Experimed 2018; 8(1): 11-7

ORİJİNAL ARAŞTIRMA
ORIGINAL ARTICLE

DOI: 10.26650/experimed.2018.430561

Diyaliz Tedavisi Uygulanan ve Uygulanmayan Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalarda Protein Oksidasyon Ürünlerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Protein Oxidation Products in Patients With Chronic Renal Failure Receiving Dialysis or Not

Cihan Coşkun[1], Alev Kural[2], Macit Koldaş[2]

[1]Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, İstanbul, Türkiye
[2]İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Coşkun C, Kural A, Koldaş M. Evaluation of Protein Oxidation Products in Patients With Chronic Renal Failure Receiving Dialysis or Not. Experimed 2018; 8(1): 11-7.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada replasman tedavisi alan ve almayan kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarının kan protein oksidasyon ürünlerinin düzeylerini değerlendirmek ve hasta kişiler ile sağlıklı kişileri karşılaştırmak için kontrol grubu (n=35) ve hasta grupları oluşturuldu.

Gereç ve Yöntem: Hasta grupları replasman tedavisi almayan KBY hasta grubu (n=36), hemodiyaliz (HD) tedavisi gören hasta grubu (n=64) ve periton diyaliz (PD) tedavisi gören hasta grubu (n=21) olmak üzere şekillendirildi. Daha sonra ileri düzey okside protein ürünleri (AOPP) ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE)'in düzeyleri bakımından bu gruplar değerlendirildi.

Bulgular: Sonuç olarak, replasman tedavisi almayan KBY hasta grubunun AGE düzeyleri haricinde, diğer tüm grupların AOPP ve AGE düzeylerinin kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı. İstatistiksel olarak en önemli artışın ise HD hasta grubunda olduğu tespit edildi. Grup içi değerlendirmeler sonucunda hiçbir grupta AOPP ve AGE düzeyleri arasında ilişki saptanmadı.

Sonuç: Bu sonuçlara göre KBY'nin oksidatif stresle birlikte seyrettiği, replasman tedavisi gören KBY hastalarında ve özellikle de HD tedavisi gören hastalarda oksidatif stresin çok daha şiddetli olduğu gözlemlendi. Son olarak, HD tedavisi gören gruptaki hastaların diyabet olup olmamasının sonuçları etkilemediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, hemodiyaliz, periton diyalizi, ileri düzey okside protein ürünleri, ileri glikasyon son ürünleri

ABSTRACT

Objective: In this study, control (n=35) and groups were formed to evaluate the levels of blood protein oxidation products in patients with chronic renal failure (CRF) who did and did not receive replacement therapy and to compare the patients with healthy subjects.

Material and Method: The groups were the CRF (n=36) group that did not receive replacement therapy, patients who were undergoing hemodialysis (HD) (n=64), and patients who were undergoing peritoneal dialysis (PD) (n=21). These groups were evaluated for the production of advanced oxidation protein product (AOPP) and advanced glycated end product (AGE) levels.

Results: As results, the AOPP and AGE values of all groups increased compared to the control group, except for the AGE levels of the patients with CRF who did not receive replacement therapy. The most significant increase was found in the HD patient group. No relationship was detected between the AOPP and AGE values in any group.

Conclusion: According to these results, CRF is accompanied by oxidative stress, and the oxidative stress is much more severe in patients with CRF receiving replacement therapy, particularly in patients undergoing HD. Is unknown if the results of patients undergoing HD were affected by the presence of diabetes.

Keywords: Advanced glycated end products, advanced oxidation protein products, chronic renal failure, hemodialysis, peritoneal dialysis

GİRİŞ

Normal metabolik süreçte sürekli olarak reaktif türler meydana gelmesine ve çeşitli fizyolojik süreçlerde görev almalarına rağmen, oksidatif ürünlerin aşırı üretimi pek çok hastalıkta olduğu gibi kronik böbrek yetmezliği (KBY)'nin etyolojisinde de yer almaktadır. KBY'deki ilerleyici fonksiyon kaybını açıklamak üzere öne sürülen mekanizmalardan biri de oksidatif strestir. Özellikle nötrofil, miyeloperoksidaz (MPO) ve hipoklorik asit (HOCl) aracılı reaksiyonlar, KBY'de

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Cihan Coşkun **E-mail:** kuzeycihan2012@gmail.com
Geliş Tarihi/Received Date: 04.06.2018 **Kabul Tarihi/Accepted Date:** 04.06.2018
© Copyright 2018 by The Istanbul University Faculty of Science • Available online at http://experimed.istanbul.edu.tr/tr/_
© Telif Hakkı 2018 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi • Makale metnine http://experimed.istanbul.edu.tr/tr/_sayfasından ulaşılabilir.

