

Kronik Böbrek Yetmezliğinde Oksidatif Stres ve “Biyomarkır”ları

Oxidative Stress and “Biomarker”s in Chronic Renal Failure

Cevat Yazıcı, Kader Köse

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Kayseri

ÖZET

Kronik böbrek yetmezliğinde (KBY) ilerleyici fonksiyon kaybını açıklamak üzere öne sürülen mekanizmalardan biri de oksidatif stres-tir. Son dönem böbrek yetmezliği hastalarında, serbest radikallerin aşırı üretimi ya da yetersiz antioksidan savunma sistemi nedeniyle, oksidatif dengenin bozulduğuna dair görüşler giderek önem kazanmakta, hatta diyaliz ortamı oksidatif stres için bir model olarak düşünülmektedir. Son yıllarda nötrofil-miyeloperoksidaz-hipoklorik asit aracılı reaksiyonlar, KBY’de gözlenen oksidatif stresin başlıca kaynağı olarak kabul edilmekte ve bu oksidatif reaksiyonlar, doğrudan inflamasyonla ilişkili görünmektedir.

Bu derlemede, KBY’de oksidatif stres oluşumu ve özellikle proteinlerin oksidatif modifikasyonuna neden olan mekanizmalar ile “biyomarkır” olarak kullanılan oksidatif ürünler gözden geçirilecektir.

Anahtar kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, serbest oksijen radikalleri, oksidatif stres, protein oksidasyonu, biyomarkır

ABSTRACT

Oxidative stress is one of the proposed mechanisms to explain renal function impairment in chronic renal failure (CRF). There is growing evidence supporting that oxidative balance is disturbed due to either overproduction of free radicals or insufficient antioxidant defense system in patients with end stage renal disease. Moreover, dialysis processes is accepted as a model for oxidative stress. In recent years, neutrophil-myeloperoxidase-hypochlorous acid mediated reactions suggest, as the main source of oxidative stress seen in CRF and these reactions seem directly to be related to inflammation.

In the present review, the occurrence of oxidative stress and especially the oxidative modification mechanisms of proteins as well as oxidation products used as biomarkers are surveyed in CRF.

Keywords: Chronic renal failure, radical oxygen species, oxidative stress, protein oxidation, biomarker

Nefroloji Dergisi 2004;13 (3) 117-124

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), giderek azalan glomerüler filtrasyon değeri (GFD) ile yansıtıldığı gibi, nefron kaybına bağlı olarak böbrek fonksiyonlarının yıllar içerisinde ilerleyici ve geri dönüşümsüz olarak kaybedilmesidir (1).

Farklı temellere dayanan ve son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) ile sonuçlanan çok sayıda böbrek hastalığının varlığı; KBY etiyojisini açıklamak üzere, birbirinden farklı birçok mekanizmanın öne sürülmesine neden olmakta; glomerüler hücreler, nötrofil, mono-sit/makrofajlar, trombositler, kompleman ve koagülasyon sistemi, sitokinler ve büyüme faktörleri, PAF gibi biyoaktif lipidler, anjiyotensin II, endotelin, nitrik oksit (NO) ve serbest oksijen radikalleri (SOR) gibi birçok mediyatörün, renal hasar oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir. Renal hücrelerin enerji üretimini ve transport fonksiyonlarını bozabilen SOR; morfolojik lezyonların oluşumundan ve proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğinin artmasından da sorumlu tutulmaktadır. Hatta, prostaglandin, tromboksan ve PAF gibi vazoaktif lipidlerin salınımında rol oynadıkları da öne sürülmektedir (2,3).

KBY’de oksidatif stres

Organizmada, SOR’un aşırı miktarda üretildiği ya da antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda; oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması, oksidatif stres olarak adlandırılır (4). SDBY

Yazma adresi: Yrd. Doç. Dr. Cevat Yazıcı
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
38039, Kayseri
E-posta: yazici@erciyes.edu.tr

hastalarında, oksidatif dengenin bozulduğuna dair görüşler giderek önem kazanmakta (5,6); hatta diyaliz oksidatif stres için bir model olarak düşünülmektedir (7).

KBY'de SOR üreten başlıca oksidatif yollar yıllardır araştırılmaktadır. Böbrekte, glomerüler hücreler (endotel, mezangial, epitel), infiltran nötrofiller, monosit/makrofajlar ve trombositler tarafından SOR oluşturduğu gösterilmiştir (3). Son yıllarda miyeloperoksidaz (MPO) ile katalizlenen oksidatif olaylar, üremi ve hemodiyaliz (HD) de, oksidatif stresin başlıca kaynağı olarak kabul edilmekte (5,8,9) ve bu oksidatif reaksiyonlar, doğrudan inflamasyonla ilişkili görünmektedir (10).

İnflamatuvar hastalıklarda, aktif nötrofillerce aşırı miktarda üretilen SOR'un, doku hasarına yol açtığı bilinmektedir (11). Kronik inflamasyon, KBY hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi (HD, periton diyalizi-PD) alanlarda yaygın bir durumdur (6). SDBY ve HD hastalarında, dolaşımdaki nötrofillerde oksidatif metabolizmanın arttığı gösterilmiştir (12).

