

Hemodiyaliz Hastalarının Sitokin Düzeyleri ve Oksidatif Stres ile İlişkisi

The Cytokine Levels in Hemodialysis Patients and Relationship With Oxidative Stress

Sema Akgün, H. Buğra Koca, Ahmet Kahraman, Tülay Köken

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Afyonkarahisar

ÖZET

Bu çalışmada, hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda oksidatif stres ile sitokin seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılması planlanmıştır. Yaşları 21-70 (47±14) arasında değişen 18 HD hastası ve 12 sağlıklı kişi çalışmaya alındı. Hastalar ve kontrol gruplarından elde edilen plazma örneklerinde lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehid (MDA) seviyesi, protein oksidasyonunun bir göstergesi olarak protein karbonil (PK) içeriği, plazma antioksidan kapasitesinin bir göstergesi olarak da total sülfidril grupları (SH) ve interlökin (IL)-2, IL-8, IL-10, TNF- α seviyeleri ölçüldü.

Hemodiyaliz hastalarında plazma MDA ve PK konsantrasyonları kontrol grubu ile kıyaslandığında daha yüksek bulunurken ($p<0.001$, $p<0.05$), SH gruplarının seviyesi düşük bulundu ($p<0.01$). Plazma IL-2, IL-8 ve TNF- α seviyeleri yüksek bulunmasına karşın (sırasıyla $p<0.05$; $p<0.05$, $p<0.001$), IL-10 seviyeleri düşük bulundu ($p<0.05$). Sitokin seviyeleri ve oksidatif stres belirteçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Hemodiyaliz tedavisi gören kronik böbrek yetmezlikli hastalarda oksidatif hasar ve sitokin düzeyleri artarken, aralarında bir ilişkiye rastlanmamıştır.

Anahtar sözcükler: hemodiyaliz, oksidatif stres, reaktif oksijen ürünleri, sitokinler

ABSTRACT

Hemodialysis (HD) treatment is almost associated with oxidative stress. In this study, we tried to investigate the relationship between oxidative stress and cytokine levels in patients undergoing hemodialysis treatment. Eighteen HD patients aged 21-70 years (47±14) and 12 healthy subjects were included in this study. We measured plasma levels of malondialdehyde (MDA) as a marker of lipid peroxidation, protein carbonyl (PC) content as a marker of protein oxidation, protein sulfhydryl groups (SH) as an important chain-break antioxidant and interleukin (IL)-2, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in dialysis patients and controls. The level of MDA and PC increased when compared to the controls ($p<0.001$, $p<0.05$); however, the levels of SH groups were lower in HD patients ($p<0.01$). Plasma IL-2, IL-8 and TNF- α levels were found to be higher than controls ($p<0.05$; $p<0.05$, $p<0.001$, respectively); however, interleukin-10 levels were lower ($p<0.05$). There is no significant correlation between cytokines and oxidative stress markers. We conclude that HD treatment is associated with increased oxidative damage and cytokine levels but there is no correlation between them.

Keywords: hemodialysis, oxidative stress, reactive oxygen substances, cytokines

2007;16 (3) 129-134

Giriş

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) böbreğin temel fonksiyonlarının bozulmasıyla kendini gösteren ve glomerüler filtrasyonun azalmasına bağlı gelişen kronik, ilerleyici bir hastalıktır. Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) kronik diyaliz ya da transplantasyon ile tedavi gerektiren böbrek fonksiyon kaybıdır. Hemodiyalizin tedavi edici etkisi yanında çeşitli

komplikasyonları da mevcuttur.

Hemodiyaliz hastalarında oksidatif hasarın çeşitli sebepleri vardır. Bunlar nötrofil stimülasyonunda artış (1,2), antioksidan sistemde zayıflık (3,4), endotelial disfonksiyon ve artmış protein modifikasyonu olarak sayılabilir (5,4). Bununla beraber artmış oksidatif hasarın sebebi hâlâ tartışılmaktadır. Bazı çalışmalarda SDBY'li hastalarda artmış oksidatif hasarın kaynağının diyaliz tedavisi olduğu ileri sürülürken (3-5), bazı çalışmalarda da oksidatif hasarın ana sebebinin hastalığın kendisine bağlı olduğu ileri sürülmektedir (6,7).