gözlenen oksidatif stresin başlıca kaynağı olarak kabul edilmekte ve bu oksidatif reaksiyonlar, doğrudan enflamasyonla ilişkili görünmektedir (1, 2). Üremik hastalarda serbest radikallerin aşırı üretimi ya da yetersiz antioksidan kapasite nedeniyle oksidatif dengenin bozulduğuna dair görüşler giderek önem kazanmakta, hatta diyaliz ortamı oksidatif stres için bir model olarak düşünülmektedir (3). Yapılan çalışmalar sonucunda, idame hemodiyaliz (HD) tedavisi gören hastalarda yüksek düzeyde enflamasyon ve oksidatif stresin meydana geldiğini gösteren güçlü kanıtlar elde edilmiştir (4). Özellikle bu hastalarda kanın, kullanılan biyo-uyumlu olmayan diyaliz membranı ile etkileşimi sonucunda nötrofil aktivasyonunun tetiklenmesi ile süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) , hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikaller ($OH^{\cdot}$) ve HOCl gibi reaktif oksijen türleri (ROT)'nin yapımının arttığı (5) bildirilmektedir. Aynı zamanda in vivo olarak aktif nötrofillerce üretilen HOCl'nin, ileri düzey okside protein ürünleri (AOPP) olarak adlandırılan bir oksidatif stres belirteci oluşturduğu bildirilmiştir (6). Bunun yanı sıra, diyalizattan endotoksin parçacıklarının akışı, kateterler ve arteriyo-venöz greftler ile etkileşim, kronik enfeksiyonlar, aşırı demir yüklenmesi ve diyaliz hastalarında ki üremik toksinlerin yeterince uzaklaştırılamaması da KBY hastalarındaki oksidatif stresi arttıran diğer etkenlerdir. Ayrıca diyabet hastalığı (DM)'nın, KBY hastalarındaki oksidatif stresi agreve ettiği iddia edilmektedir (7). Aynı zamanda, periton diyalizi (PD) hastalarında peritonun hiperosmolar, düşük pH'lı ve yüksek glukoz içerikli diyalizat ile sürekli olarak maruziyeti, düşük dereceli bir enflamasyona neden olmaktadır (8). Isıtma ile sterilizasyon ve uzun süreli saklama sonucunda ise, peritoneal diyaliz sıvısında glukoz yıkım ürünlerinin oluştuğu ve bu ürünlerin glikasyon reaksiyonlarıyla ileri glikasyon son ürünleri (AGE) gibi oksidatif stres belirteçlerinin oluşumunu hızlandırdığı ve peritoneal membran üzerinde olumsuz etkiler ortaya çıkarttığı düşünülmektedir (9, 10). Diğer taraftan PD hastalarında yüksek geçirgenliğe sahip peritonun diyalizer görevi yapması ve rezidüel renal fonksiyonun daha iyi olması nedeniyle, üremik toksinlerin peritondan daha etkili bir şekilde temizlendiği ve HD hastalarına göre PD hastalarında plazma ve doku düzeylerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (11).

Çalışmamızda, diyaliz tedavisi görmeyen KBY hastaları ile HD ve PD tedavisi gören hasta grupları arasında, AOPP ve AGE olarak tanımlanan protein oksidasyon ürünlerinin kan düzeyleri bakımından fark olup olmadığının tespit edilmesi amaçlandı. Aynı zamanda hasta gruplarından elde edilen AOPP ve AGE değerleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldı. HD hastalarının hem diyaliz öncesi hem de diyaliz sonrası AOPP ve AGE düzeyleri karşılaştırmalarda dikkate alındı. Son olarak, hasta gruplarında DM'nin olup olmamasının protein oksidasyon ürünleri üzerine etkisi araştırıldı. Ancak HD grubu haricindeki hasta gruplarında istatistiksel değerlendirme açısından yeterli sayıda DM'li hasta bulunmadığından, bu değerlendirme sadece HD hasta grubunda yapıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Grupları

Çalışma grubu HD tedavisi alan 64 hasta (36 erkek; 28 kadın), PD tedavisi gören 21 hasta (13 erkek; 8 kadın) ve şimdiye kadar diyaliz tedavisi olmayan 36 KBY'li hasta (20 erkek, 16 kadın) ile 35 sağlıklı birey (11 erkek; 24 kadın) içeren kontrol grubundan oluşturuldu. Bu çalışma Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yapıldı. Tüm hastalardan hasta onamı alındı. HD tedavisi alan hastaların yaş ortalaması 56,3±14,6 idi ve özel iki hastanenin diyaliz ünitesinde haftada üç kez 4 saat bikarbonatlı HD tedavisi görüyorlardı. Hastalar ortalama 36 aydır HD'ye girmekteydiler. Numunelerin toplandığı iki diyaliz merkezinde de diyaliz işleminde sentetik membranlı diyalizerler kullanılmaktaydı. Hafta ortası seansından hemen önce ve diyaliz bittikten yaklaşık 30 dakika sonra hastalardan uygun örnekler alındı. PD hasta grubuna ait kan örnekleri, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Periton Diyalizi Polikliniği'nden elde edildi. Yaş ortalaması 46,7±15,5 olan hastaların 15 (%71)'i sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) ve 6 (%29)'sı otomatik periton diyalizi (APD) programında idi ve hastalara ortalama 18±7 aydır diyaliz uygulanmaktaydı. Hastaların hepsi düşük glukoz içerikli standart PD solüsyonları kullanıyordu. Önceden herhangi bir diyaliz tedavisi görmemiş KBY hasta grubu ise, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Polikliniği tarafından takipleri yapılan ve tedavileri programlanan hastalardı. Bu grubun yaş ortalaması 57,1± 15,4 idi. 35 sağlıklı birey ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Bu grubun yaş ortalaması 34,3±7,8 idi. Çalışmaya dahil olanlardan gönüllü katılım için onaylar alındı.