Diyaliz sırasında, diyalizerlerin alternatif yol ile kompleman aktivasyonuna yol açtığı (13), muhtemelen IgG ve kompleman bileşenlerinin diyaliz membranına bağlanarak, granülositler için biyoaktif bir yüzey oluşturduğu (14) ve membranla temas eden nötrofiller-

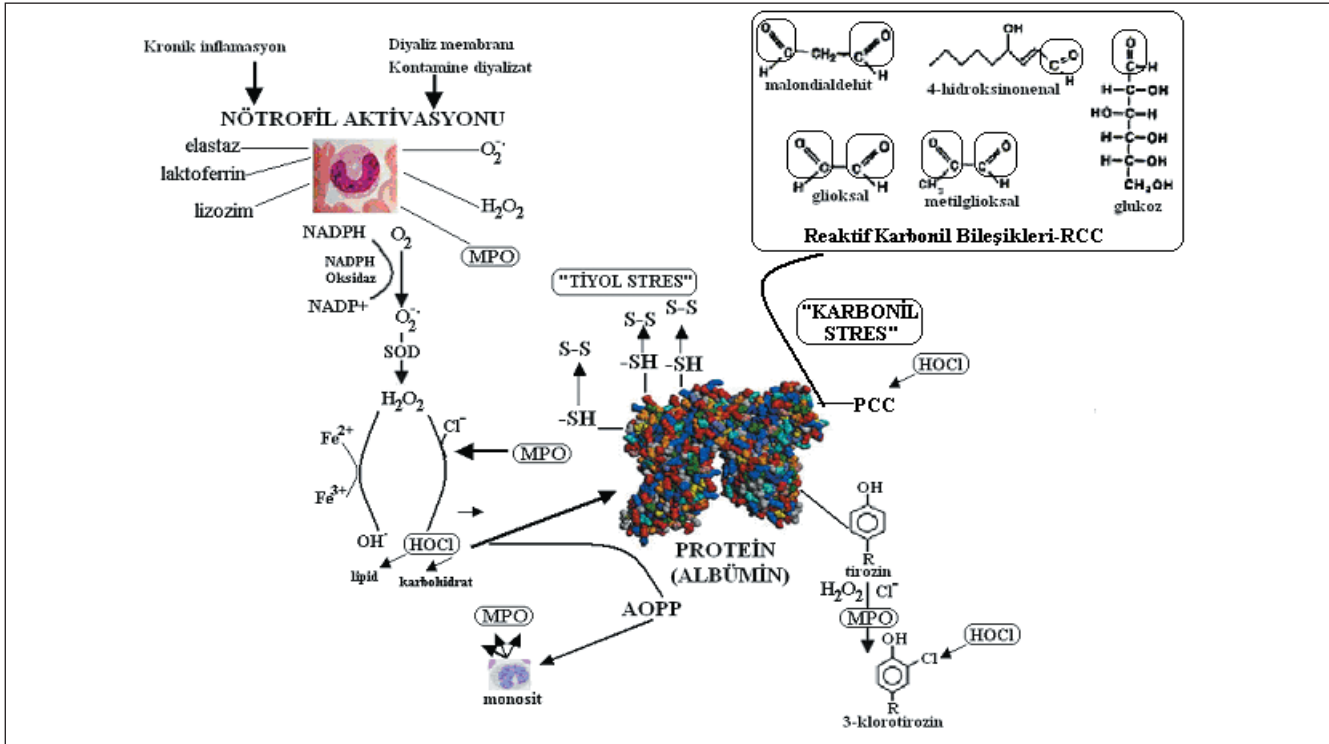
de degranülasyonun ve aktivasyonun indüklendiği bildirilmektedir (15). Nötrofil aktivasyonunu gösteren degranülasyon sırasında, nötrofillerden süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi SOR türevleri (16) ile birlikte laktoferrin, lizozim, elastaz, eozinofil katyonik protein ve nötrofillere spesifik bir enzim olan MPO (11) da plazmaya salınmaktadır (13-15) (Şekil 1).

HD hastalarında, plazma MPO aktivitesinin yükseldiği gösterilmiştir (8, 9,17-19). Yüksek plazma MPO değerleri, diyaliz hastalarında oksidatif hasar oluşturabilen aktif nötrofillerin varlığını göstermesi bakımından önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

KBY'de oksidatif stres "biyomarker"ları

Hastalıkların patogenezinde ve/veya ilerlemesinde oksidatif stresin rolünü araştırmak için, uygun "biyomarker"ların kullanılması gerekir. SOR kaynaklı oksidatif hasar en çok protein, lipid ve nükleik asit gibi biyomolekülleri etkilediğinden; oksidatif stresin gösterilmesinde, genellikle bu biyomoleküllerin oksidatif ürünlerine yönelik testler kullanılmaktadır (20).

Günümüzde KBY'nin bir prooksidan durum olduğunu gösteren birçok oksidatif stres marker'ı olmasına rağmen; popülasyon çalışmalarının eksikliği nedeniyle,



Şekil 1. KBY ve diyalizde nötrofil aktivasyonu ve sonuçları.

hem bu testlerin diyagnostik gücü belirlenememekte (21); hem de üremik şartların önemine karşılık, renal replasman tedavisinin rolü henüz açıklanamamaktadır (6). Çünkü, hiperhomosisteinemi, inflamasyon gibi üremi ile ilişkili metabolik anormallikler; membran biyoyumsuzluğu ve/veya endotoksinle kontamine diyalizat kullanımı gibi diyalize bağlı faktörler ve hatta tedavide kullanılan eritropoietin gibi ilaçların da oksidatif strese katkıda bulunabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca, numune eldesi ve saklanması, seçilen metotların sensitivitesi ve spesifitesisi, ölçülen parametrenin *in vivo* kinetiği, *in vitro* şartlarda gerçekleştirilen oksidasyonun tam olarak *in vivo* oksidatif stresi yansıtamaması gibi faktörler de, *biyomarkır* seçimini etkileyebilecek nedenler arasında sayılabilir (20, 21).

