



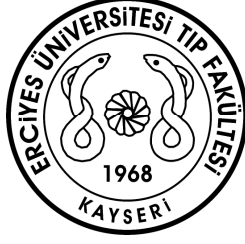
T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN
BAZI OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FERAY ERDEM

KAYSERİ-2012



T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN
BAZI OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FERAY ERDEM

Danışman

Doç. Dr. CEVAT YAZICI

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurumu tarafından TST-09-880 no
lu proje ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ-2012

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	i
ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ	3
2.1.1. Renal Replasman Tedavileri	4
2.1.1.1. Hemodiyaliz	5
2.1.1.2. Periton Diyalizi	7
2.2. SERBEST RADİKALLER	7
2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri	7
2.3. OKSİDATİF STRES	8
2.3.1. Lipid Peroksidasyonu	8
2.3.2. Protein Oksidasyonu	9
2.3.2.1. Okside Proteinlerin Birikimi	9
2.3.2.2. Protein Oksidasyonu ve Hastalık	11
2.4. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ VE OKSİDATİF STRES	11
2.5. OKSİDATİF STRESİ GÖSTEREN BAZI PLAZMA PARAMETRELERİ	13
2.5.1. Miyeloperoksidaz	13
2.5.2. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa	15
2.5.3. Neopterin	16
2.5.4. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri	18
2.5.5. Protein Karbonil Bileşikleri	18
2.5.6. Serbest Tiyoil Grupları	19
2.5.7. Paraoksonaz	20
2.5.8. Homosistein	23
2.5.9. Okside LDL	25
2.6. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	27
2.7. N-ASETİLSİSTEİN	27
2.7.1. Kimyasal Yapı ve Farmakokinetik	28
2.7.2. Etki Mekanizması	28
2.7.3. Endikasyon	29
2.7.4. Toksisite ve Yan Etki	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR	87
7. KAYNAKLAR	89
8. EKLER	100
9. TEZ ONAY SAYFASI	105

KISALTMALAR

AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
ALE	: İleri lipoksidasyon son ürünleri
AOPP	: İleri oksidasyon protein ürünleri
Apo	: Apoprotein
Apo J	: Klusterin
BUN	: Kan üre azotu
CBC	: Tam kan sayımı
CBS	: Sistasyonin β sentetaz
CV	: Değişme katsayısı
DNPH	: Dinitrofenilhidrazin
DTNB	: Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
ELAM	: Endotel lökosit adezyon molekülleri
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GSH	: Redükte glutatyon
GSSG	: Glutatyon disülfid
GTP	: Guanozin trifosfat
Hcy	: Homosistein
Hcy-T	: Homosistein tiyolakton
HD	: Hemodiyaliz
HDL-C	: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HNE	: Hidroksi nonenal
HO $\cdot$	: Hidroksil radikali
HOCl	: Hipoklorik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HSA	: İnsan serum albümini
hsCRP	: High sensitive C-reaktif protein
ICAM	: İntraselüller adezyon molekülleri
IFN	: interferon
INCAM	: İndüklenebilen hücre adezyon molekülü
iv	: İntravenöz
KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LDL-C	: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NAC	: N-Asetilsistein
NADPH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF- κ B	: Nükleer faktör-kappa beta
N-hcy	: N-homosisteinilasyon
NO	: Nitrik oksit
oxLDL	: Okside-LDL
O ₂	: Moleküler oksijen
O ₂ $\cdot$	: Süperoksit radikali
ONOO $\cdot$	: Peroksinitrit
PCC	: Protein karbonil bileşikleri
PD	: Periton diyalizi
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler
PON1	: Paraoksonaz

PUFA	: Poliansatüre yağ asitleri
RCC	: Reaktif karbonil bileşikleri
RRT	: Renal replasman tedavisi
SAH	: S-adenozil homosistein
SAM	: S-adenozil metiyonin
SAPD	: Sürekli ayaktan periton diyalizi
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
-SH	: Serbest tiyol
S-hcy	: S-homosisteinilasyon
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
-S-S-	: Disülfid
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
Tx	: Transplantasyon
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1: Prooksidan, Antioksidan ve Proteolitik Aktiviteler Arasındaki Dengeye Bağlı Olarak Oksitlenmiş Proteinlerin Birikimi	10
Şekil 2: Solunum Patlaması ve Nötrofil Kaynaklı Oksidanlar	11
Şekil 3: MPO Kaynaklı Primer ve Sekonder Ürünler.....	14
Şekil 4: Paraoksonazın Yapısı	21
Şekil 5: Homosistein Metabolizması	23
Şekil 6: LDL Oksidasyon Mekanizmaları	25
Şekil 7: TNF- α Standart Grafiği	37
Şekil 8: Neopterin Standart Grafiği	39
Şekil 9: Kloramin T Standart Grafiği	40
Şekil 10: Glutasyon Standart Grafiği	44
Şekil 11: oxLDL Standart Grafiği	48

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1: Kronik Böbrek Yetmezliğinin Evreleri.....	4
Tablo 2: HD Hastalarının Etiyolojik Dağılımı	6
Tablo 3: Serbest Oksijen Radikalleri.....	8
Tablo 4: MPO ve LDL Oksidasyonu	26
Tablo 5: Çalışma Grubunun Yaş ve Cinsiyet Durumu	50
Tablo 6: Çalışma Grubunun HD Süreleri.....	50
Tablo 7: Çalışma Grubunun HD Seansı Öncesi Vücut Ağırlığı.....	50
Tablo 8: Çalışma Grubunun Bazı Rutin Biyokimya Değerleri	51
Tablo 9: Çalışma Grubunun Bazı CBC Değerleri.....	51
Tablo 10: Çalışma Grubunun Lipid ve Lipoprotein Profili.....	52
Tablo 11: Çalışma Grubunun MPO, TNF- α , Neopterin Değerleri	53
Tablo 12: Çalışma Grubunun AOPP, PCC, TiyoL Değerleri.....	54
Tablo 13: Çalışma Grubunun PON1, Homosistein, oxLDL Değerleri	55

HEMODİYALİZ HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN BAZI OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Kronik böbrek yetersizliği (KBY)'nin patogeneğinde yer alan oksidatif stres için, hemodiyaliz (HD) ortamı bir model olarak düşünülmektedir. Lipoprotein metabolizması bozuklukları, hiperhomosisteinemi ve kronik enflamasyon sonrası gelişen oksidatif stresin yol açtığı patolojik değişikliklerin, ateroskleroz gelişimini hızlandırarak KBY ve HD hastalarında gözlenen artmış kardiyovasküler hastalık riskine neden olduğu belirtilmektedir.

Bu çalışma, HD işleminin, oksidatif stresle ilişkisini göstermek; tedavi protokolüne eklenen N-asetilsistein (NAC)'in ölçülen parametreler üzerine muhtemel etkilerini değerlendirmek amacıyla planlandı.

Gereç ve Yöntem: En az altı aydır, düzenli HD tedavisi (2-3 seans/hafta, 4 saat) alan 13 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan birinci HD seansı öncesi kan alındı ve seans boyunca 500 mL % 0.9 sodyum klorür çözeltisi intravenöz (*iv*) olarak verildi (Plasebo grubu). Bu seansı takip eden 2. (NAC-1 grubu) ve 3. (NAC-2 grubu) HD seanslarında, hastalara rutin tedavilerine ek olarak, 500 mL % 0.9 sodyum klorür içinde 50 mg/kg NAC *iv* verildi.

Diyaliz öncesi ve sonrası olmak üzere, toplam altı kez alınan kanlardan elde edilen serum/plazma örneklerinde; miyeloperoksidaz (MPO), tümör nekrozis faktör α (TNF- α), neopterin, proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), protein karbonil bileşikleri (PCC), tiyol, paraoksonaz (PON), homosistein ve okside LDL (oxLDL) düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: HD'nin MPO, TNF- α , AOPP, PCC, tiyol ve PON1 düzeylerini artırdığı; neopterin, homosistein düzeyini düşürdüğü; oxLDL'yi etkilemediği; iki ardışık doz NAC ilavesi ile AOPP, PCC ve homosistein düzeylerinin düştüğü; ölçülen diğer parametrelerin ise değişmediği belirlenmiştir.

Sonuç: Yüksek MPO ve TNF- α seviyeleriyle gösterildiği gibi, HD'de aktifleşen nötrofillerin oksidatif strese neden olduğu; güçlü bir antioksidan olan NAC'ın, rutin HD tedavi protokolüne eklenerek oksidatif stresle ilişkili bazı patolojik değişiklikleri düzeltebileceği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, hemodiyaliz, N-asetilsistein, oksidatif stres.

THE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEINE ON OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

ABSTRACT

Aim: Hemodialysis (HD) medium is considered as a model for oxidative stress found in pathogenesis of chronic renal failure (CRF). It is stated that pathological changes caused by oxidative stress developing after chronic inflammation, lipoprotein metabolism disorders and hyperhomocysteinaemia expedite the emergence of atherosclerosis and, therefore, induces increased for cardiovascular disease risk observed in the patients with CRF and HD.

This study was planned to exhibit the relationship between HD process and the oxidative stress; to evaluate the possible effects of N-acetylcysteine (NAC), which is added to treatment protocol, on measured parameters.

Materials and methods: Thirteen patients receiving HD treatment for at least six months (2-3 sessions /week, 4 hours) were included in the study. Blood samples from the patients taken prior to the first HD session and 500 mL of 0.9 % sodium chloride solution was administrated intravenously (*iv*) to the patients during the session (Placebo Group). In the second (NAC-1 Group) and third sessions (NAC-2 Group) following this session, the patients were given 50 mg/kg NAC *iv* in 500 mL of 0.9 % sodium chloride solution in addition to their routine treatment.

The serum/plasma samples obtained from blood samples taken prior to and after the HD treatment, six times in total, were analyzed for myeloperoxidase (MPO), tumor necrosis factor α (TNF- α), neopterin, advanced oxidation protein products (AOPP), protein carbonyl content (PCC), thiol, paraoxonase (PON), homocysteine and oxidized LDL (oxLDL) levels.

Results: It is identified that HD increased the MPO activity and TNF- α , AOPP, PCC, thiol and PON1 levels; while causing a decrease in the levels of neopterin and homocysteine, and causing no change with oxLDL. AOPP, PCC and homocysteine levels were decreased and other parameters did not change with a supplementary double consecutive dose of NAC.

Conclusion: It may be stated, as exhibited with high levels of MPO and TNF- α , that the neutrophils activated in HD process causes oxidative stress and that some of pathological changes related to oxidative stress may be prevented by adding NAC, which is a very strong antioxidant, to the routine HD treatment protocol.

Key Words: Antioxidant, hemodialysis, N-acetylcysteine, oxidative stress.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), böbreğin temel fonksiyonlarının bozulmasıyla kendini gösteren, birçok organ ve sistemi tutabilen kronik ilerleyici bir hastalıktır (1). Böbrek fonksiyonlarının bozulmasına yol açan birçok patolojik mekanizma yanında, serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin üretiminde artış ve/veya antioksidan sistemlerdeki yetersizlikler de KBY'nin patogeneze katkıda bulunmaktadır (2,3). Hatta, diyalizin gerçekleştiği ortam oksidatif stres için bir model olarak düşünülmekte; diyalizin dolaşımdaki nötrofilleri aşırı miktarda SOR oluşturmak üzere uyardığı ve çeşitli nedenlerle antioksidan sistemin de zayıflamasına bağlı olarak, diyaliz hastalarında oksidatif stresin oluşabileceği öne sürülmektedir (4).

KBY hastalarında en sık karşılaşılan ölüm nedeni, kardiyovasküler hastalık (KVH)'lardır (1). KBY ve hemodiyaliz (HD)'de gözlenen artmış KVH riski için, pek çok mekanizma suçlanmaktadır. Lipoprotein metabolizması bozuklukları, KBY hastalarında sıklıkla görülen ve KVH gelişimine yol açan aterosklerotik risk faktörlerindendir. Bu hastalarda, plazma düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-C)'ün yükseldiğini; yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-C)'ün azaldığını gösteren çalışmalar vardır (5-9). KVH için bağımsız bir risk faktörü olarak belirlenen hiperhomosisteinemi de, bu hastalarda belirlenen klinik bir bulgudur (10). Ayrıca KBY'de oksidatif strese yol açan kronik enflamasyonun, ateroskleroz gelişimini hızlandırdığı, erken ateroskleroz ve buna bağlı komplikasyonların da diyaliz hastalarında kardiyovasküler morbidite ve mortalite oranlarını artırdığı bilinmektedir (11).

Paraoksonaz (PON1), plazmada HDL-C fraksiyonunda yer alan ester hidrolaz olup, HD işleminde azaldığı (5,7,12,13) buna bağlı olarak da KVH için bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir.

Solunum sistemi hastalıklarında mukolitik ajan olarak kullanılan N-asetilsistein (NAC), redükte glutatyon (GSH) prekürsörüdür. Daha da önemlisi, NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğunu gösteren çalışmalar yapılmakta; patofizyolojisinde oksidatif stresin rol aldığı çeşitli kanserlerde, HD ve kalp hastalıklarının tedavisinde NAC'ın etkili olduğu bildirilmektedir (14).

KBY'de ateroskleroz gelişiminin önlenmesi, risk faktörlerinin düzeltilmesine bağlı olacağından (1); KBY'nin patofizyolojisinde rol oynayan SOR üretimi ve oksidatif stresin önlenmesi, klinik bakımdan büyük önem taşıyacaktır.

Bu çalışmada, HD hastalarında, gelişmekte olan aterosklerozun oksidatif stresle ilişkisini göstermek amacıyla; tedavileri sürdürülen HD hastalarının serum/plazmasında miyeloperoksidaz (MPO) ve PON1 aktivitesi ile tümör nekrozis faktör α (TNF- α), neopterin, proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), protein karbonil bileşikler (PCC), tiyol, homosistein okside LDL (oxLDL) ve lipid profili, düzeyleri tayin edilecek ve hastaların mevcut tedavi protokolüne ilave edilen NAC'ın, oksidatif stresle ilişkili bu parametreler üzerindeki etkisi değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerüler filtrasyon değeri (GFR)'nde azalmanın sonucu, böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir. Üremi, KBY'nin neden olduğu tüm klinik ve biyokimyasal anormallikleri içeren bir deyimdir ve birçok kaynakta KBY ile eş anlamda kullanılmaktadır (1).

KBY'nin tanımı ve evreleri “*American Journal of Kidney Diseases 2002*” de şu şekilde özetlenmiştir (Tablo 1) (15).

Kronik Böbrek Yetmezliği:

1. Üç ay veya daha uzun süredir var olan ve böbreğin yapısal veya fonksiyonel bozuklukları ile tanımlanan, GFR'nin normal veya azalmış olduğu aşağıdaki durumlardan herhangi birisi ile kendini gösteren böbrek hasarı:

a-patolojik değişiklikler; veya

b-böbrek hasarı belirleyicilerinde (kan-idrar değerleri veya görüntüleme testleri) anormallik olması.

2. Böbrek hasarı olsun ya da olmasın GFR'nin 3 ay veya daha uzun süreyle 60 mL/dk/1.73 m² veya daha düşük olması şeklinde tanımlanmıştır.

Tablo 1. Kronik Böbrek Yetmezliğinin Evreleri (15)

Evre	Tanım	GFR (mL/dk/1.73 m ²)
1	Normal veya yüksek GFR ile birlikte böbrek hasarı	≥ 90
2	GFR’de hafif düşüş ile beraber böbrek hasarı	60-89
3	GFR’de orta derecede düşüklük	30-59
4	GFR’de ileri derecede düşüklük	15-29
5	Böbrek yetmezliği	<15 (diyaliz)

Hastaların klinik semptom ve bulguları böbrek yetmezliğinin derecesi ve gelişme hızı ile yakından ilişkilidir. KBY’den etkilenmeyen organ veya sistem yok kabul edilebilir. GFR 35-50 mL/dk’nın altına inmedikçe hastalar semptomsuz olabilir. Hastaların ilk semptomları genellikle noktüri ve anemiye bağlı halsizliktir. GFR 20-25 mL/dk olunca hastada üremik semptomlar ortaya çıkmaya başlar. GFR 5-10 mL/dk’ya inince son dönem böbrek yetmezliğinden bahsedilir ve hastalar renal replasman tedavi (RRT)’lerine ihtiyaç duyarlar (1).

Böbrek yetmezliğinde, böbreğin temel fonksiyonlarında bozulmalar olur ve değişik adaptif sistemler devreye girer. Akut veya kronik olabilen böbrek yetmezliğinin derecesinin belirlenmesinde kullanılan en objektif parametre GFR’nin ölçülmesidir. GFR’nin en sık kullanılan birimi mL/dk ve normal değeri 70-145 mL/dk’dır. GFR’nin ölçülmesinde en sık kullanılan yöntem ise kreatinin klirensidir (1).

2.1.1. Renal Replasman Tedavileri

SDBY olan hastalarda renal replasman tedavileri; hemodiyaliz (HD), periton diyalizi (PD) ya da renal transplantasyon (Tx)’dur. SDBY bulunan hastalar her üç tedaviden de zaman içerisinde yararlanmak durumunda kalabilirler (3).

Ülkemizde 2010 yılı sonu itibariyle toplam 62.903 hastanın RRT aldığı tespit edilmiştir. RRT alan hastaların sayısında artış eğilimi devam etmektedir. Prevalans milyon nüfus başına 853, insidans ise milyon nüfus başına 264 olarak hesaplanmıştır. Türk Nefroloji Derneği 2010 yılı kayıtlarına göre, Türkiye’de mevcut SDBY hastalarında uygulanan RRT oranları: HD (% 78.7), PD (% 8.8) ve Tx (% 12.5) şeklindedir (16).

Diyaliz tedavisi; HD ve PD olmak üzere iki şekilde uygulanır.

Diyaliz, yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyaliz solüsyonu arasında sıvı-solüt değişimini temel alan bir tedavi şeklidir. Sıvı ve solüt hareketi, genellikle hastanın kanından diyalizata doğrudur ve bu diyalizatin uzaklaştırılması ile hastada mevcut olan sıvı-solüt dengesizliği normal değere yaklaştırılır (1).

Sıvı ve solüt değişiminin difüzyon ve ultrafiltrasyon olmak üzere iki temel prensibi vardır. Difüzyon, membranın iki yanındaki konsantrasyon farkı nedeni ile solütün konsantrasyonu yüksek olan taraftan düşük olan tarafa hareketidir. HD’de difüzyonun etkinliğini artırmak için zıt akımlar prensibi uygulanır, yani hastanın kan akımı ile diyalizat akımı ters yönlüdür (1).

Ultrafiltrasyon ise uygulanan basınç nedeni ile membranın bir yanından diğer yanına sıvı transferidir. Sıvı transferine solüt transferi de eşlik ettiğinden (konveksiyon), ultrafiltrasyon solüt değişimine de katkıda bulunur. Ultrafiltrasyona yol açan basınç, HD ve sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD)’nde farklıdır. Ultrafiltrasyona yol açan basınç; HD’de hidrostatik basınç iken, SAPD’de ozmotik basınçtır (1).

Diyaliz tedavisinin mutlak bir kontrendikasyonu yoktur. Böbrek yetmezliğine eşlik eden alzheimer hastalığı, multi-enfarkt demans, hepatorenal sendrom, ensefalopati ile birlikte ilerlemiş siroz, ilerlemiş kanser gibi bazı hastalıkların varlığında göreceli bir kontrendikasyon vardır (1).

2.1.1.1. Hemodiyaliz

Hemodiyaliz; hastadan alınan kanın bir membran ve makine aracılığı ile sıvı ve solüt içeriğinin yeniden düzenlenmesidir. HD işleminin gerçekleşmesi için kalıcı veya geçici vasküler giriş yolu ile yeterli kan akımı sağlanmalıdır. Geçici vasküler giriş yolu sağlamak için en yaygın yöntem çift lümenli bir kateterin femoral, subklavyen veya internal juguler vene yerleştirilmesidir. Kalıcı vasküler giriş yolları başlıca iki tanedir; arteriyovenöz greft, arteriyovenöz fistül (1).

Hemodiyaliz tedavisinin avantajları (1);

- Hastanın, diyaliz tedavisi haftada 2-3 kez 4-6 saat alması ve diğer zamanlarda serbest olması
- Metabolik dengeyi daha az etkilediği için, şişmanlığın daha az sorun olması
- Malnütrisyon ile daha az karşılaşılması
- Hastaneye yatma ihtiyacının daha az olması

- Peritonit gibi batin komplikasyonlarının görülmemesidir.