KBY'de serbest radikal üretiminin artmasının önemli birçok kaynağı vardır. Tedavide kullanılan

Yazışma adresi: Doç. Dr. Tülay Köken
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD,
Ali Çetinkaya Kampüsü, Afyonkarahisar
Tel: 0 (272) 213 01 16/1065
E-posta: tkoken@aku.edu.tr

demirin serbest formunun fenton reaksiyonu yolu ile hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesi güçlü bir oksidan olan hidroksil radikaline dönüşmesine yol açar ki bu da oksidatif hasara yol açmaktadır (8,9).

Hemodiyaliz tedavisi ile üremik toksinler uzaklaşırken, aynı zamanda antioksidan bir enzim olan glutatyon peroksidaz için esansiyel olan selenyum gibi eser elementler (10), antioksidan vitaminlerden olan vitamin C ve E diyalizat sıvısına geçerek oksidan hasarın artışına neden olmaktadır (11,12). Hemodiyaliz tedavisinde oksidatif hasara yol açan diğer bir etken de ileri glikasyon son ürünleridir (İGSÜ). Normal kan glukoz seviyelerine rağmen yavaş *turnover*'a sahip proteinlerin progressif modifikasyona uğrayarak oluşturdukları İGSÜ seviyeleri artar (13) ve antioksidan enzim aktivitelerinde İGSÜ'ye bağımlı posttranslasyonel modifikasyondan dolayı azalma meydana gelir (14). Ayrıca diyaliz membranı da bir oksidan kaynağıdır. Hem indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) mRNA ekspresyonunu artırarak hem de iNOS aktivitesini artırarak lenfositlerden NO salınımının artışına yol açar (15). NO ve süperoksit seviyelerindeki yükseklik de peroksinitrit anyonu gibi toksik ürünlerin artmasına neden olur (16).

HD hastalarına eşlik eden hepatit B ve C gibi kronik inflamatuvar hastalıklar (17), diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve sigara kullanımı gibi etkenler de oksidatif stresin artışına yol açan diğer sebepler arasındadır (18).

Hemodiyaliz esnasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin diğer bir kaynağı kullanılan membran yüzeyindeki serbest hidroksil gruplarının diyalizörden geçen kandaki kompleman sistemini aktive etmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (19). Kompleman aktivasyonu nötrofil süperoksit oluşumunu artırırken, kompleman fragmanlarını açığa çıkaran membranların kronik kullanımı da granülositlerin fagositoz yeteneğini ve lökositlerin süperoksit oluşturma özelliklerini bozmaktadır (20). Diyalizat sıvıları ile aktive olan polimorf nüveli lenfositler (PMNL), NADPH oksidaz, süperoksit dismutaz, nitrik oksit sentaz, miyeloperoksidaz gibi enzimlerin aktivasyonunda artışa ve süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, nitrik oksit, hipoklorik asit gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar (21,22). HD esnasında kanın diyaliz membranı ile temas etmesi, aynı zamanda inflamatuvar cevabı artırarak akut faz proteinlerinin IL-1, IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açar (23-25).

Bu çalışmada, hemodiyaliz tedavisi ile ortaya çıkan sitokin seviyelerindeki değişiklikler ile hemodiyaliz tedavisinin mortalite ve morbiditesini artıran komplikasyonların etiopatogenezinde önemli rolü olan oksidatif stres arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hemodiyaliz hastaları

Çalışmaya, yaşları 21-70 arasında olan (47 \pm 14), son dönem böbrek yetmezliği tanısı ile haftada üç seans bikarbonatlı ve polisülfon membranlı hemodiyaliz tedavisi gören 18 hasta (9 erkek, 9 kadın) alındı. Çalışma grubu kronik inflamatuvar hastalık, diabetes mellitus ve kronik karaciğer hastalığı olmayan ve sigara içmeyen hemodiyaliz hastalarından seçildi. Kontrol grubu olarak, yaş ve cinsiyet yönünden eş olan 12 hastane çalışanı alındı. Hastaların venöz kanları sabah aç karna diyalize girmeden önce K₃EDTA içeren tüplere alındı. Kanlar +4°C'de 10 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve testler çalışılınca kadar -20°C'de saklandı.

