

HEMODİYALİZ VE PERİTON DİYALİZİNİN OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

THE EFFECTS OF HEMODIALYSIS AND PERITONEAL DIALYSIS ON OXIDATIVE STRESS PARAMETERS

Hüseyin Çeliker, Bilge Elkiran, Necip İlhan*, A. İhsan Günel, Ayhan Doğukan

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi * Nefroloji Bilim Dalı ** Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Kronik böbrek yetmezliği komplikasyonları onları inin gelişiminde serbest oksijen radikal düzeyi artışının önemi bilinmektedir. Oksidasyon ürünlerinin artışı yapımların fazlalığı veya antioksidan sistemlerin yetersizliği sorumludur. Diyaliz uygulamalarında oksidatif stresler artmıştır. Bu çalışmada, lipid peroksidasyonu göstergesi olarak plazma malondialdehit (MDA) ve antioksidan enzimlerden eritrosit glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri üzerine hemodiyaliz (HD) ve ayaktan sürekli periton diyalizi (SAPD) nin etkilerini araştırmak amaçlandı. Çalışmaya 46 hemodiyaliz 16 periton diyalizi hastası ile kontrol grubu olarak 24 sağlıklı birey alındı. SAPD grubunda plazma MDA değerleri HD grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p<0.05$), eritrosit GPx ve SOD değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$, $p<0.05$). Kontrol grubuna göre her iki hasta grubunun MDA değerleri anlamlı olarak fazla iken ($p<0.0005$, $p<0.0005$) GPx ($p<0.0005$, $p<0.0005$) ve SOD değerleri düşük bulundu ($p<0.0005$, $p<0.0005$). Çalışma sonucunda incelenen parametrelere göre her iki diyaliz uygulamasının kontrol grubuna göre belirgin olarak oksidatif stresi arttırdığı, SAPD'nin HD'ye göre daha az oksidatif stres oluşturduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, periton diyalizi, serbest radikaller, antioksidan enzimler

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) primer veya sekonder olarak böbrekleri etkileyen patolojiler sonucu oluşan, tüm organ ve sistemleri etkileyen bir klinik tablodur. Başlangıçta ilaç, diyet ve koruyucu tedaviler yeterli olurken; ileri dönemlerde diyaliz ve transplantasyona gereksinim duyulmaktadır (1). Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hastalarının

SUMMARY

The importance of increase in the level of free oxygen species is well known in the development of complications during chronic renal failure. Insufficiency of antioxidant systems or increased production is responsible from high levels of oxidation products. Oxidative stress increases in dialysis treatment. In this study, the effects of hemodialysis (HD) and continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) on the levels of plasma malondialdehyde (MDA), an indicator of lipid peroxidation and the antioxidant enzymes, erythrocyte glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) were investigated. 46 HD and 16 CAPD patients were included in the study. 24 healthy individuals were taken as controls. When compared with the HD group, plasma MDA levels were found to be significantly lower ($p<0.05$) and erythrocyte GPx and SOD levels were significantly higher ($p<0.05$, $p<0.05$) in the CAPD group. The MDA values of the both groups were significantly higher ($p<0.0005$, $p<0.0005$) while their GPx and SOD values were significantly lower ($p<0.0005$, $p<0.0005$, $p<0.0005$, $p<0.0005$) in respect to the control. It was concluded that when the parameters of oxidant and antioxidant systems were investigated both dialysis applications significantly increased oxidative stress. However, peritoneal dialysis caused oxidative stress in lesser extend.

Key Words: Hemodialysis, peritoneal dialysis, free radicals, antioxidant enzymes

replasman tedavisinde en sık uygulanan yöntemler HD ve SAPD'dir. Bu diyaliz yöntemlerinin birbirlerine karşı çeşitli üstünlükleri bulunmakla birlikte uygun hastalarda SAPD'nin avantajı hareket özgürlüğünü sağlaması, kardiyovasküler hastalıklarda iyi tolere edilmesi ve diyet kısıtlamasının daha az olmasıdır (2).