Hemodiyaliz tedavisi hayat kurtarıcı bir tedavi yöntemi olmasına rağmen hastalarda birçok rahatsızlığa yol açar. Diyaliz teknolojisindeki gelişmeler ve bikarbonatın daha yaygın kullanımı ile HD'ye bağlı akut komplikasyonlar nispeten azalmıştır. Hipotansiyon (% 20-30), kramp (% 5-20), bulantı-kusma (% 5-15), başağrısı (% 5), göğüs ağrısı (% 2-5), sırt ağrısı (% 2-5), kaşıntı (% 5) ve ateş-titrete (< % 1), HD esnasında sık karşılaşılan ancak genellikle hayatı tehdit etmeyen komplikasyonlardır. HD işlemi esnasında diyaliz disequilibrium (dengesizlik) sendromu, diyalizer reaksiyonları, aritmi, kalp tamponadı, kanama (kafa içi, gastrointestinal sistem), hemoliz, hava embolisi, diyalizerin yırtılması, diyalizerde kanın pıhtılaşması, sıvı-elektrolit metabolizması bozuklukları, diyalizat sıcaklığında değişiklikler ve hipoksemi gibi komplikasyonlara da rastlanabilir. Hayatı tehdit edebilen bu komplikasyonlar nadir görülür. Ayrıca serum ilaç düzeylerinde azalma, kompleman aktivasyonu ve geçici nötropeni de izlenebilir (1).

2010 yılı sonu itibarıyla ülkemizde kronik HD programında izlemde olan hastaların etiyolojik nedenlere göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir (16).

Tablo 2. HD Hastalarının Etiyolojik Dağılımı (16)

Etiyolojik dağılım	%
Diabetes mellitus	30.5
Hipertansiyona bağlı SDBY	27.2
Glomerülonefrit	7.5
Polikistik böbrek hastalığı	4.9
Piyelonefrit	3.2
Amiloidoz	2.1
Renal vasküler hastalık	0.8
Diğer nedenler	23.8

Türk Nefroloji Derneğinin 2010 yılı verilerine göre, HD hastalarındaki mortalitenin en sık nedeni (% 53) kardiyovasküler hastalık (KVH)'lardır. KVH'lar arasında ise en çok kalp yetersizliğı, iskemik kalp hastalığı ve ani ölüm görülmektedir (16).

2.1.1.2. Periton Diyalizi

Erişkinde yüzeyi yaklaşık 2.2 m² olan periton membranı; kapiller endotel, bazal membran, gevşek destek dokusu ve mezotel hücresinden oluşur. Kan akımının 70-110 mL/dk olması ve düşük kan basınçlarında bile kan akımını sabit tutabilmesi; peritonun diyaliz için uygun bir membran olmasını sağlar. Diyalizat sıcaklığının peritona verilmeden önce vücut sıcaklığına getirilmesi, periton diyalizinin üre klirensini yaklaşık % 35 oranında artırır (1).

Solüt transferinin dengeli ve devamlı olması, orta ve büyük moleküllü üremik toksinlerin haftalık klirenslerinin daha yüksek olması, hemoglobin konsantrasyonunu artırması, daha az diyet ve sıvı kısıtlaması gerektirmesi, hipertansiyonun daha etkili kontrol edilmesi, hastanın cihaz bağımlılığının olmaması, hepatit C vb bulaşıcı enfeksiyon riskinin daha az olması gibi faktörler; SAPD tedavisinin avantajları olarak kabul edilmektedir (1).

2.2. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren oldukça reaktif atom veya moleküllerdir. Yarı ömürleri çok kısa olan serbest radikaller, normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi, çok çeşitli etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler. Serbest radikaller; proteinler, amino asitler, lipidler, serbest yağ asitleri, karbohidratlar ve nükleotidler gibi tüm hücre bileşenleriyle etkileşebilirler (17).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (18):

- | | |
|---|------------------------------------|
| •Kovalent bağların homolitik kırılması | $X:Y \rightarrow X\cdot + Y\cdot$ |
| •Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı | $X:Y \rightarrow X^{\cdot-} + Y^+$ |
| •Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi | $X + e^- \rightarrow X^{\cdot-}$ |

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr; organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler (17).

2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Organizmada oksijenin yanı sıra karbon, nitrojen ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri (SOR), sadece oksijen radikallerini değil; aynı zamanda oksijenin radikal olmayan türevlerini de tanımlamaktadır (Tablo 3) (17).

Tablo 3. Serbest Oksijen Radikalleri (17)

Radikal türevler	Radikal olmayan türevler
Süperoksit ($O_2^{\cdot -}$)	Singlet oksijen (1O_2)
Hidroksil ($HO^{\cdot}$)	Ozon (O_3)
Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Peroksil ($ROO^{\cdot}$)	Lipid hidroperoksit ($ROOH$)
Alkoksil ($RO^{\cdot}$)	Hipoklorik asit ($HOCl$)
	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Moleküler oksijen (O_2), iki tane eşleşmemiş elektronu bulunduğu için kendisi de bir radikaldir. Her iki atom denge halinde olduğundan oksijen molekülünün reaktif bir özelliği yoktur. Oksijen en son suya indirgenir. Mitokondriyal elektron transport zinciri tarafından gerçekleştirilen bu süreçte, % 1-2 oranında O_2 kaçağı meydana gelir ve çeşitli radikallerin oluşumuyla sonuçlanır. Bu radikaller oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar. Moleküler oksijen tek elektron kazandığında $O_2^{\cdot -}$ radikali oluşmakta; $O_2^{\cdot -}$ 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 oluşmakta, H_2O_2 'nin indirgenmesi ile $HO^{\cdot}$ radikali oluşumu gerçekleşmektedir (18).

Hücrelerde üretilen $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 'den, Fe/Cu gibi metallerin varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla $HO^{\cdot}$; $O_2^{\cdot -}$ ve nitrik oksit (NO)'den, $ONOO^-$ gibi çok daha toksik oksidanlar oluşabilmektedir (19).

2.3. OKSİDATİF STRES

Organizmada oksidan-antioksidan sistemler bir denge içerisinde. Serbest oksijen radikallerinin aşırı miktarda üretildiği ve/veya antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda; bu dengenin bozulması, oksidatif stres olarak tanımlanır (20).

Oksidatif stresle oluşan doku hasarları arasında başlıca; lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, karbohidratların yıkımı, DNA ve membran yapısının bozulması gibi oksidatif modifikasyonlar sayılabilir (21).

2.3.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu; membran yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren başlama, yayılma ve sonlanma şeklinde üç aşamada gerçekleşen reaksiyonlar dizisidir. Başta $HO^{\cdot}$ olmak üzere SOR tarafından doymamış yağ asitlerinin peroksidasyon reaksiyonları, bir kere başladıktan sonra, zincirleme

reaksiyonlar şeklinde yayılarak devam etmekte ve yüzlerce yağ asidi zinciri lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (22).

Peroksidasyon sırasında açığa çıkan konjuge dienler, lipid hidroperoksitleri, peroksi radikalleri ile malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) gibi yıkım ürünleri hücre yapısı ve fonksiyonunu bozabilir (22).

2.3.2. Protein Oksidasyonu

Proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanan protein oksidasyonu; SOR veya sekonder oksidatif stres ürünleri ile tetiklenebilir. Lipid peroksidasyonuna benzer şekilde gerçekleşen protein-radikal zincir reaksiyonları, proteinlerin oksidatif modifikasyonuna neden olmaktadır. H_2O_2 ve $HOCl$ gibi reaktifler, paraquat, karbonditetraklorür, asetaminofen gibi ksenobiyotikler, sigara, Fe^{2+} ve Cu^+ gibi geçiş metalleri, *UV* radyasyon, aktif nötrofiller, ozon, oksido-redüktazlar ile lipid ve serbest amino asit oksidasyon ürünleri protein oksidasyonuna yol açabilmektedir (23).

Oksidasyona uğrayan enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonunda değişimler, immünolojik aktivitede artış gibi olaylar; protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları olarak sıralanabilir (24).

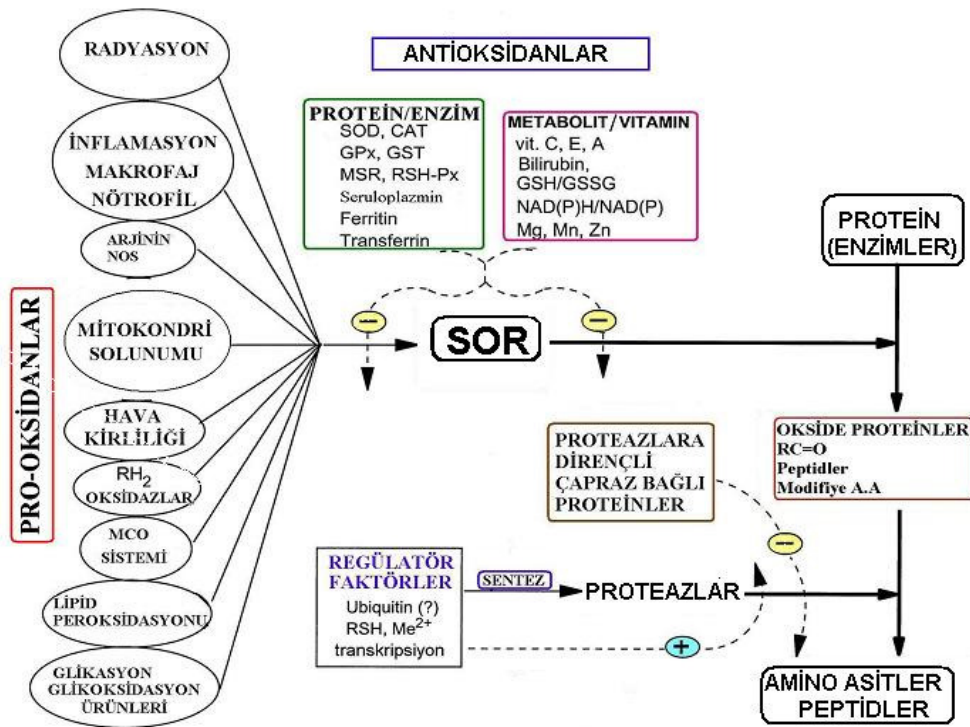
Protein oksidasyonu esas olarak $HO\cdot$ radikali ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde O_2 ile birlikte, $O_2\cdot$ radikali, ve $HO_2\cdot$ 'nin varlığı da gereklidir. Adı geçen bu serbest oksijen türevleri; amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile peptid bağlarının ayrılmasına neden olur (25).

2.3.2.1 Okside Proteinlerin Birikimi

Okside proteinlerin hücre içi düzeyi, protein oksidasyonunun şiddeti ile okside proteinlerin yıkım hızı arasındaki dengenin bir yansımasıdır. Bu denge; SOR oluşumuna neden olan faktörler ile okside protein klirensinden sorumlu proteazların konsantrasyon ve/veya aktivitelerini belirleyen faktörler arasında gerçekleşen kompleks bir fonksiyondur. Protein yan zincirinde bulunan tiyol grupları hariç tutulacak olursa, protein oksidasyonunun hedefi olan proteinlerin endojen protezlar tarafından temizlenmesi gerekir. Kendileri de aynı zamanda protein oksidasyonunun

bir hedefi olabilen bu proteazların aktiviteleri, okside proteinlerin birikim miktarını belirleyen önemli faktörlerden biridir. Ayrıca SOR oluşumunu inhibe edebilen veya onları inaktif türevlerine dönüştürebilen non enzimatik (antioksidanlar) ve enzimatik faktörlerin konsantrasyonu da bu dengeyi doğrudan etkileyebilir (Şekil 1) (25).

Okside proteinlerin birikimi, yalnızca protein oksidasyon oranını yansıtmaz aynı zamanda okside protein yıkımını da yansıtır. Bu yol, okside proteinleri tercihen yıkan proteazların konsantrasyonlarının ve proteolitik aktivitelerini etkileyen pekçok faktörün (metal iyonları, inhibitörler, aktivatörler ve düzenleyici proteinler), yer aldığı bir sistemi içerir (25).



Şekil 1. Prooksidan, Antioksidan ve Proteolitik Aktiviteler Arasındaki Dengeye Bağlı Olarak Oksitlenmiş Proteinlerin Birikimi (25)

Örneğin, bazı proteinlerin oksitlenmiş formları (çapraz bağlı proteinler), glikasyonla modifiye edilmiş proteinler veya lipid peroksidasyon ürünleri, yalnız proteolize dirençli yapılar olarak bilinmezler, aynı zamanda diğer proteinlerin okside formlarını yıkacak proteazların yeteneğini de inhibe edebilirler (25).

Protein oksidasyon ürünleri arasında, protein karbonil bileşikler (protein carbonyl compounds; PCC) (26); 3-nitrotirozin, klorotirozin gibi yan zincir oksidasyon ürünleri (25); proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (advanced oxidation protein

products; AOPP) gibi çapraz bağlanma ürünleri (27) ve protein yapıları üzerinde oluşan disülfidler (28) sayılabilir.

2.3.2.2. Protein Oksidasyonu ve Hastalık

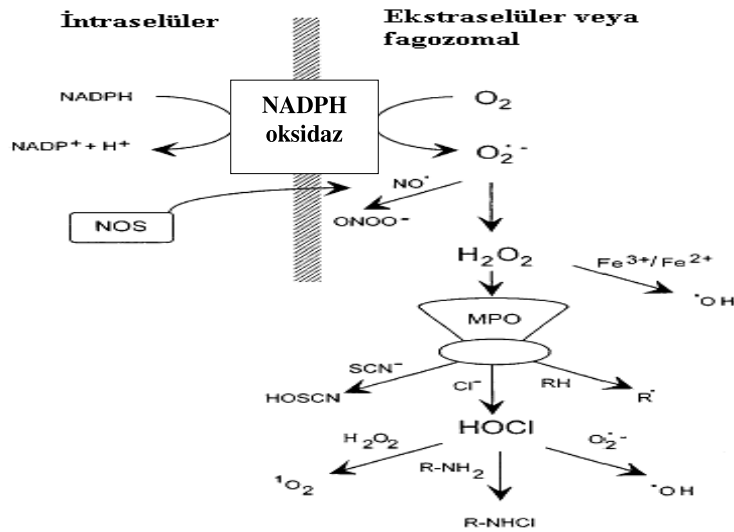
Okside proteinlerin birikmesi; amniyotrofik lateral skleroz, alzhemier hastalığı, respiratuar distres sendromu, müsküler distrofi, katarakt, romotoid artrit, ateroskleroz, diyabet, parkinson hastalığı, esansiyel hipertansiyon, KBY, kistik fibrozis ve ülseratif koliti içeren birçok hastalıkla ilişkilidir (25).

2.4. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ VE OKSİDATİF STRES

Hemodiyaliz tedavisi; SOR üretimini artırarak ve/veya antioksidan kapasiteyi azaltarak oksidatif dengede bir bozukluk oluşturur. Bu durumdan üremi ile ilişkili metabolik anormallikler, HD işlemi ve ilaçlar sorumludur (2,3).

Hemodiyaliz hastalarında gözlenen aşırı SOR üretiminden sorumlu tutulan üremik duruma sekonder gelişen metabolik anormallikler, diyaliz işleminin/membranlarının biyoyumsuzluğu tarafından da artırılır (29).

Kullanılan membranlar ve diyalizattaki mikrobiyal kontaminasyon ve/veya pirojen içerik tarafından aktive edilen polimorfonükleer lökositler (PMNL), hemodiyaliz ilişkili SOR'un en önemli kaynağıdır. PMNL'nin aktive olması ile ortaya çıkan solunum patlaması (respiratuar burst)'nda (Şekil 2) rol alan redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, O_2 'yi indirgeyerek $O_2^{\cdot -}$ oluşturur. $O_2^{\cdot -}$ hızlı bir şekilde süperoksit dismutaz (SOD) ile katalizlenen reaksiyon ile H_2O_2 'ye döner. H_2O_2 , halidlerin varlığında miyeloperoksidaz (MPO) ile HOCl gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar (29,30).



Şekil 2. Solunum Patlaması ve Nötrofil Kaynaklı Oksidanlar (30)

Fagositlerden kaynaklanan bu oksidanların yanı sıra; kullanılan membran ve diyalizat sıvıları, alternatif kompleman yolunun aktivasyonuna ve interlökin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) gibi proenflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açarak hücre hasarının ilerlemesine katkıda bulunurlar (3). Ayrıca sitokinlerin uyarısı ile aktive olan PMNL'den kaynaklanan SOR, sitokinlerin transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kappa beta (NF- κ B)'yı aktive ederek, sitokinler ve SOR arasında kısır bir döngünün oluşmasına yol açar (29).

Sadece HD işlemi değil, üremik sendromun ve metabolik anormalliklerin tedavisinde kullanılan ilaçlar da SOR üretimi ile ilgilidir. Bunlar arasında en çok demir ve eritropoietin tedavisi yer almaktadır. Demir; Fenton reaksiyonu yoluyla HO $\cdot$ radikalini, eritropoietin ise; PMNL'leri uyurarak O $_2\cdot$ radikalini oluşturur (3).

HD tedavisinde; selenyum, vitamin C ve vitamin E gibi antioksidanlar diyalizat sıvısına geçerek oksidan hasarın artışına yol açmaktadır. Selenyum, antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi için esansiyeldir (17). HD hastalarında, plazma SOD, katalaz, glutatyon redüktaz ve GSH-Px gibi antioksidan enzim aktiviteleri azalmaktadır. Renal enzim sentezinin baskılanmasına bağlanabilen bu azalma, üremik toksinlerin enzim-protein yapısında oluşturduğu değişikliklere de bağlı olabilir (31).

Uzun dönem HD hastalarında çeşitli nedenlere bağlı kronik bir enflamatuvar ortam söz konusudur. Defektif immün sistem fonksiyonu ve HD'de kan membran etkileşimi nedeniyle immün hücrelerin tekrarlayan aktivasyonu, prooksidan durumun daha da kötüleşmesine neden olmaktadır. Her seansta artan oksidatif stresin; karbonil streten, yüksek morbidite/mortalite oranından ve kronik komplikasyonlardan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Üremide reaktif karbonil bileşikler (reactive carbonyl compounds; RCC)'nin artışı ile proteinlerde meydana gelen karbonil modifikasyonlara "karbonil stres" adı verilmiştir (32). Karbonil stres bileşikler ateroskleroz ya da amiloidoz gibi diyalizin en sık karşılaşılan enflamatuvar komplikasyonlarının görülmesinde, direkt ya da indirekt bir role sahiptir (3). KBY'de oksidatif strese yol açan kronik enflamasyonun ateroskleroz gelişimini hızlandırdığı ve bu nedenle diyaliz hastalarında KVH'ya bağlı morbidite ve mortalite oranlarının arttığı bilinmektedir (11).

Kronik Böbrek Yetmezliğinde Oksidatif Stres “Biyomarker”ları: Oksidatif stresin hastalıkların patogeneğinde ve/veya ilerlemesinde rolünü araştırmak için, uygun “biyomarker”ların kullanılması gerekir. SOR kaynaklı oksidatif hasar en çok protein, lipid, karbohidrat ve nükleik asit gibi biyomolekülleri etkilediğinden; oksidatif stresin gösterilmesinde, genellikle bu biyomoleküllerin oksidatif ürünlerine yönelik testler kullanılmaktadır (31,33). Oksidatif stresin ölçümü basit olmadığı gibi, henüz standardize edilmiş yöntemler de mevcut değildir. Oksidatif stresin varlığı *in vivo* olarak, ya MDA, tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler, konjuge dien gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin artmış konsantrasyonlarıyla ya da E, A vitaminleri ve glutatyon gibi radikal tutucuların düzeyleri ve/veya SOD, GSH-Px, katalaz gibi antioksidan enzimlerin azalmış aktiviteleriyle gösterilmektedir (2,20). Analiz edilen belirteçlerin yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışları ve zayıf spesifiklik göstermeleri vb nedenlerle, lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçümü oksidatif stresin derecesini göstermede yetersiz kalmakta; buna karşılık daha stabil, daha uzun ömürlü ve nispeten reaksiyon spesifik olan protein oksidasyon ürünleri kullanılmaktadır (34).

