmesi ve serbest yağ asitlerini arttırması lipid peroksidasyonuna ve oksidan strese yol açar. Aynı zamanda bakır, çinko, selenyum gibi iz elementlerin yetersiz beslenme ve diyaliz sıvısındaki konsantrasyon farklılıkları nedeniyle kaybedilmesi, diyalizatla vücut ısısı arasındaki ısı farklılığı sonucu oluşan termal hasar ve diyalizatta bulunan kloraminin sitotoksik etkisiyle de lipid peroksidasyonu artabilir. Yapılan çalışmalarda HD hastalarında plazma selenyum düzeyinde azalma olduğunda bir metaloenzim olan GPx aktivitesinde azalma, plazma bakır ve çinko düzeyinde azalma olduğunda ise eritrosit SOD aktivitesinde azalma saptanmıştır (21).

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarının çoğu anemiktir. Üremik dönemdeki aneminin en önemli nedenleri eritropoietin eksikliği, eritrosit yarı ömründe kısalma, eritropoezi inhibe eden toksik metabolitler ve trombosit fonksiyon bozuklukları sonucu gelişen kan kayıplarıdır (22,23). Bu hastalarda eritrosit yarı ömründeki kısalmanın bir nedeni de oksidan streste artmadır. Artmış ROP'lar ve azalmış antioksidan savunma sonucu eritrosit membranındaki lipid peroksidasyonu hızlanır, eritrosit deformabilitesi etkilenir ve eritrositlerin splenik sekestrasyonu artarak eritrosit yarı ömrü kısalmır (24).

HD hastalarında artmış olan oksidan stres, lipoprotein modifikasyonuna yol açar ve endotel hasarı ile birlikte aterom plağı oluşumunda anahtar rol oynar. Tekrarlayan lökosit stimülasyonu, kompleman aktivasyonu ve sitokin sekresyonu ile kronik inflamasyon meydana gelir (25).

V - HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE ANTİOKSİDANLAR

ROP'ların primer nedeni olmasalar da bazı hastalıkların patogeneplerinde rol oynayabildiklerinin ve doku hasarını arttırabildiklerinin anlaşılmasıyla birlikte antioksidan tedaviler klinik kullanıma girmiştir (2).

Günümüzde klinik kullanıma girebilecek ve artmış antioksidanları etkisizleştirebilecek olan antioksidanlar Tablo 7'de görölmektedir.

Tablo 7: Tedavide Kullanılabilen Antioksidanlar:

-
- Rekombinant SOD
 - Demir bağlayıcıları: Desferrioksamin
 - Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopurinol
 - Trimetazidin
 - E vitamini
 - C vitamini
 - Thiol içerenler: Glutasyon
 - A vitamini – beta karoten
 - Probukol
 - Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
-

VI - HEMODİYALİZ HASTALARINDA E VİTAMİNİ KULLANIMI

E vit. hayvan ve bitki dokularında bulunan yağda çözünen bir antioksidandır. Sekiz tipi içerisinde fizyolojik olarak en aktif olanı alfa-tokoferoldür. Başlıca vücut yağları, adaleler ve karaciğerde depolanır. Fazlası feces ile atılır. Per-oral (P.O) kullanım dozu 300-600 IU olup, yüksek dozlarda uzun süre kullanıldığında görme bozukluğu, jinekomasti, diyare, baş dönmesi, baş ağrısı, grip benzeri semptomlar, bulantı, karın ağrısı ve yorgunluk görülebilir (26).

E vit. elektronlar vererek serbest köklerin oksitlenmesini etkili biçimde önler (27). Bazı geniş klinik çalışmalar diyetle E vit. kullanımının koroner arter hastalığı üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Bir randomize alfa-tokoferol çalışması olan “Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)”, koroner arter hastalığı dökümanente edilmiş non-üremik hastalarda 800 IU/ gün dozunda P.O E vit. kullanımının ölümcül olmayan miyokard enfarktüsü oranını belirgin olarak (%70) azalttığını göstermiştir (28). Buna karşın sağlıklı bireylerde 400 IU/gün dozunda P.O E vit. kullanımının inflamasyon parametreleri üzerine hiçbir olumlu etkisi olmadığı da diğer çalışmalarda gösterilmiştir (29). “Secondary Prevention With Antioxidants Of Cardiovascular Disease In Endstage Renal Disease (SPACE)” çalışması, kardiyovasküler hastalığı olan HD hastalarında 800 IU/gün dozunda P.O E vit. kullanımının ölümcül miyokard enfarktüsünde %43, ölümcül olmayan miyokard enfarktüsünde %66 azalma sağladığını göstermiştir (30).

HD hastalarında P.O ve parenteral E vit. antioksidan tedavi olarak kullanılmıştır. Son yıllarda HD hastalarında E vit. ile kaplanmış diyaliz membranları da kullanılmaya başlanmıştır.

Tablo 8’de HD hastalarında P.O ve parenteral E vit ile yapılmış olan çalışmalardan bazıları özetlenmiştir.

Tablo 8: Hemodiyaliz Hastalarında E Vitamini ile Yapılan Bazı Çalışmaların Özeti

Çalışma	Hasta sayısı	Doz	Süre	Sonuç
Giardini ve ark. (31)	19	300 mg/gün i.m.	15 gün	Eritrosit membranında lipid peroksidasyonunda azalma
Ono Keiji (32)	30	600 mg/gün P.O	30 gün	Eritrosit fragilitesinde azalma, aneminin düzelmesi
Taccone-Gallucci ve ark. (33)	10	300 mg/gün i.m.	15 gün	Mononükleer hücrelerde lipid peroksidasyonunda azalma
Taccone-Gallucci ve ark. (34)	10	300 mg/gün i.m.	15 gün	Trombosit lipid peroksidasyonunda azalma
Yukawa ve ark. (35)	10	600 mg/gün P.O	15 gün	LDL oksidasyonunda azalma
Cristol ve ark. (36)	42	500 mg/gün P.O	6 ay	Eritropoietin ihtiyacında azalma
Khajehdehi ve ark. (37)	60	400 mg/gün P.O + 250 mg/gün P.O vitamin C	9 ay	Hemodiyaliz kramplarında % 97 oranında azalma
Roob ve ark. (38)	22	1200 IU P.O tek doz	Demir infüzyonundan 6 saat önce	Demir infüzyonunun arttırmış olduğu oksidatif stres üzerine olumlu etki
Maccarrone ve ark. (39)	8	300 mg/gün i.m.	6 ay	Periferik kan mononükleer hücrelerde
	8	600 mg/gün P.O		5-lipooksijenaz aktivitesinde azalma, her iki grup arasında fark yok

VII - E VİTAMİNİ İLE KAPLI DİYALİZ MEMBRANI

E vit. kaplı diyaliz membranı 4 ayrı tabakadan oluşur:

- 1) Temel selüloz esaslı kupramonyum rayon membran tabakası
- 2) Akrilik polimer + flororesin polimerden oluşan blok kopolimer kaplama
- 3) Oleil alkol tabakası
- 4) Vitamin E kaplama

Tüm tabakalar birbiri ile monovalan seviyede elektron bağları ile bağlanmıştır. Kupramonyum rayon membran yüzeyinin tümü E vit. ile % 100 kaplanmış olduğu için kan ile temas etmez. Kan ile temas eden üst yüzeydeki E vit. serbest radikallere elektron verir, onları etkisiz hale getirir (40).

