

HEMODİYALİZ HASTALARINDA PLAZMA MALONDİALDEHİT VE TİYOL SEVİYELERİ

Malondialdehyde and Thiol Levels in Plasma of Hemodialysis Patients

Elif Azize ÖZŞAHİN¹, Cevat YAZICI², Kader KÖSE³,
Cengiz UTAŞ⁴, Bülent TOKGÖZ⁵

Özet : Kronik böbrek yetmezliği hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi alanlarda gözlenen yüksek kardiyovasküler hastalık (KVH) riskinin, oksidatif stresle ilişkisini araştırmak amacıyla; yaşları 16-64 yıl arasında değişen toplam 42 hemodiyaliz (HD) hastası (21 kadın, 21 erkek) ve 42 sağlıklı kişi (21 kadın, 21 erkek) çalışmaya alındı. Hastalar (diyalizden önce/sonra) ve kontrol grubundan elde edilen plazma örneklerinde, lipid peroksidasyonu ürünlerinden malondialdehit (MDA) ve plazmanın en önemli antioksidanı olan tiyol düzeyleri tayin edildi. Kontrole göre, HD hastalarında MDA değerleri daha yüksek ($3.15 \pm 0.63 / 4.04 \pm 1.19$ $\mu\text{mol/L}$); buna karşılık tiyol seviyeleri daha düşük ($358 \pm 65 / 214 \pm 82$ $\mu\text{mol/L}$) bulundu ($p < 0.05$). HD tedavisiyle hastalarda tiyol değerlerinin arttığı ($p < 0.05$), MDA seviyelerinin ise değişmediği ($p > 0.05$) belirlendi. Diyaliz tedavisini takiben, MDA düzeylerinin kontrole göre hastalarda hala yüksek olduğu ($3.15 \pm 0.63 / 3.15 \pm 0.63 / 4.22 \pm 2.56$ $\mu\text{mol/L}$) gözlemlendi ($p < 0.05$). Buna karşılık tiyol seviyeleri bakımından ($358 \pm 65 / 310 \pm 107$ $\mu\text{mol/L}$), hasta ve kontrol grupları arasında fark olmadığı bulundu ($p > 0.05$). Sonuç olarak, HD hastalarında oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulduğu ve lipid peroksidasyonu ile karakterize oksidatif stresin meydana geldiği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Hemodiyaliz, lipid peroksidasyonu, oksidatif stres

Summary : In order to investigate the relationship between oxidative stress and the risk of cardiovascular disease (CVD) observed in chronic renal failure (CRF), especially in patients undergoing hemodialysis (HD), 42 HD patients (21 F, 21 M), aged 16-64 years and 42 healthy volunteers (21 F, 21 M) were included in the study. The levels of malondialdehyde (MDA), one of the lipid peroxidation products, and thiol, the most important plasma antioxidant, were measured in plasma samples obtained from controls and patients, before and after dialysis. When compared to controls, plasma MDA levels were found to be higher (3.15 ± 0.63 vs 4.04 ± 1.19 $\mu\text{mol/L}$), however thiol levels were lower (358 ± 65 vs 214 ± 82 $\mu\text{mol/L}$) in HD patients ($p < 0.05$). After the hemodialysis treatment, thiol levels were higher than pre-HD values ($p < 0.05$), although the HD treatment did not affect MDA levels ($p > 0.05$). No significant difference of thiol levels was found between the control group and HD patients (358 ± 65 vs 310 ± 107 $\mu\text{mol/L}$) after treatment ($p > 0.05$), whereas MDA levels were still higher (3.15 ± 0.63 vs 4.22 ± 2.56 $\mu\text{mol/L}$) in the HD group ($p < 0.05$). In conclusion, it may be said that there are disturbances in the oxidant-antioxidant balance that may lead to oxidative stress, reflected by lipid peroxidation in HD patients.

Key words: Hemodialysis, lipid peroxidation, oxidative stress.

¹ Bilim Uzm, Erciyes Ün.Sağ.Bil.Ens.Biyokimya AD, Kayseri

² Yrd.Doç.Dr. Erciyes Ün.Tıp Fak.Biyokimya AD, Kayseri

³ Prof.Dr. Erciyes Ün.Tıp Fak.Biyokimya AD, Kayseri

⁴ Prof.Dr. Erciyes Ün.Tıp Fak.İç Hastalıkları AD, Kayseri

⁵ Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak.İç Hastalıkları AD, Kayseri

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerüller filtrasyon değerinin azalmasına bağlı olarak, böbreğin temel fonksiyonlarının bozulmasıyla kendini gösteren, kronik, ilerleyici bir hastalıktır. KBY hastalarında en çok karşılaşılan ölüm nedeni, kardiyovasküler hastalık (KVH)'lardır (1).