2.5. OKSİDATİF STRESİ GÖSTEREN BAZI PARAMETRELER

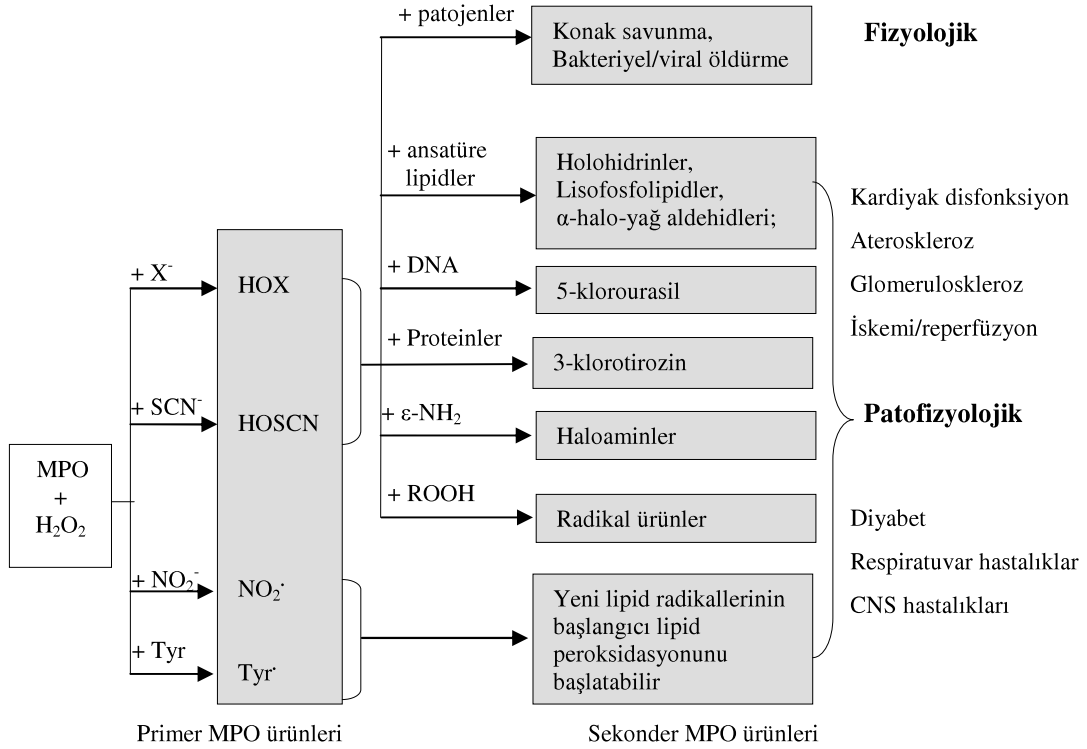
2.5.1. Miyeloperoksidaz

Miyeloperoksidaz; 11 intron ve 12 ekson içeren, 17. kromozomun uzun kolunda q12-24 segmentinde yer alan, tek bir gen tarafından kodlanır. MPO, her biri α -hafif zincir (108 amino asit, 14.5 kD) ve β -ağır zincir (466 amino asit, 58.5 kD) olmak üzere, iki polipeptid içeren, simetrik ilişkili yarımlar arasında tek bir disülfid köprüsü bulunan, 146 kD ağırlığında α -helikal katyonik dimerdir (35). Ağır zincirde, kovalent bağlı mannoz zengin karbohidrat ve iki “hem” bulunur (36).

MPO, total nötrofil proteininin yaklaşık % 2-5’i kadardır. Nötrofillerden daha az olmak üzere, monositler de MPO pozitif granüller içerir ve doku makrofajlarına farklılaşma sırasında bu granülleri kaybederler (35,36).

Nötrofillerin primer fonksiyonu fagositoz ile mikroorganizmaları yok etmektir. Nötrofil antimikrobiyal sistemini; MPO, H_2O_2 ve başta Cl^- olmak üzere iyodid (I^-), bromid (Br^-) ya da tiyosiyanat (SCN^-) iyonları gibi halidler (X^-) oluşturur. H_2O_2 ve Cl^- kullanarak, güçlü bir antimikrobiyal oksidan olan hipoklorik asit/hipoklorit ($HOCl/OCl^-$) oluşturabilme yeteneği sadece MPO enzimine aittir (Şekil 3). Diğer bir

ifadeyle organizmada oluşan HOCl, sadece MPO kaynaklıdır (35).



Şekil 3. MPO Kaynaklı Primer ve Sekonder Ürünler (35)

Bununla birlikte, çeşitli şartlar altında aktifleşen fagositlere sekonder aktive olan MPO-H₂O₂-halid sistemleri, dokularda hasara neden olarak pek çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. MPO; lipidler, DNA ve proteinler gibi biyolojik moleküllerde halojenizasyon, nitrasyon ve çapraz bağlanmayı da içeren oksidatif modifikasyon reaksiyonlarını başlatır (35).

MPO aracılı oksidasyon reaksiyonları için spesifik bir belirteç olarak kullanılan 3-klorotirozin; ya doğrudan HOCl'den ya da HOCl ürünü olan klorinden oluşabilir. Aynı zamanda protein oksidasyonu belirteci olarak da sınıflandırılabilen 3-klorotirozin, insan aterosklerotik lezyonlarında, respiratuvar hastalıklarda ve nötrofil kaynaklı karaciğer hasarında tanımlanmıştır (35).

MPO, protein çapraz bağlanma reaksiyonlarına neden olarak ditirozin oluşturabilir; peroksidaz benzeri aktivitesi ile tirozini oksitleyerek tirozil radikallerinin oluşumuna yol açabilir ve nitrojen dioksit (NO₂[•]) sentezleyerek de lipidlerin nitratlanmasından sorumlu olabilir. Son iki radikal türü, daha sonra lipid peroksidasyonunu tetikleyebilir (35).

2.5.2. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa

Tümör nekrozis faktör-alfa/ kaşektin polipeptid yapıda geniş biyolojik aktiviteye sahip bir sitokindir. Doku kültürlerinde bazı tümör hücreleri için, sitostatik ya da sitosidal etkilidir. TNF- α ; konakçı savunması, immünite, doku homeostazisi, çeşitli enfeksiyonlar, doku zedelenmesi ve enflamasyonda rol oynamaktadır (37).

Genel Özellikler: Bir propeptid (233 amino asit) olarak salgılanan TNF- α 'dan sinyal peptid (76 amino asit)'in ayrılmasıyla; 157 amino asite sahip olan polipeptid zincir (17 kD), TNF- α 'nın aktif formunu oluşturur. İnsanlarda 6. kromozomda bulunan TNF- α glikozillenmemiştir. TNF- α ; monosit/makrofaj, lenfosit, glomerül mezengial hücreler, astrositler, mikroglialar ve kupffer hücreleri tarafından salınır. Endotoksin, enterotoksin, virüsler, mantarlar, parazitler, immün kompleksler, IL-1 ve TNF- α 'nın kendisi, TNF- α sentezini artırır (37).

TNF- α reseptörü 300 kD ağırlığında bir proteindir ve iki alt ünitelerden oluşur. Bu alt ünitelerden Fas antijeni olarak adlandırılan kısım, TNF- α 'yı bağlamaz. Sağlıklı insanların idrarında ve kanser hastalarının serumunda belirlenen “çözünür TNF- α reseptörü”; muhtemelen hücre reseptörünün bir formudur. Bu çözünen form, TNF- α 'yı bağlamak için hücre yüzey reseptörleri ile yarışır ve fizyolojik inhibitör gibi hareket eder. TNF- α , vasküler hücrelerde fosfolipaz A ve platelet aktive edici faktör sentezini artırır (37).

Ayrıca, $O_2^{\cdot-}$, $HO^{\cdot}$ ve H_2O_2 gibi SOR türevleri, TNF- α 'nın bazı etkilerine aracılık edebildiği gibi; TNF- α , enflamasyon sırasında fagositik hücrelerin aktivasyonu ve sitotoksik etkisine duyarlı hücrelerde pro-oksidan türlerin oluşumu gibi mekanizmalarla, serbest radikal üretiminide yol açabilir (37).

Biyolojik Etkileri

Kaşeksi: TNF- α , yağ ve iskelet kası hücrelerinde protein yıkımı, lipoliz ve glikojenoliz gibi katabolik hızı artırırken; hepatositlerde akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. Sonuçta; artmış enerji tüketiminin yanısıra TNF- α 'ya bağlı gelişen iştahsızlık ve anemi, vücut kütle kaybını hızlandırır (37).

Endotoksik Şok: TNF- α 'nın akut sistemik salınımı, septik şok patogenezinde önemlidir ve ateş, myalji, kusma, baş ağrısı ile korelasyon gösterir (37).

Enflamasyon: TNF- α , monosit ve PMNL için kemotaktik bir ajandır. Fagositozu, endotele yapışmayı, SOR salınımını ve prokoagülan aktiviteyi uyarır. Aynı zamanda

prostasiklin, endotel gevşetici faktör ve platelet aktive edici faktör sentezini de stimüle ederek, erken dönemde vazodilatasyona, geçirgenlik artışına ve lökosit birikimine neden olur. TNF- α , direkt olarak endotelde zedelenme yapmaz; endoteli intraselüler adezyon molekülleri (ICAM) ve endotel lökosit adezyon molekülleri (ELAM-1) aracılığıyla, lökositlerin zedeleyici etkilerine duyarlı kılar. ELAM-1, lökositleri bağlayan endotel hücre yüzeyinde bulunan bir glikoproteindir. TNF- α aynı zamanda PMNL'yi aktive eden IL-8 ve monosit kemotaktik protein salınımına yol açar. Ayrıca indüklenebilen hücre adezyon molekülü (INCAM-110) ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1) salınımı artar. INCAM-110 ve VCAM-1, ELAM-1'in azalmaya başladığı dönemde (12-48 saat), T hücrelerini etkileyerek enflamasyonun devamından sorumludurlar. Lokal ve/veya sistemik TNF- α artışı; romatoid artrit, renal allograft rejeksiyonu ve graft versus hastalığı gibi çeşitli enflamatuvar hastalıklarda gözlenmektedir (38).

2.5.3. Neopterin

Neopterin; T lenfosit tip 1 tarafından salgılanan interferon- γ (IFN- γ) stimülasyonu; monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde üretilen bir sitokindir. Hücre aracılı immün sistemin duyarlı bir göstergesi olarak kabul edilir (39).

Kimyasal Yapısı: Neopterin; 2-amino-4-hidroksi (D-eritro 1'2'3'-trihidroksiipropil)-pteridindir. Moleküler ağırlığı 253 daltondur. Neopterin, aktive olmuş monosit ve makrofajlarda guanozin trifosfat (GTP) siklohidrolaz-1 enzimi aracılığıyla GTP'den sentezlenir (40).

Sentezi, Salınımı ve Metabolizması: Neopterin biyosentezinde, GTP'nin tetrahidrobioplerine (BH₄) dönüşümü, üç enzimatik reaksiyon dizisiyle gerçekleşir. Birinci basamakta bu sürecin anahtar enzimi olan GTP-siklohidrolaz-1, 7,8 dihidroneopterin trifosfat oluşumunu katalizler. Bu ürün, 6-piruvol tetrahidrobioplerin sentaz enzimi ile katalizlenen basamakta, 6-piruvol BH₄'e dönüştürülür. Son basamakta piruvol yan zincirinin iki ketoik parçasının, NADPH bağımlı sepiapterin redüktaz ile indirgenmesi sonucu 5,6,7,8 BH₄ meydana gelir. İnsan ve primatların doku ve hücrelerinde 6-piruvol tetrahidrobioplerin sentaz aktivitesi, diğer memelilerle karşılaştırıldığında, daha düşüktür. En düşük enzim aktivitesine sahip olan monosit ve makrofajlarda, 6-piruvol BH₄'e dönüşemediği için biriken 7,8 dihidroneopterin trifosfatların non-enzimatik oksidasyonu, neopterinler oluşmaktadır (40).

Neopterin sentezinin en güçlü uyararı T lenfosit tip 1 ve INF- γ 'dır. Daha yüksek konsantrasyonlarda, INF- α , INF- β ve TNF- α (INF- γ ile birlikte) da, neopterin sentezini uyarır. Ayrıca, bakteriyel pirojenler ve toksinler, neopterin sentezini uyarıcı mekanizmaları harekete geçirebilir (40).

Sağlıklı Bireylerdeki Neopterin Konsantrasyonları: Sağlıklı bireylerde serum neopterin düzeyleri 5.3 ± 2.7 nmol/L, idrar düzeyleri ise her iki yetişkin cinsiyette 100-200 μ mol/mol kreatinindir. Kreatinin klirensindeki değişiklikten dolayı, bu düzey yaş ve cinsiyetle hafif değişir (40).

Neopterin Yüksekliği İle İlişkili Hastalıklar: Neopterin düzeyleri çeşitli viral, parazitik, hücre içi bakteri enfeksiyonlarında, sepsis, oto immün hastalıklar, maligniteler, nörodejeneratif hastalıklar, allograft reddi, koroner arter hastalığı, miyokard enfarktüsü, kardiyak ve renal yetmezlikte yüksek bulunmuştur (40).

Hücrel immün sistem göstergesi olan neopterin; pek çok kanser, enfeksiyon ve otoimmün hastalıkta klinik gidiş, prognoz ve tedaviye yanıt açısından vücut sıvılarında çalışılmış ve hücrel immün sistemin aktif durumda olduğu bu hastalıkların neredeyse tümünde, kan ve idrarda neopterin seviyeleri yüksek bulunmuştur (40,41).

Neopterinin Fizyolojik Rolü: Neopterin, fizyolojik rolü henüz tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, T lenfosit tip 1 aracılı hücrel immün sistemin bir göstergesi olmasının yanı sıra, konak savunma reaksiyonlarında da fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları olan bir sitokindir (40).

Yapılan pek çok çalışmada artmış oksidatif stresin neopterinle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Neopterin, invaziv patojenlere karşı oluşan SOR'un sitotoksik etkilerini artırarak savunmada rol oynar. Aktif monosit/makrofajlardan sekrete edilen neopterin miktarı bu hücrelerde üretilen H₂O₂ miktarı ile korele bulunmuştur (40).

Uygun hücrel şartlarda, neopterin hücrenin redoks durumunu veya reaktif oksijen/nitrojen metabolitlerinin etkisini artırarak etki gösterir. Böylece neopterin, INF- γ ile uyarılan monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde, ekstraselüler sitotoksik savunma mekanizmalarının bir aracısı gibi davranır. Serum neopterin düzeyleri ile enflamasyon, enfeksiyon ve malignitenin şiddeti arasında gözlenen korelasyonlar da, neopterin savunma sisteminin bir parçası olduğunu göstermektedir (40).

2.5.4. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri

İlk kez Witko-Sarsat ve ark (27) tarafından, yüksek derecede okside proteinler olarak üremik hastaların plazmasında tanımlanan AOPP, oksidatif modifikasyona uğrayan albümin moleküllerinin son çapraz bağlanma ürünleridir.

AOPP'nin *in vitro* şartlarda H_2O_2 'den çok, HOCl gibi klorlu oksidanlara maruz kalan saf albümin veya plazma örneklerinde oluştuğu belirlendiğinden; *in vivo* olarak aktif nötrofillerce üretilen klorlu oksidanların, plazma AOPP oluşumundan sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir (4).

AOPP, 340 nm'de pik veren düşük (80 kD) ve yüksek (600 kD) molekül ağırlığına sahip iki formda bulunur. Protein elektroforezi ile gösterildiği gibi yüksek moleküler ağırlığa sahip AOPP, çoğunlukla yüksek oranda disülfid (S-S) köprüleri ve/veya ditirozin çapraz bağlanmaları içeren albümin agregatlarından; düşük molekül ağırlığa sahip AOPP ise albüminin monomerik formundan kaynaklanır (4).

Üremik hastaların plazmasında ölçülen AOPP düzeyleri ile neopterin, TNF- α ve TNF- α 'nın çözünen reseptörleri arasında bulunan pozitif ilişki; AOPP'nin monosit aktivasyonu ile oluşabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mononükleer fagositleri bizzat aktive eden AOPP'nin proenflamatuvar mediyatörler gibi davranarak; kendi oluşumuna neden olan enflamatuvar durumun kronikleşmesine yol açabildiği öne sürülmektedir. Ayrıca; AOPP ve kreatin klirensi arasında negatif bir ilişki varken, ne IL-6 ne de aktif T ya da B lenfositleri ile AOPP arasında bir ilişki bulunmamaktadır. AOPP ve ileri glikasyon son ürünleri (advanced glycation end-products; AGE)'nin hem oluşum mekanizması hem de yapısal açıdan benzerlik göstermeleri nedeniyle, biyolojik aktivitelerinin de birbiriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (34).

2.5.5. Protein Karbonil Bileşikleri

Karbohidrat ve/veya lipidlerin oksidasyonu ile oluşan ve yapılarında aldehit veya keton grubu bulunan karbonil türevleri; RCC olarak adlandırılır (42).

Sadece karbohidrat veya lipid kaynaklı RCC'lerin yanı sıra, her ikisinden de türeyebilen karbonil bileşikleri mevcuttur. Ayrıca bazı RCC'ler oksijen varlığında, bazıları oksijensiz ortamda oluşabilmektedir (42). SOR ve RCC'ler proteinlerle irreversibl ve nonenzimatik etkileşerek PCC'leri oluştururlar (26).

Glutamil, aspartil ve prolil yan zincirlerinin oksidasyonu ya da α -amidasyon yolu ile peptid bağlarının kırılması, N-terminalinde bir α -ketoasit türeyle sonlanan yeni bir

peptid oluşumuna neden olur. Ayrıca lizil, arjinil, prolil ve treonil yan zincirlerinin direkt oksidasyonu ile de karbonil türevleri oluşur (25).

PCC indirekt olarak; lipid peroksidasyonu sırasında oluşan RCC içeren (MDA, 4-HNE) aldehytlerin proteinlerdeki lizil, histidil, sisteinil rezidüleri ile reaksiyonu (lipooksidasyon) sonucu oluşabileceği gibi; indirgen şekerler veya bu şekerlerin oksidasyon ürünlerinden glikasyon ve glikooksidasyon reaksiyonlarıyla oluşan ketoamin, ketoaldehit ve deoksiozon gibi karbonil bileşiklerinin proteinlerdeki lizil rezidüleri ile reaksiyonu sonucu da oluşur (25).

Proteinlerdeki karbonil gruplarının varlığı, SOR aracılı protein oksidasyonunun bir *marker*'ı olarak kullanılır. Protein oksidasyonunun göstergesi olan PCC düzeyleri; yaşlanma ve oksidatif stresle ilişkili ve birçok hastalıkta yüksek bulunmuştur (25).

2.5.6. Tiyol

Organik sülfür türevleri olan tiyollerin aktiviteleri serbest tiyol (-SH) gruplarına bağlıdır. Serbest ve proteinlere bağlı tiyoller, intraselüler ve ekstraselüler (plazma) ortamda redoks tamponu olarak büyük öneme sahiptir (17).

Glutasyon ve tiyoredoksin, intraselüler olarak en önemli tiyollerdir. Glutasyon, intraselüler ortamda bir çok non-enzimatik fonksiyonu olan bir antioksidandır; redükte formu “GSH” ve okside formu (glutasyon disülfid) “GSSG” şeklinde gösterilir (19).

Plazmada katalaz, SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri oldukça düşüktür; bu antioksidanlar daha çok intraselüler defansta önemlidir (43).

Tiyol bileşiklerinin seçici olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilinmektedir. Bu nedenle plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir (28).

Plazmada protein bağlı tiyol konsantrasyonu plazmada 0.4-0.5 mM, buna karşılık düşük molekül ağırlıklı tiyoller (homosistein, sistein, glutasyon, sisteinilglisin) 0.1-20 μ M'dır. Proteine bağlı tiyol gruplarının önemli kısmını albüminin 34. pozisyonundaki sisteinil artığı oluşturur. Plazmada bulunan en fazla protein albümindir (44).

Askorbat da önemli bir antioksidan olmasına rağmen, albümin askorbattan 10 kat daha güçlü bir antioksidandır. Tiyol oksidasyonu protein yapısını ve fonksiyonunu

etkiler. Bazı enzimlerin aktif bölgesinde bulunan –SH grupları enzimin aktivite göstermesi için kritiktir. Ayrıca albümin yapısında bulunan –SH gruplarının okside/redükte durumda bulunması, onun başta ilaçlar olmak üzere pek çok molekülü bağlama yeteneğini doğrudan etkiler (45).

Serbest tiyol grubu içeren bileşikler, radikallerle direkt veya indirekt reaksiyona girerek ya da protein üzerindeki serbest tiyol gruplarıyla reversibl bağlar oluşturarak, proteinlerin oksidatif hasara uğramalarını önleyebilmektedirler. Protein yapısındaki amino asitlerin çoğu, H₂O₂ varlığında, küçük değişiklikler geçirirken; tiyol grupları tüketilmekte ve protein üzerinde sülfid türevleri oluşmakta; böylece proteinde yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (46).

Plazma tiyol düzeylerinin tayini, proteinlerin SOR aracılı oksidasyondan ne denli etkilendiklerini göstermesi bakımından önem taşımaktadır (46).

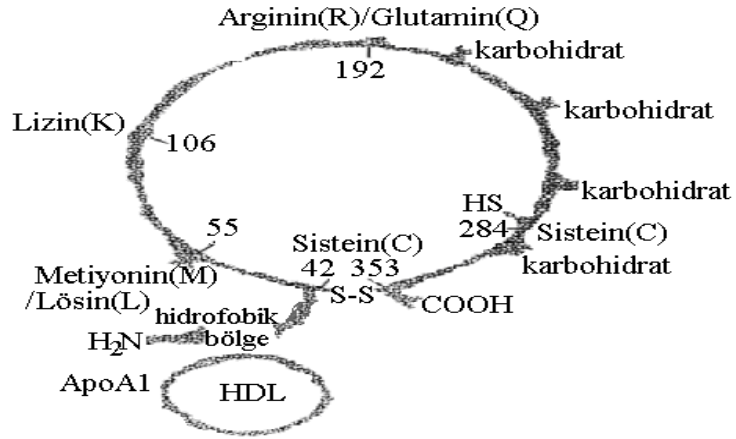
2.5.7. Paraoksonaz 1

Paraoksonaz (PON); karaciğerde sentezlenen glikoprotein yapısında kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. Organik fosforlu bir insektisit olan paratiyonun aktif metaboliti olan paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip olan PON, hem arilesteraz (E.C.3.1.1.2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahiptir (47). Memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahip olan PON proteinleri balıklarda, kuşlarda ve eklembacaklılar gibi omurgasızlarda mevcut değildir (48).