Böbrek fonksiyonlarında bozulma sonucu oluşan bir çok patolojik mekanizma yanında serbest oksijen radikalleri (SOR) üretiminde artış ve/veya antioksidan sistemlerdeki yetersizlikler de KBY'nin patojenezine ek katkıda bulunur (3). KBY hastalarında SOR düzeylerinde artış ve antioksidan sistem aktivitelerinde azalma olduğu bildirilmiştir (4,5). SOR düzeylerindeki artış anemi, hızlanmış yaşlılık, ateroskleroz, katarakt, B2 mikroglobulin artropatisi, artmış hemoliz ve trombosit fonksiyon bozukluğuna yol açabilir (6). Bu çalışmada SDBY nedeni ile HD ve SAPD uygulanan olgularda antioksidan sistem enzimlerinden eritrosit GPx ve SOD ile lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan plazma MDA düzeyleri incelenerek bu iki tedavi yönteminin oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya SDBY nedeni ile HD tedavisi altında 46 ve SAPD tedavisi gören 16 hasta ile kontrol grubu olarak 24 sağlıklı olgu alındı. SAPD hastalarının yedisi kadın, dokuzu erkek olup yaş ortalamaları 37.9 ± 7.2 yıl, HD hastalarının ise 24'ü kadın, 22'si erkek olup yaş ortalamaları 38.8 ± 5.6 yıl idi. Kontrol grubunda çalışılan parametreleri etkileyecek sistemik bir hastalığı olmayan, rutin biyokimyasal tetkikleri normal sınırlarda bulunan ve yaş ortalamaları 36.3 ± 4.3 yıl olan 13 kadın ve 11 erkek birey bulunuyordu. Tüm gruplarda diabetes mellitus, kronik akciğer hastalığı ve karaciğer yetmezliği olanlar ile askorbat, tokoferoller, allopurinol gibi antioksidanları kullananlar çalışmaya alınmadı. Olguların ortalama KBY süreleri HD grubunda 4.19 ± 2.10 yıl, SAPD grubunda 4.32 ± 3.05 yıl idi. HD hastaları haftada üç kez dört saat olmak üzere sentetik polisülfon içerikli membranlar kullanılarak bikarbonatlı diyalize alınıyordu. SAPD hastalarında çeşitli konsantrasyonlarda (% 1.36, 2.27, 3.86) glukoz içeriği olan periton diyalizi solüsyonları (Dianeal, Eczacıbaşı Baxter, İstanbul) kullanıldı. Solüsyonlar, volüm kontrolünü sağlayacak şekilde toplam 8-10 litre/gün olmak üzere günde dört kez uygulandı.

Kan örnekleri tüm gruplardan sabah aç karnına olmak üzere enzim aktiviteleri için 5 ml heparinize tüpe, rutin biyokimyasal incelemeler için ise 5 ml normal tüpe alındı. Eritrosit GPx ve SOD enzim aktiviteleri (U/gr Hb) hemen tayin edildi. Plazma MDA düzeyleri için serumlar analiz edilene kadar -80°C 'de saklandı. Rutin incelemelerde kan üre, kreatinin, kolesterol, trigliserid, kalsiyum ve fosfor, lökosit ve hemoglobin düzeyleri araştırıldı. Eritrosit SOD düzeyleri RANSOD kit (Randox Laboratories Ltd., U.K) kullanılarak enzimatik metotla spektrofotometrik olarak ölçüldü. GPx aktivitesi ölçümünde Paglia yöntemi (7), plazma MDA düzeyi tayininde ise Yagi (8) yöntemi uygulandı.

Değerler ortalama standart sapma olarak kaydedildi. Gruplar arası incelemelerde Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ alındı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan olguların rutin hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile ilgili sonuçları **Tablo 1**'de görülmektedir. SAPD ve HD olgularında değerler arasında anlamlı farklılık yok iken her iki grup sonuçları ile, kontrol grubunun tüm parametreleri arasında kolesterol ve lökosit sayısı dışında KBY'nin doğal seyrine bağlı olarak anlamlı farklılık bulunmakta idi.

Kontrol ve hasta gruplarında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan plazma MDA ve antioksidan sistem parametrelerinden eritrosit GPx ve SOD düzeyleri **Tablo 2**'de gösterilmiştir. SAPD ve HD gruplarında GPx ve SOD düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken ($p < 0.0005$, $p < 0.0005$, **Şekil 1**), plazma MDA düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.0005$, **Şekil 2**). SAPD ve HD grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında SAPD grubunda eritrosit GPx ve SOD düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunurken ($p < 0.05$, $p < 0.05$), plazma MDA düzeyi HD grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Sonuçlar ve istatistiksel karşılaştırmalar **Tablo 2**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Hemodiyaliz, SAPD ve kontrol gruplarında hematolojik ve biyokimyasal sonuçlar