Tablo 9'da HD hastalarında E vit. kaplı diyaliz membranı ile yapılmış olan çalışmalardan bazıları özetlenmiştir.

Tablo 9: Hemodiyaliz Hastalarında E Vitamini Kaplı Diyaliz Membranı ile Yapılan Bazı Çalışmaların Özeti

Çalışma	Hasta Sayısı	Süre	Sonuç
Buoncristiani ve ark. (41)	10	30 gün	Plazma ve eritrosit lipid peroksidasyonunda azalma
Girndt ve ark. (42)	21	4 hafta	T hücreleri aktivasyonu ve sitokin indüksiyonunda azalma
Bonnefont ve ark. (43)	12	3 ay	Plazma ve HDL vitamin E düzeylerinde artma, HDL oksidasyonunda azalma
Omata ve ark. (44)	7	5 hafta	Nötrofil aktivasyonunda azalma
Tarnag ve ark. (45)	24	8 hafta	Lökosit DNA içerisindeki 8-hidroksi 2'-deoksiguanozin düzeylerinde azalma, granülositlerde intrasellüler ROP yapımında azalma
Satoh ve ark. (46)	18	6 ay	Özellikle diyabetik popülasyonda oksidan stresi belirgin oranda azaltma
Mune ve ark. (47)	50	2 yıl	LDL oksidasyonunda azalma
Miyazaki ve ark. (48)	12	Tek seans	Vasküler endotel disfonksiyonunda düzelme ve LDL oksidasyonunda azalma

VIII - HEMODİYALİZ HASTALARINDA PER-ORAL E VİTAMİNİ VE

E VİTAMİNİ KAPLI DİYALİZ MEMBRANININ ETKİLERİNİN

KARŞILAŞTIRILMASI

Mydlik ve arkadaşları 8 HD hastası üzerinde yapmış oldukları çalışmada, ilk olarak hastalara 3 hafta süresince her HD seansı sonrası P.O 400 mg dozunda E vit. desteği sağlamışlar, daha sonraki 3 haftalık dönemde ise hastalarda HD sırasında E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlardır. Hastalarda SOD ve GPx gibi eritrosit antioksidan enzim aktivitelerini, plazma total antioksidan kapasitesini (TAC), MDA konsantrasyonu ve plazma E vit düzeylerini araştırmışlardır. P.O sağlanan E vit. desteği plazma E vit. düzeylerini anlamlı oranda (%22) arttırmış, ancak plazma TAC'de ve MDA konsantrasyonunda herhangi bir değişme olmamıştır. E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımı ise plazma E vit. düzeylerini önemli oranda (%33) arttırmakla birlikte, plazma TAC'de önemli oranda artış ve plazma MDA konsantrasyonunda önemli oranda azalma sağlamıştır (49).

Bu çalışma her iki tedavi seçeneğini karşılaştıran tek güncel çalışmadır. İzlem süresinin kısa olması ve aynı hasta grubunda iki yöntemin ardışık olarak karşılaştırılması bu ise en önemli dezavantajlarıdır.

Bizim çalışmamızın amacı ise demografik olarak benzer özellikler taşıyan ve HD tedavisi görmekte olan iki ayrı hasta grubunda her iki tedavi seçeneğinin uzun süreli kullanımda oksidan stres ve antioksidan savunma üzerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi HD ünitesinde yapılmıştır. KBY nedeniyle HD tedavisi uygulanmakta olan 25 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Tüm hastalar çalışmaya katılmadan önce bilgilendirilmiş ve gerekli izinleri alınmıştır.

Çalışma süresi 3 ay olarak belirlendi. Hastalar randomize olarak iki gruba dağıtıldı. Sigara içimi, kronik enfeksiyon, malignite, romatolojik hastalık, demir birikimi ve lipid düşürücü ilaç kullanımı hastalarda çalışma dışına çıkarma kriterleri olarak belirlendi. Çalışma süresi boyunca birinci gruptaki hastalara P.O günde 300 mg E vit. (Ephynal^R -Roche) verildi, ikinci gruptaki hastalarda ise HD'de E vit. kaplı diyaliz membranı kullanıldı (Clirans E 12/15^R – Terumo Company). Çalışmaya alınan tüm hastalara haftada 3 kez 4'er saatten oluşan standart HD tedavisi uygulandı. Hastalarda HD tedavisi sırasında bikarbonat tampon içeren diyalizat solüsyonları kullanıldı. P.O E vit. verilen grupta diyaliz membranı olarak kuprofan (kupramonyum sellüloz) kullanıldı (Clirans C 12/15^R – Terumo Company).

Çalışmaya alınan tüm hastalarda HD tedavisi sırasında antikoagülasyon için düşük molekül ağırlıklı heparin kullanıldı ve eritropoietin dozları 3 x 1000 U / hafta olacak şekilde düzenlendi. Hastalara çalışma süresi boyunca P.O ya da intravenöz demir tedavisi uygulanmadı. Hastalardan çalışma öncesinde ve çalışma süresi boyunca ayda bir kez olmak üzere toplam dört kez kan örnekleri alındı. Kan örnekleri HD seansından önce hastalarda mevcut olan arteriyovenöz fistülün arteriyel bölümünden alındı. Kan örnekleri bekletilmeden biyokimya bölümüne ulaştırıldı. Alınan kan örneklerinden plazma E vit. ve MDA düzeyleri ile GPx ve CAT aktiviteleri çalışıldı.

1) Plazma E Vit. Düzeyi Tayini :

Plazma E vit. düzeyi için antikoagülanlı tüplere alınan kan örnekleri 1500 g'de 10 dakika boyunca + 4 °C de santrifüj edildi. Plazma örnekleri analize kadar -70 °C de saklandı. Plazmada E vit. düzeyi, Shimadzu LC-6A yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) cihazı ile UV-Vis detektörde 291 nm de ölçüldü. Mobil faz olarak saf metanol kullanıldı, akış hızı 1 ml/dak idi. Kolon olarak, partikül çapı 5 µm olan 15 x 0.46 cm boyutlarında C 18 kolon kullanıldı. Standartlar % 100 etanol içinde 20, 40, 60 ve 80 µmol/L olacak şekilde hazırlandı. İnternal standart olarak alfa-tokoferol asetat kullanıldı. Örnek ön hazırlığı için heksan ile ekstraksiyon uygulandı (50).