Lipoprotein metabolizması bozuklukları, KBY hastalarında sık görülen ve KVH gelişimine yol açan aterosklerotik risk faktörlerindedir (2). Ayrıca, aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin yol açtığı oksidatif stresin (3) ve özellikle SOR ile oksitlenen düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein-LDL)'in ateroskleroz gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (4). KBY hastalarında *in vivo* oksidatif stresin varlığı, malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyonu ürünleri üzerinden de gösterilmektedir (5).

Diğer taraftan, kronik enflamasyon, KBY hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi alanlarda yaygın bir durumdur (6). Aktif nötrofillerden miyeloperoksidaz (EC 1.11.1.7; MPO) aktivitesi ile üretilen süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve klorlu oksidanlar, üremi ve hemodiyalizle ilişkilendirilmekte, hatta diyaliz ortamı, oksidatif stres için bir model olarak kabul edilmektedir. Diyalizin dolaşımdaki nötrofilleri SOR oluşturmak üzere tetiklediği ve antioksidan sistemin de zayıflamasına bağlı olarak, diyaliz hastalarında oksidatif stresin oluşabileceği varsayılmaktadır (7).

Plazmada bulunan antioksidanlar içerisinde, tiyol gruplarının en yüksek konsantrasyona sahip olması, erişkinlerde plazma protein seviyelerinin yüksek olmasıyla açıklanmaktadır. Çünkü plazmada bulunan tiyol gruplarının başlıca kaynağı, redükte glutatyon (GSH)'un yanı sıra, başta albümin olmak üzere protein yapılarında bulunan sistein ve metiyonin amino asitleridir (8). Plazma tiyol düzeylerinin tayini, proteinlerin SOR aracılı oksidasyondan ne denli etkilendiklerini göstermesi bakımından önem taşımaktadır (9).

Bu çalışmada, KBY hastalarında gözlenen yüksek KVH riskinin oksidatif stresle ilişkisini, lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite üzerinden araştırmak amacıyla hemodiyaliz hastalarının plazmasında MDA ve tiyol seviyeleri ölçüldü.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta (HD) Grubu: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Semiha-Asım Kibar Organ Nakli ve Diyaliz Hastanesi ile Kayseri Devlet Hastanesinde, Ocak-Mart 2003 tarihleri arasında, en az 8 ay boyunca

takip ve tedavileri sürdürülen hemodiyaliz hastaları, çalışma kapsamına alındı.

Mevcut klinik ve laboratuvar bulgularına göre diyabet, kronik respiratuvar yetmezlik, akut infeksiyon, malign tümör ve hepatit gibi sistemik hastalığı bulunanlar ve ayrıca 64 yaşın üzerinde olanlar çalışma dışında bırakıldı.

Hastaların primer tanıları, akut glomerulonefrit (n:12), kronik glomerulonefrit (n:1), kronik piyelonefrit (n:13), böbrek taşı (n:2), guta bağlı gelişen yetmezlik (n:1), gebelik toksemisi (n:1), amiloid nefropati (n:1), hızlı ilerleyici glomerulonefrit (n:1), crash sendromu (n:1), sistemik lupus eritomatosis (n:1), hipertansiyon (n:2), fokal sklerozan glomerulonefrit (n:1) ve prostat ameliyatı sonrası gelişen yetmezlik (n:1) olarak belirlenirken, 4 hastada etiyojoloji bilinmiyordu.

Yaş dağılımı 16-64 yıl arasında değişen hastaların 25'ine haftada üç kez, 17'sine iki kez olmak üzere, 4 saat süreyle düzenli hemodiyaliz tedavisi uygulanmaktaydı. Tedavi sırasında Fresenius Medical Care 2008A-4008S, Gambro AK 90s, Baxter 1550 ve Braun marka diyaliz makineleri, hemofan membrandan imal edilen diyalizerler (Braun Dicap HE 1400), bikarbonat içeren diyaliz sıvıları (Baxter, Eczacıbaşı; Bikardi, Eczacıbaşı; Ren-Acet SFY/Ren- Bikar SFY, Ren-Med Tıbbi Ürünler) ve antikoagülan olarak heparin kullanıldı.