Biyokimyasal Testler

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan plazma malondialdehid (MDA) düzeyi Ohkawa ve arkadaşlarının MDA'nın asidik ortamda tiobarbitürik asit ile reaksiyonu prensibine dayanan spektrofotometrik yöntemi kullanılarak ölçüldü (26). Protein oksidasyonunun bir göstergesi olan protein karbonil (PK) içeriği ise dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona girmesi prensibine dayanan Levine ve arkadaşlarının yöntemi ile çalışıldı (27). Plazmanın en önemli antioksidanlarından biri olan total sülfidril (SH) grupları ise 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoik asit ile verdikleri reaksiyon temeline dayanan Koster ve arkadaşlarının yöntemi kullanarak ölçüldü (28). Tüm kimyasal maddeler Sigma Chemical CO'dan (St. Louis, ABD) temin edildi. Spektrofotometrik ölçümlerde UV-1601 Shimadzu spektrofotometresi kullanıldı.

Sitokinler, ELISA yöntemi ile Biosource firmasına ait kitler (Europe SA., Nivelles, Belçika) kullanılarak Biotek marka yarı otomatik okuyucu sisteminde çalışıldı.

İstatistik

Sonuçlar, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar Wilcoxon rank testi kullanılarak belirlenmiştir. Parametreler arasındaki korelasyon Pearson's Correlation testi ile araştırılmıştır.

Bulgular

Lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA düzeyi hemodiyaliz hastalarında (12 ± 1.23 $\mu\text{mol/L}$) kontrol (4.77 ± 0.15 $\mu\text{mol/L}$) grubu ile kıyaslandığında yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Protein oksidasyonunun bir göstergesi olan PK düzeyleri de hemodiyaliz hastalarında (76 ± 4.2 $\mu\text{mol/L}$) kontrol grubuna (63 ± 2.6 $\mu\text{mol/L}$) göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 1).

Plazmanın antioksidan kapasitesinin önemli bir kısmını yansıtan SH düzeyleri hemodiyaliz hastalarında (385 ± 19 $\mu\text{mol/L}$) kontrol grubuna (471 ± 16 $\mu\text{mol/L}$) göre daha düşük bulundu ($p < 0.01$) (Şekil 2).

Hemodiyaliz hastalarında IL-2, IL-8 ve TNF- α düzeyleri (51.9 ± 1.9 U/mL; 14.0 ± 2.1 pg/mL; 48.9 ± 2.9 pg/mL) kontrol grubu ile kıyaslandığında (43.7 ± 1.2 U/mL; 7.5 ± 0.4 pg/mL; 21.83 ± 1.45 pg/mL) anlamlı olarak yüksek bulunurken (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.001$), IL-10 düzeyi hemodiyaliz hastalarında (1.11 ± 0.025 pg/mL) kontrolden (1.253 ± 0.036 pg/mL) düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 1).

Sitokin düzeyleri ile oksidatif stres belirteçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.