PON1 insanda 7. kromozomun uzun kolunda, q21.3 ve q22.1 arasında tanımlanabilen, birbirine komşu paraoksonaz süpergen (PON1, 2, 3) ailesinin diğer üyeleri ile birlikte bulunur. Amino asit sekansları arasında % 70 oranında benzerlik olduğu gösterilen PON enzimlerinin, doku ekspresyonları ve dağılımları bakımından birbirlerinden farklı olduğu bildirilmektedir. PON1 ve PON3 geni karaciğerde sentez ve eksprese edilirken, PON2; beyin, karaciğer, böbrek ve testis gibi çeşitli dokularda eksprese edilir. PON1 ve PON3 dolaşımda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-C)'e bağlı olarak bulunur fakat insan serumunda PON1 baskındır (48).

Enzim, paratiyon dışında diazinon gibi organik fosforlu insektisitlerin, sarin, tabun gibi sinir gazlarının; fenilasetat, 2-naftil asetat gibi birçok aromatik esterlerin hidrolizini de katalizler. Bununla birlikte, PON'un doğal substratı kesin olarak belli değildir. PON1'in laktonaz aktivitesi üzerinde de durulmaktadır (49).

Kimyasal Yapısı ve Polimorfizm: İnsan serumundan saflaştırılan PON1, 43 kDa ağırlığında 354 amino asit içeren bir glikoproteindir. Ağırlığın % 15.8'ini oluşturan üç karbohidrat zinciri (48), dört farklı konumdan proteine bağlıdır. PON1'in 42, 284, ve 353. pozisyonlarındaki sistein kalıntıları 284. pozisyonda serbest iken, 42-353. pozisyonda oluşan tek disülfid bağı polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasını sağlar. Sistein kalıntıları, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunmaktadır (Şekil 4) (50). 284. konumdaki sistein kalıntısı, enzimin aktif bölgesinin bir bileşeni durumundadır. Bu sistein kalıntısı, peroksidaz aktivitesi için esansiyeldir. Organofosfatlara karşı PON1'in hidrolitik aktivitesi Ca^{+2} bağımlı iken, lipid peroksidlerin birikmesini önlemede gerekli değildir. PON1'in sistine bağımlı antioksidan bölge ve kalsiyuma bağımlı organofosfat hidrolizinden sorumlu bölge olmak üzere, iki ayrı aktif merkezi bulunmaktadır (48).



Şekil 4. Paraoksonazın Yapısı (50)

PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1(Apo A1) ve ApoJ (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (47).

PON1, pozisyon 55 (metiyonin/lösin, M/L) diğeri de pozisyon 192 (arjinin/glutamin, R/Q) olmak üzere 2 amino asit polimorfizmi gösterir. Homozigot RR/LL polimorfizmine sahip kişilerde, paraoksone karşı, hidrolitik aktivitenin en yüksek; buna karşılık QQ/MM homozigotlarda en düşük; heterozigotlarda ise orta düzeyde olduğu bildirilmektedir (48).

EDTA varlığında PON1 aktivitesi inhibe olmaktadır. Bu yüzden, PON1 aktivitesi heparinli plazma ya da serumda tayin edilir (48).

Fonksiyonları: PON1'in en çok bilinen fonksiyonu; insektisit olarak kullanılan organofosfatları, sinir gazlarını ve aromatik karboksilik asit esterlerini hidroliz etme yeteneğidir (48,49). Organofosfatlar, PON1'in yanı sıra nöromusküler kavşaklarda ve sinapslarda bulunan psödokolinesteraz ve asetilkolinesteraz gibi B-esterazların da substratlarıdır. Bu enzimler organofosfatlar tarafından irreversibl olarak inhibe edildiklerinden; PON1, sinir sistemini dolaşımdaki hidrolitik aktivitesi ile organofosfatların nörotoksik etkisinden korur (48).

HDL-C; düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-C) ve hücre membranlarını oksidatif hasardan koruyabilme yeteneğine sahiptir. HDL ile ilişkili PON1, lesitin kolesterol açıl transferaz, platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz gibi enzimlerin, lipoproteinleri oksidatif modifikasyonlara karşı koruduğuna inanılmaktadır (49).

PON1, okside LDL (oxLDL)'deki lipid peroksitleri hidroliz ederek ve LDL üzerinde lipid peroksitlerin birikimini önleyerek, oxLDL'nin aterojenik özelliklerini ortadan kaldırır. Ayrıca, makrofajlarda kolesterol biyosentezini inhibe ederek ve makrofajlardan kolesterol çıkışını artırarak kolesterol birikmesini önler. Böylece, köpük hücre oluşumu gecikir (49).

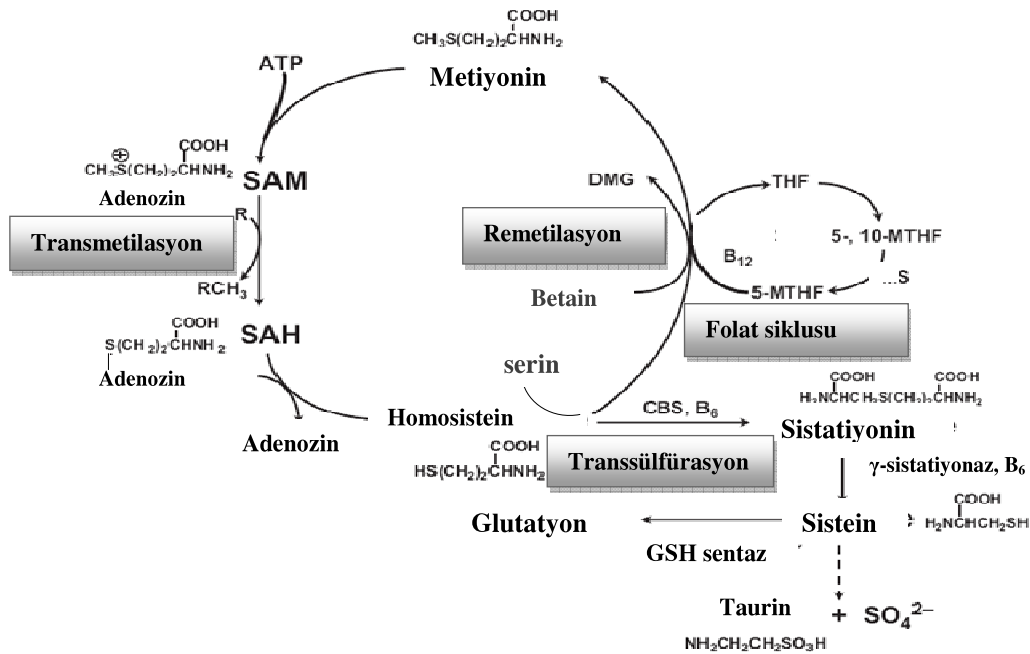
HDL ilişkili PON1'in, LDL'nin yanında HDL'yi de oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir. Bu etki, PON1'in (fosfo)lipid peroksitleri ve ester hidroperoksitleri hidroliz edebilme özelliğine bağlıdır (esteraz aktivitesi). LDL'yi oksidasyondan korumada, PON1 Q'nun R alloenzimine göre daha etkili olduğu öne sürülmektedir (48,49).

PON1'in laktonaz aktivitesinden de sıklıkla söz edilmektedir. Lakton bileşikleri ile siklik karbonat esterlerinin, PON1 tarafından hidroliz edildiği gösterilmiştir. Tüm dokularda ve tüm hücrelerde metiyonil-tRNA sentetaz aktivitesi ile homosistein (Hcy)'den homosistein tiyolakton (Hcy-T) oluşumu; Hcy-T'yi Hcy'ye dönüştüren PON1-laktonaz aktivitesi ile önlenabilmektedir. Hcy-T'nin proteinlerle kolaylıkla girdiği N-homosisteinilasyon reaksiyonları sonucunda, ateroskleroz gelişimine de yol açan patolojik mekanizmalar ortaya çıkmaktadır. Hcy toksisitesinden sorumlu ana molekülün Hcy-T olduğu dikkate alınırsa (51); PON1'in diğer antioksidan/antiaterojenik etkilerine ilave olarak, laktonaz aktivitesi ile de KVH gelişimini önleyici etki gösterdiği belirtilmektedir. PON1'in paraoksonaz/arilesteraz aktivitesine benzer şekilde, laktonaz aktivitesi de Ca^{+2} bağımlıdır (49,51).

2.5.8. Homosistein

Homosistein; esansiyel bir amino asit olan metiyonin demetilasyonu sırasında oluşan ve sülfür içeren bir amino asittir. Total plazma Hcy'nin % 80-90'nı, başta albümin olmak üzere, plazma proteinlerine bağlanır. % 10-20'lik kısım homosistein-sistein karma disüflitleri ve homosistini (homosistein dimeri) oluştururken; sadece % 1'den azı serbest indirgenmiş formda bulunmaktadır (10,52).

Metiyonin, metil grubu vericisi olan S-adenozil metiyonin (SAM)'e; o da metil gruplarını vererek S-adenozil homosistein (SAH)'e dönüşür. SAH; homosistein ve adenoze hidroliz olur. Homosistein, 5-metil tetrahidrafolat ve kofaktör olarak metilkobalamin gerektiren metiyonin sentaz reaksiyonu ile yeniden metiyonine dönüştürülebilir (remetilasyon). Karaciğerde aktif olan metiyonin metabolizmasında ise, betain homosistein metil transferaz enzimi, betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluşturur. Diyetle metiyoninin fazlalığı söz konusu ise metiyonin sentaz inhibe olur ve transsülfürasyon yolu aktif hale gelir. Vitamin B6 gerektiren sistatyonin β sentaz (CBS) katalizörlüğünde, homosistein ve serinden, sistatyonin meydana gelir. Sistatyonin, vitamin B6 gerektiren γ -sistatyonaz tarafından hidroliz edilerek sistein ve α -ketobütirata dönüşür. Aşırı sistein, taurin ve organik sülfatlara okside olur ve idrarla atılır (Şekil 5) (10).



Şekil 5. Homosistein Metabolizması (10)

Hiperhomosisteinemileri orta (15-30 $\mu\text{mol/L}$), ılımlı (30-100 $\mu\text{mol/L}$) ve ağır (100 $\mu\text{mol/L}$ ve üzeri) olarak 3 gruba ayıran Kang ve ark (53), açlık total plazma homosistein seviyelerini, 5-15 $\mu\text{mol/L}$ olarak rapor etmişlerdir.

Homosistein düzeylerini etkileyen ve hiperhomosisteinemiye neden olan faktörler aşağıda sıralanmıştır (52):

Kişisel Özellikler: İleri yaş, erkek cinsiyet, sigara, fiziksel inaktivite, menopoz

Diyet: Vitamin B12, folat ve vitamin B6 yetersizliği, alkol ve kahve tüketimi

Hastalıklar: Böbrek hastalıkları, enflamatuvar kemik hastalıkları, hipotroidizm, esansiyel hipertansiyon, psöriazis, kanser, diyabet, böbrek transplantasyonu

İlaçlar: Folat antagonistleri (metotreksat, antikönvülzanlar), vitamin B12 ve B6 antagonistleri (nitratlar, teofilin, östrojenik hormonlar)

Genetik Bozukluklar: CBS eksikliği, yenidoğanlarda görülen folat ve kobalamin metabolizması (absorbsiyon, transport) bozuklukları, kobalamin metabolizma genlerinin polimorfizmi.

Hiperhomosisteinemi; vasküler hasar, nörolojik, psikiyatrik ve gebelik komplikasyonları ve neoplastik hastalıklarla ilişkilidir. Patogenezle ilgili öne sürülen mekanizmalar arasında; vazodilatatör NO'nun süpresyonu ile endotelial oksidatif hasar, platelet aktivasyonu ve agregasyonunun artışı, prokoagülan etkiye bağlı trombozis, yetersiz metilasyon ve damar düz kas hücre proliferasyonu sayılabilir (52).

Plazmada çok yüksek oranda proteinler üzerinde "bağlı" şekilde yer alan Hcy; N veya S homosisteinilasyon adı verilen reaksiyonlarla protein yapısına katılır. Proteinlerde bulunan sisteinin -SH gruplarıyla disülfid bağları kurarak, S-homosisteinilasyon (S-Hcy)'a neden olur (54). Metiyonil-tRNA sentetaz reaksiyonu ile Hcy'den oluşan Hcy-T, proteinlerde bulunan lizil ϵ -amino gruplarıyla amid bağları kurarak, N-homosisteinilasyon (N-Hcy)'u gerçekleştirir (51,54)

S-Hcy ve N-Hcy, proteinlerin fonksiyonlarında değişikliklere ve patolojik sonuçlara neden olur (54). İnsanlarda homosisteinilasyona uğramış proteinlerin, otoimmün cevabı ve vasküler enflamasyonu artırarak aterosklerotik süreci tetiklediği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar hemoglobin, albümin, γ -globulin, transferin, HDL-C, LDL-C, α -1 antitripsin ve fibrinojenin N-Hcy'e uğradığını, yine N-Hcy ile lizin oksidaz, tripsin, metiyonil-tRNA sentetaz ve PON1 enzimlerinin inaktif hale

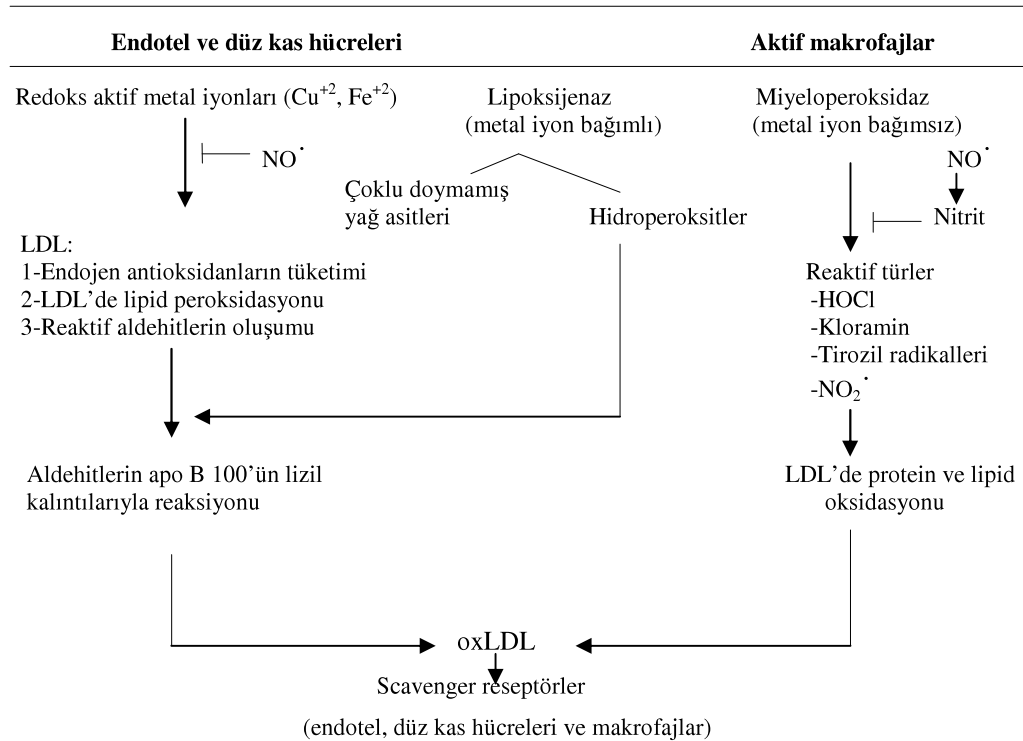
geldiğini göstermiştir. Ayrıca N-Hcy-LDL'nin agregat oluşturma eğiliminde olduğu ve endotelial hücrelerde hücre ölümünü indüklediği *in vitro* olarak gösterilmiştir. Ekstraselüler ortamda PON1 ve intraselüler ortamda bleomisin hidrolaz, Hcy-T'yi Hcy tiyolaktonaz aktiviteleri ile Hcy'ye dönüştürerek uzaklaştırır (51).

Serbest Hcy plazmada hızla oto-okside olarak SOR üretebilir (10) ve endotelial hücre plazma membranında ya da lipoproteinlerde lipid peroksidasyonunu başlatır. Okside LDL plateletleri aktive eder ve aterosklerozu neden olur (52).

2.5.9. Okside LDL

LDL yapısında bulunan başlıca poliansatüre yağ asitleri (PUFA) başta linoleik asit olmak üzere, araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asittir. PUFA serbest radikal atakına ve oksidasyona karşı α -tokoferol gibi antioksidanlar tarafından korunmaktadır. PUFA ve antioksidanların miktarı bireyler arasında farklılık göstermekte ve LDL'nin oksidasyona duyarlılığını etkilemektedir (55).

LDL; lipoksijenaz, MPO, reaktif nitrojen türleri ve metal iyonları ile okside olabilir (Şekil 6) (55).



Şekil 6. LDL Oksidasyon Mekanizmaları (55)

LDL'nin metal iyonları ile oksidasyonu üç basamakta gerçekleşir:

1-Başlangıç (Lag) basamağı: Endojen antioksidanların tüketimi

2-İlerleme basamağı: Doymamış yağ asitlerinin lipid hidroperoksitlerine oksidasyonu
3-Ayrışma basamağı: Hidroperoksitlerin reaktif aldehitlere dönüşümü (MDA, 4-HNE)

Aldehitler, ApoB-100'deki pozitif yüklü lizil kalıntılarının ε-amino grupları ile reaksiyona girerek LDL partikülünün biyolojik özelliklerini ve elektroforetik mobilitesini değiştirmekte; böylece doğal LDL reseptör afinitesi azalırken, scavenger reseptör afinitesi artmaktadır (55).

Endotel hücreleri ve monosit/makrofajlarda üretilen lipoksijenaz enzimi, PUFA'yı lipid hidroperoksitlere dönüştürerek oxLDL oluşumuna neden olabilir (55).

Fagositlerin MPO-H₂O₂-NO₂[•] sistemi tarafından oluşturulan reaktif nitrojen türleri, makrofajlar tarafından hızlı bir şekilde alınıp köpük hücre oluşumuna yol açan LDL-C'yi aterosklerotik forma dönüştürür. NO, LDL'nin hücre aracılı oksidasyonunun yanı sıra, bakır aracılı oksidasyonunu da inhibe eder. Aynı zamanda, alkoksi ve peroksi radikallerini temizleyerek antioksidan olarak hareket eder. NO aerobik şartlarda nitrite dönüşür. Nitritin düşük konsantrasyonu, LDL-C'nin MPO ile okside olmasını inhibe eder (55).

Aktif fagositlerden sekrete edilen MPO; HOCl, kloramin, NO₂[•] ve tirozil radikali gibi reaktif türler oluşturarak; LDL yapısında bulunan lipid ve proteinlerde çeşitli modifikasyonlara neden olarak LDL'yi okside edebilir (Tablo 4) (56).

Tablo 4. MPO ve LDL Oksidasyonu (56)

Oksidan	Hedef	Ürün
HOCl	Lizin rezidüleri	Lizin kloraminler
	Sistein rezidüleri	Oksidasyon ürünleri
	Metiyonin rezidüleri	Metiyonin sülfoksit
	Tirozin rezidüleri*	3-klorotirozin* ditirozin*
	Antioksidanlar*†	Oksidasyon ürünleri
	Doymamış lipidler*	Lipid klorohidrinler*
Kloraminler (RNHCl)	Sistein rezidüleri	Oksidasyon ürünleri
Aldehitler (RCOH)	Lizin rezidüleri*	Shiff baz, AGE*
LDL ilişkili radikaller	Doymamış lipidler (α-tokoferol yoluyla)*	Lipid hidroperoksitler*
Tirozil radikalleri	Tirozin rezidüleri	Ditirozin
	Doymamış lipidler (α-tokoferol yoluyla)	Lipid hidroperoksitler

*minör hedefler/ürünler †LDL-ilişkili antioksidanlar

Okside LDL'nin biyolojik etkileri: Minimal modifiye LDL, endotel hücrelerin yüzeyindeki monosit spesifik adherans moleküllerin salınımını uyarır; makrofajlarda fosfolipaz A₂ ve MPO ekspresyonuna neden olur. Fosfolipaz A₂, HDL ve LDL'den PUFA'yı serbestleştirir ve okside fosfolipidlere dönüşümünü artırır. oxLDL, scavenger reseptör aracılığıyla down regülasyona uğramaksızın makrofajlarca alınabilir ve böylece köpük hücreler oluşur.

Okside LDL, daha fazla monositin subendotelyal aralığa infiltrasyonuna, endotel hücrelerde makrofaj koloni uyarıcı faktör sekresyonuna, monosit proliferasyonuna, monositlerin makrofajlara dönüşümüne ve arteriyel duvarlarda makrofajların retansiyonuna yol açarak; köpük hücre oluşumunu artırır. Köpük hücrelerinin toplanması ve düz kas hücrelerinde migrasyon ve proliferasyonun artması, intimanın kalınlaşmasına neden olur (55).