Kontrol günlerinde polikliniğe başvuran ve hemodiyaliz ünitesine gelen HD hastalarından, rutin biyokimya testleri ve tam kan sayımı (CBC) için alınan kan örnekleri bu çalışmanın materyalini oluşturdu.

Kontrol Grubu: Sistemik hastalığı olmayan vitamin ve/veya mineral preparatları dahil, son bir aydır hiçbir ilaç kullanmayan ve sigara içmeyen sağlıklı kişiler arasından seçilen 42 kişi (21 kadın, 21 erkek) kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

Çalışma gruplarının demografik verileri, Tablo 1'de gösterildi.

HD grubundan diyaliz öncesi ve sonrası olmak üzere toplam iki kez, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gönüllülerden bir kez kan alındı. Kan örneklerinden

Tablo I. Çalışma gruplarının demografik verileri

	Kontrol			Hemodiyaliz		
	Total	E	K	Total	E	K
Katılımcı sayısı	42	21	21	42	21	21
Ortalama yaş (yıl)	34.9±10.7	33.4±10.3	36.4±11.0	36.9±13.2	35.5±13.5	38.4±12.8
Yaş dağılımı (yıl)	24-61	24-59	27-61	16-64	20-64	16-58
Ort.Diyaliz süresi (ay)	-	-	-	36.6±22.2	31.9±19.9	41.4±23.7
Diyaliz süresi (ay)	-	-	-	8-108	8-72	8-108

elde edilen plazmalar alikotlar halinde -20°C’de dondurularak saklandı. Plazma örneklerinde tiyol (9) ve MDA (10) seviyeleri tayin edildi.

Plazma tiyol seviyeleri, serbest tiyol gruplarının, Ellman reaktifi [5,5’-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit); DTNB] ile oksitlenmesi sırasında oluşan koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)’in renk şiddetinin, 412 nm dalga boyunda ölçülmesiyle belirlendi (9). Tiyol seviyeleri, GSH ile hazırlanan standart eğri kullanılarak değerlendirildi. Plazma tiyol düzeyleri, µmol/L olarak verildi.

Plazma MDA seviyesi, Ohkawa ve ark (10) tarafından geliştirilen ve MDA’nın, tiyobarbitürik asit ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanan metoda göre tayin edildi. Değerlendirme, standart grafik üzerinden yapıldı. Çalışma gruplarının plazma MDA seviyeleri, µmol/L olarak verildi.

İstatistikî karşılaştırma “SPSS 10.0 for Windows”

bilgisayar paket programı kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu değerlerinin, hastaların hemodiyaliz-giriş ve çıkış değerleriyle karşılaştırılmasında Student *t* testi (iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi) kullanıldı. Hasta grubunda hemodiyaliz giriş-çıkış değerleri, eşleştirilmiş *t* testi ile karşılaştırıldı. Değerler ortalama± standart sapma (X±SD) olarak verildi. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo II’de gösterildi. Yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı bakımından kontrol ve hasta grupları arasında istatistikî farkın olmadığı belirlendi (p>0.05).

Kontrol ve hasta gruplarının serum örneklerinde tayin edilen glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum, total bilirubin, ALT, AST, GGT, albümin, ve total protein seviyeleri için ayrı ayrı istatistikî karşılaştırma yapıldığında; BUN, kreatinin, ürik asit, kalsiyum, fosfor, po-

Tablo II. Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyet durumu

Cinsiyet	n	HD Yaş (yıl) (X ± SD)	n	Kontrol Yaş (yıl) (X ± SD)	t	p
Erkek	21	35.5±13.5	21	33.4±10.3	0.568	0.573
Kadın	21	38.4±12.8	21	36.4±11.0	0.541	0.592
Toplam	42	36.9±13.2	42	34.9±10.7	0.787	0.433

tasyum, albümin ve total protein seviyelerinin anlamlı olarak değiştiği ($p<0.05$); her iki grupta da normal sınırlar içerisinde kalan glukoz, sodyum, total bilirubin, AST, ALT, GGT seviyelerindeki farklılıkların anlamlı olmadığı ($p>0.05$) belirlendi. İstatistiki bakımdan anlamlı bulunan rutin parametreler Tablo III'te gösterildi.

Kontrol grubuna göre hemodiyaliz hastalarında total serbest tiyol seviyelerinin azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Hemodiyaliz tedavisiyle tiyol seviyelerinin yükseldiği ($p<0.05$) ve hemodiyaliz sonrasında tiyol seviyeleri bakımından kontrol ve hasta grupları arasında fark olmadığı ($p>0.05$) belirlendi

(Tablo IV).