Tartışma

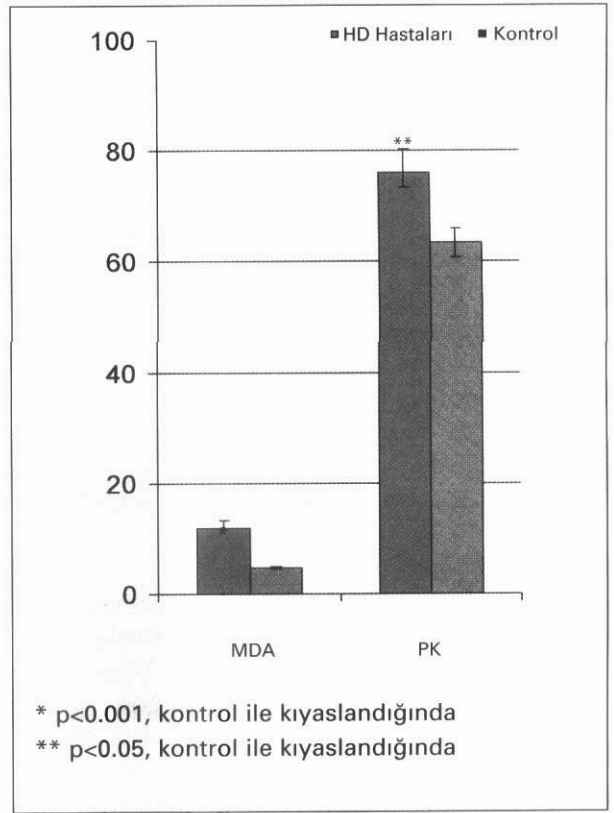
Oksidatif stres, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması şeklinde tanımlanır (29). Hemodiyaliz hastalarında bu dengenin bozulması sonucu plazma lipid, protein ve karbonhidrat yapıların oksidasyonu ile bir dizi patolojik olay ortaya çıkar.

Tablo 1. Plazma sitokin sonuçları

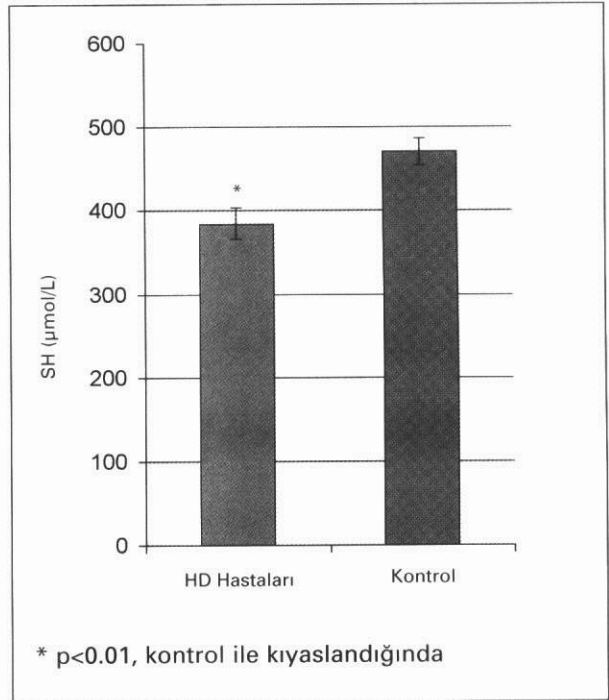
Sitokinler	HD hastaları	Kontrol
TNF- α (pg/mL)	48.9 ± 2.9 *	21.83 ± 1.45
IL-2 (U/mL)	51.9 ± 1.9 **	43.7 ± 1.2
IL-8 (pg/mL)	14.0 ± 2.1 **	7.5 ± 0.4
IL-10 (pg/mL)	1.11 ± 0.025 **	1.25 ± 0.036

* $p < 0.001$, kontrol ile kıyaslandığında

** $p < 0.05$, kontrol ile kıyaslandığında



Şekil 1. Plazma malondialdehid (MDA) ve protein karbonil (PK) içerikleri



Şekil 2. Plazma sülfidril (SH) grupları düzeyi

Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmekte olup, Maher ve arkadaşları, hemodiyalize başladıktan 30 dakika sonra lipid peroksidasyonunun arttığını göstermişlerdir. Bu artışın da kompleman aktivasyonu ve heparin kullanımına bağlı serbest yağ asitlerinin artışına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir (30). Sanaka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hemodiyalize giren SDBY'li hastaların plazma MDA düzeyleri hemodiyalize girmeyen gruba göre daha yüksek bulunmuş ve hemodiyalizin SDBY'de oksidatif stresi artırdığı bildirilmiştir (31). Westhuyzen ve arkadaşları da plazma MDA düzeyindeki artışın daha çok diyaliz işlemi ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir. (32). Biz de, bu çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarının plazma MDA düzeylerini literatür ile uyumlu olacak şekilde yüksek bulduk.

