

## CUPROPHAN VE POLİSÜLFON DİALİZÖRLERİNİN OKSİDAN / ANTIOKSİDAN DENGESİ ÜZERİNE ETKİLERİ\*

Pınar SEYMEN, H. Oktay SEYMEN,  
Ali ÖZDEMİR, Ahmet BELCE,  
Koray GÜMÜŞTAŞ, Funda TÜRKMEN,  
Yıldız ÖZEL BARUT

**Background and Design.-** In chronic renal insufficiency, many toxic metabolites which are normally nontoxic but become toxic when combined improving oxidative metabolism, accumulates in the body fluids. We studied the effect of the most frequently used cuprophan and polysulfone dialysers in hemodialysis treatment on oxidant/antioxidant status. For this purpose, 26 cases (9 females, 17 males, mean age of 36) that are used cuprophan dialysers (n=15) and polysulfone dialysers (n=11) were examined. The cases with COPD, DM and the ones using vitamin E and C, were excluded. First the plasma and red blood cells of the venous blood taken before and after hemodialyses were separated and than plasma MDA and intraerythrocyte GSH levels, activities of GSH-Px and SOD were measured.

**Results.-** When the groups that are used cuprophan and polysulfone dialysers are compared; It is observed that the cuprophan dialysers increased plasma MDA levels (p<0,05), decreased the intraerythrocyte GSH levels (p<0,01), activities of GSH-Px (p<0,05) and SOD (p<0,05), as polysulfone dialysers did not influence the MDA and GSH levels, activities of GSH-Px and SOD (p>0,05).

**Conclusion.-** Hemodialysis treatment is an oxidant stress for the organism and some of used dialysers is effective on this oxidant stress. As a conclusion, this is important in developing new membranes to control the production of free oxygen radicals.

Seymen P, Seymen HO, Özdemir A, Belce A, Gümüştas K, Türkmen F, Özel Barut Y. Effects of cuprophan and polysulfone dialysers on oxidant/antioxidant status. Cerrahpaşa J Med 2000; 31: 74-81.

**K**ronik böbrek yetmezliği (KRY), organizmada toksik ürünlerin arttığı yeni bir durumu da beraberinde getirmektedir. Toksik ürünler arasında reaktif O<sub>2</sub> türleri özellikle tüm hücre membranlarına zararlı olabileceğinden, ayrıca önem taşımaktadır. Kronik böbrek hastalarında görülen anemi, ateroskleroza eğilim artışı ve yaşam süresinin kısalması gibi fizyopatolojik durumlardan esas olarak artmış reaktif oksijen türlerinin sorumluluğunda olduğu bir çok çalışmada bildirilmektedir.<sup>1-3</sup>

Kronik böbrek hastalarının yaşam süresi içinde, dializ türleri önemli yer tutmaktadır. Transplantasyon yapılamayan durumlarda dializ, yaşamı sürdürebilmek için mutlaka uygulanması gereken bir yöntemdir. Dializ türleri arasında hemodializ en fazla kullanılanıdır.

Hemodializ, dializör membranlarıyla yapılmaktadır. Bu bölgede, kanın içinde bulunan üre ve kreatin gibi birçok toksik son ürün dializ solüsyonlarına geçerken, homeostazisin sağlanmasında önemli maddeler (iyonlar, elektrolitler, su gibi) çeşitli fizyolojik mekanizmalarla kana geçmektedir. Dializör membranlarının iki farklı ortamı birbirinden ayırması (filtrasyon, osmos gibi fizyolojik olayların olabilmesi için sakin bir ortam yaratılması) yanında, reaktif oksijen türlerinin oluşturulmasına katkıda bulunduğu da bildirilmektedir.<sup>4,5</sup> Hemodializde sıklıkla

\* *Anahtar Kelimeler:* Cuprophan, Polisülfon, Hemodializ, Oksidanlar, Antioksidanlar; *Key Words:* Cuprophan, Polysulphone, Hemodialyse, Oxidants, Antioxidants; *Alındığı Tarih:* 29 Şubat 2000; Uzm. Dr. Pınar Seymen, Uzm. Dr. Ali Özdemir, Uzm. Dr. Funda Türkmen, Uzm. Dr. Yıldız Özel Barut: TC Haydarpaşa Numune Eğitim Hastanesi 2. Dahiliye Kliniği, İstanbul; Prof. Dr. H. Oktay Seymen: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı İstanbul; Doç. Dr. Ahmet Belce, Doç. Dr. Koray Gümüştas: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı İstanbul; *Yazışma Adresi (Address):* Dr. HO Seymen, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Fatih, 34303, İstanbul. E-posta: seymeno@yahoo.com  
<http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2000v31/s2/002a3.htm>

kullanılan iki grup dializör membranı bulunmaktadır; selüloz kökenli Cuprophan ve sentetik kökenli Polisülfon. Araştırmamız, bu dializörlerin organizmanın oksidan/antioksidan dengesi açısından etkilerini ve farklılığını ortaya koymak amacıyla planlanmıştır.