2.6. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

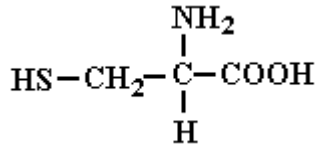
Organizmalar, SOR üretimini ve/veya SOR kaynaklı hücre hasarını önlemek için, antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak da adlandırılan birçok savunma mekanizması geliştirmişlerdir. Antioksidanlar etki gösterdikleri bölgeye göre hücre içi ve hücre dışı şeklinde sınıflanabileceği gibi; yapılarına göre de enzimatik ve non-enzimatik biçiminde de incelenebilir. Hangi sınıflandırmaya ait olursa olsun, hem endojen ve hem de eksojen kaynaklı olabilen antioksidan savunma sistemleri; SOR'un neden olduğu hasarları ortadan kaldırarak, organizmayı zararlı etkilerden korumayı amaçlamaktadır. SOR üretiminde artma ve/veya antioksidan savunma sistemlerinde azalmaya sekonder oluşan oksidatif stres hasarının, ya SOR üretimini azaltarak ya da antioksidan sistemleri destekleyerek önlenmesi mümkündür (43).

2.7. N-ASETİLSİSTEİN

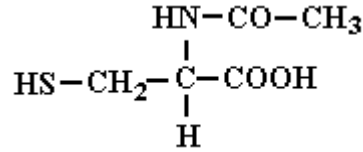
Glutasyon prekürsörü olan, N-asetilsistein (NAC), solunum sistemi hastalıklarında mukolitik ajan olarak, parasetamol entoksikasyonlarında da antidot olarak yaygın şekilde kullanılan bir amino asittir (14,57,58).

2.7.1. Kimyasal Yapı ve Farmokokinetik

Serbest tiyol grubu içeren NAC, L-sistein amino asidinin N-asetil türevidir. Kimyasal formülü “C₅H₉NO₃S” ve molekül ağırlığı 163.2 g/mol’dür (57,58).



Sistein



N-asetilsistein

Sisteine kimyasal olarak çok benzeyen NAC, taşıdığı asetil grubundan dolayı; sisteine göre daha az toksik, oksidasyona daha dirençli ve suda daha çok çözünebilme gibi avantajlara sahiptir (14).

NAC, oral alımı takiben hızla emilir. Karaciğer ve ince bağırsak hücreleri tarafından ilk geçiş eliminasyonuna uğrayan NAC’ın, sadece küçük bir yüzdesi plazma ve dokulara ulaşır (14,57). Oral alınan NAC’ın % 3’ü feçesle atılır, bu da NAC ve metabolitlerinin tamamının absorbe edildiğini gösterir (57). Oral NAC, bir saatten daha kısa bir sürede maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır, alımdan 10-12 saat sonra da plazmada tespit edilemez. NAC’ın plazma yarı ömrü 2.15 saattir (57,58). Serbest tiyol grupları NAC’ın metabolik/antioksidan aktivitesinin büyük kısmından sorumludurlar. Bağırsak mukoza/lümeninde deasetilasyon reaksiyonlarına uğraması ve proteinlere disülfid bağıyla bağlanması; NAC’ın oral biyoyararlanımının düşük (% 4-% 10) olmasına yol açar (57).

2.7.2. Etki Mekanizması

Oral NAC’ın yararlı etkileri, ekstraselüler sistin ve sistein düzeylerini artırması ve serbest tiyol kaynağı olması ile açıklanmaktadır. Etkin bir tiyol kaynağı olarak kabul edilen NAC’ın; GSH sentezini ve glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırdığı, detoksifiye edici etkiler gösterdiği ve SOR’u direkt inaktive ettiği gösterilmiştir (57,58).

In vivo deney şartlarında, NAC’ın eritrosit, karaciğer ve akciğer hücrelerinde intraselüler GSH biyosentezini artırdığı ve GSH depolarını doldurduğu tespit edilmiştir (14). Yüksek doz parasetamol ile oluşturulan glutatyon seviyelerinde azalma ve sitozolik glutatyon-S-transferaz aktivitesinde inhibisyon gibi olumsuz

etkilerin; parasetamol sonrası bir saat içinde uygulanan NAC ile önlenemediği gösterilmiştir (57).

Sağlıklı kişilere NAC'ın 30 mg/kg verilmesinden sonra plazmada total sistein, serbest ve total GSH seviyelerinde bir artış gözlenmemiştir. Eşit dozlarda (2 g) NAC ve parasetamolün birlikte verilmesi durumunda ise plazma sistein ve GSH seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (57).

NAC hepatik ve pulmoner mikrozomlarda sitokrom p-450'nin konsantrasyonunu etkilememesine rağmen; NADP indirgenmesi (glukoz 6 fosfat dehidrogenaz ve 6 fosfoglukonat dehidrogenaz), glutatyonun indirgenmesi (glutatyon redüktaz) ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu içeren sitozolik enzim aktivitelerini stimüle etmektedir (57).

NAC'ın mukolitik etkisi, yapısında bulunan serbest -SH grubuyla, balgamin mukoprotein moleküllerindeki disülfid (-S-S-) köprülerini kırmasına bağlı olarak açıklanmaktadır (58).

Serbest -SH grupları SOR'a karşı defansta esansiyeldir. HOCl için güçlü bir temizleyici olan NAC, HO[•] ve H₂O₂ moleküllerini de azaltmaktadır (59).

In vitro şartlarda düşük (0.6-6 mmol/L) NAC konsantrasyonlarında; IL-1 α , β ve IL-2 seviyeleri belirgin şekilde artarken; daha yüksek (12-24 mmol/L) NAC konsantrasyonlarında sitokin konsantrasyonu azalmaktadır (57). NAC, redoks duyarlı NF- κ B'yı güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. *In vitro* çalışmalar, çeşitli enflamatuvar mediyatörlerdeki azalmanın, NF- κ B aktivitesindeki inhibisyonla ilişkili olduğunu göstermiştir (58).

Hücre kültürlerinde NAC'ın intraselüler homosistein birikimini azalttığı gösterilmiştir (57).

NAC oral, intravenöz (*iv*) ve topikal (aerosol) kullanılabilir. NAC'ın topikal kullanılmasının sistein ya da GSH düzeylerinde bir artış oluşturmadığı, *iv* uygulanan NAC'ın ise çok yüksek artış oluşturduğu gösterilmiştir (14).

2.7.3. Endikasyon

Parasetamol zehirlenmesinde antidot olarak kullanılan NAC'ın diğer endikasyonları arasında; kronik obstrüktif akciğer hastalığının alevlenmesi, kontrast madde kaynaklı böbrek hasarı, pulmoner fibrozis, klomifene dirençli polikistik over sendromunda

infertilitenin tedavisi, bazı kanserler, *helicobacter pylori* eradikasyonu, diyaliz hastalarında gentamisin kaynaklı duyma kaybının profilaksisi, HIV enfeksiyonu ve KVH'lar sayılabilir (57).

2.7.4. Toksikite ve Yan Etki

Parasetamol zehirlenmelerinde yüksek dozlarda (20 saat boyunca total doz 300 mg/kg olacak şekilde) kullanılan *iv* NAC'ın yan etki sayısı ve şiddeti, yok denilebilecek kadar azdır. Bununla beraber, nadir de olsa hastalarda bulantı, kusma, döküntü, kaşıntı, anjioödem, bronkospazm, taşikardi, hipotansiyon/hipertansiyon ve yaşamı tehdit edebilen anafilaksiye yol açabileceği görülebilir (57).

NAC'ın oral letal dozu, fareler için 7888 mg/kg ve ratlar için 6000 mg/kg'ın üzerindedir. Hayvanlarda yapılan fertilité çalışmalarında, 250 mg/kg dozda herhangi bir yan etkiye rastlanmamış ve hatta 2000 mg/kg dozlarda bile teratojenik etki gözlenmemiştir. Aynı durum, doğum, fiziksel gelişme laktasyon dönemi için de geçerlidir. Gebelik ilaç sınıflandırmasında “B” grubunda kodlanan NAC ile ilgili yeterli sayıda klinik çalışma olmadığı için, gebe kadınlarda NAC kullanımı henüz netlik kazanmamıştır (57).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen (Proje no: TST-09-880) ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan (02.12.2008 tarih, karar no: 2008/598) bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.

3.1. GEREÇ

Biyokimyasal ölçümlerde, analitik saflıkta ve/veya HPLC kalitesinde, Sigma-Aldrich, (St Louis. MO. USA), Merck (Darmstad. Germany), Acros ve Fluka marka kimyasal maddeler kullanıldı.

Çalışma sırasında saf su cihazları (MINIpure, EASYpure RF), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), spektrofotometre (Shimadzu UV-1601), pHmetre (WTW-330İ/SET), hassas terazi (Sartorius, AND GR-200), su banyosu (Köttermann), etüv (Dedeoğlu), derin dondurucu (REVCO), manyetik karıştırıcı (Nüve, Labor Brand Hotplate Stirrer), buzdolabı (Arçelik), vorteks (Velp scientifica 2x³), kronometre, sonikatör (Virtis), otomatik pipetler (Socorex, Nichipet EX), mikro ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) okuyucusu (BioTek ELx800), mikro ELISA yıkayıcısı (BioTek ELx50), balon jojeler, polipropilen ve cam tüpler, beher, mezür, baget ve cam pipetler kullanıldı.

Kullanılan pipet, tüp, mezür, beher, balon joje gibi cam malzemeler ve polipropilen tüpler, % 20 nitrik asit içinde 24 saat bekletildikten sonra, sırasıyla Tip II ve Tip I su ile 3 kez yıkanarak demineralize edildi. Ölçümlerde kullanılan çözelti ve tamponlar Tip I su ile hazırlanarak çalışma süresince soğuk odada saklandı. Dayanıklılığı kısa süreli olan çözeltiler ise çalışma gününde hazırlanarak kullanıldı.

3.2.ÇALIŞMA GRUBU

Hasta Grubu:

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Semiha-Asım Kibar Organ Nakli ve Diyaliz Hastanesinde; Ocak 2010-Mart 2011 tarihleri arasında takip ve tedavileri sürdürülen, en az altı aydır haftada 2-3 kez 4 saat süreyle düzenli HD tedavisi alan 13 hasta, çalışma kapsamına alındı. Tedavi sırasında Althin TINA ve Dialog B Braun marka diyaliz makineleri; selülöz membrandan imal edilen diyalizerler (Dicea 150 G); bikarbonat içeren diyaliz sıvıları (Baxter, Eczacıbaşı; Bikardi, Eczacıbaşı; Ren-Acet SFY/Ren- Bikar SFY, Ren-Med Tıbbi Ürünler) ve antikoagülan olarak heparin kullanılmaktaydı. Kronik respiratuvar yetmezlik, akut enfeksiyon, ateş, malignan tümörler, hepatit gibi ilave sistemik hastalığı bulunanlar ve lipid düşürücü ilaç kullananlar, çalışma dışında bırakıldı. Tüm hastalar folik asit, B vitamin kompleksi ve demir preparatı kullanılmaktaydı. Diyalizat akım hızı 500 mL/dakika ve kan akım hızı 250-300 mL/dakika idi. Çalışma sırasında, bazal düzeyleri saptamak amacıyla; plasebo (500 mL % 0.9 NaCl) verilmeden hemen önce (ilk HD seansında), hastalardan başlangıç kanı alındı. Bunu takiben ikinci ve üçüncü HD seans başlangıçlarında vücut ağırlıkları tartılan hastalara, klasik tedavilerine ek olarak 50 mg/kg NAC *iv* yolla, 500 mL % 0.9 NaCl çözeltisine ilave edilerek, HD seansının ilk 10 dakikasından itibaren dört saat boyunca verildi. NAC preparatı olarak, Asist® (Bilim ilaç, 300 mg /3mL-% 10'luk) kullanıldı. Kullanılan preparatta NAC ile birlikte bulunan diğer bileşenlerin tamamı ayrı bir ticari formda temin edilemediğinden; gerçek anlamda plasebo grubu oluşturulamadı. Ancak 2. ve 3. seansta uygulanan % 0.9 NaCl ile 1. seansta uygulanan % 0.9 NaCl arasında renk (NAC preparatı renksizdir), dış görünüm, uygulanma yolu ve şekli bakımından hiçbir fark yoktu. Vücut ağırlığı en yüksek hastaya verilen NAC hacminin 47 mL olduğu (95 kgx50 mg NAC=4750 mg. 4750 mg/300 mg/flakon~16 flakon. 16x3 mL= 48 mL) ve seans boyunca hastaların oral gıda/sıvı alımının serbest olduğu dikkate alınarak; preperattan kaynaklanan fazla hacim dikkate alınmadı. Tüm bu gerekçeler nedeniyle 1. seansın plasebo grubu olarak adlandırılmasına karar verildi.

Üç HD seansı boyunca, diyaliz öncesi ve diyaliz bitiminden hemen sonra (beş dakika içinde) olmak üzere, toplam altı kez kan alındı. Yapılacak biyokimyasal ölçümlere uygun şekilde, kan örnekleri antikoagülanlı (EDTA/heparin) ve antikoagülansız tüplerde toplandı.

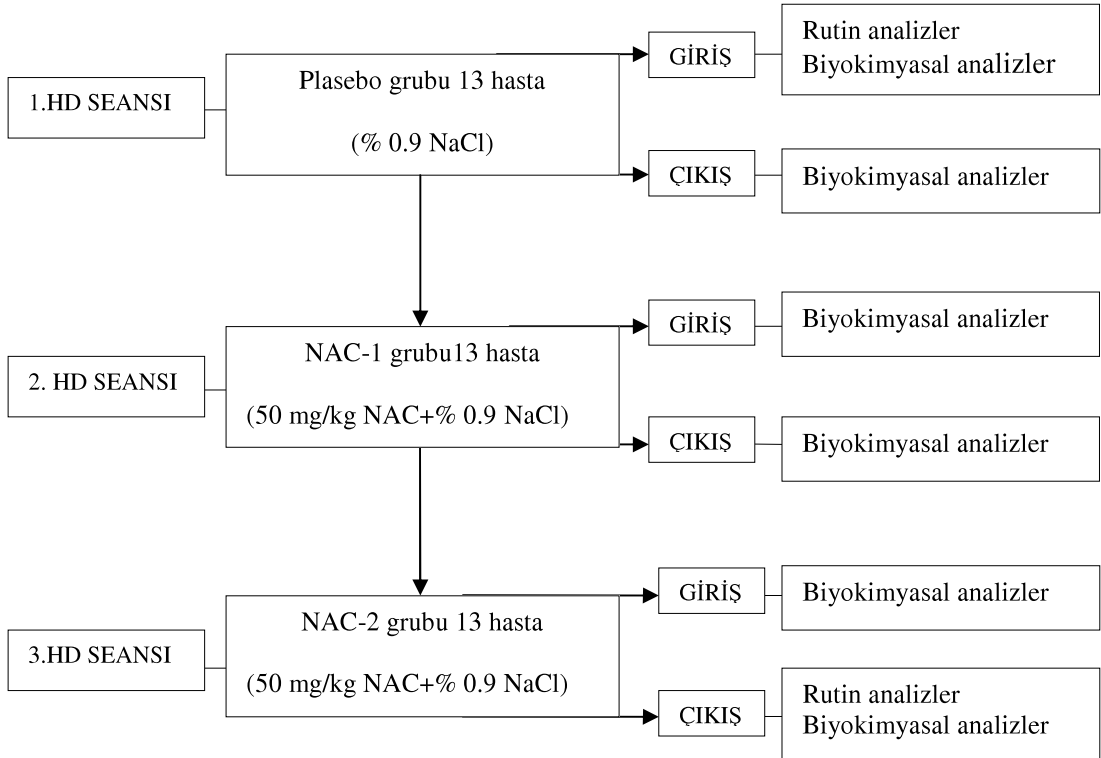
1.seans öncesi ve 3. seans sonrası hastalardan alınan tam kanda, tam kan sayımı (complete blood count; CBC) yapıldı. Antikoagülanlı ve antikoagülanlı tüpler, 30 dk içerisinde, 4°C’de 2000 g’de 10 dk santrifüj edildi. Ayrılan plazma ve serum örnekleri, alikotlar halinde polipropilen 2 mL’lik tüplere bölünerek -40°C’de dondurularak saklandı.

3.3. YÖNTEM

Çalışma gruplarına ait tam kan, plazma ve serum örneklerinde yapılan analizler

- Rutin Analizler
- Biyokimyasal çalışma

olmak üzere iki başlık altında toplandı. Deney planı ve hasta grupları şematize edilerek aşağıda gösterildi.



3.3.1. Rutin Analizler

Çalışma gruplarından, 1. seans öncesi ve 3. seans sonrası elde edilen tam kan örneklerinde aynı gün CBC; saklanan serum örneklerinde ise high sensitive C-reaktif protein (hsCRP), glukoz, kan üre azotu (BUN), kreatinin, total protein ve albümin, trigliserit (TG), total kolesterol (TC), HDL-C gibi rutin analizler yapıldı.

- CBC için Siemens Advia 2120i marka otoanalizörler kullanıldı.
- hsCRP, Dade Behring marka nefelometre cihazında çalışıldı.

- Glukoz, BUN, kreatinin, total protein, albümin, TG (referans aralık; 35-150 mg/dL), TC (referans aralık; 0-200 mg/dL), HDL-C (referans aralık; 0-90 mg/dL) düzeyleri Architect C16000 otoanalizöründe, uygun ticari kitler kullanılarak analiz edildi.

Serum LDL-C düzeyleri, Friedewald formülü kullanılarak hesaplandı:

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5)$$

3.3.2. Biyokimyasal Çalışma

Çalışma gününe kadar alikotlar halinde dondurularak saklanan heparinli plazma örneklerinde MPO (60) aktivitesi ile tiyol (28) düzeyleri; EDTA'lı plazma örneklerinde AOPP (27) düzeyleri; serum örneklerinde ise PON1 (61) aktivitesi ile PCC (26), TNF- α , neopterin, homosistein, ve oxLDL düzeyleri tayin edildi. Ayrıca, çalışmada kullanılan yöntemlerin tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla; rutin biyokimya sonuçlarına göre, sağlıklı olduğu kabul edilen kişilerden alınan kan örnekleriyle serum ve plazma havuzları oluşturuldu. Bu havuzlarda yonteme uygun ölçümler yapılarak, değişim katsayısı (CV) değerleri hesaplandı.

3.3.2.1. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Plazma MPO aktivitesi, Bradley ve ark (60) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Prensip; H₂O₂ varlığında, MPO tarafından, peroksidaz substratı olan O-dianisidin oksidasyonu ile oluşan sarı-turuncu renkli ürün miktarının spektrofotometrede 460 nm dalga boyunda, zamana bağlı OD artışı şeklinde izlenmesi esasına dayanır (60).

Çözeltiler

- 50 mM Potasyum fosfat tamponu, pH 6.0
- % 16.7 mg O-dianisidin dihidroklorid (tampon içinde günlük hazırlanır)
- % 0.0005 H₂O₂ substratı (O-dianisidin içeren tampon içine anlık eklenir)

Çalışma

	Numune	Kör
% 0.0005 H ₂ O ₂ substratı	2.9 mL	2.9 mL
Tip I su	-	0.1 mL
Plazma	0.1 mL	-

Pipetleme işlemlerinden hemen sonra, numune ve kör tüplerindeki OD artışı, Tip I su körüne karşı, 25°C'de ve 460 nm dalga boyunda, 10 dk izlendi.

Hesaplama

Numune ve kör tüpleri için, $\Delta OD/dk$ değerleri hesaplandı ve numune $\Delta OD/dk$ değerlerinden kör $\Delta OD/dk$ değeri çıkarılarak, net $\Delta OD/dk$ değerleri bulundu.

Bir ünite MPO, standart deney şartlarında, dakikada bir mikromol O-dianisidinin oksidasyonunu katalizleyen enzim miktarı ($\ddot{U}/L$; $\mu\text{mol O-dianisidin}/dk/L$) olarak tanımlandı (60).

Okside O-dianisidinin molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=1.13 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak, plazma örneklerinin net $\Delta OD/dk$ değerlerinden, ünite birimine geçildi.

$$\ddot{U}/L = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{\epsilon} \times \frac{\text{total hacim (mL)}}{\text{plazma hacmi (mL)}} \times 10^6 \mu\text{mol}$$
$$\ddot{U}/L = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{1.13 \times 10^4} \times \frac{3.0}{0.1} \times 10^6$$
$$\ddot{U}/L = \text{net } \Delta OD/dk \times 2564.8$$

Plazma örneklerinde ölçülen MPO aktivitesi, bir litre plazma başına verildi ($\ddot{U}/L$).