Örneklerin Alımı, Hazırlanması ve Saklanması

AOPP çalışması için kan numuneleri kübital venden, EDTA'lı tüpe (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) alındı. 1660 x g'de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, porsiyonlara ayrılarak ependorf tüpleri içinde -20°C'de saklandı. AGE çalışması için ise kan numuneleri kübital venden antikoagülansız jelli tüpe (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) alındı. 1450 x g'de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi, porsiyonlara ayrılarak ependorf tüpleri içinde -20°C'de saklandı. Tüm örnekler ortalama 30 gün içinde çalışıldı. AOPP düzeyi Olympus AU 2700 otoanalizör (Beckman Coulter Inc, ABD)'de, AGE düzeyi ise Biorad marka spektroflorometre (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, ABD)'de çalışıldı.

İstatistiksel Değerlendirmeler

Veriler "Statistical Package for Social Sciences for Windows 12.0" (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) programı ile değerlendirildi. Grupların normal dağılıma uygunluğu "Kolmogorov-Smirnov", varyansların homojenliği "Levene" testi ile değerlendirildi. Kategorik verilerin karşılaştırılması "Ki-kare" testi ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda "Oneway ANOVA" ve "Kruskal Wallis" testleri kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda çoklu karşılaştırma testleri (post-hoc) olarak "Bonferroni" ve "Dunn" testleri kullanıldı. HD grubundaki hastaların AOPP ve AGE düzeyleri yönünden diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası ölçümleri arasında fark olup olmadığını test etmek için ″Eşleştirilmiş T″ testi kullanıldı. Kontrol ve hasta gruplarının grup içi AOPP ve AGE düzeyleri arasındaki ilişkiler "Pearson" ve "Spearman" korelasyon analizleri ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için $p<0,05$ esas alındı.

AOPP Çalışma Prosedürü

Çalışma öncesinde oda ısısına getirilen örnekler ve standartlar daha önceden Olympus AU 2700 cihazına uyarlanmış olan programda çalışıldı. Bunun için:

- 40 µL standart veya plazma üzerine 160 µL PBS eklenip karıştırılarak 25 sn inkübe edildi. Karışımın absorbansı 340 nm'de okutuldu.
- Sonra 20 µL asetik asit eklenip, 25 sn inkübe edildi.
- Son olarak 10 µL KI çözeltisi eklendi ve tekrar 25 sn inkübe edilip absorbans yeniden okutuldu.
- Tüm basamaklar 37°C'de tek küvette gerçekleştirildi ve zaman aralıkları her basamak için kullanılan analizörün program karakteristiklerine göre 25 sn veya daha uzun olacak şekilde ayarlandı (12).

5 standardın konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans (A) değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

AGE Çalışma Prosedürü

Çalışma öncesinde oda ısısına getirilen örnekler Biorad marka spektroflorometre'de çalışıldı. Aşağıda tanımlanmış olan çalışma prosedürü uygulandı:

- Hasta ve kontrol grubuna ait serumlar PBS ile (pH 7,4) 1/50 oranında seyreltildi.
- Biorad marka spektroflorometrede maksimum eksitasyon 350 nm, maksimum emisyon 440 nm dalga boylarındaki floresans yoğunluğu "Arbitrary Units" (AU) olarak kaydedildi. Sonrasında AU/gram protein oranları bulundu (13). Ancak çalışma içinde sonuçlar AU olarak verildi.

BULGULAR

Gruplar yaş açısından karşılaştırıldığında kontrol grubu ile HD ve KBY grubu arasında çok ileri düzeyde fark var iken (p=0,000), kontrol grubu ile PD grubu arasında ileri düzeyde (p<0,01) fark bulundu. Gruplar cinsiyet açısından karşılaştırıldığında ise, kontrol grubu ile hasta grupları arasında anlamlı fark bulundu (p<0,001, her biri için). Bununla birlikte hasta grupları arasında anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05, her biri için). AOPP düzeyleri bakımından KBY ve PD grup ortalama değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti (p<0,05, her biri için). AOPP'nin hemodiyaliz öncesi (HDÖ) ve hemodiyaliz sonrası (HDS) düzeyleri de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0.001, her biri için). KBY ile PD gruplarının AOPP düzeyleri arasında fark bulunmazken (p>0,05), HD grubunun HDÖ ve HDS'ye ait AOPP düzeyleri, hem KBY grubunun (p<0,001, her biri için) hem de PD grubunun AOPP düzeylerinden anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla p<0,05, p<0,001). Benzer şekilde, HD grubundaki hastaların diyaliz öncesi AOPP düzeyleri de, diyaliz sonrasına göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,001).