MDA seviyeleri HD hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Ancak HD işleminin MDA seviyelerini istatistiki anlamda etkilemediği ($p>0.05$), tedavi sonunda MDA seviyelerinin hastalarda hala yüksek olduğu ($p<0.05$) görüldü (Tablo IV).

TARTIŞMA

KBY hastaları, özellikle diyaliz tedavisi alanlar, yüksek bir kardiyovasküler mortalite ve morbiditeye sahiptir. Bu hasta grubunda, kronik

Tablo III. Çalışma gruplarının bazı rutin biyokimya değerleri

	Kontrol (n=42) (X ± SD)	Hemodiyaliz (n=42) Giriş (X ± SD)	Hemodiyaliz (n=42) Çıkış (X ± SD)
BUN (mg/dl)	11±2	70±15*	25±8* ^a
Kreatinin (mg/dl)	0.9±0.3	12.1±3.2*	5.2±1.6* ^a
Ürik Asit (mg/dl)	5.0±1.6	7.1±1.2*	2.3±0.6* ^a
Kalsiyum (mg/dl)	9.9±0.5	8.3±1.1*	10.0±0.9 ^a
Fosfor (mg/dl)	3.6±0.4	5.9±2.0*	3.0±0.9 ^a
Potasyum (mmol/L)	4.4±1.0	5.2±1.0*	3.1±0.5* ^a
Albümin (g/dl)	4.3±0.5	3.6±0.5*	4.5±0.9 ^a
Total Protein (g/dl)	7.7±0.6	6.7±0.7*	8.1±1.9 ^a
Hemoglobin (g/dl)	14.6±1.6	9.9±2.2*	-

-* : Kontrol grubuna göre farklı ($p<0.05$)

Tablo IV. Çalışma gruplarının MDA ve tiyol seviyeleri

	Kontrol (n=42) (X ± SD)	Hemodiyaliz (n=42) Giriş (X ± SD)	Hemodiyaliz (n=42) Çıkış (X ± SD)
TİYOL (µmol/L)	358±65	214±82*	310±107 ^a
MDA (µmol/L)	3.15±0.63	4.04±1.19*	4.22±2.56*

-* : Kontrol grubuna göre farklı ($p<0.05$)

-a : Giriş değerine göre farklı ($p<0.05$)

inflamasyonun doğal sonucu olarak ateroskleroz gelişimi hızlanmaktadır (11). Son yıllarda ateroskleroz gelişiminde, oksidatif stres (3) ve LDL oksidasyonu (4) gibi, aşırı SOR üretimi ile ilişkili mekanizmalar da sorumlu tutulmaktadır.

Oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması şeklinde tanımlanan oksidatif stres (8), lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu gibi mekanizmalarla doku hasarına neden olmaktadır (12).

Oksidatif stresi belirlemede, lipid oksidasyonunu yansıtan MDA ölçümleri, sıklıkla yapılmaktadır. Literatürde HD tedavisi alan KBY hastalarında plazma MDA seviyelerinin yükseldiği bildirilmektedir (13-16). Bu çalışmada da HD hastalarında plazma MDA değerleri, literatürle uyumlu olacak şekilde yüksek bulunmuştur.

İnflamatuvar hastalıklarda, aktif nötrofiller tarafından aşırı miktarda üretilen SOR'un, doku hasarına yol açtığı bilinmektedir (17). Hem KBY ve hem de HD hastalarında, dolaşımda bulunan nötrofillerde oksidatif metabolizmanın arttığı gösterilmiştir (18). Ayrıca, böbrekte, glomerüler hücreler (endotel, mezangial, epitel), monosit/makrofajlar ve trombositler tarafından da SOR oluşturulduğu bildirilmektedir. Renal hücrelerin transport fonksiyonlarını ve enerji üretimini bozabilen SOR, morfolojik lezyonların oluşumundan ve proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artmasından da sorumlu tutulmaktadır (19). Bu nedenle, HD hastalarında aşırı miktarda üretilen SOR'un, yüksek MDA seviyeleriyle gösterildiği gibi, lipid peroksidasyonu yoluyla doku hasarına neden olabileceği söylenebilir.

Diğer taraftan, enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinin baskılanması da, HD hastalarında gözlenen oksidatif doku hasarına katkıda bulunabilir.