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Çalışma Haydarpaşa Numune Hastanesi Hemodializ ünitesi ve özel bir merkez tarafından takip edilen, yaş ortalaması 36 olan 9'u kadın 17'si erkek olmak üzere 26 Kronik Renal Yetmezlikli hasta üzerinde yapılmıştır. Bu hastaların 15'i Cuprophan dializörü, 11'i ise Polisülfon dializörüyle hemodialize girmektedirler. Grup içinde oksidan ve antioksidan dengeye etkisi bilinen Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, Diabetes Mellitus ile E ve C vitamini kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Hastalardan hemodializ öncesi ve hemodializ sonrası, Cubital venden 10 ml'lik heparinize kan örnekleri alındı. Bu örnekler hemen 3000 rpm de 5 dakika santrifüje edilerek plazma ve eritrositlerine ayrıldı. Plazma ependorflara konularak -70°C lik derin dondurucuda biyokimyasal analizler yapılmaya kadar saklandı.

Eritrosit kitlesi ve %0,9 luk NaCl çözeltisi ile 1:2 oranında karıştırılarak 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlanarak eritrositler yıkandı. Eritrositiçi antioksidan enzimlerin ve glutatyonun ölçümü için hazırlanan hücreler, işlemlerin yapılacağı ana kadar -70°C lik derin dondurucuda bekletildi.

### Biyokimyasal analizler:

**1. Plazma Malondialdehid (MDA) ölçümü:** MDA ölçümü Buege ve Aust<sup>6</sup>'nın yöntemiyle saptandı. Bu metod lipid peroksidlerin tiyobarbiturik asit ile reaksiyonu sonucu kırmızı bir renk oluşturmaya ve spektrofotometrik olarak okunmasına dayanmaktadır.

**2. Eritrosit içi Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü:** Eritrosit SOD aktivitesi Sun'ın metodu kullanılarak saptandı.<sup>7</sup> Bu yöntem süperoksit serbestleştiricisi o-

Tablo I. Tüm Grup için Dializ Öncesi ve Sonrası Oksidan Antioksidan Denge Durumuyla İlgili (Ortalama ± SD) Parametreler

	Giriş	Çıkış	p<
MDA (µg/Hb)	6,64±1,68	7,77±2,22	0,023
SOD (mg/L)	3516,14±995,71	2926,61±976,50	0,018
GSH-Px (U/L)	209,89±135,25	151,72±52,49	0,026
GSH (mg/g Hb)	2,31±0,81	1,74±0,77	0,007

arak kullanılan ksantin-ksantin oksidaz ile nitroblue tetrazoliumun (NBT) indirgenmesinin inhibisyonunu içerir. 1 ünite SOD, NBT indirgenmesini %50 inhibe eden enzim aktivitesini göstermektedir.

Tablo II. Cuprophanla Yapılan Hemodializin Oksidan/Antioksidan Dengesine Etkisiyle İlgili (Ortalama ± SD) Parametreler

	Giriş	Çıkış	p<
MDA (µg/Hb)	6,69±1,97	8,16±2,35	0,037
SOD (mg/L)	3717,00±1108,23	3043,44±777,49	0,032
GSH-Px (U/L)	227,59±165,46	153,13±39,44	0,05
GSH (mg/g Hb)	2,56±0,91	1,82±0,61	0,007

**3. Eritrosit içi Glutatyon (GSH) düzeyinin ölçümü:** Eritrosit glutatyon düzeyleri, Beutler ve ark.larının yöntemine göre ölçüldü.<sup>8,9</sup> Yöntemin prensibi; deproteinize edilen eritrosit hemolizatındaki glutatyonun 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asid) (DTNB) varlığında tamponlanmış ortamda 412 nm'de absorpsiyon yapan indirgenmiş sarı renkli kromojen oluşturmaya dayanır.