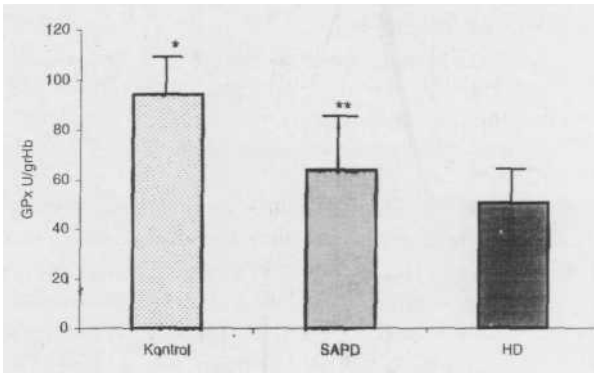
	Kontrol	HD grubu	SAPD grubu
Üre mg/dl	25.05±3.73	89.13±47.96*	90.38±64.32*
Kreatinin mg/dl	1.0±0.32	7.63±0.93*	8.07± 1.40*
Kolesterol mg/dl	48.73±12.42	145.13±28.11	145.50±44.84
Trigliserid mg/dl	15.21±16.14	151.88±75.24*	152.75±88.50*
Fosfor mg/dl	3.51±1.04	6.13±1.72*	6.32±1.52*
Kalsiyum mg/dl	10.13±1.32	8.47±0.74*	8.52±0.24*
Beyaz Küre / ram ³	216.34±1134.32	6294.74±1334.67	6500.67± 1431
Hemoglobin gr/dl	13.00±0.82	8.97±0.61*	9.02± 0.53*

* p0.05: Kontrol grubuna göre. HD: Hemodiyaliz, SAPD: Sürekli ayaktan periton diyalizi

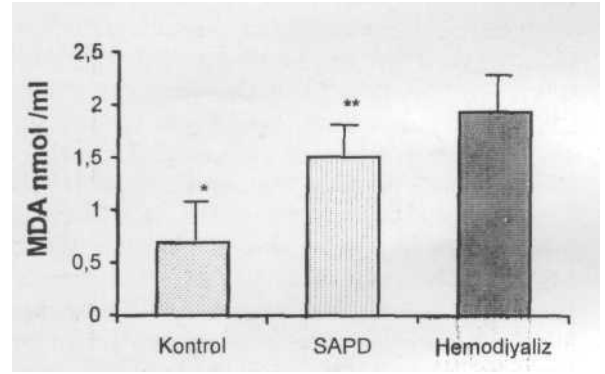
Tablo 2: Hasta ve kontrol gruplarında plazma MDA ve eritrosit antioksidan enzim düzeyleri.

	HD grubu (n:46)	SAPD grubu (n:16)	Kontrol (n:24)
MDA (nmol/ml)	1.89±0.58	1.58±0.44*	0.68±0.41t
GPx (U/g Hb)	50.6±12.5	63.9±17.1*	94.3±11.4f
SOD (U/g Ht)	715.2±52.7	875.3±68.2 *	1226.2±109.8t

* : p<0.05, periton diyalizi X hemodiyaliz, t: p<0.0005, kontrol X PD ve HD grupları MDA: Malondialdehit, GPx: Glutasyon peroksidaz, SOD: Superoksit dismutaz, HD: Hemodiyaliz, SAPD: Sürekli ayakta periton diyalizi



Şekil 1: Hemodiyaliz, SAPD ve Kontrol gruplarında eritrosit glutasyon peroksidaz (GPx) düzeyleri. *: p<0.0005, kontrol X SAPD ve HD grupları **:p<0.05, SAPD X HD. HD: Hemodiyaliz, SAPD: Sürekli ayakta periton diyalizi



Şekil 2: Hemodiyaliz, SAPD ve Kontrol gruplarında plazma MDA düzeyleri. *: p<0.0005, kontrol X SAPD ve HD grupları, **: p<0.05, SAPD X HD.SAPD: Sürekli ayakta periton diyalizi. MDA: Malondialdehit

TARTIŞMA

KBY, metabolik, kardiyovasküler ve hematolojik komplikasyonları kapsayan kompleks patolojilerle karakterize bir sendromdur. Oksijen radikallerinin üretiminin artışı ve/veya antioksidan sistemlerin yetersizliği de KBY'nin patogeneze katkıda bulunur (1). KBY'de varolan **renal** parankimal hasar ve azalmış glomerül filtrasyon hızıyla ilgili olarak antioksidan kapasitenin azaldığı, lipid peroksidasyonunun ise arttığı bildirilmiştir (5,9). Renal kitlenin % 75 kaybının serbest radikal üretimini arttırdığı, serum kreatinini 5 mg/dl'den fazla olan hastaların eritrosit membran lipid peroksidasyonunun yükselmiş olduğunu bildirilmiştir (10,11).