2) Plazma MDA Düzeyi Tayini:

Plazma örneklerinde lipid peroksidasyonun derecesini belirlemek için antikoagülanlı tüplere alınan kan örnekleri 1500 g'de 10 dakika boyunca + 4 °C de santrifüj edildi. Plazma örnekleri analize kadar -70 °C de saklandı. Lipid peroksidasyonunun yan ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm de ölçümüne dayalı kolorimetrik bir yöntem uygulandı (Spektrofotometre: Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, UV-Vis). Standart eğrisi 1, 2 ve 5 nmol/mL'lik 1, 1, 3, 3 tetraetoksipropan ile hazırlandı (51).

3) GPx Aktivitesi Ölçümü:

Antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinden hemolizat hazırlamak için eritrosit paketine ¼ oranında soğuk deiyonize su eklendi. Hemolizatlar analize kadar -70 °C'de saklandı. Hemolizatlarda GPx aktivitesi Oxis Research TM kiti kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde GPx aktivitesi indirekt olarak ölçülmektedir. Organik bir peroksidin hemolizattaki GPx tarafından indirgenmesi sırasında oluşan okside glutatyon, ortama eklenen glutatyon redüktaz enzimi ile tekrar redükte glutatyona dönüştürülürken NADPH, NADP'ye okside olmaktadır. NADPH'nin NADP'ye dönüşümü sırasında gerçekleşen absorban azalması 340 nm de izlenmektedir (Spektrofotometre: Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, UV-Vis). Absorbanstaki azalmanın hızı, hemolizattaki GPx aktivitesi ile doğru orantılıdır. 1 U/mL'lik enzim aktivitesinin bir dakikada 1 nmol/mL NADPH'nin molar ekstinksiyon katsayısına bölünmekte ve GPx aktivitesi U/mL olarak hesaplanmaktadır. Daha sonra örnekteki Hb konsantrasyonuna bölünerek U/mg Hb olarak normalize edilmektedir.

4) CAT Aktivitesi Ölçümü:

Antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinden hemolizat hazırlamak için eritrosit paketine ¼ oranında soğuk deiyonize su eklendi. Hemolizatlar analize kadar -70 °C de saklandı. Hemolizatlarda CAT aktivitesi, Oxis Research TM kiti kullanılarak ölçüldü. Yöntemin prensibi, örneğin bilinen miktarda hidrojen peroksit (H₂O₂) ile enkübe edilmesine dayanmaktadır. Bir dakikalık enkübasyonun ardından, sodyum azid ile durdurulmakta ve reaksiyon karışımında kalan hidrojen peroksitin (H₂O₂) peroksidaz enzimi varlığında renk

reaktifi ile oluşturduğu kompleksin absorbandsı 520 nm de ölçülmektedir (Spektrofotometre: Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, UV-Vis). Reaksiyon karışımında kalan hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarı ve dolayısı ile ölçülen absorband, örnekteki CAT aktivitesi ile ters orantılı olmaktadır. Standart eğrisi 10, 20, 40, 60 ve 80 U/mL lik standartlar kullanılarak hazırlanmaktadır. Standart eğrisi kullanılarak CAT aktivitesi U/mL olarak belirlenmekte ve daha sonra örnekteki Hb konsantrasyonuna bölünerek U/mg Hb olarak normalize edilmektedir.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel analizde veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 10.0 bilgisayar paket programında değerlendirildi. İstatistiksel analizde gruplar arasındaki sayısal veriler için nonparametrik testler (Mann-Whitney U testi ve Friedman Varyans Analizi) kullanıldı. Gruplardaki hastaları yaş açısından karşılaştırmada student t testi, cinsiyet açısından karşılaştırmada “Ki kare” testi kullanıldı. 0.05’in altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

BULGULAR

A-) Başlangıç Özellikleri:

Çalışmaya toplam 25 hasta alındı. Çalışmaya alınan hastalar randomize olarak iki gruba ayrıldı. Birinci gruptaki 12 hastaya çalışma süresi boyunca P.O 300 mg/gün E vit. verildi, ikinci gruptaki 13 hastada ise çalışma süresi boyunca HD tedavisi sırasında E vit. kaplı diyaliz membranı kullanıldı. Gruplardaki hasta sayıları, erkek/kadın oranları Tablo 10'da verilmiştir. Söz konusu iki gruba ayrılan hastalar arasında cinsiyet ve yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Birinci grupta 6 erkek ve 6 kadın, ikinci grupta ise 7 erkek ve 6 kadın hasta bulunmaktaydı. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamaları birinci grupta $57,17 \pm 15,63$, ikinci grupta ise $57,38 \pm 14,84$ bulundu. Ayrıca hastalar çalışma öncesi serum kreatinin, hemoglobin (Hb), albumin, demir, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) ve transferrin satürasyonu (TS) gibi parametreler açısından incelendi. Tablo 10'da görüldüğü gibi çalışma öncesi incelenen bu parametrelerde her iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Hastalar KBY etyolojileri açısından değerlendirildiğinde birinci grupta 4 hastada kronik glomerülonefrit (Kronik GN), 3 hastada kronik piyelonefrit (Kronik PN), 2 hastada diabetes mellitus (DM), 1 hastada amiloidoz, 1 hastada aterosklerotik böbrek hastalığı mevcuttu ve 1 hastada ise etyoloji bilinmiyordu. İkinci grupta 4 hastada polikistik böbrek hastalığı (PBH), 2 hastada DM, 2 hastada Kronik GN, 2 hastada Kronik PN, 1 hastada hipertansiyon (HT) mevcuttu ve 2 hastada ise etyoloji bilinmiyordu.