**4. Eritrosit içi Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçümü:** GSH-Px

Tablo III. Polisülfonla Yapılan Hemodializin Oksidan/Antioksidan Dengesine Etkisi (Ortalama±SD) ile İlgili Sonuçlar

	Giriş	Çıkış	p<
MDA (µg/Hb)	6,58±1,30	7,21±2,14	0,211
SOD (mg/L)	3242,25±784,93	2848,48±1254,64	0,197
GSH-Px (U/L)	187,36±67,68	146,31±69,10	0,093
GSH (mg/g Hb)	1,97±0,52	1,65±0,97	0,171

aktivitesi RANDOX-RANSEL glutatyon peroksidaz kiti kullanılarak ölçüldü.<sup>10</sup>

GSH-Px'ın girdiği reaksiyonda oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluşur. Glutatyon redüktaz oluşan bu ürünü NADPH'nın varlığında tekrar glutatyon indirger. Yöntem NADPH'nın tüketilmesinin 340 nm'de spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanır.

**İstatistik Analizler:** Bilgiler MS-Excel 97 bilgisayar programı kullanılarak işlendi. SPSS istatistik programı ile değerlendirildi. Gruplar arasında varyans analizi yapıldı. Varyans analizi için *one way Anova* testlerinden Tukey B ve LSD (*Least-Significant difference*) testleri kullanıldı. Anlamlılık saptanan grup ve parametreleri için eşleştirilmiş dizilerde Student's t testi uygulandı. Anlamlılık sınırı olarak  $p<0,05$  kabul edildi.

## BULGULAR

Tablo I'de görüldüğü gibi, KRY olan hastaların hemodializ öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde MDA düzeyi, hemodializ sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0,023$ ) yüksek bulunmuştur. Eritrosit-içi SOD aktivitesi ve GSH-Px aktivitesi ise istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,018$  ve  $p<0,026$ ) düşüş göstermiştir. Eritrosit-içi GSH düzeylerinin hemodializ sonrası anlamlı olarak ( $p<0,007$ ) azaldığı saptanmıştır.

Hemodializ olgularını dializörün tipine göre ayırdığımızda; Cuprophanla yapılan hemodializ sonrasında MDA düzeyleri artmakta ( $p<0,037$ ) eritrositiçi SOD ve GSH-Px aktivitesi ise az anlamlı olarak ( $p<0,032$  ve  $p<0,05$ ) azalmış bulunmaktadır. Eritrositiçi GSH düzeyleri de Cuprophanla hemodializ sonrası anlamlı olarak ( $p<0,007$ ) azalma göstermiştir (Tablo II).

Tablo III, Polisülfonla yapılan hemodializin oksidan/antioksidan dengeye etkilerini ortaya koyan parametreleri incelendiğinde; MDA düzeyleri çıkışta bir

artış gösterse de istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır ( $p<0,211$ ). Eritrosit-içi SOD aktivitesi, GSH-Px aktivitesi ve GSH düzeylerinde dializ öncesi ile sonrası arasında anlamlı bir fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.

Bulgularımızı istatistiksel analiz sonucuna göre özetlersek; tüm grup için *one way Anova* testine göre MDA için  $p<0,04$  düzeyinde anlamlılık saptanmıştır. Cuprophanlı grubun hemodializ öncesi ve sonrasında varyans analizinde GSH için ve MDA için  $p<0,05$  anlamlılık düzeyindeydi (Tukey B ve LSD ile). Polisülfon kullanılan grubun hemodializ öncesi ve sonrası varyans analizi yapıldığında parametreler arası anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Bulgularımız Tablo I, II ve III'de gösterilmektedir. Grupların parametreler arası korelasyonuna (*Spearman correlation coefficients*) baktığımızda; grubun tamamında, hemo-dializ öncesi SOD ile GSH arasında  $r=+0,550$   $p<0,004$  olan bir korelasyon saptanmıştır. Cuprophan dializörü kullanılan grubun hemodializ öncesi SOD-GSH arası  $r=+0,69$ ,  $p<0,005$  ve GSH-GSHPx arası  $r=+0,52$   $p<0,043$  lük bir korelasyonu belirlenmiştir. Hemodializ sonrası SOD ile GSH arası  $r=+0,64$   $p<0,01$  lik bir korelasyon saptanmıştır. Polisülfon dializörü kullanılan grupta ise hemodializ öncesi MDA-GSH arası  $r=-0,698$   $p<0,017$  lik negatif korelasyon saptanırken, hemodializ sonrası MDA-GSH arası ilişki  $r=-0,687$   $p<0,019$  luk aynı korelasyon bağıntısı bulunmuştur.