Hemodiyaliz süresince, biyouyumsuz diyaliz membranı ile kanın direkt teması, nötrofillerin oksidatif metabolizmasını artırarak ve degranülasyonu indükleyerek periferik damarların endotel hücrelerinden serbest oksijen radikallerin üretimine neden olmaktadır (12). Ayrıca serum komponentlerinin diyalizör membran ile direkt teması kompleman sisteminin aktivasyonuna neden olur. Diğer taraftan sadece aktive

komplemanların değil, IL-1 ve TNF gibi sitokinlerin de lökositlerden oksijen radikali üretimine yol açabileceği bildirilmiştir (13). Düzenli hemodiyalize giren hastaların plazma MDA seviyeleri hemodiyalize girmeyen KBY'li gruba göre daha yüksek bulunmuş olup, hemodiyaliz sırasında serbest radikal aktivitesinin arttığı; diyalizin 15 ve 30.dakikaları arasında serbest radikal üretiminin pik yaptığı gösterilerek hemodiyalizin KBY'de oksidatif stresi arttırdığı bildirilmiştir (13-15). SAPD'de ise uygulama tekniği nedeni ile yabancı membran teması yoktur.

Çalışmamızda üremik hastaların plazma MDA düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda, hemodiyaliz ve SAPD gruplarının her ikisinde de anlamlı artış mevcuttu. Köse ve ark., diyaliz sonrası plazma MDA seviyelerinde düşme olduğunu saptamışlar (16). Paşaoğlu ve ark., lipid peroksidasyonu indeksi olan tiyobarbitürik asit reaktif substans değerlerini ölçmüşler ve diyaliz sonrası önemli ölçüde düşme tespit ederek hemodiyalizin tek başına oksijen radikallerini etkisizleştirmede yeterli olmadığını savunmuşlardır (17) Tacconne-Galucci ve ark., (10)

SAPD hastalarında MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek fakat regüler hemodiyaliz uygulanan gruba göre daha düşük saptamışlardır. Çalışmamızda KBY'li hastaların plazma MDA düzeylerini kendi aralarında karşılaştırdığımızda, hemodiyaliz grubunda plazma MDA değerlerini SAPD grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptadık. Bu bulgular periton diyalizi olgularında SOR üretiminin hemodiyaliz grubuna göre daha düşük olduğunu düşündürmektedir.

Plazma antioksidan defans sisteminde GPx'in anahtar rol oynadığına inanılır. Plazmada GPx aktivitesi için esas kaynağın böbrek proksimal tubul hücreleri olabileceği, diyaliz hastalarında yetersiz renal fonksiyon nedeniyle GPx'in renal sentezinin azaldığı bildirilmiştir (11). Bu çalışmada HD ve SAPD gruplarında eritrosit GPx ve değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Bizim sonuçlarımız, Zima (18) ve Köse'nin (16) bulguları ile benzerlik gösteriyordu. Çalışmamızda SAPD hastalarında tedavi öncesi GPx seviyeleri hemodiyaliz grubuna göre yüksekti. Durak ve ark. (15), konservatif tedavi alan KBY'li hastalarda ve intermitten ambulatuvar periton diyalizi uygulanan hastalarda GPx seviyelerini kontrol grubundan farklı bulmamışlar; hemodiyaliz grubunda anlamlı azalma tespit etmişlerdir. Shurtz-Swirski ve ark., KBY'li hastalarda PMNL'lerde antioksidan enzim aktivitelerini değerlendirmişler ve GPx aktivitesini SAPD hastalarında hemodiyaliz grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır (19). Canestrari ve ark., diyaliz hastalarının oksidatif strese maruz kaldıklarını belirterek, SAPD olgularında eritrosit GPx aktivitesinin hemodiyaliz hastalarına göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır (20). Girelli ve ark. ise SAPD'nin hemodiyalizden daha fizyolojik olduğunu ve aneminin SAPD grubunda daha iyi kontrol edildiğini belirtmişlerdir (21). Benzeri şekilde çalışmamızda SOD enzim düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük iken SAPD grubunda HD grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. KBY'de çinko ve bakır gibi eser elementlerde kayıp yanında superoksit iyonu ve hidrojen peroksid düzey artışları sonucu SOD düzeyleri azalmaktadır (22). Oksidan maddelerin artış çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (14,23,24). SAPD grubu değerlerinde HD grubuna göre saptanan artış bu tedavi yöntemi ile daha az anemi görülmesi ve daha ılımlı lipid peroksidasyonu olduğu görüşünü desteklemektedir (10,21).