İleri glikasyon son ürünleri düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olduğu görüldü (p<0,001). İkili karşılaştırmalarda sadece kontrol ile KBY grupları arasında fark bulunmazken (p>0,05), kontrol grubunun ortalama AGE düzeyi, hem PD grubununkinden (p<0,05) hem de HD hastalarının diyaliz öncesi ve sonrasına ait AGE düzeylerinden anlamlı derecede düşüktü (p<0,000, her biri için). Hasta grupları AGE düzeyleri bakımından ikili olarak karşılaştırıldığında KBY grubunun ortalaması, PD grubuna göre düşüktü (p<0,05). KBY ve PD gruplarının AGE düzeyleri ise, HD grubunun diyaliz öncesi ve sonrası AGE düzeylerine göre belirgin şekilde düşüktü (p<0,001 her biri için). HD grubunun diyaliz öncesi ve sonrası AGE düzeyleri karşılaştırıldığı zaman, diyaliz işlemi sonrasında AGE düzeylerinin ciddi derecede düştüğü gözlemlendi (p<0,001) (Tablo 1).

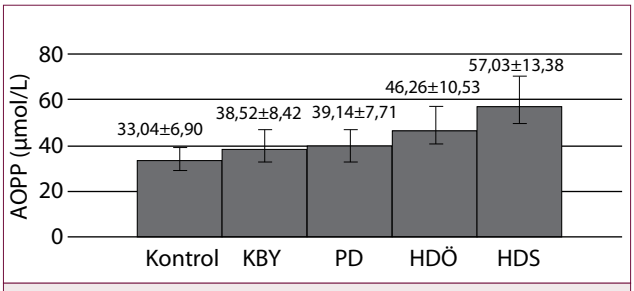
Tüm gruplara ait olan AOPP ve AGE düzeylerinin sütun grafikleri Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Hemodiyaliz tedavisi gören hasta grubunun diyaliz öncesi AOPP ve AGE düzeyleri hastaların DM hastalığı olup olmama-

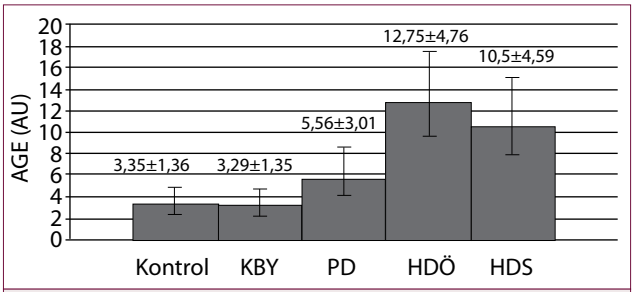
Tablo 1. Çalışma gruplarının ortalama AOPP ve AGE düzeyleri

Kontrol ve hasta grupları	AOPP (µmol/L) Ortalama±SD	AGE (AU) Ortalama±SD
Kontrol grubu (n=35)	33,04±6,90	3,35±1,36
KBY grubu (n=36)	38,52±8,42	3,29±1,35
PD grubu (n=21)	39,14±7,71	5,56±3,01
HDÖ grup (n=64)	46,26±10,53	12,75±4,76
HDS grup (n=64)	57,03±13,38	10,50±4,59

AOPP: ileri düzey okside protein ürünleri; AGE: ileri glikasyon son ürünleri; KBY: kronik böbrek yetmezliği; PD: periton diyalizi; HDÖ: hemodiyaliz öncesi; HDS: hemodiyaliz sonrası; AU arbitrary units, SD standart sapma



Şekil 1. Grupların AOPP düzeylerini gösteren sütun grafiği
AOPP: ileri düzey okside protein ürünleri; KBY: kronik böbrek yetmezliği; PD: periton diyalizi; HDÖ: diyaliz öncesi; HDS: diyaliz sonrası

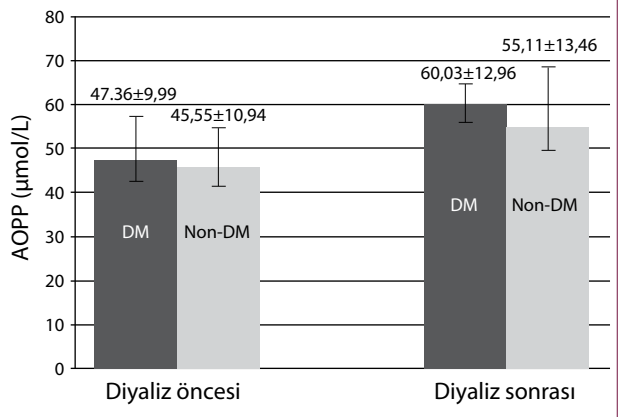


Şekil 2. Grupların AGE düzeylerini gösteren sütun grafiği
AGE: ileri glikasyon son ürünleri KBY kronik böbrek yetmezliği; PD: periton diyalizi; HDÖ: diyaliz öncesi; HDS: diyaliz sonrası