Tablo 10: Çalışmaya Alınan Hastaların Genel Özellikleri

	Grup I: P.O E Vit. (ortalama ± SS)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama ± SS)	p değeri
Sayı	12	13	0,848
Yaş (yıl)	57,17 ± 15,63	57,38 ± 14,84	0,530
Cinsiyet (E/K)	6/6	7/6	0,851
Hemoglobin (gr/dl)	11,69 ± 1,45	11,49 ± 1,33	0,956
Kreatinin (mg/dl)	9,38 ± 2,51	10,36 ± 2,06	0,355
Albumin (g/dl)	4,01 ± 0,20	4,00 ± 0,28	0,721
Demir (µg/dl)	70,75 ± 23,72	56,46 ± 18,36	0,121
SDBK (µg/dl)	250,50 ± 61,96	212,15 ± 13,96	0,053
TS (%)	28,16 ± 7,30	27,46 ± 7,51	0,744
KBY etyoloji	4 Kronik GN 3 Kronik PN 2 DM 1 Amiloidoz 1 Ateroskleroz 1 Bilinmiyor	2 Kronik GN 2 Kronik PN 2 DM 4 PBH 1 HT 2 Bilinmiyor	

B-) CAT Aktivitelerindeki Değişiklikler :

Tablo 11’de her iki hasta grubunda çalışma öncesinde ve çalışma süresince aylık olarak ölçülen CAT aktiviteleri görülmektedir. Her iki grup arasında CAT aktiviteleri açısından gerek çalışma öncesi, gerekse de çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Grupların kendi içerisindeki CAT aktivitelerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 11: Hastalardaki CAT Aktiviteleri (U/mgHb)

	Grup I: P.O E Vit. (ortalama $\pm$ SS)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama $\pm$ SS)	p* değeri
CAT (Bazal)	138,13 $\pm$ 33,76	150,25 $\pm$ 65,21	0,689
CAT (1. ay sonu)	155,70 $\pm$ 70,16	140,16 $\pm$ 39,97	0,810
CAT (2. ay sonu)	151,25 $\pm$ 41,62	137,60 $\pm$ 37,60	0,437
CAT (3. ay sonu)	139,15 $\pm$ 41,70	126,96 $\pm$ 43,30	0,689
p** değeri	0,392	0,128	

p* Mann-Whitney U test

p** Friedman test

C-) GPx Aktivitelerindeki Değişiklikler:

Tablo 12’de her iki hasta grubunda çalışma öncesinde ve çalışma süresince aylık olarak ölçülen GPx aktiviteleri görülmektedir. Her iki grup arasında CAT aktiviteleri açısından gerek çalışma öncesi, gerekse de çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Grupların kendi içerisindeki GPx aktivitelerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 12: Hastalardaki GPx Aktiviteleri (mU/mgHb)

	Grup I: P.O E Vit. (ortalama $\pm$ SS)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama $\pm$ SS)	p* değeri
GPx (Bazal)	17,42 $\pm$ 6,75	14,46 $\pm$ 4,65	0,270
GPx (1. Ay sonu)	18,18 $\pm$ 6,38	14,43 $\pm$ 5,53	0,186
GPx (2. Ay sonu)	17,12 $\pm$ 6,51	14,20 $\pm$ 5,37	0,347
GPx (3. Ay sonu)	17,40 $\pm$ 6,19	15,46 $\pm$ 5,33	0,437
p**	0,241	0,624	

D-) MDA Düzeylerindeki Değişikler:

Tablo 13'te her iki hasta grubunda çalışma öncesinde ve çalışma süresince aylık olarak ölçülen MDA düzeyleri görülmektedir. 3. ay sonunda yapılan MDA ölçümlerde, P.O E vit. verilen hasta grubundaki MDA düzeyleri E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki MDA düzeylerine göre daha düşük bulunmuş ve bunun sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0.019$).

Her iki grupta çalışmanın 3. ayında ölçülen MDA düzeyleri ile çalışma öncesi ölçülen MDA düzeyleri arasındaki fark Delta (Δ) MDA olarak isimlendirilmiş, her iki grup arasında Δ MDA değerleri açısından istatistiksel analiz yapılmış ve bunun sonucunda istatistiksel olarak anlam taşıyan 0.026 gibi bir p değeri elde edilmiştir. Bu da P.O E vit. verilen birinci gruptaki hastalarda E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan ikinci gruptaki hastalara göre daha fazla bir MDA düşüşü sağlandığını göstermektedir. Her iki gruptaki Δ MDA değerleri Tablo 14'te görülmektedir.

Tablo 13: Hastalardaki MDA Düzeyleri (nmol/mL)

	Grup I: P.O E Vit. (ortalama $\pm$ SS)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama $\pm$ SS)	p* değeri
MDA (Bazal)	1,78 $\pm$ 0,45	1,94 $\pm$ 0,25	0,320
MDA (1. ay sonu)	1,51 $\pm$ 0,42	1,78 $\pm$ 0,32	0,123
MDA (2. ay sonu)	1,68 $\pm$ 0,51	1,84 $\pm$ 0,44	0,320
MDA (3. ay sonu)	1,48 $\pm$ 0,50	1,88 $\pm$ 0,40	0,019
p**	0,267	0,060	

Tablo 14: Hastalardaki Δ MDA Değerleri

	Grup I :P.O E Vit. (ortalama $\pm$ SEM)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama $\pm$ SEM)	p* değeri
Δ MDA	-0,30 $\pm$ 0,07	-0,06 $\pm$ 0,08	0,026

E-) Plazma E Vit. Düzeylerindeki Değişikler:

Tablo 15'te her iki hasta grubunda çalışma öncesinde ve çalışma süresince aylık olarak ölçülen plazma E vit. düzeyleri görülmektedir. Her iki grup arasında plazma E vit. düzeyleri açısından çalışma öncesi yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak, çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde P.O E vit. verilen hasta grubundaki plazma E vit. düzeyleri E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki plazma E vit. düzeylerine göre her ay daha yüksek bulunmuş ve bunun sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.047$, $p=0.01$, $p=0,000$, sırasıyla). Grupların kendi içerisindeki plazma E vit. düzeylerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde, P.O E vit. verilen hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmıştır ($p=0.005$). Bu da P.O E vit. verilen hastalarda plazma E vit. düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı oranda bir artış olduğunu göstermektedir.

Tablo 15: Hastalardaki Plazma E Vit. Düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$)

	Grup I: P.O E Vit. (ortalama $\pm$ SS)	Grup II: E Vit. Kaplı Diyaliz Membranı (ortalama $\pm$ SS)	p* değeri
Plazma E vit. (bazal)	31,07 $\pm$ 10,40	24,82 $\pm$ 7,84	0,152
Plazma E vit. (1. ay sonu)	37,92 $\pm$ 21,36	24,47 $\pm$ 5,89	0,047
Plazma E vit. (2. ay sonu)	43,91 $\pm$ 16,95	25,20 $\pm$ 5,06	0,001
Plazma E vit. (3. ay sonu)	45,64 $\pm$ 13,03	23,85 $\pm$ 7,32	0,000
p**	0,005	0,421	

Çalışma sırasında her iki hasta grubunda da tedavi iyi tolere edildi, herhangi bir yan etki görülmedi ve hiçbir hastada yan etki nedeniyle tedavi kesilmedi.