MPO tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 3.0 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
MPO ($\ddot{U}/L$)	12	80.36 $\pm$ 2.46	3.0

3.3.2.2.TNF- α Tayini

Serum TNF- α seviyeleri, Orgenium marka ELISA kiti (Katalog No:TNFa021) ile ölçüldü.

Prensip; yarışmasız olarak antijen-antikör komplekslerinin oluşumuna dayanır. Serum örneklerinde bulunan TNF- α (işaretsiz antijen), TNF- α antikoru ile kaplı kuyucuklara bağlanır. Bağlanmayan TNF- α antikoru ile bağlanmayan diğer tüm serum bileşenleri ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra biyotinle işaretli antikör ilave edilir. Antikör-antijen-işaretli antikör komplekslerinin (sandwich) enzim substratıyla inkübasyonunu takiben oluşan rengin şiddeti, serumda bulunan TNF- α konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Çözeltiler

- Stok TNF- α standart (4000 pg/mL)
- Standart seri (0; 15.6; 31.25; 62.5; 250 ve 500 pg/mL)
- Biyotinle işaretli TNF- α antikoru

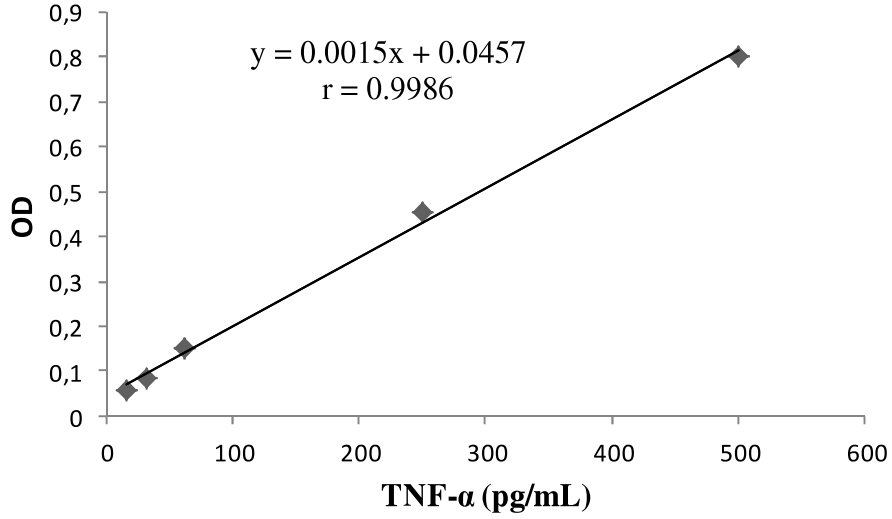
- HRP (horseradish peroxidase) enzim konjugatı (peroksidaz ile işaretli TNF- α)
- TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin dihidroklorid) substrat çözeltisi
- Örnek dilüsyon tamponu
- Stop çözeltisi (0.9 N H₂SO₄)
- Yıkama (fosfat) tamponu

Çalışma

	Numune	Kör	Standart seri (1-6)
Serum	50 μ L	-	-
Dilüsyon tamponu	-	50 μ L	-
Standart çözeltileri	-	-	50 μ L
60 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.			
İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 300 μ L yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.			
Biyotinle işaretli antikor	50 μ L	50 μ L	50 μ L
30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.			
İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 300 μ L yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.			
HRP-streptavidin çözeltisi	50 μ L	50 μ L	50 μ L
30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.			
İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 300 μ L yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.			
TMB substrat çözeltisi	50 μ L	50 μ L	50 μ L
20 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.			
Stop çözeltisi	25 μ L	25 μ L	25 μ L
Enzimatik reaksiyon sonucu, kuyucuklarda oluşan rengin şiddeti, 630 nm dalga boyuna karşı 450 nm dalga boyunda okundu.			

Standart Serinin Hazırlanması

4000 pg/mL stok standart, örnek dilüsyon tamponu ile uygun şekilde dilüe edilerek 500; 250; 62.5; 31.25; 15.6 pg/mL konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı ve numune gibi çalışıldı. Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak TNF- α standart grafiği çizildi (Şekil 7).



Şekil 7. TNF-α Standart Grafiği

Grafik yardımıyla hesaplanan TNF-α konsantrasyonları, pg/mL olarak verildi.

3.3.2.3. Neopterin Tayini

Serum neopterin seviyeleri, DRG marka ELISA kiti (Katalog No:EIA-1476) ile ölçüldü.

Prensip; kompetitif olarak antijen-antikor komplekslerinin oluşumuna dayanır. Serum örneklerinde bulunan neopterin (işaretsiz antijen), spesifik antikor ile kaplı kuyucuklara bağlanabilmek için, miktarı bilinen ve enzimle işaretli antijen ile yarışır. Bağlanmayan antijen, yıkama işlemiyle ortamdan uzaklaştırılır. Antijen-antikor komplekslerinin enzim substratıyla inkübasyonunu takiben oluşan rengin şiddeti, serumda bulunan neopterin konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Kit prospektüsüne referans aralık; 0.3-3 ng/mL.

Çözeltiler

- Standart seri (0; 0.5; 1.5; 3; 6; 12; 24 ve 100 ng/mL)
- Kontrol 1: Ortalama; 0.88 ng/mL (0.75-1.13)
- Kontrol 2: Ortalama; 3.79 ng/mL (4.1-5.7)
- Enzim konjugatı (peroksidaz ile işaretli neopterin)
- Enzim dilüsyon tamponu (insan ve tavşan serumu içeren fosfat tamponu)
- TMB substrat çözeltisi
- Stop çözeltisi (dilüe H₂SO₄)
- Yıkama (fosfat) tamponu
- NSB (nonspesifik bağlanma) çözeltisi

Çalışma

	Numune	Kontrol (1ve 2)	Standart seri(1-8)	NSB
Serum	25 µL	-	-	
Kontrol çözeltileri	-	25 µL	-	
Standart çözeltileri	-	-	25 µL	
NSB (Kör) çözeltisi	-	-	-	25 µL
Enzim konjugatı	100 µL	100 µL	100 µL	-
Enzim dilüsyon tamponu	-	-	-	100 µL

Oda sıcaklığında ve horizontal çalkalayıcı (200 rpm) ile 120 dk inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 200-300 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.

TMB çözeltisi	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------	--------

Oda sıcaklığında ve horizontal çalkalayıcı (200 rpm) ile 30 dk inkübe edildi.

Stop çözeltisi	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
----------------	--------	--------	--------	--------

Enzimatik reaksiyon sonucu, kuyucuklarda oluşan rengin şiddeti, 20 dk içinde 450 nm dalga boyunda okundu.

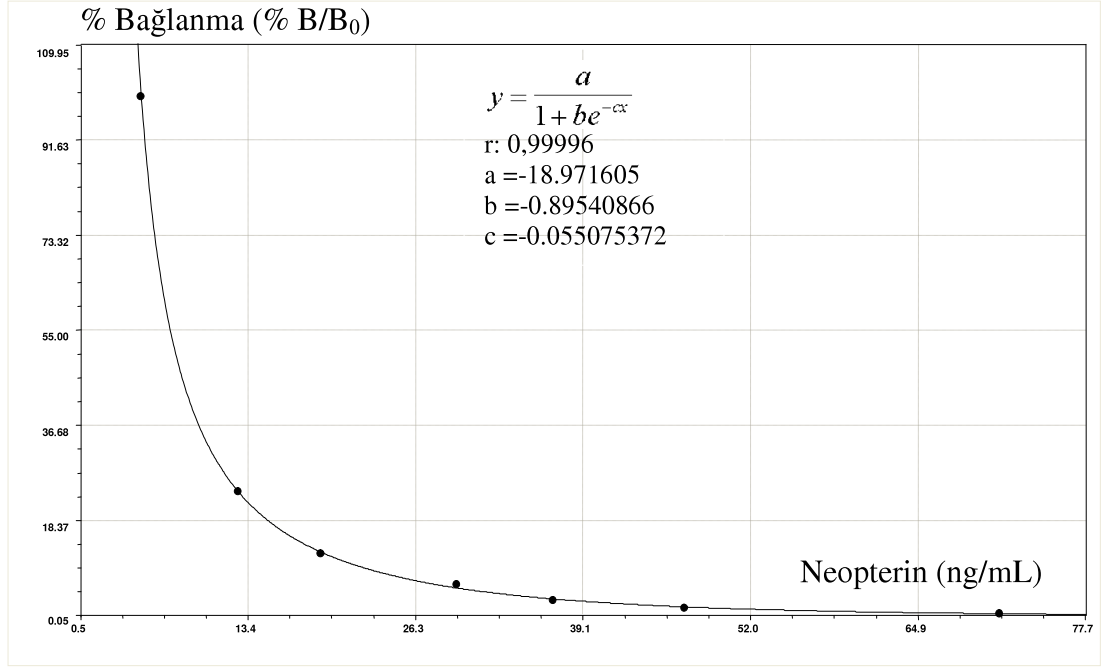
Hesaplama

$$\% B/B_0 = \frac{\text{Örnek absorbansı} - \text{NSB absorbansı}}{0.\text{standart absorbansı} - \text{NSB absorbansı}} \times 100$$

NSB: spesifik olmayan bağlanma (kör) % B/B₀: yüzde bağlanma

Standart, numune ve kontrollerin yüzde bağlanma değerleri hesaplandı.

CurveExpert Version 1.38 (By Daniel Hyams) programı kullanılarak, standart konsantrasyonlarına karşılık gelen yüzde bağlanma değerleri ile neopterin standart grafiği çizildi (Şekil 8).



Şekil 8. Neopterin Standart Grafiği

Aynı programdan elde edilen eğri denklemleri ile çalışma gruplarının serum neopterin konsantrasyonları hesaplandı, sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Kontrol 1 ve 2 değerleri sırasıyla; 0.63 ve 4.99 ng/mL olarak bulundu.

3.3.2.4. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri Tayini

Plazma AOPP düzeyleri, Witko-Sarsat ve ark (27) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Prensip; plazmadaki uzun ömürlü klorlu oksidanlar ile proteinlerin çapraz bağlanma ürünlerinin, potasyum iyodürü oksitlemesi ve açığa çıkan triiyodid iyonunun renk şiddetinin spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanır (27).

Çözeltiler

- 0.015 M PBS, pH 7.4
- Glasiyal asetik asit
- 1.16 M Potasyum iyodür (KI)
- 0.1 mM Kloramin T (stok standart)

Çalışma

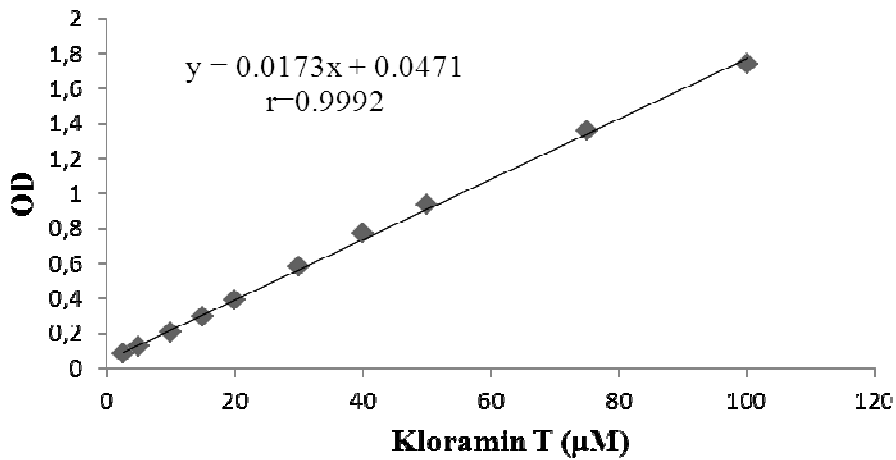
	Numune	Numune körü	Kör
0.015 M PBS	0.8 mL	0.85 mL	1.0 mL
Plazma	0.2 mL	0.2 mL	-
Asetik asit	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Tüpler, çalkalamalı su banyosunda, 25°C’de 2 dk inkübe edildi.			
1.16 M KI	0.05 mL	-	0.05 mL
KI ilavesinden hemen sonra, numune ve numune körü tüplerinin OD’leri, reaktif körüne karşı 340 nm dalga boyunda okundu.			

Standart Serinin Hazırlanması

Stok Kloramin T (0.1 mM) çözeltisi, Tip I su ile uygun şekilde dilüe edilerek, 2.5; 5.0; 10; 15; 20; 30; 40; 50; 75 ve 100 µmol/L konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Ölçüm sırasında, PBS ve plazma yerine, her standarttan 1.0 mL alarak, numune gibi çalışıldı. Kloramin T konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerleriyle standart grafik çizildi (Şekil 9).

Hesaplama

Numunelere KI eklenmesi ile oluşan absorbans değerlerinden, numune körü absorbans değerleri (KI eklenmemiş numunelerin 340 nm’de verdiği absorbans) çıkarılarak ΔOD değerleri bulundu. Kloramin T ile hazırlanan standart grafik yardımıyla, plazma örneklerinin ΔOD değerlerinden AOPP konsantrasyonlarına geçildi ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak gerçek plazma değerleri bulundu.



Şekil 9. Kloramin T Standart Grafiği

Plazma AOPP konsantrasyonları, litrede mikromol kloramin T ekivalanı ($\mu\text{mol/L}$) olarak verildi.

AOPP ölçümünde kullanılan metodun CV değeri, % 3.8 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	$X \pm SD$	CV (%)
AOPP ($\mu\text{mol/L}$)	12	26.02 ± 1.00	3.8

3.3.2.5. Protein Karbonil Bileşikleri Tayini

Serum PCC seviyeleri Reznick ve Packer (26) tarafından geliştirilen metot ile, tayin edildi.

Prensip; protein-karbonil (aldehit, keton) gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile oluşturdıkları hidrazonların renk şiddetinin spektrofotometrede 360 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (26).

Çözeltiler

- 2.5 M HCl
- 10 mM DNPH (2.5 M HCl içinde hazırlandı)
- % 20 TCA
- % 10 TCA
- Etanol/Etil asetat karışımı (1:1; v/v)
- 6 M Guanidin HCl, pH 2.3

Çalışma

	Numune	Numune körü
Serum	0.2 mL	0.2 mL
10 mM DNPH	0.8 mL	-
2.5 M HCl	-	0.8 mL
Karanlıkta, 25°C’de, çalkalamalı su banyosunda 60 dk inkübe edildi.		
% 20 TCA	1.0 mL	1.0 mL
Buz içerisinde 10 dk inkübasyonu takiben 11.000 g’de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.		
% 10 TCA	1.0 mL	1.0 mL
Protein pelletleri, sonikasyondan sonra vorteksle parçalanıp santrifüj edildi; yıkama işlemi 2 kez tekrarlandı.		
Etanol/Etil asetat (1:1;v/v)	1.0 mL	1.0 mL
Protein pelletleri, sonikasyondan sonra vortekslenerek parçalandı ve 10 dk inkübasyonu takiben santrifüj edildi; yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.		
6 M Guanidin HCl	1.0 mL	1.0 mL
Çalkalamalı su banyosunda 37°C’de 15 dk inkübe edilen tüplerdeki çözünmeyen materyal santrifüjle uzaklaştırıldı ve Tip I su körüne karşı süpernatantların OD’si 360 nm dalga boyunda okundu.		
Ayrıca, numune körü tüplerinde 280 nm dalga boyunda protein tayini yapıldı.		

Hesaplama

Numune tüplerinde ölçülen absorbans değerlerinden, kendilerine karşılık gelen numune körü tüplerinin absorbansları çıkarılarak ΔOD değerleri bulundu. DNPH’nın molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanan serum PCC düzeyleri, mg protein başına verildi (nmol/mg protein).

PCC tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 3.6 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
PCC (nmol/mg protein)	12	0.78 $\pm$ 0.02	3.6

3.3.2.6. Tirol Tayini

Plazma tirol düzeyleri, Hu ve ark (28) tarafından modifiye edilen metot ile tayin edildi.

Prensip; Serbest tirol gruplarının Ellman reaktifi [5.5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit); DTNB]'ni red klemesi sonucu oluşan koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'in renk şiddetinin spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda, ölçülmesi esasına dayanır (28).

Çözeltiler

- 0.1 M Tris-HCl tamponu, pH 8.2 (10 mM EDTA içerir)
- 10 mM DTNB (metanolde hazırlanır)
- 1.0 mM GSH (stok standart)
- Metanol

Çalışma

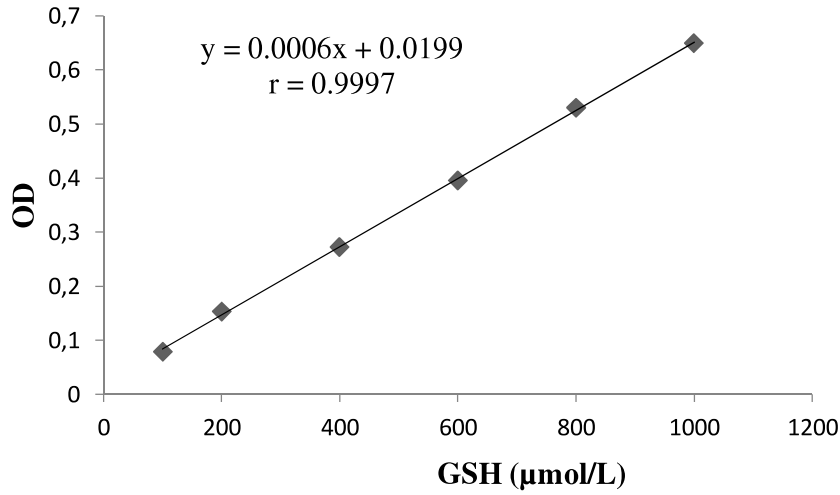
	Numune	Numune k��r�	K��r
0.1 M Tris-HCl	1.0 mL	1.0 mL	1.05 mL
Metanol	-	0.05 mL	-
Plazma	0.05 mL	0.05 mL	-
10 mM DTNB	0.05 mL	-	0.05 mL
Tüpler, 25�C'de tam 15 dk inkübe edildikten sonra; numune k��r� ve numune tüplerinin absorbansı, k��r tüpüne karşı, 412 nm dalga boyunda okundu.			

Standart Serinin Hazırlanması

1.0 mM GSH stok   zeltisi, Tip I su ile uygun şekilde dilüe edilerek 100; 200; 400; 600; 800 ve 1000   mol/L konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı ve numune gibi çalışıldı. GSH konsantrasyonlarına karşılık gelen OD değerleriyle standart grafik çizildi (şekil 10).

Hesaplama

Numune ve numune k  r  tüplerinin absorbans farkları alınarak ΔOD değerleri hesaplandı. GSH ile hazırlanan standart grafik yardımıyla, plazma  rneklerinin ΔOD değerlerinden tirol seviyelerine geçildi.



Şekil 10. Glutatyon Standart Grafiği

Standart grafik üzerinden bulunan plazma tiyol seviyeleri, litrede μmol tiyol olarak verildi.

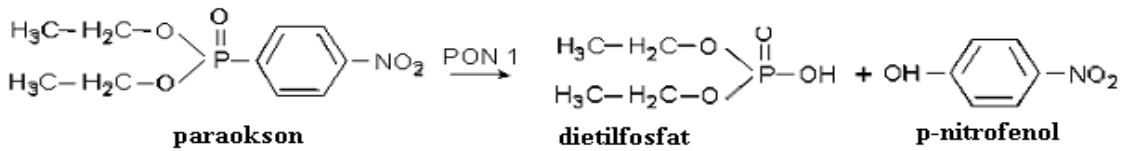
Tiyol ölçümünde kullanılan metodun CV değeri, % 3.0 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X ± SD	CV (%)
Tiyol (μmol/L)	12	435.44 ± 13.08	3.0

3.3.2.7. Paraoksonaz Aktivitesi Tayini

Serum PON1 aktivitesi, Eckerson ve ark (61) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Prensip; paraoksonun, PON1 tarafından hidrolizi ile açığa çıkan sarı renkli p-nitrofenol (PNP)'ün neden olduğu absorbans artışının, spektrofometrede 412 nm dalga boyunda zamana bağlı olarak izlenmesi esasına dayanır (61).



Çözeltiler

- 0.1 M Tris-HCl tamponu, pH 8.0
- 0.5 M paraokson (metanolde hazırlandı)
- 1.0 mM CaCl₂ (50 mM Tris-HCl tamponunda hazırlandı)

Çalışma

Çalışma öncesi 50 mM Tris-HCl tamponu, 1.0 mM CaCl₂ ve 1.0 mM paraokson olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı.

	Numune	Kör
Reaksiyon karışımı	1 mL	1 mL
Serum	10 µL	-
Tip I su	-	10 µL

Pipetleme işleminin ardından, 25°C' de ve 412 nm dalga boyunda, Tip I su körüne karşı, kör ve numune tüplerindeki OD artışı, 5 dk süreyle izlendi.

Hesaplama

Numune ve kör tüpleri için, $\Delta OD/dk$ değerleri hesaplanarak, numune $\Delta OD/dk$ değerlerinden kör $\Delta OD/dk$ değerleri çıkarılmak suretiyle, net $\Delta OD/dk$ değerleri bulundu.