Tablo 2. Hemodiyaliz hasta grubunun diyabetli ve diyabetli olmayan alt gruplarının AOPP ve AGE düzeyleri

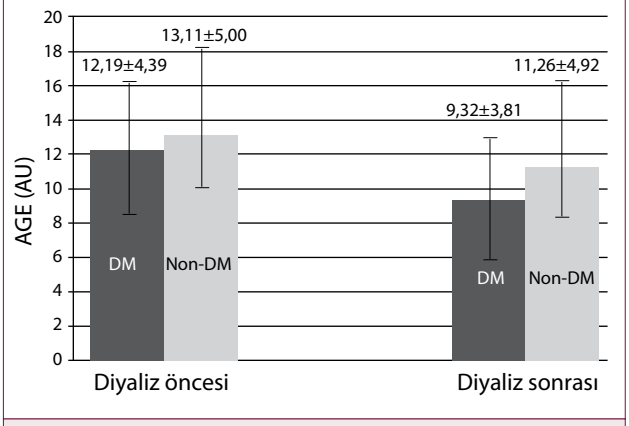
Hasta grupları	Diyaliz Öncesi Ortalama±SD	Diyaliz sonrası Ortalama±SD
Diyabetli grup (n=25) (AOPP, µmol/L)	47,36±9,99	60,03±12,96
Diyabet olmayan grup (n=39) (AOPP, µmol/L)	45,55±10,94	55,11±13,46
Diyabetli grup (n=25) (AGE, AU)	12,19±4,39	9,32±3,81
Diyabet olmayan grup (n=39) (AGE, AU)	13,11±5,00	11,26±4,92

AOPP: ileri düzey okside protein ürünleri; AGE: ileri glikasyon son ürünleri



Şekil 3. Hemodiyaliz grubunun diyaliz öncesi ve sonrasındaki AOPP düzeylerini diyabet mevcudiyetine göre karşılaştırmalı gösteren sütun grafik

DM: diabetes mellitus; Non-DM: diyabet hastalığı olmayanlar



Şekil 4. Hemodiyaliz grubunun diyaliz öncesi ve sonrasındaki AGE düzeylerini diyabet mevcudiyetine göre karşılaştırmalı gösteren sütun grafik

DM: diabetes mellitus; Non-DM: diyabet hastalığı olmayanlar

sına göre alt gruplara ayrılarak karşılaştırıldığında, DM olan hasta grubunun diyaliz öncesi AOPP düzeyi, DM olmayan hasta grubunkinden daha yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0,05). DM olan ve olmayan hastaların diyaliz sonrası AOPP düzeyleri karşılaştırıldığında da benzer sonuçlar elde edildi (p>0,05). HD hastalarının diyaliz öncesi AGE değerleri karşılaştırıldığında ise AOPP'nin aksine, AGE düzeyleri DM olan hastalarda daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Diyaliz sonrası AGE düzeyleri karşılaştırıldığı zaman da benzer sonuçlar elde edildi (p>0,05 her biri için) (Tablo 2).

HD grubunun DM olan ve olmayan alt gruplarının diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası AOPP ve AGE düzeylerini gösteren sütun grafikler şekil 3 ve 4'te gösterilmiştir.

Kontrol ve hasta gruplarının grup içi AOPP ve AGE düzeyleri arasında bir ilişki bulunup bulunmadığı korelasyon analizi ile değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda grup içi AOPP ve AGE düzeyleri arasında bir ilişki yoktu (r<0,250, p>0,05 her biri için).

TARTIŞMA

Üreminin artmış oksidatif stres ile ilişkili olduğu ve özellikle HD ve PD tedavisinin oksidatif stresi arttırdığı ve antioksidan kapasiteyi azalttığına dair kuvvetli kanıtlar ortaya konmuştur (14, 15). Özellikle KBY sürecindeki oksidatif stresin ortaya konmasında güvenilir bir belirteç olarak kabul edilen AOPP (2), ilk kez 1996'da, kronik üremik hastaların plazmasında, yeni bir oksidatif stres belirteci olarak bildirilmiştir (5). Yaptığımız çalışma sonucunda KBY ve PD gruplarının AOPP düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamaz iken, her iki grubun AOPP düzeyleri, kontrol grubununkinden anlamlı derecede yüksekti. Replasman tedavisi alan/almayan tüm son dönem böbrek yetmezliği olan hastalar başlıca kaynağı MPO olan artmış bir oksidatif stresle karşı karşıyadır. Yapılan çalışmalarda plazma AOPP düzeylerinin en çok HD hastalarında (5, 16) olmak üzere, PD (5) ve diyaliz tedavisi almayan KBY hastalarında (5, 17) yüksek bulunduğu ortaya konmuştur. Üremik toksinlerin yanı sıra, diyalizin dolaşımdaki nötrofil ve monositleri serbest oksijen radikali (SOR) oluşturmak üzere tetiklemesi ile, diyaliz hastalarında oksidatif stresin indüklendiği varsayılmaktadır (18). HD esnasında ortaya çıkan SOR'nin en önemli kaynağı kullanılan membranlar ve diyalizat sıvılarının aktive ettiği polimorfonükleer lenfositlerdir (PMNL) (19, 20). PMNL'nin aktive olması ile ortaya çıkan solunum patlamasında rol alan NADPH oksidaz, süperoksit dismutaz ve MPO gibi enzimler, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve HOCl gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar. Benzer şekilde çalışmamızda HD hastalarındaki diyaliz öncesi ve sonrasında tespit edilen AOPP düzeyleri, diğer tüm gruplardakinden yüksek bulundu. Ayrıca çalışmamızda, HD hastalarındaki AOPP düzeylerinin diyaliz işlemi sonrasında daha da arttığı tespit edildi. Benzer şekilde Witko-Sarsat ve arkadaşları da çalışmalarında HD işlemi sonrasında AOPP düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (5). AOPP molekülünün kendi klirensini önleyebilen yüksek molekül ağırlığına sahip olduğu, disülfid köprüleri ve/veya tirozin çapraz bağlanmalarını içeren albümin agregatlarından oluştuğu ve