Büyük bir kısmını enzimlerin oluşturduğu intraselüler antioksidanlardan farklı olarak, plazma gibi ekstraselüler ortamlarda bulunan başlıca antioksidanlar, ürik asit, proteinler, tiyoller ve vitaminlerdir (20,21). Bu nedenle proteinlerin yanı sıra,

sistein ve glutatyon gibi serbest tiyol grubu içeren bileşikler de, üremi ve hemodiyalizin prooksidan etki gösterdiği başlıca hedefler arasında kabul edilmektedir.

Literatürde HD hastalarında plazma tiyol düzeylerinin azaldığı bildirilmektedir (16, 22). Mimicé-Oka ve ark. (16), renal yetmezlik derecesine göre hafif, orta ve ileri KBY olarak gruplandırılan tüm hastalarda, renal yetmezliğin derecesinden bağımsız olarak, total plazma tiyol seviyelerini normalden düşük bulmuşlardır. Hatta Himmelfarb ve ark. (22), bu durumu "tiyol stres" olarak adlandırmışlardır. Ayrıca HD tedavisi alan ve almayan KBY hastalarında, proteine bağlı olmayan tiyol seviyeleri (23) ve HD hastalarında redükte/okside sistein oranı (24) da düşük bulunmuştur. Sunulan çalışmada da, literatür bulgularını destekler şekilde HD hastalarında sağlıklı gönüllülere göre, plazma total tiyol seviyeleri daha düşük bulunmuştur. Total tiyol seviyelerindeki azalma, oksidatif stresle ilişkili üremi şartlarında üretilen oksidanlara karşı, tiyolün tüketiliyor olmasına bağlanabilir.

KBY hastalarında, hastalığa neden olan patolojik durumun ölçülen parametrelere yaptığı muhtemel etkilere ek olarak, tedavi amacıyla yapılan diyaliz gibi girişimlerin de bu parametrelere bazı etkiler yapabileceği tartışılmaktadır.

Bir görüşe göre, HD işleminin bizzat kendisi de oksidatif strese yol açmaktadır. Üremik toksinler, diyaliz membranları ile etkileşen nötrofil ve monositler, antioksidan vitaminlerin diyalizle vücuttan uzaklaştırılması gibi faktörler, diyalizde oluşan SOR'un başlıca kaynaklarıdır (25). Hemodiyalizin ekstrakorporeal aşamasında, kan-membran etkileşimi nedeniyle, immün hücrelerin periyodik tekrarlayan aktivasyonu, prooksidan durumun daha da kötüleşmesine neden olmaktadır. Her seansta artan oksidatif stres, hem tiyol stresi artıran başlıca faktörlerden biri olarak düşünülmekte, hem de HD hastalarındaki yüksek morbidite/mortalite oranının ve uzun dönem komplikasyonların dolaylı da olsa sorumlusu olarak düşünülmektedir (6). Diğer bir görüş ise, HD hastalarında oksidatif stresle ilişkili en önemli faktörün, hemodiyaliz işleminin kendi-

sinden çok, inflamasyonun varlığı ve diyaliz tedavisinin süresi olduğunu öne sürmektedir (7).

Hemodiyaliz işleminin, plazma lipid peroksidasyonu üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda, MDA seviyelerinin arttığı (26), azaldığı (27) ya da değişmediği (28) bildirilmektedir. Bu çalışmada da yüksek plazma MDA değerlerinin, HD işleminden etkilenmeyerek, hala yüksek kaldığı belirlendi.

Diğer taraftan, hemodiyalizin plazma tiyol seviyesine etkisini inceleyen çalışmaların hepsinde, diyaliz öncesi düşük bulunan total tiyol (22, 29), proteine bağlı olmayan tiyol (23) seviyelerinin ve hatta redükte/okside sistein oranının (24) yükseldiği bildirilmektedir. Bu çalışmada da diyaliz öncesi düşük bulunan tiyol seviyelerinin, diyaliz sonunda, normale ulaşmasa da, önemli ölçüde yükseldiği gözlenmiştir. Diyalizer tipine bağlı olmaksızın, hemodiyaliz seansı boyunca plazma tiyol seviyelerinin giderek yükseldiğini ve diyaliz sonunda normal değerlere ulaştığını gözleyen Himmelfarb ve ark. (22), üremik hastaların plazmasında, protein oksidasyonuna yol açan, küçük molekül ağırlıklı, diyalizabl toksinlerin var olabileceğini öne sürmüşlerdir. Clermont ve ark. (29), tiyol seviyelerindeki artışı, hemokonsantrasyona bağlasalar da, tiyol seviyelerini protein başına hesaplayan Wlodek ve ark. (23), yüksek tiyol düzeylerinin hemokonsantrasyonla ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; KBY'de yüksek KVH riskinin oksidatif stresle ilişkisini destekler şekilde, düşük tiyol ve yüksek MDA seviyeleriyle yansıtıldığı gibi, oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması; HD hastalarında lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan oksidatif stresin varlığını gösterebilir.