TARTIŞMA

KBY fonksiyonel nefron kitlesinin kaybı ile birlikte giden kalıcı glomerüler filtrasyon hızı (GFR) azalması durumudur. KBY, nefronların devamlı zedelenmesi ile karakterizedir ve bu zedelenme hızı hastalarda değişken olup genellikle kaçınılmaz şekilde son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerler. SDBY prevalansı, 60-75 yaş grubunda böbrek hastalığı insidansının artması ve mortalite oranlarının azalmasına bağlı olarak geçen on yılda yaklaşık % 8 artmıştır. Amerika Birleşik Devletleri Veri Sisteminde (USRDS) 2000 yılında 300.000'den fazla hastanın SDBY nedeni ile tedavi edildiği belirtilmiştir (52). Türk Nefroloji Derneği veri sisteminde 1999 yılı içerisinde ülkemizde SDBY tanısı alan eski ve yeni olguların sayısı 17.948 olarak belirtilmiştir. Kronik GN, DM ve HT, KBY etyolojileri açısından ülkemizde ilk üç sırada yer almaktadır (53).

SDBY'de renal replasman tedavi seçenekleri HD, periton diyalizi (PD) ve böbrek transplantasyonudur. HD, yarı geçirgen bir zar aracılığı ile temasa geçen kan ile diyalizat arasında olmaktadır. Temel mekanizma olarak difüzyon ile gerçekleştirilen bir işlemdir. Oksidan stres ROP oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Sadece ROP'ların saptanması oksidan stresi tanımlamaya yetmez, antioksidan enzim düzeylerinin azalması da önemlidir. HD hastalarında da oksidan stres artmış ve antioksidan savunma azalmıştır. Bu dengenin bozulmasında birçok etken rol oynamakla birlikte HD tedavisinin kendisi en önemli faktörlerdendir. HD sırasında membranla temasa geçen lökositlerin ve makrofajların aktivasyonu sonucu sitokin salınımı olur, bu ise oksidan stresi artırır. Polisülfon gibi sentetik membranların daha biyouyumlu olduğu, dolayısı ile kompleman sistemini daha az etkilediği bilinmektedir (54). HD tedavisi sırasında antioksidan enzimler artarken üremik ortam nedeniyle lipid peroksidasyonu azalmayabilir.

Maccarrone ve arkadaşları 13 HD hastası üzerinde yapmış oldukları çalışmada, HD hastalarında kontrol grubundaki sağlıklı hastalara göre eritrosit membranındaki lipid peroksidasyonun 3.2 kat daha fazla olduğunu göstermişlerdir (55)

Handelman ve arkadaşları 25 HD hastası üzerinde yapmış oldukları çalışmada, in vivo ortamda oksidan stresin bir göstergesi olan ve araşidonik asidin oksidatif modifikasyonu sonucu oluşan F2-izoprostan düzeylerinin kontrol grubundaki hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (56).

HD hastalarında artmış olan bu oksidan stres, lipoprotein peroksidasyonuna yol açar, bu ise endotel hasarı ile birlikte aterom plağı oluşumunda anahtar rol oynar. Ayrıca tekrarlayan lökosit stimülasyonu, kompleman aktivasyonu ve sitokin sekresyonu ile birlikte

kronik enflamasyon meydana gelir. Kronik enflamasyon HD hastalarında aterosklerozu hızlandırır; iştahsızlık ve halsizlik sonucu malnütrisyona oluşur. Bunlar ise HD hastalarında morbidite ve mortalitede artışa neden olur (57). ROP'ların eritrosit membranı üzerinde bulunan lipidlere karşı olan atağı intravasküler hemolize neden olur ve HD hastalarında eritropoietin ihtiyacını artırır (58).

ROP'ların primer nedeni olmasalar da bazı hastalıkların patogeneplerinde rol oynayabildiklerinin ve doku hasarını arttırabildiklerinin anlaşılmasıyla birlikte antioksidan tedaviler klinik kullanıma girmiştir. E vit. sık olarak kullanılan antioksidan tedavi seçeneklerinden birisidir (59).

HD hastalarında P.O ve parenteral yolla E vit. antioksidan tedavi olarak kullanılmıştır.

Bayes ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, 13 HD hastasına 3 ay süreyle her HD seansı sonrası P.O 400 mg E vit. vermişler ve çalışma sonunda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlamışlardır. MDA düzeylerindeki düşüşü hastalarda E vit. tedavisi ile lipid peroksidasyonundaki azalma ile açıklamışlardır (60).

Galli ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada ise, 3 hafta süresince 19 HD hastasına günde P.O 800 mg E vit. vermişler ve çalışma sonunda hastalarda plazma E vit. düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış sağlamışlardır. Ayrıca bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da E vit. verilen grupta oksidan stresin bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktanı (TBARs) düzeylerinde azalma ve bir antioksidan olan glutatyon düzeylerinde artma saptamışlardır. E vit.'in daha önce bu konuda yapılan benzer çalışmalarda olduğu gibi, sadece lipid peroksidasyonunu engellemeyip, aynı zamanda plazmadaki glutatyonu da oksidasyondan koruduğunu belirtmişlerdir (61).

Son yıllarda HD hastalarında E vit. ile kaplanmış diyaliz membranları da kullanılmaya başlanmıştır. P.O veya parenteral yolla E vit.tedavisine göre kullanım kolaylığı olması ve biyouyumlu olması bu membranın en önemli avantajlarıdır. Konvansiyonel membranlara göre daha pahalı bir tedavi seçeneği oluşturması ise bir dezavantajdır.

Shimazu ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, 6 HD hastasında 9 ay süreyle E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlar ve çalışma sonunda hastalardaki okside- LDL ve MDA düzeylerinde kontrol grubundaki konvansiyonel diyaliz membranı kullanılan hastalara göre ancak 9. ay sonunda istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptayabilmışlerdir. Okside-LDL ve MDA'nın HD hastalarında in vivo peroksidasyonun önemli göstergeleri oldukları ve uzun süreli antioksidan tedavi ile bu parametrelerde önemli düşüş sağlanabileceğini belirtmişlerdir

(62).

Tsuruoka ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, 10 HD hastasında 12 hafta süreyle E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlar, çalışma sonunda hastalarda MDA düzeylerinde azalma ve daha önceki çalışmaların aksine okside-LDL düzeylerinde artma saptamışlardır. Okside-LDL düzeylerindeki artışı makrofajlarca alımındaki azalma ve karaciğerde LDL metabolizmasındaki aktivasyon ile açıklamışlardır (63). Bu çalışma bazı hasta gruplarında E vit.'in oksidan stresin tedavisinde tek başına yeterli olamayabileceğini göstermektedir. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA'da azalma olmasına rağmen diğer bir parametre olan okside-LDL'nin artışı bunu kanıtlamaktadır.

Literatürde HD hastalarında P.O E vit. ve E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini araştıran bir çok çalışma olmasına rağmen, her iki tedavi seçeneğinin HD hastalarında bu sistem üzerine etkilerini karşılaştıran yeterli sayıda çalışma mevcut değildir.