Oksidatif stresi yansıtan diğer bir parametre, protein oksidasyonunun göstergesi olan protein karbonillerinin plazma düzeyinin artmasıdır. Hemodiyaliz hastalarında PK içeriğinin yükseldiğini gösteren pek çok çalışma mevcuttur (33-35). Miyata ve arkadaşları, protein karbonil içeriğinin hemodiyaliz hastalarında yüksek bulunmasını hem oksidatif strese bağlı reaktif karbonil bileşiklerin (RKB) oluşumunun artmasına, hem de RKB'lerin klirensinin azalmasına bağlamıştır (36).

Plazma SH grupları ekstraselüler ortamın önemli antioksidan kapasitesini yansıtmaktadır. Çalışmamızda olduğu gibi, literatürde de hemodiyaliz hastalarında SH gruplarının azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (33-37). Hemodiyaliz hastalarında MDA, PK düzeylerinde anlamlı artış olması oksidasyon olaylarının hemodiyalizle daha da arttığını gösterirken, plazmanın en önemli antioksidanı olan total sülfidril gruplarında azalma olması antioksidan kapasitenin de azaldığını düşündürmektedir.

Hemodiyaliz esnasında kanın, diyaliz membranı ile teması akut inflamatuvar cevap oluşmasına neden olur. Mononükleer hücreler ve kompleman aktivasyonu sitokinleri de içeren çeşitli inflamatuvar medyatörler, reaktif oksijen ürünleri ve NO salınımına yol açarak hemostatik sistemleri etkiler ve "bioincompatible fenomen" olarak bilinen akut ve kronik etkiler oluşturur (38). Hemodiyaliz tedavisinin kronik inflamasyona yol açtığını ve bu inflamasyonun diyaliz membranlarının proinflamatuvar sitokin oluşumuna neden olarak gerçekleştiğini ve aynı zamanda inflamasyon ile sitokin oluşumu arasında bir ilişkinin olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (39-42).

Bu çalışmada, hemodiyaliz tedavisi ile ortaya çıkan sitokin seviyelerindeki değişiklikleri incelemek amacıyla IL-2, IL-8, IL-10 ve TNF- α seviyelerine bakılmıştır. IL-2, IL-8 ve TNF- α seviyeleri hemodiyaliz hastalarında artış gösterirken, IL-10 seviyelerinde düşüş gözlenmiştir. Mege ve arkadaşları, hemodiyalizin sitokinler üzerinde kronik etkileri olduğunu fakat kullanılan membran tipine göre her bir sitokin üzerinde farklı etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (43). Roccatello ve arkadaşları, 69 hastada yaptıkları çalışmada hemodiyaliz hastalarında potent proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α seviyelerini yüksek bulurken (44), Nakanishi ve arkadaşları da IL-8 seviyelerini hemodiyaliz hastalarında kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (45). Hemodiyaliz tedavisindeki hastalarda IL-10 salınımını bizim çalışmamızda olduğu gibi baskılanmış bulan çalışmaların yanı sıra, artışı gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (46-47). Girndt ve arkadaşları, IL-10 salınımındaki baskılanmanın kronik renal yetmezlikli hastalarda sık rastlanan hücrel immün yetmezliğe bağlı olabileceğini öne sürerlerken, tam mekanizmasını açıklayamamışlardır (46). Zamauskaite ve arkadaşları da Th1 tip sitokinlerin (IL-2, INF- γ , TNF- α vb.) salınımının arttığını, Th2 tip sitokinlerin (IL-4, IL-10 vb.) ise baskılandığını göstermişlerdir (48).