Oksidatif stresi belirlemede, lipid oksidasyonunu yansıtan malondialdehit (MDA) ölçümleri, sıklıkla yapılsa da; KBY hastalarında hem lipid peroksidasyonunu ve hem de intra- ve ekstraselüler antioksidan potansiyeli değerlendiren çalışmalar, uyumsuz sonuçlar vermektedir (21,22). MDA'nın yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışı ve spesifik/sensitif olmayan yöntemlerin kullanılması, sonuçların güvenilirliğini etkilemekte ve MDA seviyeleri, tüm KBY hastalarında değil, ancak bir kısmında, plazma ve eritrositlerde yükselmiş görünmektedir (21). Bu nedenle, günümüzde *marker* olarak, lipid türevleri yerine, daha stabil ve uzun ömürlü protein oksidasyon ürünlerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (20,23).

Protein oksidasyon ürünleri

Protein oksidasyonu, hipoklorik asit (HOCl), hidroperoksi, peroksinitrit, hidroksi ve peroksi gibi SOR türevleri varlığında, direkt ve indirekt birçok yolla gerçekleşebilir (24,25).

Protein oksidasyon ürünleri arasında, protein karbonil bileşikleri (PCC); 3-nitrotirozin (3-NT), klorotirozin gibi yan zincir oksidasyon ürünleri; ditirozin ve protein ileri oksidasyon ürünleri (advanced oxidation protein products; AOPP) gibi çapraz bağlanma ürünleri sayılabilir. Bunların içerisinde, PCC ve AOPP, daha büyük protein fraksiyonlarını etkileyen global modifikasyon örnekleridir (5,24).

Protein karbonil bileşikleri (Karbonil stres)

Oksidatif stresin erken aşamasında oluşan ve diğer stres parametrelerine göre, dolaşımında daha uzun süre ve stabil kalabilen PCC, güvenilir bir *marker* olarak önerilmektedir (20,21).

Protein yapısında bulunan prolil, lizil, arjinil ve treonil yan zincirlerinin oksidasyonu/ peptid bağlarının oksidatif yıkımı ya da sisteinil, histidil, lizil nükleofilik yan zincirlerinin, lipid ya da karbonhidratlardan türeyen prekürsörler (reactive carbonyl compounds-RCC) ile etkileşimi (23-25), protein üzerinde karbonil gruplarını oluşturabilir. Bu ikinci yol, protein üzerinde pentozidin gibi ileri glikasyon ürünleri (Advanced glycation end products-AGE) veya MDA-lizin, 4-HNE-protein gibi ileri lipoksidasyon ürünleri (Advanced lipoxidation end products-ALE) oluşumuyla sonuçlanır (26) (Şekil 1).

Plazma PCC düzeylerinin, SDBY ve HD (10,27-29) ile PD (8,28) hastalarında, yükseldiğini gösteren çalışmalar vardır. Üremik hastalarda PCC'nin renal yetmezliğin derecesine bağlı olarak giderek yükseldiğini ve plazma kreatinin seviyeleriyle pozitif ilişkili olduğunu gösteren Mimic-Oka ve arkadaşları (10), KBY'nin protein hasarına yol açan bir "**karbonil stres**" durumu olduğunu vurgulamışlardır. Himmelfarb ve arkadaşları (27) da, kreatinin ve PCC arasındaki benzer ilişkiye dayanarak, PCC oluşum hızının hastalığın aktivitesine paralel olarak artabileceğini öne sürmüşlerdir. Ancak, oksidatif stresin üremiyle ilişkili olduğunu öne süren bu araştırmacılar (10,27), SOR'un nasıl üretildiğine değinmemişlerdir.

Organizmada sadece MPO reaksiyonuyla oluşan HOCl'nin lipid ve DNA gibi molekülleri hiç ya da çok az modifiye edebildiği, başlıca hedefinin proteinler olduğu ve PCC oluşumunu indüklediği bildirilmektedir (20). Bu nedenle, SOR olarak başlıca HOCl üretilen durumlarda, PCC oluşumu kaçınılmaz olacaktır.

Protein oksidasyonu için; peroksinitrit varlığında 3-NT ve HOCl varlığında 3-klorotirozin, sensitif ve spesifik *marker* olarak kabul edilmektedir (23). Normal plazmada, *in vitro* PCC oluşumunun H₂O₂ ile %6 ve HOCl ile %712 oranında arttığını gösteren Himmelfarb ve arkadaşları (27), HD hastalarının plazma proteinlerinde, 3-klorotirozin içeriğinin yüksek ve 3-NT'nin çok düşük (9) olduğunu da belirlemişlerdir. HD hastalarında 3-klorotirozin ve PCC düzeylerinin yüksek bulunması; MPO-HOCl-aracılı reaksiyonların KBY'de oksidatif strese yol açan başlıca kaynak olduğunu desteklemektedir (Şekil 1).