Mydlik ve arkadaşlarının 8 HD hastası üzerinde yapmış oldukları çalışma her iki tedavi seçeneğini karşılaştıran tek güncel çalışmadır (49). Bu çalışmada ilk olarak hastalara 3 hafta süresince her HD seansı sonrası P.O 400 mg dozunda E vit. desteği sağlamışlar, daha sonraki 3 haftalık dönemde ise hastalarda HD sırasında E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlardır.

Hastalarda SOD ve GPx gibi eritrosit antioksidan enzim aktivitelerini, plazma total antioksidan kapasitesini (TAC), MDA konsantrasyonunu ve plazma E vit. düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışmada P.O E vit. desteği sağlanan dönemde plazma E vit. düzeyleri anlamlı oranda (%22) artmış, ancak plazma TAC'de önemli artış ve MDA konsantrasyonunda herhangi bir değişme olmamıştır. E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımı ise plazma E vit. düzeylerini önemli oranda (%33) arttırmakla birlikte, plazma TAC'de önemli artış ve plazma MDA konsantrasyonunda önemli oranda azalma sağlamıştır. E vit. kaplı diyaliz membranının P.O E vit. desteğine göre antioksidan savunmada daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu etkinin, E vit.'in kanda bulunan diğer antioksidanlar ile in situ etkileşimi sonucunda mı, yoksa HD sırasında membranda bağlı bulunan E vit.'in kana karışımı sonucunda mı olduğunu anlaşılabilmesi için ileriki yıllarda bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu vurgulamışlardır. Hastalarda her iki tedavi seçeneğinin ardışık olarak uygulanması ve wash-out döneminin olmaması bu çalışmanın en önemli dezavantajlarından. Bizim çalışmamızdaki hasta sayısı daha fazladır ve çalışma süremiz daha uzundur. Çalışmamıza alınan 25 hasta randomize olarak iki gruba ayrılmıştır ve gruplar homojendir.

Bizim çalışmamızın sonunda her iki grupta CAT ve GPx aktiviteleri açısından gerek çalışma öncesi, gerekse de çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca grupların kendi içerisindeki CAT ve GPx aktivitelerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($p>0.05$).

Bonnefont-Rousselot ve arkadaşları da yapmış oldukları çalışmada, 12 HD hastasında 3 ay süreyle E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlar, çalışma sonunda hastaların GPx aktivitelerinde herhangi bir değişim saptayamamışlardır. Aynı çalışmada hastalarda plazma selenyum düzeyleri de ölçülmüş ve düşük bulunmuştur. GPx'in selenyum bağımlı bir enzim olması dolayısı ile GPx aktivitelerinde artma olmamasını hastaların plazma selenyum düzeylerindeki düşüklüğe bağlamışlardır (43).

Galli ve arkadaşları da yapmış oldukları çalışmada, 15 HD hastasında 3 ay süresince E vit. kaplı diyaliz membranı kullanmışlar ve çalışma sonunda hastaların glutatyon düzeylerinde herhangi bir değişim saptayamamışlardır (64). Glutatyon ve GPx'in hücre içi antioksidanlar oldukları, HD hastalarında eritrosit ömrünün kısa olması dolayısı ile bu konuda uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Literatürde HD hastalarında P.O E vit. desteğinin ve E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımının CAT aktivitesi üzerine etkisini inceleyen çalışma mevcut değildir.

GPx ve CAT özellikle hücre içi antioksidan enzimlerdir. Düşük oranda plazmada da bulunurlar. E vit. ise özellikle hücre dışında etki gösteren bir antioksidandır. Sunulan çalışmamızda GPx ve CAT aktivitelerinde artış olmamasını bu enzimlerin hücre içinde etki göstermelerine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Sunulan çalışmamızda 3. ay sonunda yapılan MDA ölçümlerinde, P.O E vit. verilen hasta grubundaki MDA düzeyleri E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki MDA düzeylerine göre daha düşük bulunmuş ve bunun sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0.019$).

Her iki grupta çalışmanın 3. ayında ölçülen MDA düzeyleri ile çalışma öncesi ölçülen MDA düzeyleri arasındaki fark Δ MDA olarak isimlendirilmiş, her iki grup arasında Δ MDA değerleri açısından istatistiksel analiz yapılmış ve bunun sonucunda istatistiksel olarak anlam taşıyan 0.026 gibi bir p değeri elde edilmiştir. Bu da P.O E vit. alan birinci gruptaki hastalarda E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan ikinci gruptaki hastalara göre daha fazla bir MDA düşüşü sağlandığını göstermektedir.

Sunulan çalışmamızda her iki grup arasında plazma E vit. düzeyleri açısından çalışma

öncesi yapılan ölçümlerde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak, çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde P.O E vit. verilen hasta grubundaki plazma E vit. düzeyleri E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki plazma E vit. düzeylerine göre yüksek bulunmuş ve bunun sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.047$, $p=0.01$, $p=0.000$, sırasıyla). Grupların kendi içerisindeki plazma E vit. düzeylerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde P.O E vit. verilen hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmıştır ($p=0.005$).

E vit. özellikle plazmada bulunan bir antioksidandır ve ROP'ların lipid peroksidasyonunu engeller. Sunulan çalışmamızda, P.O E vit. desteği sağlanan hastaların MDA düzeylerindeki azalma hastalarda lipid peroksidasyonunun azaldığını kanıtlamaktadır. Aynı hasta grubunda plazma E vit. düzeylerinin yüksekliği de bunu desteklemektedir. KBY hastalarında HT, bozulmuş kalsiyum-fosfor dengesi, koroner arter hastalığı ve hiperlipidemi nedeniyle çok fazla P.O ilaç kullanımı mevcuttur. Antioksidan olarak tedavilere P.O E vit. eklenmesinden ziyade diyaliz membranlarının E vit. ile kaplanması ve bu yolla hastaya E vit. desteğinde bulunulması pratik bir yaklaşım olarak görülmektedir. Fakat çalışmamızda, E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubunda plazma E vit. düzeylerinde yükselme görülmemiştir ve bu tedavinin lipid peroksidasyonunu azaltmada yetersiz kaldığı saptanmıştır.

Oksidan stres ve antioksidan savunmanın aktif olarak işleyen bir sistem olduğu unutulmamalıdır. Hastaların beslenme durumları ve geçirdiği infeksiyonlar bu dengeyi etkileyebilir. Küçük hasta gruplarında uzun süreli çalışmalarda bu sistemin dinamik olması nedeniyle farklı sonuçlar elde edilebilir.

P.O E vit. ve E vit. kaplı diyaliz membranı ile yapılan çalışmalarda hasta sayıları oldukça düşüktür ve çalışma süreleri kısadır. Tedavinin ve çalışılan parametrelerin laboratuvar maliyetinin yüksek olması bunun bir nedeni olabilir.