## TARTIŞMA

KRY'in oksidan bir ortama neden olduğuna, önceden yapılmış birçok çalışmada işaret edilmiştir. KRY karmaşık bir patoloji tablosuyla izlenen bir durumdur. Son yıllarda bu tablonun oluşumunda etken faktörler arasında, KRY'e bağlı oksidan ortam oluşumu üzerinde durulmaktadır.<sup>2,3</sup> Gerçekte olay oksidan-antioksidan dengenin bozulmasıyla ilgili olabilecek etmenle-

ri saptamamızı gerektirmektedir. Araştırmamız, bu hastalarda sık kullanılan farklı dializörlerin denge üzerindeki etkilerini açıklamak amacıyla yapılmıştır. KRY'li hastalarda gözlenen hızlanmış yaşlanma, katarakt, ateroskleroz, eritrositlerde bozukluk ve artmış hemoliz, trombosit fonksiyon bozukluğu gibi bulgular serbest radikallerin artmasıyla ilgili bulunmaktadır.<sup>11,12</sup> Birçok çalışma göstermiştir ki dializ esnasındaki lipid peroksidasyonu, hemodializ hastalarında görülen hemoliz artışına katkıda bulunmaktadır. Hematoporfirin fotoaktivasyonu gibi kuvvetli bir lipid peroksidasyon başlatıcısı kullanıldığında, hemodializ sonrası eritrosit yıkımının arttığı gözlenmektedir. Anemi, KRY'li hastalarda sık görülen ve ciddiye yeti hastalığın süresi ile ilişkili olan bir bulgudur.<sup>13</sup>

Hemokromatozisli hastasından alınmış kan örnekleriyle yapılmış in-vitro çalışmada, oksijenlenmiş kan örnekleri 4 saat süre ile 37°C'de cupropane dializöründe perfüze edilmiş, dializ sonunda ortamda lipid peroksidasyonunun arttığı saptanmıştır.<sup>13</sup> Bunun yanında hemodializ sonrası plazma ve eritrosit-içi MDA düzeyinin değişmediğini bildiren çalışmalarda mevcuttur. Bu çelişkili sonuçlara rağmen dializ sürecinde oksidatif stresi etkileyen vücutta bir çok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında su kaybına bağlı ekstrasellüler kompartman hacim değişikliği ve sirkülasyonun bu değişimden etkilenmesi sayılabilir. Yaygın heparin kullanımını da sistemi etkileyebilecek bir koşuldur. Çünkü heparin plazma lipolitik aktivitesini artırır. Serbest radikal ürünü oktadeka-9,11-dienoik asidin artışı hemodializden çok heparine bağlı olabilir.

Westhuyzen ve ark.'nın non-üremik hemokromatozlu hastalarda yaptığı in-vitro dializ araştırmasında; total sülfidril grupları antioksidan aktivitenin; tokoferol, karoten ve retinol lipid çözümleri antioksidanlar olarak, MDA, eritrosit lipid peroksidasyonunun markeri olarak ölçül-

müştür. Çalışma dializin heparinsiz ortamda yapılması ile oksidatif stres oluşumunu azalttığını ortaya koymaktadır.<sup>13</sup>

Hemodializ sürecinde in-vivo oksidanların majör kaynağı olan polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu da gözardı edilemez. Bu hücreler aktive olduğunda oksijen tüketiminde patlama görülür. Superoksid radikalleri, hidrojen peroksid ve hipokloroz asid gibi pek çok reaktif madde üretilir. Bununla beraber, plazma oksidasyonu önleyici ve zincir kırıcı pek çok antioksidanlarla silahlanmıştır. Organizmada, oksidanlar ve antioksidanlar birbirlerini dengelemektedirler. KRY de bu denge oksidanlar yönünde bir artışla bozulmaktadır. Westhuyzen ve ark.larının çalışmalarına göre, plazma MDA'daki artış daha çok dializle ilgili olayları düşündürmektedir.<sup>13</sup>