KAYNAKLAR

1. Akpolat T, Utaş C. *Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı*. Kayseri, Anadolu Yayıncılık, 2001
2. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, et al. *Atherogenic lipoprotein changes in the absence of hyperlipidemia in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. Atherosclerosis* 1997, 131: 229-236.
3. Kostner JF, Biemond P, Stam H. *Lipid peroxidation and myocardial ischemic damage: Cause or consequence? Basic Res Cardiol* 1987, 88: 253-260.
4. Kelly F. *Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. JIFCC* 1998,10:21-23.
5. Massy ZA, Nguyen-Khoa T, Beauvais CH. *Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. J Nephrol* 2002, 15: 336-341.
6. Amore A, Coppo R. *Immunological basis of inflammation in dialysis. Nephrol Dial Transplant* 2002, 17: 16-24.
7. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt PJ, Kebede M, Salama L. *Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant* 2001, 16: 335-340.
8. Sies H. *Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol* 1997, 82: 291-295.
9. Hu ML, Locie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. *Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. J Lab Clin Med* 1993, 121: 257-262.
10. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. *Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction Anal Biochem* 1978, 95: 351-358.
11. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. *Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. J Am Soc Nephrol* 1998, 9: 916-923.
12. Valdez LB, Arnaiz SL, Bustamante J, Alvarez S, Costa LE, Boveris A. *Free radical chemistry in biological systems. Biol Res* 2000, 33: 1-8.
13. Köse K, Doğan P, Gündüz Z, Düşünsel R, Utaş C. *Oxidative stress in hemodialyzed patients and the long-term effects of dialyzer reuse*

- practice. Clin Biochem. 1997, 30:601-606.*
14. Asayama K, Shiki Y, Ito H, et al. Antioxidant enzymes and lipoperoxide in blood in uremic children and adolescents. *Free Radic Biol Med* 1990, 9:105-109.
 15. Trznadel K, Pawlicki L, Kedziora J, Luciak M, Blaszczyk J, Buczynski A. Superoxide anion generation, erythrocytes superoxide dismutase activity, and lipid peroxidation during hemoperfusion and hemodialysis in chronic uremic patients. *Free Radic Biol Med.* 1989, 6:393-397.
 16. Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L, Reljic Z, Davicevic Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1999, 51:233-241.
 17. Weiss SL. Tissue destruction by neutrophils. *N Eng J Med* 1989, 320: 365-376.
 18. Paul JL. Influence of uremia on polymorphonuclear leukocytes oxidative metabolism in end-stage renal disease and dialyzed patients. *Nephron* 1991, 57: 428-432.
 19. Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. *Am J Kidney Dis* 1999, 34: 384-399.
 20. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 1987, 924: 408-419.
 21. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990, 280: 1-8
 22. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2000, 58: 2571-2578.
 23. Wlodek PJ, Kurcharczyk J, Sokolovska MM, et al. Alteration in plasma levels of nonprotein sulphhydryl compounds and S-nitrosothiols in chronic renal failure patients. *Clin Chim Acta* 2003, 327:87-94.
 24. Wlodek PJ, Iciek MB, Milkowski A, Smolenski OB. Various forms of plasma cysteine and its metabolites in patients undergoing hemodialysis. *Clin Chim Acta* 2001,304:9-18.
 25. Kitiyakara C, Gonin J, Massy Z, Wilcox CS. Non-traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease: oxidative stress and hyperhomocysteinemia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000, 9: 477-487.
 26. Chugh SN, Jain S, Agrawal N, Sharma A. Evaluation of oxidative stress before and after haemodialysis in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India.* 2000,48:981-984.
 27. Samouilidou E, Grapsa E. Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure. *Blood Purif.* 2003, 21:209-212.
 28. Banni S, Lucchi L, Baraldi A, et al. No direct evidence of increased lipid peroxidation in hemodialysis patients. *Nephron.* 1996, 72:177-183.
 29. Clermont G, Lecour S, Lahet JJ, Siohan P, Vargely C et al. Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 618-623.