Bu çalışmanın bulgu ve sonuçları, E vit.'in HD hastalarında oksidan stres - antioksidan savunma üzerine etkilerini ve hangi yolla verilmesi gerektiğini inceleyen, daha uzun süreli ve daha fazla hasta sayıları içeren çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

ÖZET

AMAÇ

Oksidan stres reaktif oksijen partikülleri (ROP) oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Birçok hastalığın patogeneğinde bu dengedeki bozulma da rol oynamaktadır. Hemodiyaliz (HD) hastalarında da oksidan stres artmış ve antioksidan savunma azalmıştır. HD hastalarında artmış olan oksidan stres lipoprotein modifikasyonuna yol açar, bu ise endotel hasarı ile birlikte aterom plağı oluşumunda anahtar rol oynar. E vitamini (E vit.) hayvan ve bitki dokularında bulunan ve yağda çözünen bir antioksidandır. Bu etkisinden dolayı E vit. HD hastalarında Per-oral (P.O) ve parenteral yolla antioksidan olarak kullanılmıştır. Son yıllarda HD hastalarında E vit. kaplı diyaliz membranı da kullanılmaya başlanmıştır. Literatürün taranmasında HD hastalarında P.O E vit. ile E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres üzerine etkilerini karşılaştıran yeterli sayıda çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada HD hastalarında P.O E vit. ve E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

HASTALAR VE BULGULAR

Çalışmaya toplam 25 hasta alındı. Çalışmaya alınan hastalar randomize olarak iki gruba ayrıldı. Çalışma süresi 3 ay olarak belirlendi. Birinci gruptaki 12 hastaya çalışma süresince P.O 300 mg/gün E vit. verildi, ikinci gruptaki 13 hastada ise çalışma süresince HD tedavisi sırasında E vit. kaplı diyaliz membranı kullanıldı. Her iki gruptaki hastalar demografik olarak benzer özellikler taşımaktaydı. Hastalardan çalışma öncesi ve çalışma süresince ayda bir olmak üzere toplam 4 kez kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, plazma E vit. ve malondialdehit (MDA) düzeyleri çalışıldı. Her iki grup arasında CAT ve GPx aktiviteleri açısından gerek çalışma öncesi, gerekse de çalışma süresi yapılan aylık ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların kendi içerisindeki CAT ve GPx aktivitelerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). 3. ay sonunda yapılan ölçümlerde P.O E vit. verilen hasta grubundaki MDA düzeyi E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki hasta grubundaki MDA düzeylerine göre daha düşük bulundu ve bunun

sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.019$). Her iki grup arasında plazma E vit. düzeyleri açısından çalışma öncesi yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Ancak, çalışma süresince yapılan aylık ölçümlerde P.O E vit. verilen hasta grubundaki plazma E vit. düzeyleri E vit. kaplı diyaliz membranı kullanılan hasta grubundaki plazma E vit. düzeylerine göre her ay daha yüksek bulundu ve bunun sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.047$, $p=0.01$, $p=0.000$, sırasıyla). Grupların kendi içerisindeki plazma E vit. düzeylerindeki aylık değişimler değerlendirildiğinde, P.O E vit. verilen hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptandı ($p=0.005$). Çalışma süresince P.O E vit. verilen hastalarda plazma E vit. düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı oranda bir artış olduğu görüldü.

SONUÇ

Bu çalışmada HD hastalarında P.O E vit. ve E vit. kaplı diyaliz membranı kullanımının oksidan stres ve antioksidan savunma üzerine etkileri incelenmiştir. Her iki tedavi seçeneğinin de CAT ve GPx aktiviteleri üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Çalışma süresince P.O E vit. verilen hastalarda aylık olarak ölçülen plazma E vit. düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı oranda ve progresif bir artış olmuştur. Yine aynı hasta grubunda 3. ay sonunda ölçülen ve lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan plazma MDA düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı oranda bir azalma olmuştur. P.O E vit. tedavisinin çalışma grubumuzda lipid peroksidasyonunun azaltılmasında daha etkili olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER

Oksidan stres, hemodiyaliz, E vitamini, E vitamini kaplı diyaliz membranı

KAYNAKLAR

1. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2135-2137
2. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların Patogenez ve Tedavisinde Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4: 96-101
3. Galli F, Ronco C. Oxidant Stress in Hemodialysis. *Nephron* 2000; 84;1-5
4. Champe Pamela. Vitamins. In: Harvey R and Champe P, eds. *Biochemistry* (2nd edition). Lippincott's Illustrated Reviews 1994, 340
5. Weiss MF. Vitamin E For Dialysis Patients. *Semin Dial* 2001;14 (1):71-72
6. MacGinley R, Westhuyen J, Saltissi D, et al. Evaluation of a novel vitamin E coated cellulosic membrane hollow fiber dialyzer. *ASAIO J* 2001; 47: 66-73
7. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4: 92-95
8. Ronald A, Hinder MD, Hubert S. Oxygen- Derived Free Radicals. *Arch Surg* 1991; 126: 104-105
9. Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxygen Species in Cell Toxicity. *Toxicology Letters* 1992: 547-551
10. Pal Yu Byung. Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiol Rev* 1994; 74: 139-162
11. Cross C, Halliwell B, Borish E, et al. Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545
12. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen Free Radicals and Iron Relation to Biology and Medicine: Some Problems and Concepts. *Arch Biochem and Biophys* 1986; 246: 501-514
13. Ertan T, Soran A, Kılıç M ve ark. Kan Malondialdehid (MDA) ve Total Antioksidan Seviyenin (TAS) Önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001; Cilt 2, Sayı 4, ss 154-167
14. Gutteridge John. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828
15. Halliwell Barry. The Role of Oxygen Radicals in Human Disease, with Particular Reference to the Vascular System. *Haemostasis* 1993; 23 (suppl 1):118-126
16. Winrow V R, Winyard P G, Morris C J, Blake D R. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993; 49: 506-522