Dializ membranlarının biyolojik uygunluk (bio-kompatibilitesi) özelliği uzun süreli dializ hastalarının en önemli problemidir. Amiloidoz,  $\beta_2$  mikroglobulin depolanmasından oluşmaktadır. Bu yüzden  $\beta_2$  mikroglobulin oluşumunun engellenmesi dializörün biyokompatibilitesi ile başarılabilir.<sup>14</sup> Dializ membranı ile serum elemanlarının doğrudan teması, kompleman sisteminin alternatif yoldan aktive olmasına sebep olmaktadır. C<sub>3a</sub> ve C<sub>5a</sub>'nın venöz kanda arteriyel kandan daha fazla olduğu bilinmektedir. Öte yandan, sadece aktive kompleman değil, IL-1, TNF ve PDGF gibi sitokinler de polimorfonükleer hücrelerde üretilen oksijen radikallerini artırır. Aktive polimorfonükleer hücreler, periferel damarların endotel hücrelerinden lipid peroksidasyonu ve protein denatürasyonu sonrasında serbest radikaller oluşturmaktadır.<sup>14</sup> Endotel hücre hasarı, aktive komplemanla uyarılan granülositlerden üretilen süperoksid anyonları tarafından yapılmaktadır. Bunlar aynı zamanda dializ hastalarında pulmoner disfonksiyona da neden olabilmektedir. Ayrıca son çalışmalar, kompleman ürünlerinin

ventriküler kontraktiliteyi bozarak kardiyak disfonksiyona sebebiyet verdiklerini göstermektedir. Lipit peroksitler, kollajenin çaprazlaşmasına sebep olmakta ve Diabetes Mellitus'ta plazma proteinlerinin floresans geliştirmesine katkıda bulunmaktadır. Plazmada lipit peroksitlerin artması, generalize vasküler inflamasyon tarafından aktive edilmiş enzimatik işlemlerin sonucudur. Bu durum, prostaglandin ve lipoksijenaz ürünlerinde artışa yol açmaktadır. Lipit peroksitler, doymamış lipitlerin süperoksit radikalleriyle, dolaşımdaki hidrojen peroksitin ekstrasvasküler alanda veya endotel ve fagositik hücrelerin yüzeyindeki metal iyonlarıyla, nonenzimatik reaksiyonlar sonucunda da oluşabilmektedir. Prostaglandinlerin enzimatik sentezi, nonenzimatik yoldan oluşturulan lipit peroksitler tarafından uyarılabilir. Lipit peroksitleri düşürücü durumlar, örneğin antioksidan uygulaması ve antihiperlipidemik ajanlar ve biouygun dializ membranları kullanımı aterosklerotik vasküler hastalıkların ilerlemesini yavaşlatabilir.<sup>14</sup>

O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi oksijen derivelerinin toksisitesi, toksik hidroksil radikallerinin oluşumuna sebebiyet verme potansiyellerinin olmasından kaynaklanmaktadır. OH· Radikali, lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatma potansiyeline sahiptir. Bir zincir reaksiyonu başladıktan sonra diğer zincir reaksiyonlarının başlama ve şiddetlenmesine neden olur ve bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipit tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artış iyon transportunda bozulma ve son olarak hemoliz ve anemi ortaya çıkar.<sup>12</sup>

Bu sonuçlardan hemodializin oksijen radikallerini oluşturduğu ve hemodializ hastalarının sürekli oksijen radikal stresine maruz kaldığı ve bunun da DNA hasarına, proteinlerin kimyasal değişimine, amiloid fibrillerinin oluşumuna, prosta-

noid imbalansına, hücre hasarına, lipit peroksidasyonuna, dolaşım bozukluklarına sebep olduğu anlaşılmıştır. Uzun dönemde hemodializ hastalarındaki pek çok komplikasyonun oluşmasında oksijen radikalleri primer rol oynayabilir.<sup>14</sup>

Çalışma grubumuzun bütününe uygulanan varyans analizinde MDA değerinin hemodializ öncesi ve sonrası ölçülen değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık (p<0,02) bulunması, oksidasyon olaylarının son ürünlerinden olan MDA'nın hemodializ sonrası anlamlı olarak yükselmesi, oksidasyon olaylarının hemodializle daha da artmakta olduğunu göstermektedir. Cuprophan dializörü kullanılan grupta MDA'nın dializ sonrası yükselmesi (p<0,037), polisülfon dializörü kullanılan grupta ise hemodializ öncesiyle sonrası arasında istatistiki olarak farklılık saptanmaması (p>0,05), oksidasyon olaylarında cuprophan dializörünün, polisülfona göre daha fazla etkili olduğunu düşündürmektedir.