Yapılan çalışmalar sitokinlerin salınımında reaktif oksijen ürünlerinin pozitif regülatuar etkisinin olduğunu göstermiştir. ROS bu etkisini, pek çok sitokin sentezini regüle eden NF- κ B'yi aktive ederek göstermektedir (49). Bu bilgidен yola çıkarak çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında sitokin düzeylerinin belirlenmesinin yanı sıra sitokinler (IL-2, IL-8, IL-10 ve TNF- α) ile oksidatif stres parametreleri (MDA, PK ve SH) arasında ilişkiyi göstermeyi de amaçladık. Ancak bu parametreler arasında istatistiksel bir korelasyon gösterilemedi. Bu da hemodiyaliz hastalarında ortaya çıkan reaktif oksijen ürünlerinin tek kaynağının sitokinlerde olduğu gibi mononükleer hücreler olmadığını, başka kaynakların da olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, hemodiyaliz tedavisi gören son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda hem sitokin düzeyleri hem de oksidatif hasarı gösteren parametrelerde değişiklikler olmasına rağmen sitokin seviyeleri ve oksidatif stres belirteçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.

Kaynaklar

1. Kuwahara T, Market M, Wauters JP. Neutrophil oxygen radical production by dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1988;3:661-665.

2. Nguyen A.T, Lethias C, Zingraff J, et al. Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo within micro amounts of whole blood. *Kidney Int* 1985;28:58-167.
3. Morane M, Cristol J.P, Canaud B. Why hemodialysis patients are in a prooxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance. *Blood Purif* 2000;18:191-199.
4. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, et al. Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation* 2000;101:1002-1006.
5. Nourooz-Zadeh J. Effect of dialysis on oxidative stress in uremia. *Redox Rep* 1999;4:17-22.
6. Hirayama A, Nagase S, Gotoh M, et al. Hemodialysis does not influence the peroxidative state already present in uremia. *Nephron* 2000;86:436-440.
7. Himmelfarb J, McMenamin ME, Loseto G. Myeloperoxidase-catalysed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patient. *Free Radic Biol Med* 2001;31:1163-1169.
8. Koken T, Kahraman A, Serteser M, et al. Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004;5:9-13.
9. Delmas-Beauvieux MC, Combe C, Peuchant E, et al. Evaluation of red blood cell lipoperoxidation in hemodialysis patients during erythropoietin therapy supplemented or not with iron. *Nephron* 1995;69:404-410.
10. Saint-Georges MD, Bonnefont DJ, Bourelly BA, et al. Correction of selenium deficiency in hemodialyzed patients. *Kidney Int* 1989;36:274-277.
11. Clermont G, Lecour S, Lahet F, et al. Alteration of plazma 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.
12. Chao JC, Yuan MD, Chen PY, et al. Vitamin C and E supplements improve the impaired antioxidant status and decrease plazma lipid peroxides in hemodialysis patients small star, filed. *J Nutr Biochem*, 2002;13:653-663.
13. Miyata T, Wada Y, Cai Z, et al. Implication of an increased oxidative stress in the formation of advanced glycation end products in patients with end-stage renal failure. *Kidney Int* 1997;51:1170-81.
14. Erdoğan C, Unlucerci Y, Turkmen A, et al. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 2002;322:157-161.
15. Amore A, Bonaudo R, Ghigo D, et al. Enhanced production of nitric oxide by blood dialysis membrane interaction. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:1278-83.
16. Salman-Tabcheh S, Guerin MC, Torrelles J. Nitration of tyrosyl-residues from extra- and intracellular proteins in human whole blood. *Free Radic Biol Med* 1995 ;19:695-8.
17. Koken T, Serteser M, Kahraman A, et al. Oxidative stress markers in hepatitis C infected hemodialysis patients. *J Nephrol* 2002;15:302-307.
18. Koken T, Serteser M, Kahraman A, et al. Sigaranın hemodiyaliz hastalarında oksidatif stres üzerine etkisi. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2002;2:121-124.
19. Hakim RM, Wingard RL, Lawrence P, et al. Use of biocompatible membranes improves outcome and recovery from acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1992;3:367.
20. Vanholder R, Ringoir S, Dhondt A, et al. Phagocytosis in uremic and hemodialysis patients: A prospective and cross-sectional study. *Kidney Int* 1991;39:320-327.