1 ünite PON1, standart deney şartlarında, dakikada 1 mikromol PNP oluşumunu katalizleyen enzim aktivitesi (Ü/L: mikromol PNP/dk/L) olarak tanımlandı (61).

PNP'nin molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=16.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak PON aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$\text{Ü/L} = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{\epsilon} \times \frac{\text{total hacim (mL)}}{\text{serum hacmi (mL)}} \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{\text{mol}}$$

$$\text{Ü/L} = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{16.7 \times 10^3} \times \frac{1.010}{0.01} \times 10^6$$

$$\text{Ü/L} = \text{net } \Delta OD/dk \times 6048$$

Serum örneklerinde PON1 aktivitesi, Ü/L olarak verildi.

PON1 ölçümünde kullanılan metodun CV değeri, % 4.4 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
PON1 (Ü/L)	12	141.96 $\pm$ 6.34	4.4

3.3.2.8. Homosistein Tayini

Homosistein tayini Axsym marka otoanalizörde, Hcy ölçüm kiti (Lot: 1L71), kalibratörleri (Lot: 1L71-01) ve kontrolleri (Lot: 1L71-10) kullanılarak yapıldı. Yöntem; insan serum veya plazmasında bulunan total L-homosisteinin kantitatif belirlenmesi için kemiluminesan mikropartükül enzim immünolojik tetkikidir. Bağlanmış veya oksitlenmiş dimerize homosisteinler, ditiyotreitrol (DTT) ile serbestleştirilerek, serbest Hcy'e dönüştürülür. Diğer bir ifade ile bu ölçüm kiti, numunede bulunan total Hcy değerlerini tayin etmektedir. Kit çözeltisinde bulunan rekombinant SAH hidrolaz enzimi, yine kit çözeltisinde bulunan aşırı adenozin varlığında, DTT etkisiyle oluşan serbest Hcy moleküllerini SAH'a dönüştürür. Çözeltide bulunan akridinyum işaretli SAH ile numune kaynaklı SAH, partikül bağlı monoklonal antikora bağlanmak için yarışırılır. Konsantrasyonu fazla olan SAH molekülü antikora daha fazla bağlanır. Sistemde ölçülen kemiluminesan (relatif ışık üniteleri-RLU), sadece akridinyum işaretli SAH-antikor kompleksi tarafından üretileceğinden; oluşan RLU şiddeti ile numunedeki Hcy düzeyleri arasında ters bir ilişki oluşacaktır.

Ölçümlerin doğruluğunu göstermek amacıyla, üç farklı seviyede kontrol çözeltisi numunelerle aynı gün çalışılarak, kit tarafından belirlenen hedef değerlerle [Ortalama (Hedef aralık)] karşılaştırıldı.

Kontrol Çözeltileri Homosistein Konsantrasyonları (µmol/L)			
	Düşük	Orta	Yüksek
Hedef Değerler	7.56 (5.36-9.76)	13.66 (9.97-17.35)	27.15 (19.26-35.04)
Ölçüm Değerleri	7.56	12.86	25.74

3.3.2.9. Okside LDL Tayini

Serum oxLDL seviyeleri, Immundiagnostik marka ELISA kiti ile (Katalog No: K7810) ölçüldü. Ölçümde MDA-modifiye apo B100'ü tanıyan antikorlar kullanıldı.

Prensip; yarışmasız olarak antijen-antikor komplekslerinin oluşumuna dayanır. Serum örneklerinde bulunan oxLDL (işaretsiz antijen), oxLDL antikoru ile kaplı kuyucuklara bağlanır. Bağlanmayan oxLDL antikoru ile bağlanmayan diğer tüm serum bileşenleri ortamdan uzaklaştırılır Daha sonra enzimle işaretli antikor ilave edilir. Antikor-antijen-işaretli antikor komplekslerinin (sandwich) enzim substratıyla

inkübasyonunu takiben oluşan rengin şiddeti, serumda bulunan oxLDL konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kite göre 120 sağlıklı gönüllüye ait oxLDL değerleri; 95.32 ± 37.85 ng/mL'dir.

Çözeltiler

- Standart seri (0; 9; 27; 80 ve 250 ng/mL)
- Kontrol 1 Ortalama; 18 ng/mL (8-28)
- Kontrol 2 Ortalama; 76.5 ng/mL (46-107)
- Enzim konjugatı (peroksidaz ile işaretli keçi-anti-oxLDL antikoru)
- TMB substrat çözeltisi
- Örnek dilüsyon tamponu
- Stop çözeltisi (0.9 N H₂SO₄)
- Yıkama (fosfat) tamponu

Çalışma

Her kuyucuk 250 µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Serum örnekleri, tampon ile 1/10 dilüe edildi.

	Numune	Kontrol (1ve 2)	Standart seri (1-5)
Serum	100 µL	-	-
Kontrol çözeltileri	-	100 µL	-
Standart çözeltileri	-	-	100 µL

Sıkıca kaplanan plate, oda sıcaklığında ve horizontal çalkalayıcı ile 1 saat inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 250 µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.

Enzim konjugatı	100 µL	100 µL	100 µL
-----------------	--------	--------	--------

Sıkıca kaplanan plate, oda sıcaklığında ve horizontal çalkalayıcı ile 1saat inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 250 µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.

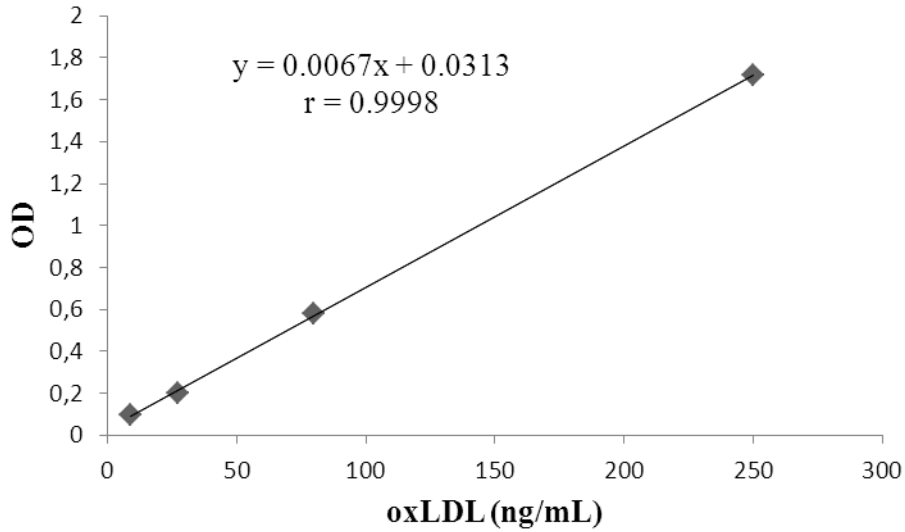
TMB subsrat çözeltisi	100 µL	100 µL	100 µL
-----------------------	--------	--------	--------

Sıkıca kaplanan plate, 10-20 dk oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.

Stop çözeltisi	50 µL	50 µL	50 µL
----------------	-------	-------	-------

Enzimatik reaksiyon sonucu, kuyucuklarda oluşan rengin şiddeti 450 nm dalga boyunda okundu.

Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak, oxLDL standart grafiği çizildi (Şekil 11).



Şekil 11. oxLDL Standart Grafiği

Grafik yardımıyla hesaplanan oxLDL konsantrasyonları, dilüsyon faktörüyle çarpıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Kontrol 1 ve 2 değerleri sırasıyla; 25 ve 90 ng/mL olarak bulundu.

3.3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Veriler “IBM SPSS Statistics 15.0” istatistik paket programında değerlendirildi. Rutin analiz başlığı altında verilen parametreler için eşleştirilmiş student *t* testi kullanıldı, anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi. Ölçülen parametrelerin zamanla değişiminin istatistiksel anlamlılığını karşılaştırmak için; çalışmaya alınan hasta sayısının parametrik test varsayımlarına yetmemesi nedeniyle, Friedman testi kullanıldı. Anlamlı farklılıkların tespit edildiği gruplarda, ikişerli karşılaştırmalar Wilcoxon testi kullanılarak yapıldı. Anlamlılık düzeyi Bonferroni düzeltmesi yapılarak $p < 0.008$ ($0.05/6$) kabul edildi.

4. BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Semiha-Asım Kibar Organ Nakli ve Diyaliz Hastanesinde, en az bir yıldır, haftada 2-3 kez, 4 saat süreyle, düzenli HD tedavisi uygulanan 13 kişi çalışmaya alındı.

Çalışma sırasında, bazal düzeyleri saptamak amacıyla plasebo (500 mL % 0.9 NaCl) verilmeden hemen önce (ilk HD seansında), hastalardan başlangıç kanı alındı. Bunu takiben ikinci ve üçüncü HD seansında hastalara klasik tedavilerine ek olarak, 50 mg/kg NAC *iv* yolla, 500 mL % 0.9 NaCl çözeltisi içinde, HD seansının ilk 10 dakikasından itibaren dört saat boyunca verildi. Üç HD seansı boyunca, diyaliz öncesi ve diyaliz bitiminden hemen sonra (beş dakika içinde) olmak üzere, toplam altı kez kan alındı. Hastalar HD tedavisi sırasında uygulanan çalışma planına göre plasebo, NAC-1 (NAC uygulanan 1. HD seansı) ve NAC-2 (NAC uygulanan 2. HD seansı) olarak gruplandı. Biyokimyasal ölçümlere uygun şekilde, kan örnekleri antikoagülanlı (EDTA/heparin) ve antikoagülanlı tüplerde toplandı.

Bütün veriler, Ek Tablo 1-5’de gösterildi. Verilerden elde edilen tanımlayıcı istatistikler, eşleştirilmiş student *t* testi kullanılan analizlerde ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SD$); Wilcoxon testi ile yapılan analizlerde ortanca ve çeyrekler arası aralık % 50. (% 25.-% 75. persentiller) şeklinde verildi. Gönüllü sayısı, tablolarda “n” olarak gösterildi. Anlamlılık düzeyi, eşleştirilmiş student *t* testi kullanılan karşılaştırmalarda $p < 0.05$, Wilcoxon testi ile kullanılan analizlerde bonferroni düzeltmesi kullanılarak, $p < 0.008$ olarak kabul edildi. Çalışma gruplarına ait veriler;

klınık bulgular, rutin analiz bulguları ve biyokimyasal çalışma bulguları şeklinde gösterildi.

4.1. KLİNİK BULGULAR

HD grubunu oluşturan 13 hastanın 6'sı (% 46.2) erkek ve 7'si (% 53.8) kadındı. Yaş dağılımı 23-68 yıl arasında olan hastaların yaş ortalaması 49.69 ± 16.12 yıl bulundu. Kadın hastalarda yaş ortalaması 39.85 ± 16.22 (23-62) yıl, erkek hastalarda ise 61.16 ± 3.86 (58-68) yıl olarak belirlendi.

Çalışma grubunun yaş ve cinsiyetleriyle ilgili ortalama değerler Tablo 5'de gösterildi.

Tablo 5. Çalışma Grubunun Yaş ve Cinsiyet durumu

	n	Total Yaş (yıl)	n	Erkek Yaş (yıl)	n	Kadın Yaş (yıl)
HD	13	49.69 ± 16.12	6	61.16 ± 3.86	7	39.85 ± 16.22

Veriler, $X \pm SD$ ve n olarak gösterildi.

HD gruplarında, ortalama diyaliz süreleri, Tablo 6'da verildi.

Tablo 6. Çalışma Grubunun HD Süreleri

	n	Diyaliz Süresi (ay)	Dağılım (ay)
Total	13	101.54 ± 71.09	12-216
Erkek	6	58.29 ± 56	12-180
Kadın	7	152 ± 51.85	72-216

Çalışma grubunun her seans öncesi ortalama vücut ağırlıkları Tablo 7'de gösterildi.

Tablo 7. Çalışma Grubunun HD Seansı ncesi Vücut Ağırlığı

	Plasebo	NAC-1	NAC-2
Vücut Ağırlığı	64.4 ± 13.2	64.4 ± 13.3	64.6 ± 13.4

Veriler, $X \pm SD$ ve n olarak gösterildi.

4.2. RUTİN ANALİZ BULGULARI

Plasebo HD giriş ve NAC-2 grubu HD ıkış örneklerinden tayin edilen BUN, kreatinin, albümin, total protein, hsCRP seviyeleri ayrı ayrı analiz edildiğinde; BUN,

kreatinin düzeylerinin azaldığı ($p<0.05$); buna karşılık albümin, total protein düzeylerinin yükseldiği belirlendi ($p<0.05$). hsCRP değerleri arasında ise istatistiki anlamda fark olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Çalışma Grubunun Bazı Rutin Biyokimya Değerleri

	Plasebo	NAC-2	p
	HD Giriş	HD Çıkış	
BUN (mg/dL)	60.31 ± 13.65	18.62 ± 6.42*	0.001
Kreatinin (mg/dL)	8.63 ± 2.52	3.34 ± 1.40*	0.001
Albümin (g/dL)	3.27 ± 0.45	3.62 ± 0.67*	0.012
Total Protein (g/dL)	6.37 ± 0.69	7.32 ± 1.21*	0.007
hsCRP (mg/L)	3.56 ± 3.77	4.31 ± 4.17	0.286

İstatistiki karşılaştırma eşleştirilmiş student *t* testi ile yapıldı (* $p<0.05$).

Plasebo HD giriş ve NAC-2 grubu HD çıkış örneklerinde CBC sonuçları değerlendirildiğinde; hemoglobin, hemotokrit, lökosit, monosit, nötrofil, değerleri arasında istatistiki anlamda fark olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışma Grubunun Bazı CBC Değerleri

	Plasebo	NAC-2	p
	HD Giriş	HD Çıkış	
Hemoglobin (g/dL)	11.57 ± 1.73	11.50 ± 1.75	0.944
Hemotokrit (%)	35.60 ± 5.19	34.84 ± 4.96	0.529
Lökosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.01 ± 2.59	6.75 ± 1.98	0.6
Monosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.46 ± 0.25	0.40 ± 0.11	0.6
Nötrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4.56 ± 1.96	4.21 ± 1.28	0.311

İstatistiki karşılaştırma eşleştirilmiş student *t* testi ile yapıldı (* $p<0.05$).

Lipid profili plasebo HD giriş ve NAC-2 grubu çıkış örneklerinde değerlendirildiğinde; HDL-C düzeylerinde belirgin yükselme gözlenirken TG, TC ve LDL-C düzeyleri arasında istatistiki olarak fark olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Çalışma Grubunun Lipid ve Lipoprotein Profili

	Plasebo	NAC-2	p
	HD Giriş	HD Çıkış	
TG (mg/dL)	174.31 ± 101.35	168.00 ± 96.40	0.834
TC (mg/dL)	158.00 ± 37.46	173.08 ± 37.26	0.064
HDL-C (mg/dL)	31.69 ± 6.93	37.46 ± 7.53*	0.002
LDL-C (mg/dL)	91.45 ± 21.67	102.02 ± 32.50	0.249

İstatistiki karşılaştırma eşleştirilmiş student *t* testi ile yapıldı (* $p<0.05$).

4.2. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA BULGULARI

Gruplara ait MPO aktivitesi, TNF- α ve neopterin düzeyleri Tablo 10'da gösterildi.

MPO aktivitesinin grup içi HD giriş ve çıkış değerleri karşılaştırıldığında, her üç grubun çıkış MPO aktivitesinin anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.008$). Her üç grubun sadece giriş ve sadece çıkış aktiviteleri birbiriyle karşılaştırıldığında, aktiviteler arasında istatistikî olarak fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.008$) (Tablo 11).

HD giriş ve çıkış TNF- α değerleri grup içi karşılaştırıldığında, her üç grubun girişe göre çıkış TNF- α düzeylerinin arttığı ($p<0.008$); her 3 grubun sadece giriş ve sadece çıkış düzeyleri birbiriyle karşılaştırıldığında, düzeyler arasında istatistiki olarak fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.008$) (Tablo 11).

Neopterin düzeylerinin grup içi giriş ve çıkış değerleri karşılaştırıldığında her üç grubun neopterin düzeylerinin HD girişe göre çıkışta daha düşük olduğu belirlendi ($p<0.008$). Her 3 grubun sadece giriş ve ayrıca sadece çıkış değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında, değerler arasında istatistiki olarak fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.008$) (Tablo 11).

Tablo 11. Çalışma Grubunun MPO, TNF- α , Neopterin Değerleri

		MPO (Ü/L)	TNF- α (pg/mL)	Neopterin (ng/mL)
PLASEBO	GİRİŞ	110 (93-129)	39.1 (27.28-40.89)	31.95 (18.99-38.37)
	ÇIKIŞ	128 (113-151)*	60.89 (52.49-68.11)*	13.91 (10.95-22.11)*
NAC-1	GİRİŞ	115 (111-117)	40.33 (30.33-48.11) ^b	31.05 (19.12-39.33) ^b
	ÇIKIŞ	133 (126-137)* ^a	52.12 (47.28-55.06)*	15.29 (11.58-20.88)* ^a
NAC-2	GİRİŞ	114 (99-114) ^{bd}	40.89 (35.06-47.28) ^{bd}	31.72 (21.94-43.03) ^{bd}
	ÇIKIŞ	139 (130-150)* ^{ac}	55.70 (54.69-59.69)* ^{ac}	17.78 (11.64-24.29)* ^{ac}

İstatistiki karşılaştırmada Friedman testi, Wilcoxon (Bonferroni düzeltmeli) testi uygulandı (p<0.008).

Anlamli bulgular

*Grup içi HD öncesi-sonrası karşılaştırma.

Gruplar arası: ^aPlasebo giriş; ^bPlasebo çıkış; ^cNAC-1 giriş; ^dNAC-1 çıkış ile yapılan karşılaştırmalar sırasında elde edildi.

HD gruplarının AOPP, PCC ve tiyol düzeyleri Tablo 12’de gösterildi.

Grup içi karşılaştırmalarda; plasebo grubunda, HD çıkış AOPP değerlerinin giriş değerlerine göre anlamlı şekilde yükseldiği (p<0.008); buna karşılık NAC-1 ve NAC-2 gruplarına ait HD çıkış AOPP değerlerinin girişe göre anlamlı şekilde düştüğü belirlendi (p<0.008). Gruplar arası karşılaştırmalarda; her üç grubun HD giriş değerleri ve NAC gruplarının çıkış değerleri arasında istatistiki fark olmadığı gözlemlendi (p>0.008). NAC-1 ve NAC-2 gruplarının HD giriş değerleri plasebo çıkıştan; çıkış değerleri ise plasebo HD hem giriş hemde çıkış değerlerinden daha düşük olarak belirlendi (p<0.008) (Tablo 12).

Grup içi karşılaştırmalarda; plasebo grubu, HD çıkış PCC değerleri giriş değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek bulunurken (p<0.008); NAC-1 ve NAC-2 grupları HD çıkış PCC değerleri ise giriş değerlerine göre anlamlı şekilde düşük olarak bulundu (p<0.008). Gruplar arası karşılaştırmalarda; her üç grubun giriş değerleri arasında ayrıca NAC gruplarının çıkış değerleri arasında istatistiki fark olmadığı gözlemlendi (p>0.008). NAC-2 grubu HD giriş PCC değerleri plasebo çıkıştan; NAC-1 ve NAC-2

grupları çıkış değerleri ise plasebo hem giriş hemde çıkış değerlerinden daha düşük gözlemlendi ($p<0.008$). Ek olarak NAC-2 grubu HD çıkış değeri NAC-1 grubu giriş değerinden anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.008$) (Tablo 12).

Grup içi karşılaştırmalarda; tiyol düzeylerinin üç grupta da HD girişe göre çıkışta daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.008$). Gruplar arası karşılaştırmada, her üç grubun sadece giriş ve sadece çıkış değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında, değerler arasında istatistiki olarak fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.008$) (Tablo 12).

Tablo 12. Çalışma Grubunun AOPP, PCC, Tiyol Değerleri

		AOPP ($\mu\text{mol/L}$)	PCC (nmol/mg protein)	Tiyol ($\mu\text{mol/L}$)
PLASEBO	GİRİŞ	29.45 (22.66-33.06)	1.35 (1.17-1.44)	172 (135-209)
	ÇIKIŞ	56.04 (52.14-62.25)*	1.66 (1.54-1.75)*	350 (339-365)*
NAC-1	GİRİŞ	28.00 (26.42-34.80) ^b	1.35 (1.13-1.63)	183 (130-236) ^b
	ÇIKIŞ	12.69 (9.50-22.80)* ^{ab}	0.93 (0.70-1.23)* ^{ab}	375 (354-456)* ^a
NAC-2	GİRİŞ	30.90 (24.54-36.53) ^{bd}	1.24 (1.12-1.44) ^b	179 (154-241) ^{bd}
	ÇIKIŞ	20.78 (11.97-23.58)* ^{abc}	0.89 (0.73-1.12)* ^{abc}	402 (370-425)* ^{ac}

İstatistiki karşılaştırmada Friedman testi, Wilcoxon (Bonferroni düzeltmeli) testi uygulandı ($p<0.008$).