in vitro şartlarda H_2O_2'den çok HOCl'ye maruz kalan saf/plazma albümin örneklerinde oluştuğu belirlendiğinden, in vivo olarak aktif nötrofillerce üretilen HOCl'nin, AOPP oluşturabileceği düşünülmektedir (6, 18). HD işlemi sırasında kullanılan membranlar da, kan-membran etkileşimi nedeniyle immün hücrelerin tekrarlayan aktivasyonuna ve prooksidan durumun daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (21). Ayrıca, kullanılan membranlar ve diyalizat sıvıları alternatif kompleman yolunun aktivasyonuna neden olarak hücre hasarının ilerlemesine yol açmaktadır (21-23). Diyaliz sırasında muhtemelen IgG ve kompleman komponentlerinin diyaliz membranına bağlanarak granülositler için biyoaktif bir yüzey oluşturduğu (24) ve membranla temas eden nötrofillerde degranülasyonun ve aktivasyonun indüklendiği de bildirilmiştir (25).

Oksidatif stresin erken aşamasında oluşan ve diğer oksidatif stres belirteçlerine göre dolaşımda daha uzun süre ve kararlı kalabilen AGE gibi protein karbonil bileşikleri (PCC) oksidan durumun değerlendirilmesinde güvenilir bir belirteç olarak bildirilmektedir (6, 26). Yaptığımız çalışmada kontrol ve KBY gruplarının AGE düzeyleri arasında fark bulamadık. Yapılan bir çalışmada üremik hastalardaki PCC'nin böbrek yetmezliğinin derecesine bağlı olarak giderek yükseldiği ve plazma kreatinin seviyeleriyle pozitif ilişkili olduğu ortaya konmuştur (27). Bir başka çalışmada ise, AGE gibi ürünlerin üremide artışını açıklayan iki mekanizma ileri sürülmüştür. İlk olarak bu ürünlerin renal klirensteki azalmaya bağlı olarak vücutta birikebileceği ikincisi ise, artan oksidatif stres nedeniyle lipid ve karbonhidrat kaynaklı reaktif karbonil bileşiklerinin oluşumunun daha da artmasıdır (28). Sonuç olarak çalışmamızdaki KBY grubunun hafif böbrek yetmezliğine sahip olması sebebi ile renal klirensteki hafif azalma, bu ürünlerin vücutta yeterince birikmemesi sonucu AGE düzeylerinin anlamlı derecede yükselmesine engel olmuş olabilir. Aynı zamanda oksidatif stresi arttırıcı etkilerinden birçok çalışmada bahsedilen HD (2, 19-24, 29, 30) ve PD (2, 29, 30) gibi diyaliz işlemlerinin bu hasta grubunda uygulanmamış olması da bir diğer etken olarak düşünülebilir. Çalışmamızdaki KBY grubunun aksine, PD grubunun AGE düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. HD öncesi AGE düzeyleri ise, hem kontrol grubunun hem de PD grubunun AGE düzeylerinden ciddi anlamda yüksek bulundu. Donate ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada benzer sonuçlar elde etmişleridir (31). PD hastalarında okside/redükte albümin oranında ki artış, oksidatif strese bağlanmakta (32) ve diyalizatın yüksek glukoz içeriğinin karbonil ve oksidatif stres ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Otooksidasyon ve/veya ısıtma ile sterilizasyon sırasında glukoz yıkım ürünlerinin arttığı ve glikasyon reaksiyonlarıyla AGE oluşumunun hızlandığı düşünülmektedir (33). Diğer taraftan PD hastalarında yüksek geçirgenliğe sahip peritonun diyalizer görevi yapması ve rezidüel renal fonksiyonun daha iyi olması nedeniyle üremik toksinlerin peritondan daha etkili bir şekilde temizlendiği ve HD hastalarına göre PD hastalarında plazma ve doku düzeylerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (11). Çalışmamızdaki HD hastalarının AGE düzeyleri diyaliz sonrasında azalma gösterse de, bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, Ward ve arkadaşları diyaliz sonrası AGE düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir yükselme gözler iken, Himmelfarb ve arkadaşları, seans sırasında, sonunda ve hatta seanstan 30 ve 60 dakika sonra bile değişmeyen PCC düzeylerini, diyaliz boyunca oksidasyon olmadığı şeklinde yorumlamışlardır (34).