Himmelfarb ve McMonagle (30), western blot ve elektroforetik yöntemlerle, SDBY ve HD hastalarında oksidatif strese maruz kalan başlıca proteinin, albümin olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, albümin gibi plazma proteinlerinin, aynı zamanda nötrofil aktivasyonunu başlatan proinflamatuvar mediyatörler oldukları ve inflamasyonun şiddetini artırdıkları da bildirilmektedir (31). Glukoz vb. redüktan şekerlerle oluşan AGE türevlerinin

diyabetiklere göre, üremik hastalarda daha yüksek olduğu; buna karşılık diyabetik olan/olmayan üremiklerde AGE düzeyleri bakımından fark olmadığı ve plazma AGE türevlerinin en az %90'ının, albümine bağlı olduğu bildirilmektedir (22).

Üremik hastalardaki AGE/ALE birikimi, okside proteinlerin renal atılımındaki azalmaya değil; karbonhidrat ve lipidlerin artmış oksidasyonu ya da RCC'nin azalmış inaktivasyonu/detoksifikasyonu sonucu oluşan *karbonil stres*'e de bağlanabilir (32). Başka bir ifadeyle, üremik hastaların plazmasında albümin üzerinde gerçekleşen PCC oluşumu; hem HOCl tarafından amino asitlerin direkt oksidasyonu, hem de AGE/ALE oluşumuna yol açan RCC tarafından indirekt oksidasyonla gerçekleşebilir (6).

PD hastalarında, okside/redükte albümin oranındaki artış, oksidatif strese bağlanmakta (33) ve diyalizatin yüksek glukoz içeriğinin de karbonil ve oksidatif stresle ilişkili olabileceği öne sürülmektedir (22). Otoksidasyon ve/veya ısıtma ile sterilizasyon sırasında, glukoz yıkım ürünlerinin arttığı ve glikasyon reaksiyonlarıyla AGE oluşumunun hızlandığı düşünülmektedir (22). Diğer taraftan, PD hastalarında yüksek permeabiliteye 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 bildirilmektedir (34). Örneğin, HD hastalarına göre, plazma AGE-pentozidin düzeyleri, PD hastalarında daha düşük bulunmuştur. Üremik hastaların plazmasında serbest ya da proteine bağlı bulunabilen AGE-pentozidinin, HD işlemi ile sadece serbest formunun; PD ile her iki pentozidin formunun da plazmadan uzaklaştırılabildiği gösterilmiştir. Dahası albümine göre albümin-pentozidin klirensinin daha fazla olması, albümine bağlı pentozidinin kolaylaştırılmış difüzyon ve aktif transport ile plazmadan peritoneal kaviteye geçebildiği şeklinde açıklanmıştır (35). Sonuç olarak PD hastalarında gözlenen yüksek pentozidin düzeylerinin, diyalizat sıvısından kaynaklanmadığı (34) ve endojen oluşan pentozidin gibi AGE türevlerinin HD'ye göre SAPD işlemiyle daha etkin bir şekilde vücuttan uzaklaştırılabileceği söylenebilir.

Literatürde, PD hastalarında yapılan sadece iki çalışmada, PCC seviyeleri yüksek (28) ve değişmemiş (36) olarak bildirilmektedir. PD ve HD hastalarında plazma PCC değerlerini normal bulan Erdoğan ve arkadaşlarının (36) çalışmasında; hem hasta gruplarının 6-8 kişiden oluşması ve hem de hastaların, süre belirtilmeksizin, 100 mg vitamin C kullanmaları, sonuçların güveni-

lirliğini azaltmaktadır. Diğer taraftan, Donate ve arkadaşlarının (28) çalışmasında, plazma PCC düzeyleri, SDBY hastalarına göre diyaliz hastalarında ve PD'ye göre de HD hastalarında daha yüksek bulunmuş ve bu durum, HD'nin daha büyük oksidatif stres oluşturabileceği ya da PD hastalarının daha büyük rezidüel renal fonksiyona sahip olabileceği şeklinde açıklanmıştır.

Proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri

Yüksek derecede okside proteinler olarak, ilk defa Witko-Sarsat ve arkadaşları (5) tarafından üremik hastaların plazmasında tanımlanan AOPP, KBY sürecini yansıtan, güvenilir bir oksidatif stres *marker*'ı olarak kabul edilmektedir.

Kimyasal yapısı halen araştırılmakta olan AOPP'nin, kendi klirensini de önleyebilen yüksek molekül ağırlığına sahip olduğu; disülfid köprüleri ve/veya tirozin çapraz bağlanmalarını içeren albümin agregatlarından oluştuğu ve hem saf albüminden hem de kontrol plazma albüminden farklı olduğu, kromatografik ve elektroforetik tekniklerle gösterilmiş ve bu nedenle, oksidatif modifikasyona uğrayan albüminin son çapraz bağlanma ürünleri, AOPP olarak tanımlanmıştır (5). AOPP'nin *in vitro* şartlarda H₂O₂'den çok HOCl'ye maruz kalan saf/plazma albümin örneklerinde oluştuğu belirlendiğinden, *in vivo* olarak aktif nütrofillerce üretilen HOCl'nin, AOPP oluşturabileceği düşünülmektedir (37).

PCC gibi, plazma AOPP düzeyleri de, en çok HD hastalarında (5,38) olmak üzere, PD (5) ve diyaliz tedavisi almayan SDBY hastalarında (5,39) yüksek bulunmuştur. Hatta, hafif, orta ve ileri KBY (SDBY) hastalarında, plazma AOPP değerlerinin, renal fonksiyon kaybına bağlı olarak giderek yükseldiği ve AOPP ile GFD arasında kuvvetli negatif ilişki olduğu belirlenmiştir (39). Yüksek MPO içeriklerinden dolayı, klorlu oksidanların başlıca kaynağını oluşturan nütrofillerin, AOPP oluşumundan sorumlu oldukları düşünülebilir (Şekil 1).