21. Stroncek DF, Keshaviah P, Craddock PR, et al. Effect of dialyzer reuse on complement activation and neutropenia in hemodialysis. *J Lab Clin Med* 1984;104:304-311.
22. Craddock PR, Hammerschmidt DE. Complement mediated granulocyte activation and down-regulation during hemodialysis. *ASAIO J* 1984;7:50-56.
23. Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Influence of uremia and hemodialysis on circulation interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Kidney Int* 1990;37:116-125.
24. Luger A, Kovarik J, Stummvoll HK, et al. Blood membrane interaction in hemodialysis leads to increased cytokine production. *Kidney Int* 1987; 32:84-88.
25. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Annu Rev Med* 1994;45:491-503.
26. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxidase in Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.
27. Levine RL, Garland D, Oliver CN. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464-478.
28. Koster JF, Biemond P, Swaak AJ. Intracellular and extracellular sulfhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1986;45:44-46.
29. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82:291-295.
30. Maher ER, Wickens DG, Griffin JF, et al. Increased free-radical activity during haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant* 1987;2(3):169-71.
31. Sanaka T, Higuchi C, Shinobe T, et al. Lipid peroxidation as an indicator of biocompatibility in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:34-38.
32. Westhuyzen J, Adams CE, Fleming SJ. Evidence for oxidative stress during in vitro dialysis. *Nephron*, 1995;70:49-54.
33. Koken T, Serteser M, Kahraman A, et al. Changes in serum markers of oxidative stress with varying periods of hemodialysis. *Nephology* 2004;9:77-82.
34. Koken T, Kahraman A, Serteser M, et al. Hemodiyaliz protein karbonil içeriği ve sülfidril grupları üzerine etkisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 2001;10(2):64-66.
35. Himmelfarb J, McMonacle E, Mc Menamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2000;58:2571-2578.
36. Miyata T, Van Ypersele De Strihou C, Kurokawa K, et al. Alterations in non-enzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of 'carbonyl stress' in long term uremic complications. *Kidney Int* 1999;55:389-399.
37. Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L, et al. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1999;51:233-241.
38. Pertosa G, Grandaliano G, Gesualdo L, et al. Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58:104-111.
39. Horl WH. Hemodialysis membranes: interleukins, biocompatibility, and middle molecules. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:62-71.
40. Descamps-Latscha B, Jungers P, Jacobs C, et al. Immunological and chronic inflammatory abnormalities in end stage renal disease. In *Replacement of Renal Function by Dialysis*. 1996:45
41. Kim PK, Deutschman CS. Inflammatory responses and mediators. *Surg Clin North Am* 2000;80:885-94.
42. Horl WH. Hemodialysis membranes: Interleukins, biocompatibility, and middle molecules. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(Suppl 1):S62-71.
43. Mege JL, Olmer M, Purgus R, et al. Hemodialysis membranes modulate chronically the production of TNF alpha, IL-1 beta

- and IL-6. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6: 868-75.
44. Roccatello T, Formica M, Cavalli G, et al. Serum and intracellular detection of cytokines in patients undergoing chronic hemodialysis. *Artif Organs* 1992;16:131-40.
45. Nakanishi I, Moutabarrak A, Okada N, et al. Interleukin-8 in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1435-42.
46. Gimdt MT, Heisel O and Köhler H. Influence of dialysis polyamide vs haemaphon haemodialysers on monokines and complement activation. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:676-82.
47. Brunet P, Capo C, Dellacasagrande J, Thirion X, Mege JL, Berland Y. Il-10 synthesis and secretion by peripheral blood mononuclear cells in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1745-51.
48. Zamauskaite A, Perez-Cruz I, Yaqoob MM, Madrigal JA, Cohen SBA. Effect of renal dialysis therapy modality on T cell cytokine production. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:49-55.
49. Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 1991;10:2247-58.