Çalışmamızda HD grubundaki DM olan ve olmayan gruplar arasında diyaliz öncesi ve sonrası AOPP ve AGE düzeyleri bakımından fark bulamadık. Bu konu hakkında AOPP ile ilgili bir çalışma bulunmasa da, AGE düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada DM olan ve olmayan üremik hastalar arasında fark olmadığı bildirilmiştir (33).

Çalışmamızdaki her bir gruptaki AOPP ile AGE düzeylerini değerlendirdiğimizde aralarında herhangi bir ilişki bulamadık. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Kalousov ve arkadaşları DM hastalarındaki AOPP ve AGE düzeyleri arasında ilişki bulurken (35), HD hastalarında yapmış oldukları bir başka çalışmada diyaliz öncesi AOPP ve AGE düzeyleri arasında gözlemledikleri ilişkiyi, diyaliz işlemi sonrasında elde edememişlerdir (36). Oysaki bazı çalışmalarda hem diyaliz tedavisi alan hem de almayan KBY hastalarının AOPP ve AGE düzeyleri arasında ilişki bulunmuştur (18, 28). Ayrıca, çalışmamızdaki kontrol ve hasta gruplarının yaşları ile protein oksidasyon ürünlerinin düzeyleri arasında ilişki saptanmadı. Kalousov ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada HD hastalarındaki AOPP ve AGE düzeyleri ile yaş arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir (36). Farklı olarak E. Matteucci ve ark. (37) yaş ile birlikte serum albümin ve total protein düzeylerinin azalmasına paralel olacak şekilde, protein oksidasyon ürünleri ile yaş arasında negatif ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, AOPP ve AGE düzeylerinin özellikle HD ve PD hastalarında belirgin bir şekilde yükseldiğini tespit ettik. İstatistiksel olarak en önemli artışın ise HD hasta grubunda olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, replasman tedavisi gören KBY hastalarında ve özellikle de HD tedavisi gören hastalarda oksidatif stresin çok daha şiddetli olduğu gözlemlendi. Protein oksidasyon ürünlerinin kandaki düzeylerinin kreatinin klirens değerleri (28), yaş (37), cinsiyet (12), serum trigliserit (35, 37), üre (37) ve ferritin düzeyleri, intravenöz demir tedavisi alınması (38) gibi birçok faktörden etkilendiği bildirildiğinden dolayı replasman tedavisi alan ya da almayan tüm KBY hastalarında oksidatif stres oluşumunun çok yönlü olarak değerlendirilmesi gerektiği ve bu mekanizmaların multifaktöriyel nedenli olduğu düşüncesindeyiz.

Etik Komite Onayı: Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (Ekim 2013'te gözden geçirilmiş) prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - C.C., M.K.; Tasarım - C.C., A.K.; Denetleme - A.K., M.K.; Kaynaklar - C.C., A.K.; Gereçler - C.C.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - C.C., A.K.; Analiz ve/veya Yorum - C.C., A.K., M.K.; Literatür Taraması - C.C., A.K., M.K.; Yazıyı Yazan - C.C.; Eleştirel İnceleme - A.K., M.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışmanın finansal destek alınmadan yapıldığını bildirmiştir.

Ethics Committee Approval: Authors declared that the research was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects" (amended in October 2013).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - C.C., M.K.; Design - C.C., A.K.; Supervision - A.K., M.K.; Resource - C.C., A.K.; Materials - C.C.; Data Collection and/or Processing - C.C., A.K.; Analysis and/or Interpretation - C.C., A.K., M.K.; Literature Search - C.C., A.K., M.K.; Writing - C.C.; Critical Reviews - A.K., M.K.

Conflict of Interest: Authors have no conflict interest to declare.