Üremik hastalarda, oksidatif stresle karbonil stres arasındaki ilişkiyi destekleyecek şekilde, plazma AOPP ile AGE-pentozidin, neopterin ve ditirozin düzeyleri arasında, pozitif ilişki bulunması, AOPP'nin monosit aktivasyonu ile de oluştuğunu göstermektedir (5,39). AOPP'nin mononükleer fagositleri aktive ederek, nütrofiller ve monositler arasında sitokin benzeri proinflamatuar medyatör gibi davrandıkları da öne sürülmekte ve AOPP ve AGE'nin hem oluşum mekanizması hem de yapısal açıdan benzerlik göstermeleri nedeniyle, biyolojik aktivitelerinin de birbiriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (5,37,39).

Tiyol oksidasyonu (Tiyol stres)

Proteinlerin yanı sıra, sistein ve glutatyon gibi serbest tiyol (-SH) grubu içeren bileşikler de, üremi ve HD'nin prooksidan etki gösterdiği başlıca hedefler arasındadır (24).

Plazmanın başlıca antioksidanları, ürik asit, proteinler, tiyoller ve vitaminlerdir (40). Tiyollerin plazmada yüksek düzeyde olması; glutatyonun yanı sıra, başta albümin olmak üzere, plazma proteinlerinde bulunan sistein ve metiyonine bağlıdır (4).

Tiyol bileşiklerinin selektif olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilinmektedir (30). Normal plazmada, *in vitro* tiyol seviyelerinin H₂O₂ ile %30 ve HOCl ile %97 oranında azaldığı gösterilmiştir (27). Bu nedenle plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir. Plazmada, askorbik asit gibi diğer antioksidanlara göre; albüminin HOCl'ye karşı 10 kat daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (41).

Mimic-Oka ve arkadaşları (10), yetmezliğin derecesinden bağımsız olarak, tüm KBY hastalarında, plazma tiyol seviyelerini düşük bulmuşlardır. Himmelfarb ve arkadaşları (27), tüm SDBY hastalarında, plazma tiyol seviyelerinin azaldığını belirleyerek, bu durumu "**tiyol stres**" olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca, PD (33) ve HD (42) hastalarında redükte/okside sistein oranı da düşük bulunmuştur. Albüminin, üremik hastalarda MPO-aracılı oksidatif strese uğrayan başlıca protein olduğu (30) dikkate alınır; tiyol düzeylerindeki azalma, üremide üretilen SOR'a karşı, tiyolün tüketilmesine; diyalizden önce de hastalarda protein oksidasyonunun olduğuna bağlanabilir. Ayrıca, düşük plazma -SH seviyeleri; antioksidanlarla ilgili çelişkili bulgulara rağmen, üremiklerde prooksidanlara karşı antioksidan sistemin yetersiz kaldığını, hatta plazmanın total antioksidan kapasitesinin (TAK) azaldığını da gösterebilir.

Plazmanın total antioksidan kapasitesi

Plazmada bulunan antioksidanlar ayrı ayrı ölçülebilir de; çok sayıda antioksidan olması ve birbiriyle *in vivo* etkileşimleri nedeniyle, oksidatif stresin ortaya konulmasında, TAK'ı gösteren testlerin daha değerli olduğu düşünülmektedir (43).

Literatürde, TAK'ın üremik hastalarda azaldığını (18,44) ya da arttığını (36,45,46) gösteren çelişkili bulgular, büyük olasılıkla, metodolojik farklılıklardan kaynaklanabilir.

SDBY ve HD hastalarında, sıgır beyni homojenatlarıdaki peroksidasyonun serum/plazma tarafından inhibisyonuna dayanan metotlarla (18,44), TAK'ın azaldığı be-

lirlenmiş ve bu durum, üreminin endojen metabolik sonucu olarak yorumlanmıştır (44). SOR kaynağı olarak AAPH gibi azo bileşiklerinin kullanıldığı TRAP testleriyle (40), SDBY (46,47) ve HD (45-48) hastalarında TAK yüksek bulunmuştur. TRAP aktivitesinin ürik asit (%35-65), -SH içeren albümin gibi proteinler (%10-50), vitamin E (%5-10) ve C'ye (%0-24) bağlı olduğu bilindiğinden (40); SDBY hastalarında daima yükselen ürik asit, diğer antioksidanlardaki değişiklikleri maskeleyebilecek ve TAK, artmış gibi görünecektir (45). Gerçekten, Bergesio ve arkadaşları (47), hafif, orta, ileri KBY ve HD hastalarında, renal yetmezliğe bağlı olarak artan TRAP değerlerinin, kreatinin ve ürik asitle pozitif ilişkili olduğunu ve KBY'deki oksidatif stresi belirlemede, bu testlerin uygun olmayacağını bildirmişlerdir. Nguyen-Khoa ve arkadaşları (48) da, PCC ve AOPP seviyelerini yüksek buldukları HD hastalarında, TRAP testiyle izole LDL- ve plazma-TAK'ın yükseldiğini; plazma-TRAP'ın AOPP ve ürik asitle ve LDL-TRAP'ın da AOPP ile pozitif yönde ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, artan konsantrasyonlarda ürik asit ve albümin-AOPP kompleksiyle inkübe edilen normal plazma örneklerinde de, TRAP'ı yüksek bulan araştırmacılar, *in vivo* antioksidan olmayan ürik asit ve AOPP'nin, *in vitro* olarak peroksi radikallerini tutabildikleri; bu nedenle TRAP testlerinin HD hastaları için güvenilir olmadığı sonucuna varmışlardır (48).