KRY'in antioksidan enzimler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, SOD ve GSH-Px enzimlerinin azaldığı saptanmıştır.<sup>2,3</sup> SOD, selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz ve alfa tokoferol intrasellüler antioksidan savunma elemanlarıdır.<sup>11</sup> Hemodializin antioksidan sisteme ait enzimler üzerine etkili olduğunu gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Ancak, oksidasyonun doğası ve önemi tartışmalıdır. Yapılan çalışmalar üremik hastaların antioksidan rezervinin, sağlıklı insanlarınkinden önemli miktarda düşük olduğu ileri sürülmektedir.<sup>13</sup> CAPD ve hemodializ hastalarında yapılan bir çalışmada SOD, GSH-Px ve katalaz aktiviteleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Çeşitli çalışmalar KRY'li hastaların eritrositlerinde enzimatik antioksidan savunma mekanizmalarının baskılanmış olduğunu düşündürmektedir.<sup>2,4,5</sup> Eritrositlerin antioksidan savunma mekanizmalarındaki azal-

ma, eritrositin membran lipid yapısında peroksidasyona neden olan en önemli mekanizmalardan biridir. Bu durum, hemolize yol açar ve KRY'li hastalardaki aneminin sebeplerinden biridir.<sup>12</sup> Bizim bulgularımıza göre de hemodializ sonrası bu enzimlerin (SOD,  $p < 0,018$ ; GSH-Px,  $p < 0,026$ ) aktivitelerinin azalması daha da belirginleşmektedir.

KRY'li hastaların eritrositlerinde enzim aktivitesinin niçin düşük olduğu henüz açıklık kazanmamıştır. Bundan sorumlu pek çok faktör olabilir. Dializ esnasında oluşan biyoaktif ürünler, birçok üremik metabolit, heksozaminofosfat yolunun inhibisyonuna bağlı oksidatif stres ve oksidatif stres nedeniyle azalmış ATP/ADP oranı gibi durumların hepsi, eritrositlerde artmış radikal üretimine neden olabilir. Aynı şekilde üre ve bazı ilaçların metabolitleri, dializ esnasında alüminyum ve silikon gibi birtakım toksik eser elementlere maruz kalma veya Se ve Zn gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunda rol alan bazı eser elementlerin eksikliği, henüz bilinmeyen birtakım başka faktörlerle beraber, KRY'li hastaların eritrositlerinde SOD, GSH-Px ve katalaz enzim aktivitesinin azalmasına sebebiyet vermektedir. Tüm bu değişiklikler,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^{\cdot}$  radikallerinin birikmesi nedeniyle hücresel yapı üzerine zararlı etkiler yapabilmektedir.<sup>13</sup> Öte yandan renal dializ tedavisi gören hastalarda, azalmış eritrosit GSH-Px ve artmış eritrosit MDA konsantrasyonları arasında ters bir korelasyon bulunmaktadır. Bu sonuçlar göstermiştir ki düzenli dializ tedavisi gören hastalardaki mevcut oksidan stres, özellikle intrasellüler SOD ve GSH-Px aktivitelerindeki azalmayla bağlantılı olabilir.<sup>11</sup> Paul ve ark., önemli derecelerde düşük seviyelerdeki eritrosit SOD ve eritrosit GSH-Px aktivitesinin, dializ hastalarında tanımlanmış olan eser element eksikliğine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. SOD enzimi, çinko ve bakır bağımlıdır. Dialize giren hastalarda her iki iyo-

nun konsantrasyonundaki düşüş SOD aktivitesinde düşüşe neden olmaktadır. Öte yandan SOD aktivitesi belki de doğrudan süperoksid iyonlarının ve hidrojen peroksidin üretiminden dolayı inaktive olmaktadır. Artmış alüminyum seviyesine bağlı SOD aktivitesinde azalma olabileceği bir çok çalışmada bildirilmiştir.<sup>11</sup>

GSH-Px, selenyum bağımlı bir enzimdir ve onun aktivitesi kan selenyum düzeyi ile ilişkilidir. Selenyum eksikliği, GSH-Px aktivitesinde ve enzim miktarında azalma ile sonuçlanır. Zaten NADPH, GSH-Px tarafından katalize edilen reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonu için gerekli olan glutatyonun yapımının azalmasıyla ilişkilidir. Heksozmonofosfat yolu eritrositlerde NADPH'nin başlıca kaynağıdır ve KRY'li hastalarda bu yolda bir anormallik olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle, lipid peroksidasyonuna karşı temel rol oynadığı bilinen GSH-Px aktivitesindeki eksikliğe pek çok değişik mekanizma karışmaktadır.<sup>11</sup> Richard ve ark.ları tarafından yapılan çalışmada plazma selenyum ve eritrosit GSH-Px seviyeleri hemodializ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aynı çalışmada düşük plazma çinko ve bakır seviyesi ile eritrosit SOD aktiviteleri arasında da korelasyon saptanmıştır. Hemodializ sürecinde antioksidan aktivitenin azalması peroksidatif zararın artmasına neden olabilir.<sup>15</sup>