Sonuç olarak KBY hastalarında oksidan streslerde artış ve antioksidan sistem aktivitelerinde oluşan azalma SOR birikimine yol açmaktadır. Bu durumun üremik sendromun oluşturduğu organ ve

sistem bozukluklarının ilerlemesine katkıda bulunması kaçınılmazdır. Bu çalışmanın sonuçları renal replasman tedavilerinden olan SAPD'de antioksidan sistemlerin HD'ye göre daha az etkilendiğini ve SOR üretiminin daha düşük olduğunu gösterdiğinden dolayı SAPD'nin HD'ye göre daha fizyolojik olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Steiner M, Appen von K, Klinkmann H, Ernst B. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation products in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 1992; Letters, 368-369.
2. Canestrari F, Buoncristiani U, Galli F et al. Redox state, antioxidative activity and lipid peroxidation in erythrocytes and plasma of chronic ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clin Chim Acta* 1995; 234: 127-136.
3. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Fizyoloji* 1989; 9: 1-8.
4. Hussain SA, Hassan MQ, Zeki MA. Antioxidant profile of human erythrocytes after kidney transplantation. *Clinical Biochemistry* 1995; 28: 607-610.
5. Schmidtman S, Miiller M, Baehr von R, Precht T. Changes of antioxidative homeostasis in patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 3:71-74.
6. Bonnefont-Rousselot D, Jaudon MC, Issad B et al. Antioxidant status of elderly chronic renal patients treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1399-1405.
7. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-168.
8. Yagi K. Assay of blood plasma or serum. *Meth Enzymol* 1984; 105:328-331.
9. Matkwoics B, Laszlo A, Vargo SI. Changes and correlation of antioxidant enzymes, lipid peroxidation¹ and serum neutral lipids due to haemodialysis treatment in chronic uremic patients. *Int Urol and Nephrol* 1988; 20: 559-564.
10. Taccone-Galluci M, Giardini O, Lubrano R, Bandino D. Red blood cell lipid peroxidation in predialysis chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1987; 27: 238-241.
11. Avissar N, Ornt BA, Yagil Y, Horowitz S. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol* 1994; 266: 367-375.
12. Turi S, Nemeteh I, Vargha I, Matkovic B, Dabos E. Erythrocyte defense mechanisms against free oxygen radicals in haemodialysed uremic children. *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 179-183.

13. Sanaka T, Higuci C, Shinobe T, Nishimura H. Lipid peroxidation as an indicator of biocompatibility in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 34-38.
14. Maher ER, Wickens DG, Griffin JFA et al. Increased free radical activity during haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant* 1987; 2: 169-171.
15. Durak İ, Akyol Ö, Başeşme E, Canbolat O, Kavutçu M. Reduced erythrocyte defense mechanisms against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. *Nephron*. 1994;66:76-80.
16. Köse K, Doğan P, Gündüz Z et al. Oxidative stress in hemodialyzed patients and the long-term effects of dialyzer reuse practice. *Clin Biochem* 1997;30:601-606.
17. Paşaoğlu H, Muhtaroglu S, Yazıcı C, Utaş C. Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda hemodiyaliz plazma lipid peroksidasyonuna etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 1998; 20: 137-141.
18. Zima T, Haragsim L, Stipek S et al. Lipid peroxidation on dialysis membranes. *Biochem Mol Biol Int* 1993; 29: 531-537.
19. Shurtz-Swirski R, Mashiach E, Kristaal B, Shkolnik T, Shasha SM. Antioxidant enzymes activity in polymorphonuclear leukocytes in chronic renal failure. *Nephron* 1995; 71: 176-179.
20. Canestrari F, Galli F, Giorgini A, Galiotta P, Pascucci M, Bossu M. Erythrocyte redox state in uremic anemia: Hemodialysis effects and glutathione metabolism relevance. *Acta Haematol* 1994; 91: 187-193.
21. Girelli D, Lupo A, Trevisan MT. Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition and antioxidant enzymes in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1992; 12:205-210.
22. Richard MJ, Arnaud J, Jurkovitz C et al. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57: 10-15.
23. Paul JL, Sail ND, Poignet JL, et al. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron* 1993; 64: 106-109.
24. Dasgupta A, Hussain S, Ahmad S. Increased lipid peroxidation in hemodialysis. *Nephron* 1992; 60: 56-59