17. Galli F, Canestrari F, Buoncristiani U, et al. Biological Effects of Oxidant stress in Haemodialysis: The Possible Roles of vitamin E. *Blood Purif* 1999; 17: 79-94
18. Halliwell B, Gutteridge J. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Archives of Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8
19. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hemodiyaliz Hastalarında Oksidan Stres ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4:102-105
20. Vanella A, Geremia E, Pintura R, et al. Superoxide dismutase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of uremic patients on chronic dialysis. *Acta Haemat* 1983;70:312-315
21. Richard M, Arnaud J, Jurkowitz C, et al. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57: 10-15
22. Naets JP. Hematologic disorders in renal failure. *Nephron* 1975; 45:1-9
23. Eschbach and Adamson. Anemia of end-stage renal disease. Editorial review. *Kidney Int* 1985 ; 28: 1-5
24. Vijoen M, Oliveria A, Milne F, et al. Physical properties of the red blood cells in chronic renal failure. *Nephron* 1991; 59: 271-278
25. Yeun J, Kaysen G. C-Reactive protein, oxidative stress, homocystein, and troponin as inflammatory and metabolic predictors of atherosclerosis in ESRD. *Curr Opin in Nephrol Hypertens* 2000; 9 : 621-630
26. Frei B. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action. *Am J Med* 1994; 97 (suppl 3A) : 6-13
27. Bast A, Guido R, Haenen M, Cees J, Doelman A. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *The Am J Med* 1991; 91 (suppl 3C) : 2-13
28. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart antioxidant study (CHAOS). *Lancet* 1996; 347: 781-786
29. Kaul N, Deveraj S, Scott M, et al. Failure to demonstrate a major anti-inflammatory effect with alpha-tocopherol supplementation in normal subjects. *Am J Cardiol* 2001; 87: 1320-1323
30. Boaz M, Smenata S, Weinstein T, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1213-1218

31. Giardini O, Taccone-Gallucci M, Lubrano R, et al. Effects of alpha-tocopherol administration on red blood cell membrane lipid peroxidation in haemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1984; 21: 174-177
32. Ono K. Effects of large dose vitamin E supplementation on anemia in haemodialysis patients. *Nephron* 1985; 40: 440-445
33. Taccone-Gallucci M, Giardini O, Ausello C, et al. Vitamin E supplementation in hemodialysis patients: effects on peripheral blood mononuclear cells lipid peroxidation and immune response. *Clin Nephrol* 1986; 25: 81-86
34. Taccone-Gallucci M, Lubrano R, Del Principe D, et al. Platelet lipid peroxidation in haemodialysis patients. Effects of vitamin E supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 975-978
35. Yukawa S, Hibino A, Maeda T, et al. Effect of alpha-tocopherol on in vitro and in vivo metabolism of low-density lipoproteins in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (suppl 3) : 1-3
36. Cristol J P, Bosc J Y, Badiou S, et al. Erythropoietin and oxidative stress in haemodialysis: beneficial effects of vitamin E supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2312-2317
37. Khajehdehi P, Mojerlou M, Behzadi S, et al. A randomized, double-blind, placebo controlled trial of supplementary vitamins E, C and their combination for treatment of haemodialysis cramps. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1448-1451
38. Roob JM, Khoschsorur G, Tiran A, et al. Vitamin E attenuates oxidative stress induced by intravenous iron in patients on haemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11 : 539-549
39. Maccarrone M, Meloni C, Manca-di-Villahermosa, et al. Vitamin E suppresses 5-Lipoxygenase-Mediated Oxidative Stress in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Haemodialysis Patients Regardless of Administration Route. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 964-969
40. Sasaki M, Hosoya N, Saruhasi M, et al. Vitamin E Modified Cellulose Membrane. *Artif Organs* 2000; 24 (10) : 779-789
41. Buoncristiani U, Galli F, Rovidati S, et al. Oxidative damage during haemodialysis using a vitamin-E-modified dialysis membrane: A preeliminary characterization. *Nephron* 1997; 77: 57-61
42. Girndt M, Lengler S, Kaul H, et al. Prospective crossover trial of the influence of vitamin E-coated dialyser membranes on T-cell activation and cytokine induction. *Am J Kidney Dis* 2000; 35:95-104

43. Bonnefont-Rousselot D, Lehmann E, Jaudon M, et al. Blood oxidative stress and lipoprotein oxidizability in haemodialysis patients: effect of the use of a vitamin E-coated dialysis membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 2020-2028
44. Omata M, Higuchi C, Demura R, et al. Reduction of neutrophil activation by vitamin E modified dialyzer membranes. *Nephron* 2000;85: 221-231
45. Tarng D C, Huang T P, Liu T, et al. Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2'- deoxyguanosine level in leukocyte DNA of haemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58: 790-799
46. Satoh M, Yamasaki Y, Nagake Y, et al. Oxidative stress is reduced by the long term use of vitamin E-coated dialysis filters. *Kidney Int* 2001; 59: 1943-1950
47. Mune M, Yukawa S, Kishino M, et al. Effect of vitamin E on lipid metabolism and atherosclerosis in ESRD patients. *Kidney Int* 1999; 56(suppl 71): 126-129
48. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, et al. Haemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress. *Circulation* 2000; 101: 1002-1006
49. Mydlik M, Derzsiova K, Oliver R, et al. A modified dialyzer with vitamin E and antioxidant defense parameters. *Kidney Int* 2001; 59 (suppl 78) : 144-147
50. Arnaud J, Fortis I, Blacher S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1991; 572: 117-131
51. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310
52. U. S. Renal Data System (USRDS) verileri ([http:// www.med.umich.edu/usrds/](http://www.med.umich.edu/usrds/) site ziyaret tarihi Mart 2002)
53. Türk Nefroloji Derneği Registry Raporu 1999; sayfa 8
54. Dhondt A, Vanholder R, Waterloss M, et al. Leukocyte CD 14 and CD 45 expression during hemodialysis: Polysulfone versus cuprophane. *Nephron* 1996; 74: 342-348
55. Maccarrone M, Taccone-Gallucci, Meloni C, et al. Activation of 5- Lipooxygenase and Related Cell Membrane Lipoperoxidation in Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 1999;10: 1991-1996
56. Handelman G, Walter M, Garry J, et al. Elevated plasma F2-isoprostanes in patients on long-term hemodialysis. *Kidney Int* 2001; 59: 1960-1966
57. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911

58. Klemm A, Voigt C, Friedrich M, et al. Determination of erythrocyte antioxidant capacity in haemodialysis patients using electron paramagnetic resonance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 2166-2171
59. Meydani M. Vitamin E. *Lancet* 1995; 345: 170-175
60. Bayes B, Cruz Pastor M, Bonal J, Junca J, Romero R. Homocysteine and lipid peroxidation in haemodialysis: role of folic acid and vitamin E. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2172-2175
61. Galli F, Varga Z, Balla J, et al. Vitamin E, lipid profile, and peroxidation in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 59 (suppl 78) : 148-154
62. Shimazu T, Ominato M, Toyoma K, et al. Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane on neutrophil superoxide anion radical production. *Kidney Int*; 59 (suppl 78): 137-143
63. Tsuraka S, Kawaguchi A, Hasayaka T, et al. Vitamin E-bonded hemodialyzer improves neutrophil function and oxidative stress in patients with end-stage renal failure. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 :127-33
64. Galli F, Rovidati S, Chiarantini L, et al. Bioreactivity and biocompatibility of vitamin E-modified multilayer hemodialysis filter. *Kidney Int* 1998; 54: 580-589

REPRODUCTION OF THIS
DOCUMENTATION IS PROHIBITED