Richard ve ark.'nın çalışması, serum çinko ve selenyum durumundaki değişikliklerin hiper-lipoperoksidasyon ile ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmanın sonuçları KRY'li hastalarda serbest radikalleri detoksifiye eden enzim sisteminin bozulduğunu ortaya koymaktadır.<sup>15</sup> Antioksidan sistemdeki bu değişiklikler üremik hastalardaki çinko ve selenyum eksikliği ile korelasyon göstermektedir.<sup>15-17</sup> Dializ hastalarındaki artmış peroksidasyonda, bu eksikliklerin sorumluluklarını anlamak ve tanımlamak için deneysel çalışmalar yapılmalıdır. Bulgula-

rimıza göre cuprophanla dializ yapılan grubun dializ öncesi ile sonrası SOD ve GSH-Px enzimlerinin aktivi-telerinde azalma saptadık (sırasıyla  $p<0,032$  ve  $p<0,05$ ). Polisülfonla hemodializ yapılan grupta ise enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmadı ( $p>0,05$ ). Çalışmamızın sonuçlarına antioksidan enzimler açısından baktığımızda; hemodializin antioksidan enzimlerin düzeylerini azalttığını, Cuprophan dializörünün bu azalmada daha fazla rolü olduğunu görmekteyiz.

KRY'te oluşan anemide glutasyon düzeyindeki azalmanın sitoplazmik NADPH konsantrasyonundaki azalmayla ne derece ilgili olduğu açıklığa kavuşmamıştır.<sup>12,18,19</sup> Hemoglobini oksidasyondan koruyan başlıca ara ürün GSH düzeyinde de, hemodializ sonrası bir azalma olduğu saptanmıştır.<sup>20,21</sup> Araştırmamızda da, hemodializ öncesi ile sonrası GSH düzeyleri arasında anlamlı olarak azalma saptanmıştır ( $p<0,007$ ). Cuprophanla dializ yapılan grupta da anlamlı azalma bulunurken ( $p<0,007$ ), polisülfonlu dialize giren hasta grubunda eritrosit-içi GSH düzeyleri açısından hemodializ öncesi ile sonrası arasında anlamlı bir fark göstermemiştir ( $p>0,05$ ). Araştırmamızla ilgili bulguları şu şekilde sonuçlandırabiliriz:

1. Hemodializ, oksidan stresi artırmaktadır.
2. Hemodializ, eritrosit içi (hücre içi) antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltmaktadır.
3. Cuprophan dializörü oksidan stresi artırmakta, antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltmaktadır.
4. Polisülfon hemodializörünün, oksidan/antioksidan dengeye etkisi saptanmamıştır. Bu sonuçlara göre KRY li hastalara, vitamin E veya A gibi antioksidan maddelerin verilmesi düşünülebilir.
5. Dializ membranlarının geliştirilmesi yanında bu membranların oksijen radikal üretilmesi açısından kontrol edilmesi çok

önemlidir.

## ÖZET

KRY'li hastaların oksidan stres altında olduğu bilinmektedir. Cuprophan ve polisülfon dializörlerinin organizmanın oksidan sistemi ve antioksidan savunması üzerine ne gibi etkileri olduğunu saptamak amacıyla bu çalışmayı planladık. Çalışma Haydarpaşa Numune Hastanesi Hemodializ ünitesi ve özel bir merkez tarafından takip edilen 26 hasta üzerinde yapılmıştır. Hastaların 15'i Cuprophan dializörü, 11'i ise Polisülfon dializörü ile hemodialize girmiştir. Araştırma projemize göre, hastalardan hemodializ öncesi ve hemodializ sonrası, Cubital venden heparinli tüpe 10 ml kan alınmış, kan örnekleri hemen 3000 rpm de 5 dakika santirifüje edilerek plazma ve eritrositlerine ayrılmıştır ve plazma MDA düzeyleri ile, eritrosit içi SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri ve GSH düzeyleri ölçülmüştür.