Financial Disclosure: : The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Sosa V, Moliné T, Somoza R, Paciucci R, Kondoh H, LLeonart ME. Oxidative stress and cancer: an overview. Ageing Res Rev 2013; 12: 376-90. [CrossRef]
2. Yazıcı C, Köse K. Oxidative stress and "biomarker"s in chronic renal failure. Turk Neph Dial Transpl 2004; 13: 117-24.
3. Himmerfalb J, Hakim RM. Oxidative stress in uremia. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003; 12: 593-8. [CrossRef]
4. Danielski M, Ikizler A, McMonagle E, et al. Linkage of hypoalbuminemia, ınflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. Am J Kidney Dis 2003; 42: 286-94. [CrossRef]
5. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. Kidney Int 1996; 49: 1304-13. [CrossRef]
6. Massy ZA, Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. J Nephrol 2002; 15: 336-41.
7. Vaziri ND. Oxidative Stress in Uremia: nature, mechanisms, and potential consequences. Semin Nephrol 2004; 24: 469-73. [CrossRef]
8. Sundl I, Roob JM, Meinitzer A, et al. Antioxidant status of patients on peritoneal dialysis: Associations with inflammation and glycoxidative stress. Periton Dialysis Int 2008; 29: 89-101.
9. Witowski J, Jorres A, Korybalska K, et al. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: do they harm? Kidney Int Suppl 2003; 84: 148-51. [CrossRef]
10. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, et al. Toward better dialysis compatibility: advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. Kidney Int 2002; 61: 375-86. [CrossRef]
11. Lameire N, Vanholder R, De Smet R. Uremic toxins and peritoneal dialysis. Kidney Int 2001; 59: 292-7. [CrossRef]
12. Selmeci L, Seres L, Antal M, Lukács J, Regöly-Mérei A, Acsády G. Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stres in critically ill patients, fast and inexpensive automated technique. Clin Chem Lab Med 2005; 43: 294-7. [CrossRef]
13. Kaluosova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. Physiol Res 2002; 51: 597-604.
14. Toborek M, Wasik T, Drózdz M et al. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. Metabolism 1992; 41: 1229-32. [CrossRef]
15. Epperlein MM, Nourooz-Zadeh J, Jayasena SD, Hothersall JS, Noronha-Dutra A, Neild GH. Nature and biological significance of free radicals generated during bicarbonate hemodialysis. J Am Soc Nephrol 1998; 9: 457-63.
16. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt PJ, et al. Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 335-40. [CrossRef]
17. Witko-Sarsat V, Friendlander M, Nguyen-Khoa T, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. J Immunol 1998; 161: 2524-32.
18. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. Kidney Int Suppl 2001; 59: 108-13. [CrossRef]
19. Chen MF, Chang CL, Liou SY. Increase in resting levels of superoxide anion in the whole blood of uremic patients on chronic hemodialysis. Blood Purif 1998; 16: 290-300. [CrossRef]
20. Ward R, Meleisin K. Polymorphonuclear leukocyte oxidative burst is enhanced in patients with chronic renal insufficiency. J Am Soc Nephrol 1994; 5: 1697-702.
21. Craddack PR, Hammerschmidt DE. Complement-mediated granulocyte activation and down-regulation during hemodialysis. ASAIO J 1984; 7: 50-6.
22. Hörl WH, Riegel W, Schollmeyer P, Rautenberg W, Neumann S. Different complement and granulocyte activation in patient dialyzed with PMMA dialyzers. Clin Nephrol 1986; 25: 304-7.
23. Stroncek DF, Keshaviah P, Craddock PR, Hammerschmidt DE. Effect of dialyzer reuse on complement activation and neutropenia in hemodialysis. J Lab Clin Med 1984; 104: 304-11.
24. Höllgren R, Venge P, Danielson BG. Neutrophil and eosinophil degranulation during hemodialysis are mediated by the dialysis membrane. Nephron 1982; 32: 329-34. [CrossRef]
25. Hörl WH, Riegel W, Steinhauer HB, et al. Granulocyte activation during hemodialysis. Clin Nephrol 1986; 26: 30-4.
26. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. Clin Chim Acta 2003; 329:23-38. [CrossRef]
27. Mimić-Oka J, Simić T, Plješa M, N Stupar N, Turković S. Oxidative modification of plasma proteins in different stages of chronic renal failure. Med Biol 2001; 8: 1-5.
28. Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, Drüeke TB, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uremia. Nephrol Dial Transplant 1999; 14: 76-8. [CrossRef]
29. Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. Nephrol Daial Transplant 2002; 17: 16-24. [CrossRef]
30. Köken T, Kahraman A, Serteser M, et al., Hemodiyaliz ve Oksidatif Stres. Kocatepe Tıp Dergisi 2004; 5 (Ek Sayı): 9-13.
31. Donate T, Herreros A, Martinez E, et al. Protein oxidative stress in dialysis patients. Adv Perit Dial 2002; 18: 15-17.

32. Kumano K, Yokota S, Go M, et al. Quantitative and qualitative changes of serum albumin in CAPD patients. Adv Perit Dial 1992; 8: 127-30.
33. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, et al. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity (carbonyl stress). Kidney Int 2001; 59: 25-31. [CrossRef]
34. Himmelfarb J, Mc Monagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. Kidney Int 2000; 58: 2571-8. [CrossRef]
35. Kalousov M, Krha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. Physiol Res 2002; 51: 597-604.
36. Kalousová M, Zima T, Tesar V, Lachmanová J. Advanced glycation end products and advanced oxidation protein products in hemodialyzed patients. Blood Purif 2002; 20: 531-6. [CrossRef]
37. Matteucci E, Biasci E, Giampietro O. Advanced oxidation protein products in plasma: stability during storage and correlation with other clinical characteistics. Acta Diabetol 2001; 38: 187-9. [CrossRef]
38. Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? Kidney Int 2003; 63: 11-4. [CrossRef]