Plazmanın *in vitro* demiri redükleyebilme kapasitesini ölçen FRAP testleriyle (49) de, PD ve HD hastaları arasında fark olmaksızın, TAK'ın arttığı bildirilmektedir (36). Ancak FRAP testleriyle, ürik asit (%60), askorbik asit (%15), vitamin E (%5), bilirubin (%5) ve protein (%10) gibi antioksidanlar ölçülürken; -SH'in TAK'a katkısı ölçülememektedir (49). Erdoğan ve arkadaşlarının (36) çalışmasında da, hem yüksek ürik asit düzeyleri hem de askorbik asit kullanımı; PD ve HD hastalarında yüksek bulunan FRAP aktivitesini açıklayabilir.

Literatürde; üremik hastalarda yüksek PCC, AOPP (48) ve TRAP'ın (40,46,48) yanı sıra, tiyolün düşük bulunması (45,46); protein oksidasyonu nedeniyle -SH'in düştüğü; bu durumun yüksek ürik asit ile maskelendiği ve aslında azalan TAK'ın yükselmiş gibi görüldüğü söylenebilir. Ayrıca, azalmış TAK'la birlikte, düşük plazma tiyol ve yüksek MPO aktivitesi gözlenen HD hastalarında, MPO'nun TAK ile negatif ilişkili bulunması (18), MPO aracılı oksidasyonun, TAK'ı düşürebileceği şeklinde yorumlanabilir.

LDL oksidasyonu

Doğal LDL'nin SOR ile oksidasyonunun, aterosklerozu başlattığı kabul edilmektedir (50). Okside-LDL'nin

aterosklerotik etkisi, SOR ile oksitlenme derecesine bağlanmakta (51) ve oksidatif strese direnci belirlemek amacıyla, izole LDL'nin oksidasyonu sırasında biriken konjuge dien miktarı, kantitatif bir oksidasyon testi olarak kullanılmaktadır (52).

LDL-AOPP içeriğinin, bakırla 5 kat, HOCl ile 100 kat arttığı ve bu artışın HOCl ile doğru orantılı olduğu; HOCl'nin LDL yapısını değiştirdiği, HOCl-okside-LDL kompleksinin makrofaj solunum patlamasını indüklediği belirlenmiş ve bu kompleksin aterogeneze de yol açabilen makrofaj aracılı oksidatif protein hasarında rol alabileceği öne sürülmüştür (53). AOPP'nin koroner arter hastalarında da yüksek bulunması, ateroskleroz oluşumunda MPO aracılı oksidasyonunun önemli olduğunu göstermektedir (54). Aktif MPO'nun ve ditirozin, 3-klorotirozin gibi MPO-aracılı okside ürünlerin aterosklerotik plaklarda bulunması; MPO aracılı okside-LDL'nin makrofajlarca kontrolsüz fagositozu (55); bu görüşü desteklemektedir.

Kronik HD hastalarında plazma antioksidanlarının düştüğü ve LDL'nin oksidasyona daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (56). Yaş, cinsiyet ve diyabet gibi etkenler düzeltildikten sonra bile, KBY hastalarının toplumdan 10-20 kat daha yüksek kardiyovasküler mortalite/morbidite göstermeleri (57); kronik inflamasyona bağlı MPO aracılı oksidatif strese bağlanabilir.

Diyaliz ve oksidatif stres

Replasman tedavisi alan/almayan tüm SDBY hastaları, başlıca kaynağı MPO olan, artmış bir oksidatif stresle karşı karşıyadır. Ancak oksidatif stresin neden HD hastalarında daha belirgin olduğu halen tartışılmakta ve hatta diyaliz ortamı, oksidatif stres için bir model kabul edilmektedir. Üremik toksinlerin yanı sıra, diyalizin dolaşımdaki nötrofil ve monositleri SOR oluşturmak üzere tetiklediği; vitamin kaybıyla antioksidan gücün de zayıfladığı ve böylece diyaliz hastalarında oksidatif stresin oluşabileceği varsayılmaktadır (37,58).

Hemodiyalizde, kan-membran etkileşimi nedeniyle, immün hücrelerin tekrarlayan aktivasyonu, prooksidan durumun daha da kötüleşmesine neden olmaktadır. Her seansta artan oksidatif stres; hem karbonil stresi artıran başlıca faktörlerden biri, hem de hastalardaki yüksek morbidite/mortalite oranının ve kronik komplikasyonların sorumlusu olarak düşünülmektedir (6). Diğer bir görüş ise, oksidatif stresle ilişkili en önemli faktörün, HD işleminden çok, inflamasyonun derecesi ve tedavinin süresi olduğunu öne sürmektedir (38).

HD işleminin oksidatif stres parametrelerine etkisini araştıran çalışmalarda; MPO aktivitesinin, HD işlemi süre-

since dalgalanmalar gösterse de (9); HD sonunda, hem heparin kullanımıyla (59) hem de membran tipinden bağımsız olarak (13-15), daha da yükseldiği belirlenmiştir.