Bulgularımıza göre MDA düzeyi hemodializ sonrası istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p<0,023$ ). Hemodializ sonrasında, eritrosit-içi SOD ve GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış (sırasıyla  $p<0,018$ ,  $p<0,026$ ,  $p<0,007$ ) olarak belirlendi. Cuprophanla yapılan hemodializ sonrasında MDA düzeyleri artmakta ( $p<0,037$ ), eritrosit-içi SOD ve GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeyleri ise, anlamlı olarak (sırasıyla  $p<0,032$ ,  $p<0,05$ ,  $p<0,007$ ) azalmaktadır. Polisülfonla yapılan hemodializde, saptanan parametreler açısından giriş ile çıkış arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Sonuç olarak, hemodializin oksidan stresi artırdığı, eritrosit içi (hücre içi) antioksidan enzimlerin aktivitesini azalttığı, Cuprophan dializörünün oksidan stresi artırdığı, antioksidan enzimlerin aktivitesini azalttığı, Polisülfon hemodia-

lizörünün oksidan/antioksidan dengeye etkisi olmadığı saptandı. Yeni membranlar geliştirilirken, oksijen radikal üretimi açısından kontrol edilmesinin çok önemli olduğu vurgulandı.

### KAYNAKLAR

- Hassewander O, Young IS. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Res*, 1998; 29: 1-11.
- Mohora M, Mircescu G, Cirjan C, Mihaliescu I, Girneata L, Ursea N, Dinu V. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. *Rom J Intern Med* 1995; 33: 237-242.
- Haklar G, Yeğenağa I, Yalçın AS. Evaluation of oxidant stress in chronic hemodialysis patients: use of different parameters. *Clin Chim Acta* 1995; 234: 109-114.
- Usberti M, Lima G, Arisi M, Bufano G, D'Avanzo L, Gazzotti RM. Effect of exogenous reduced glutathione on the survival of red blood cells in hemodialysed patients. *J Nephrol* 1997; 10: 261-265.
- Loughrey CM, Young IS, Lightbody JH, McMaster D, McNamee PT, Trimble ER. Oxidative stress in hemodialysis. *QJM*, 1994; 87: 679-683.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 12:302-310.
- Sun Y, Oberley LW, Li YA. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*.1988; 34: 497-500.
- Beutler E, Duran O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61:882-888.
- Seymen O, Seven A, Candan G, Yiğit G, Hatemi S, Hatemi H. The effect of iron supplementation on GSH levels, GSH-Px, and SOD activities of erythrocytes in L-Thyroxine administration. *Acta Med Okayama* 1997; 51: 129-133.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158.
- Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron*, 1993; 64: 106-109.
- Durak I, 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.
- Westhuyzen J, Adams CE, Fleming SJ. Evidence for oxidative stress during in vitro dialysis. *Nephron*, 1995; 70: 49-54.
- Sanaka T, Higuchi C, Shinobe T, Nishimura H, Omata M, Nihei H, Sugino N. Lipid peroxidation as an indicator of biocompatibility in hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 [Suppl. 3]: 34-38.
- Richard MJ, Arnaud J, Jurkovitz C, Hachache T, Meftahi H, Laporte F, Foret M, Favier A, Cordonnier D. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57:10-15.
- Delmas-Beauvieux MC, Combe C, Peuchant E, Carbonneau MA, Dubourg L, de Precigout V, Aparicio M, Clerc M. Evaluation of red blood cell lipo-peroxidation in hemodialysed patients during erythropoietin therapy supplemented or not with iron. *Nephron* 1995; 69:404-410.
- Hosokawa S., Yoshida O.: Effects of erythropoietin on trace elements in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. *Nephron* 1993; 65:414-417.
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International* 1996; 49: 1304-1313.
- Paskalev D, Tchankova P, Jankova T, Steiner M, Nenov D. Alteration in red blood cell sodium and potassium concentrations and increased lipid peroxidation in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis: A hypothesis. *Am J Nephrol* 1994; 14: 246-248.
- Vaziri ND, Oveisi F, Ding Y. Role of increased oxygen free radical activity in the pathogenesis of uremic hypertension. *Kidney International* 1998; 53: 1748-1754.
- Hagen TM, Aw TY, Jones DP. Glutathione uptake and protection against oxidative injury in isolated kidney cells. *Kidney International* 1988; 34: 74-81.