PCC seviyelerinin, seans sonunda nispeten yükseldiği (60) bildirilmesine rağmen; Himmelfarb ve arkadaşları (27), seans sırasında, sonunda ve hatta seanstan 30 ve 60 dakika sonra bile değişmeyen PCC düzeylerini; diyaliz boyunca oksidasyon olmadığı şeklinde yorumlamışlardır. Benzer şekilde, 3-klorotirozin seviyelerinin de değişmediği bildirilmektedir (9). Bu verilere göre protein oksidasyonu ve oksidatif strese yol açan etkenin, HD işleminden çok, kronik fagositoz aktivasyonu yapan renal yetmezliğin bizzat kendisinin olduğu düşünülebilir. Buna göre, HD ile uyarılan nötrofil aktivasyonu ile kıyaslandığında, MPO kaynaklı klorlanmış oksidanların kronik etkisi daha büyük hasar oluşturabilir veya MPO'nun intradiyalitik artışı interdiyalitik protein oksidasyonundan sorumlu olabilir.

Literatürde, HD öncesi yüksek olan AOPP düzeylerinin, HD sonunda yükseldiği (5) ya da değişmediği (60) bildirilmektedir. Witko-Sarsat ve arkadaşları (5), membran tipinden etkilenmeyen AOPP'nin, diyaliz sonunda daha da yükseldiğini gözlemişlerdir. Ward ve arkadaşları (60), HD işlemi sırasında AOPP'nin değişmesini, diyaliz sonunda normale yakın buldukları nötrofil oksijen radikal üretimine bağlamışlardır.

HD işleminin, askorbik asit gibi antioksidanların kaybına yol açarak TAK'ı azaltacağı öne sürülmektedir (6). Diğer taraftan, diyalizer tipine bağlı olmaksızın (27), diyaliz öncesi düşük bulunan total (27,45,46,60) ve serbest (61) tiyol seviyelerinin; hatta redükte/okside sistein oranının (42) yükseldiği bildirilmektedir. Bu artış hemokonsantrasyona (46) bağlansa da, albümin/protein düzeylerinin HD ile değişmediğini bildiren çalışmalar (45,61) da vardır.

Hemodiyalizin TAK'ı etkilemediğini bildiren Kuroda ve arkadaşlarına (44) zıt olarak; TRAP testi ile HD öncesi yüksek bulunan TAK, HD sonunda düşük bulunmuştur (45,46). Bu durum, diyalizle azalan ürik asit seviyelerine bağlanabilir. Diğer taraftan, elektron spin rezonans yöntemiyle, diyaliz öncesi düşük olan antioksidan kapasitenin, diyaliz sonunda yükseldiği gösterilmiş (62) ve HD ile prooksidan faktörlerin plazmadan uzaklaştırıldığı varsayılmıştır. Bu bulgulara göre, diyalizin sadece oksidatif hasar oluşturmayıp, aynı zamanda oksidatif ürünleri ve prooksidanları da, plazmadan uzaklaştırdığı söylenebilir. Ancak plazma tiyol ve TAK'ın yükselmesi, çok kısa süreli olmakta ve diyaliz seansları arasında, prooksidan şartlar nedeniyle tiyol seviyeleri yeniden düşerken, TAK da azalmaktadır.

Sonuç

Mevcut literatür değerlendirildiğinde; nötrofil-MPO ile üretilen klorlu oksidanların, diyaliz tedavisi alan/almayan SDBY hastalarında gözlenen artmış oksidatif stresin başlıca kaynağı oldukları düşünülebilir. HD hastalarında oksidatif stresin daha belirgin olması, hemodiyaliz kendisinden çok, alta yatan inflamasyonun derecesi ve tedavinin süresi gibi faktörlere bağlanabilir.

Yüksek kardiyovasküler mortalite/morbidite ile de ilişkili oksidatif stresin önlenmesi için, başta HD olmak üzere tüm SDBY hastalarının, N-asetilsistein (63) gibi antioksidanlarla desteklenmesi, ek bir tedavi olarak düşünülebilir.

Sonuç olarak, kronik inflamasyonu önlemeye yönelik herhangi bir girişim, üremik hastalara büyük yarar sağlayacak gibi görünmektedir.

Kaynaklar

- Akpolat T, Utaş C. Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı. Kayseri, Anadolu Yayıncılık, 2001.
- England BK, Mitch WE. Mechanisms of progression of renal insufficiency. In: Massry SG, Glasscock RJ (eds), Textbook of Nephrology. 3rd ed, Volume 2. Baltimore, Williams and Wilkins, 1995: 1261-1269.
- Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. Am J Kidney Dis 1999; 34:384-399.
- Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol 1997; 82:291-295.
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. Kidney Int 1996; 49:1304-1313.
- Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. Nephrol Dial Transplant 2002; 17 (Suppl 8):S16-S24.
- Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: Biological aspects, clinical consequences, and therapy. Semin Dial 2001;14:193-199.
- Sarpkaya S. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Protein Oksidasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2003, ss 68.
- Himmelfarb J, McMenamin ME, Loseto G, Heinecke JW. Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients. Free Radic Biol Med 2001; 3:1163-1169.
- Mimic-Oka J, Simic T, Pljesa M, Stupar N, Turkovic S. Oxidative modifications of plasma proteins in different stages of chronic renal failure. Med Biol 2001; 8:1-5.
- Weiss SL. Tissue destruction by neutrophils. N Eng J Med 1989; 320:365-376.
- Paul JL. Influence of uremia on polymorphonuclear leukocytes oxidative metabolism in end-stage renal disease and dialyzed patients. Nephron 1991; 57:428-432.
- Hörl HW, Riegel W, Schollmeyer P. Different complement and granulocyte activation in patient dialyzed with PMMA dialyzers. Clin Nephrol 1986; 25:304-307.
- Höllgren R, Venge P, Danielson BG. Neutrophil and eosinophil degranulation during hemodialysis are mediated by the dialysis membrane. Nephron 1982; 32:329-334.
- Hörl WH, Riegel W, Steinhauer HB, et al. Granulocyte activation during hemodialysis. Clin Nephrol 1986; 26:30-34.
- Kuwahara T, Maskert M, Wauters JP. Neutrophil oxygen radical production by dialysis membranes. Nephrol Dial Transplant 1988; 3:661-665.
- 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.
- Gündüz Z, Düşünsel R, Köse K, Utaş C, Doğan P. The effect of dialyzer reuse on plasma antioxidative mechanisms in patients on regular hemodialysis treatment. Free Radic Biol Med 1996; 21: 225-231.
- Hörl WH, Feinstein EL, Wanner C, et al. Plasma levels of main granulocyte components during hemodialysis: comparison of new and reused dialyzers. Am J Nephrol 1990; 10:53-57.
- 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.
- Massy ZA, Nguyen-Khoa T, Beauvais CH. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. J Nephrol 2002; 15:336-341.
- Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity ("carbonyl stress"). Kidney Int 2001; 59:25-31.
- Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. Free Radic Biol Med 1999; 27:1151-1163.
- Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem J 1997; 324:1-18.
- Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. Chem Res Toxicol 1997; 10:485-494.
- Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. Diabetes 1999; 48:1-8.
- Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. Kidney Int 2000; 58:2571-2578.
- Donate T, Herreros A, Martinez E, et al. Protein oxidative stress in dialysis patients. Adv Perit Dial 2002; 18:15-17.
- Sarpkaya S, Köse K, Yazıcı C, Utaş C. Kronik böbrek yetmezliğinde protein oksidasyonu. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2003; 12:42-48.
- Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. Kidney Int 2001; 60:358-363.
- Körmöczü GF, Wölfel UM, Rosenkranz AR, et al. Serum proteins modified by neutrophil-derived oxidants as mediators of neutrophil stimulation. J Immunol 2001; 167:451-460.
- Miyata T, Strihou CY, Kurokawa K, Baynes JW. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. Kidney Int 1999; 55:389-399.
- Kumano K, Yokota S, Go M, et al. Quantitative and qualitative changes of serum albumin in CAPD patients. Adv Perit Dial 1992; 8:127-130.
- Lameire N, Vanholder R, De Smet R. Uremic toxins and peritoneal dialysis. Kidney Int 2001; 59:292-297.
- Friedlander MA, Yu Ching W, Elgawish A, Monnier VM. Early and advanced glycosylation end products kinetics of formation and clearance in peritoneal dialysis. J Clin Invest 1996; 97:728-735.
- Erdoğan C, Ünlüçerçi Y, Türkmen A, et al. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. Clin Chim Acta 2002; 322:157-161.
- Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. Kidney Int 2001; 59 (Suppl.78):S108-S113.

38. 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.
39. Witko-Sarsat V, Friedlander 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; 161:2524-2532.
40. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC. 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.
41. 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.
42. Wlodek PJ, Iciek MB, Milkowski A, Smolenski OB. Various forms of plasma sistein and its metabolites in patients undergoing hemodialysis. *Clin Chim* 2001; 304:9-18.
43. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1173-1181.
44. Kuroda M, Asaka S, Tofuku Y, Takeda R. Serum antioxidant activity in uremic patients. *Nephron* 1985; 41:293-298.
45. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidant in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1995; 41:1135-1138.
46. Clermont G, Lecour S, Lahet JJ, 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.
47. Bergesio F, Monzani G, Ciuti R, et al. Total antioxidant capacity (TAC): is it an effective method to evaluate the oxidative stress in uraemia. *J Biolumin Chemilumin* 1998; 13:315-319.
48. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, Witko-Sarsat V, et al. Critical evaluation of plasma and LDL oxidant-trapping potential in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 56:747-753.
49. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239:70-76.
50. Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O. Oxidants and antioxidants in atherogenesis: an appraisal. *J Lipid Res* 1999; 40:2143-2157.
51. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, et al. Atherogenic lipoprotein in changes in the absence of hyperlipidemia in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Atherosclerosis* 1997; 131: 229-236.
52. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989; 6:67-75.
53. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, Witko-Sarsat V, Canteloupe S, Kebede M. Oxidized low-density lipoprotein induces macrophage respiratory burst via its protein moiety: a novel pathway in atherogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 263: 804-809.
54. Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Lizawa T, Ohna M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002; 162:221-225.
55. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1716-1723.
56. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F, et al. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis. *Kidney Int* 1994; 45:876-883.
57. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 916-923.
58. 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.
59. Inose K, Ono K, Tsutida A. Active inhibitory effect of nafamostat mesylate against the evaluation of plasma myeloperoxidase during hemodialysis. *Nephron* 1997; 75:420-425.
60. Ward RA, Ouseph R, McLeish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003; 63:353-359.
61. Wlodek PJ, Kurcharczyk J, Sokolowska MM, et al. Alteration in plasma levels of nonprotein sulfhydryl compounds and S-nitrosothiols in chronic renal failure patients. *Clin Chim Acta* 2003; 327:87-94.
62. Nagase S, Aoyagi K, Hirayama A, et al. Favorable effect of hemodialysis on decreased serum antioxidant activity in hemodialysed patients demonstrated by electron spin resonance. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8:1157-1163.
63. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 64:82-91.