Anlamlı bulgular

*Grup içi HD öncesi-sonrası karşılaştırma.

Gruplar arası: ^aPlasebo giriş; ^bPlasebo çıkış; ^cNAC-1 giriş; ^dNAC-1 çıkış ile yapılan karşılaştırmalar sırasında elde edildi.

Grup içi HD giriş ve çıkış PON1 aktiviteleri karşılaştırıldığında, her üç grupta da HD girişe göre çıkışta aktivitenin daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.008$). Her üç grubun sadece giriş ve sadece çıkış aktiviteleri birbiriyle karşılaştırıldığında, aktiviteler arasında istatistiki olarak fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.008$) (Tablo 13).

Homosistein düzeylerinin üç grupta da HD girişe göre çıkışta daha düşük olduğu belirlendi ($p<0.008$). Gruplar arası karşılaştırmalarda, üç grubun giriş değerleri

arasında ve ek olarak NAC grupları çıkış değerleri arasında istatistiki fark olmadığı ($p>0.008$); NAC gruplarının çıkış değerlerinin plasebo grubu hem giriş hem de çıkış değerlerinden daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.008$) (Tablo 13).

Okside LDL düzeylerinin HD çıkışında her üç grupta HD girişe göre istatistiki olarak değişmediği ($p>0.008$); ayrıca gruplar arası hem HD giriş hem de çıkış karşılaştırmalarında oxLDL düzeyleri açısından fark olmadığı belirlendi ($p>0.008$) (Tablo 13).

Tablo 13. Çalışma Grubunun PON1, Homosistein, oxLDL Değerleri

		PON1 (Ü/L)	Homosistein (µmol/L)	oxLDL (ng/mL)
PLASEBO	GİRİŞ	51.41 (42.34-54.43)	20.22 (16.96-26.37)	209 (166-246)
	ÇIKIŞ	60.67 (58.31-69.65) *	11.97 (11.26-19.28)*	228 (171-245)
NAC-1	GİRİŞ	50.90 (37.80-61.24)	20.70 (16.80-24.47) ^b	208 (175-250)
	ÇIKIŞ	84.17 (65.77-103.57) * ^a	9.17 (7.07-10.83)* ^{ab}	220 (177-254)
NAC-2	GİRİŞ	48.38 (34.02-51.71) ^d	20.51 (16.05-25.59) ^{bd}	195 (176-244)
	ÇIKIŞ	85.8 (78.44-102.82)* ^{ac}	8.42 (6.41-12.39)* ^{abc}	225 (167-251)

İstatistiki karşılaştırmada Friedman testi, Wilcoxon (Bonferroni düzeltmeli) testi uygulandı ($p<0.008$).

Anlamli bulgular

*:Grup içi HD öncesi-sonrası karşılaştırma.

Gruplar arası: ^aPlasebo giriş; ^bPlasebo çıkış; ^cNAC-1 giriş; ^dNAC-1 çıkış ile yapılan karşılaştırmalar sırasında elde edildi.

5. TARTIŞMA

KBY hastalarının, artmış bir KVH riskine sahip oldukları gösterilmiştir. Hatta KBY hastalarının SDBY aşamasına ilerlemeden önce; herhangi bir nedenden ölüm risklerinin 13 kat, KVH ile ilgili riskin 6 kat arttığı rapor edilmiştir (62). KBY’de oksidatif strese yol açan kronik enflamasyonun ateroskleroz gelişimini hızlandırdığı ve bu nedenle diyaliz hastalarında KVH’ya bağlı morbidite ve mortalite oranlarının arttığı bilinmektedir (11). Üremik toksinler, diyaliz membranları ile etkileşen nötrofil ve monositler, antioksidan vitaminlerin diyalizle vücuttan uzaklaştırılması gibi faktörler, KBY ve diyalizde oksidatif stresin başlıca kaynaklarıdır. Hemodiyaliz işleminin bizzat kendisi de membranla karşılaşan nötrofillerin aktivasyonu ile oksidatif strese yol açmaktadır (63,64). Ayrıca, biyouyumsuz membranlar ve kontamine diyalizat sıvıları da, nötrofilleri aktive edebilen proenflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açabilmektedir (29).

SDBY hastalarında biriken üremik toksinlerin antioksidan enzim ve molekülleri olumsuz etkileyerek oksidatif strese yol açtığı, immün hücre aktivitelerinde düzensizliklere neden olduğu bilinmektedir. Üremik toksinlerin HD tedavisiyle uzaklaştırılması, bu olumsuzlukları hafifletebilir ve hatta yok edebilir. Diyaliz su kalitesi, damar giriş yolu, membran biyouyumluluğu, diyalizat, sterilizasyon şartları gibi hemodiyaliz ortamına ait çeşitli faktörlere bağlı olarak, HD işleminin bizzat kendisinin neden olduğu akut patolojik değişiklikler devreye girerek; HD işlemi ile üremik tabloda elde edilen olumlu değişikliklerin faydası hafifletilir. Diyaliz seansı

sonundan başlamak üzere, bir sonraki diyaliz seansına kadar yavaş yavaş yeniden birikmeye başlayan üremik toksinlerle oksidatif stres, enflamasyon gibi patolojik süreçler yeniden belirlemektedir. Kısaca ifade edilirse; HD tedavisi alan SDBY hastalarında, diyaliz esnasında akut şiddetlenmeler gösteren kronik bir enflamasyon ve oksidatif stres halinden söz edilebilir (63,64).

Biyouyumlu membranlar ve ultra saf diyalizat kullanımına rağmen, HD tedavisinin lökosit aktivasyonuna ve oksidatif stres artışına neden olmayı sürdürdüğünü öne süren çalışmalar dikkate alındığında (65); HD tedavisi alan hastalarda mikroenflamatuvar ortamın ve oksidatif stres oluşumunun kaçınılmaz olacağı söylenebilir. Söz konusu patolojik değişiklikleri tetikleyen HD ile ilgili faktörler tamamen düzeltilemeyeceğinden, bu hastalara seans esnasında bir antioksidan tedavi desteğinin verilmesi makul gibi görünmektedir.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD’de 42 HD hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, HD hastalarında giriş-çıkış sonrası değerlendirilen lökosit ve nötrofil sayılarının değişmediği rapor edilmiştir (66).

Polisülfon ve rejenere selüloz içeren, biyouyumluluğu farklı diyaliz membranları ile yapılan HD seansının ilk 15. dakikasında düşen nötrofil, monosit ve lenfosit sayıları; seans sonunda başlangıç sayılarına göre polisülfon membranda aynı kalırken, rejenere selüloz membranda anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir. Biyouyumlu kabul edilen membranlar arasında bile enflamasyonu indüklemeye farklılıkları olabileceğini öne süren yazarlar, HD işleminin kaçınılmaz olarak, subklinik de olsa, bir enflamasyona neden olduğunu öne sürmüşlerdir (67).

Bu çalışmada da sadece plasebo grubu girişi ile NAC-2 grubu çıkışında alınan örneklerde çalışılan nötrofil, lökosit ve monosit sayıları karşılaştırıldığında; anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

SDBY hastalarında gözlenen artmış KVVH riskinden sorumlu tutulan mekanizmalardan biri de lipid/lipoprotein anormallikleridir (68). Sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında, HD hastalarında TG düzeyleri yüksek (6,7,9,13,69) veya normal (70); LDL-C düzeyleri yüksek (5-7,9,13) veya normal (69); TC düzeyleri yüksek (6) veya normal (70); HDL-C düzeyleri ise düşük (5-7,9,13,69-72) olarak rapor edilmiştir. Hemodiyaliz işleminden sonra TG düzeylerinin düştüğü (6) veya değişmediği (70); LDL-C düzeylerinin düştüğü (6), TC düzeylerinin düştüğü

(6) veya değişmediği (70); HDL-C düzeyinin ise yükseldiği (6) veya değişmediği (70) bildirilmektedir. HD hastalarında azalmış HDL-C düzeyleriyle artmış AOPP ve CRP düzeyleri arasında bulunan güçlü negatif korelasyonlar; HDL-C düzeylerindeki azalmadan sorumlu temel mekanizmanın oksidatif stres ve enflamasyon nedeniyle lipolitik enzim aktivitelerindeki azalmadan olabileceğini düşündürmüştür (69).

HD hastaları üzerinde yapılan, farklı lipoproteinlerle ilgili farklı sonuçlar rapor eden pek çok çalışmanın ortak bulgusu, HDL-C düzeylerinin daima düşük olarak tespit edilmesidir (5-7,9,13,69-72). Analizde kullanılan ticari kitin referans değerleri dikkate alındığında; bu çalışmada plasebo grubu HD hastalarında diyaliz başlangıcında alınan örneklerde HDL-C düşük, TG yüksek, LDL-C ve TC düzeylerinin referans aralık içinde olduğu gözlenmiştir.

HD esnasında kullanılan biyoyumsuz membranlar ve kontamine diyalizat sıvıları IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin de salınmasına yol açmaktadır. Sitokinlerin uyarısı ile aktive olan PMNL'den kaynaklanan SOR, sitokinlerin transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'yı aktive ederek sitokinler ve SOR arasında kısır bir döngünün oluşmasına yol açmaktadır (29,63).

Yapılan *in vitro* (73) ve *in vivo* (69,74-76) çeşitli çalışmalarda, sağlıklı gönüllülere göre HD hastalarında TNF- α 'nın yükseldiğini bildiren çalışmaların yanı sıra, HD işleminin plazma TNF- α düzeyi üzerine artırıcı (73,74,76) ya da nötr etkileri (75,77) olduğunu öne süren çalışmalar da mevcuttur. Ayrıca sağlıklı bireyler ve üremik hastalara göre HD hastalarından izole edilen monositlerin, diğer sitokinlere ilave olarak daha fazla TNF- α salınımı yaptıkları tespit edilmiştir (73).

Goldstein ve ark (74) tarafından, HD tedavisi başladıktan 30 dakika sonra yükselmeye başlayan TNF- α değerlerinin, diyaliz sonrası 24. saatte de yüksekliğini devam ettirdiği; buna rağmen aynı zamanlarda ölçülen CRP düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir. Araştırmacılar HD işleminin sitokinlere yaptığı etkileri incelerken; erken ve geç cevap veren sitokinlerin davranışlarının farklı olabileceğini, biyoyumluluğu farklı membranların farklı sonuçlar doğurabileceğini, sitokin üretimi ve enflamasyon şiddetini belirlemede toplam diyalize girme süresinin, diyaliz işleminin bizzat kendisinden daha etkili olabileceğini belirtmişlerdir (74).

HD tedavisi alma sürelerine göre; kısa (11 ay), orta (33 ay) ve uzun (90 ay) diyaliz yaşına sahip farklı hastalardan, izole edilerek *in vitro* stimule edilen monositlerin

TNF- α salınımı kıyaslandığında; diyaliz yaşı ile ters orantılı bir TNF- α salınım davranışı gösterdikleri belirlenmiştir. Aynı hasta gruplarında HD sonrası TNF- α değerlerinin de HD öncesine göre daha yüksek ölçüldüğü rapor edilmiştir. Malaponte ve ark (73), HD tedavisinin süresi arttıkça, kronik bir monosit aktivasyonuna sekonder monosit tükenmesi ve disfonksiyonu oluştuğunu iddia etmişlerdir.

Hemodiyaliz işleminin TNF- α değerlerini anlamlı şekilde yükselttiğini gösteren Tarakçıoğlu ve ark (77); aynı değerleri total proteinlerine bölerek elde ettikleri düzeltilmiş-TNF- α değerlerinin ise anlamlı olmadığını iddia etmişlerdir. Bu değişim, yazarlar tarafından HD işleminin hemokonsantrasyon yapıcı etkisi ile açıklanmıştır (77).

Bu çalışmada plasebo grubu TNF- α değerlerinin HD işlemi sonrası anlamlı olarak yükseldiği belirlendi. Yükselmiş TNF- α değerlerinin diyaliz hastalarında mortalite belirleyicisi olduğu dikkate alındığında (38), HD işleminin yaptığı iyileştirici etkilerin yanı sıra; bazı zararlı sonuçlara da yol açtığı söylenebilir. Plasebo grubu HD çıkış anında hastaların total protein düzeyleri çalışılmadığından; HD etkisi ile oluştuğu düşünülen bu yükselmenin hemokonsantrasyona bağlı bir değişim olup olmadığına karar verilemedi.

Hücrel immün aktivitenin dolaylı bir göstergesi kabul edilen neopterin (39), HD tedavisi alan (9,78) ve almayan (9) SDBY hastalarında sağlıklı gönüllülere göre daha yüksek olduğu; HD tedavisi alan hastalarda konservatif tedavi alan hastalara göre daha yüksek olduğu (9,27) bildirilmiştir. Ek olarak HD öncesi yüksek bulunan neopterin düzeylerinin HD sonrası düştüğünü gösteren çalışmalar da vardır (78,79).

Moleküler ağırlığı 253 dalton (40) olan neopterin molekülünün, HD işlemi sırasında ultrafiltrata geçmesi nedeniyle HD sonrası serum değerlerinin düştüğü iddia edilmiştir (79). HD tedavisi sonrası girişe göre anlamlı şekilde düştüğü gözlenen serum neopterin değerlerinin bile, sağlıklı gönüllü değerlerinden anlamlı şekilde yüksek bulunmasının, daha önemli bir bulgu olduğu öne sürülmüştür (78).

Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak HD öncesi yüksek olan neopterin düzeyleri HD sonrasında azalmış bulundu. Ölçümde kullanılan ticari kitin referans değerleri dikkate alındığında (0.3-3 ng/mL); plasebo grubuna ait serum neopterin düzeylerinin HD girişinde referans aralığın üst sınırının 10 katına, çıkışında ise (düşmesine rağmen) üst sınırın 4 katına ulaştığı belirlendi. Hem giriş hem de çıkış

anında yüksek olarak gözlenen neopterin değerleri ile yansıtıldığı gibi, hemodiyaliz tedavisi alan SDBY hastalarında kronik bir enflamasyon olduğu düşünülebilir.

Çeşitli uyaranlarla aktiveleşen monosit ve makrofajlarda üretilen H_2O_2 miktarı ile aynı hücrelerden salınan neopterin miktarının korele bulunması (40); neopterinin SOR etkilerini modüle ettiğinin gösterilmesi (41) gibi literatür bulguları beraber değerlendirildiğinde; neopterin, hem immün sistem kaynaklı oksidatif stres için iyi bir “gösterge” ve hem de immün sistemle üretilen SOR’un biyolojik etkileri için “aracı molekül” olarak tanımlanabilir.

Literatürde KBY (80,81) ve HD tedavisi alan SDBY (66,67,81-84) hastalarında MPO aktivitesinin/konsantrasyonunun arttığını (67,81-83), azaldığını (80) veya değişmediğini (81); HD işleminin yüksek MPO değerlerini daha da yükselttiğini (67,82,84) ya da değiştirmedikçe (66) bildiren farklı çalışmalar vardır. Bu çalışmaların birbirinden farklı sonuçlar vermesi; çalışılan hasta gruplarının özelliklerinin farklılığına, uygulanan tedavilerin farklılığı ve çeşitliliğine, MPO ölçümünde kullanılan yöntemlerin farklılığına, HD tedavisinde kullanılan membran tipine ve biyouyumluluğuna bağlanabilir.

Renal yetmezliğin derecesine göre dört farklı gruba ayrılan KBY hastalarının plazma MPO aktivitelerinin, yetmezliğin derecesi ilerledikçe daha da belirgin olacak şekilde azaldığı; ayrıca dört grupta da sağlıklı gönüllülerden daha düşük olduğu belirlenmiştir (80).

Sağlıklı gönüllülerde tespit edilemeyen, ancak KBY hastalarında saptanabilen pozitif MPO-GFR, negatif MPO-üre ve negatif MPO-kreatinin gibi korelasyonların bulunması; üremik toksinlerin MPO enzimine yaptığı inhibitör etki ile bu düşüşe neden olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (80). Plazma MPO aktivitesini, bu çalışmada kullanılan metotla (60), aynı şekilde değerlendiren yazarlar; KBY hastalarında var olduğu kabul edilen artmış KVH riskinden MPO ve onunla ilişkili reaksiyonların sorumlu olamayacağını öne sürmüşlerdir (80).

Diğer taraftan, üremik ortamın inhibitör etkisiyle çalışamayan enzim, reaksiyon ortamına eklenen substratını (o-dianisidin) oksitleyemeyeceğinden, “eksik ölçme” nedeniyle düşük ölçülmüş de olabilir. Dolayısıyla yüksek de olabilecek plazma MPO aktivitelerinin “maskelenme” interferansına bağlı olarak düşük değerlendirilmiş olabileceği de akılda tutulmalıdır.

Substrat oksidasyonu üzerinden yapılan MPO ölçüm metotları üzerine üremik toksinlerin gösterdiği interferansları da dikkate alan bir çalışmada; hastalara ait plazma MPO değerleri, hem ELISA (ng/mL MPO) ile hem de spektrofotometrik yöntemlerle (okside substrat final konsantrasyonu- μ M) ölçülmüştür. ELISA yöntemi ile elde edilen plazma MPO konsantrasyonları kontrol ve tüm KBY hastalarında, renal yetmezliğin derecesinden bağımsız olarak, benzer bulunurken; HD hastalarında yaklaşık 3 kat yüksek bulunmuştur. İlginç olarak, substrat oksidasyon yöntemi ile belirlenen plazma MPO aktivitelerinin renal yetmezliğin şiddetine paralel olarak artış gösterdiği ve en yüksek değerlerin HD hastalarında olduğu belirlenmiştir. Capeillere-Blandin ve ark (81), deney ortamına enzim substratı olarak eklenen maddelerin MPO'ya ilaveten, üremik toksinlerle de oksitlenebileceğini; her iki yolla oluşan okside substratın tamamının da MPO reaksiyonu ile gerçekleştirilmiş gibi yorumlanabileceğini; bu yöntemlerle yapılan MPO değerlendirmelerinin özellikle üremik toksinlerin maksimum konsantrasyonda bulunduğu prediyaliz KBY hastalarında, yalancı aşırı yüksek değerlerle sonuçlanacağını iddia etmişlerdir. Diğer bir ifadeyle söylemek gerekirse, yazarlara göre, gerçekte HD tedavisi almayan KBY hastalarında MPO aktivitesi ve/veya konsantrasyonu yükselmiş değildir. Bu teorilerini destekler şekilde, nötrofil MPO değerlerinin kontrol ve tüm KBY hastalarında (renal yetmezlik derecesinden bağımsız olarak) birbirine benzer olduğunu; bu gruplara göre HD hastalarında ise yaklaşık 3-4 kat daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar ışığında KBY hastalarında gözlenen patolojik oksidatif mekanizmaların, yanlış yüksek ölçülen MPO aktivitelerinin işaret ettiği gibi nötrofil kaynaklı değil üremik toksin kaynaklı olabileceği; aksine HD tedavisi alan hastalarda ise doğrudan diyaliz işlemiyle ilişkili olacak şekilde, nötrofil, monosit vb enflamatuvar hücre kaynaklı olduğu iddia edilmiştir (81).

Hemodiyaliz tedavisi boyunca MPO kinetiğini inceleyen çalışmalar benzer sonuçlar rapor etmişlerdir (67,82). Seansın 15. dakikasında pik yapan MPO konsantrasyonlarının (67,82), seansın 60. (82) veya 120. (67) dakikasıdan itibaren azalmaya başlamasına rağmen; seans sonu ölçülen değerlerin başlangıç değerlerine göre anlamlı yüksekliğini hala koruduğu gösterilmiştir (67,82). Rejenere selüloz membranla yapılan HD işleminin MPO yükseltici etkisi, polisülfon membrana göre, çok daha belirgin olarak bulunmuştur (67).

Polisülfon membrana göre biyouyumluluğu daha az olan rejenere selülöz membran ile yapılan diyaliz işlemi sonunda ölçülen MPO konsantrasyonlarının yaklaşık üç kat daha yüksek bulunması; diyaliz işleminde kullanılan membranların biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde ve/veya HD sırasında ortaya çıkan oksidatif stresin derecesinin belirlenmesinde, MPO ölçümünün güvenilir bir *marker* olarak kullanılabileceği şeklinde yorumlanmıştır (67).

MPO konsantrasyonları bakımından üç gruba ayrılarak üç yıl takip edilen 356 HD hastası ile yapılan bir çalışmada; her üç grupta diyabet görülme sıklığı ve yaş dağılımının farksız olduğu (MPO yüksekliğinin diyabet ve yaş ile ilişkisiz olduğu); vücut yağ dağılımı ve kütle indeksi ile tam kan lökosit sayısının, MPO arttıkça yükseldiği; en yüksek serum CRP ve TNF- α seviyelerinin en yüksek MPO konsantrasyonlarına sahip hastaların bulunduğu 3. grupta gözlendiği rapor edilmiştir. Yaş, ırk, diyaliz süresi, diyabet ve KVH anamnezi, CRP, TNF- α , albümin ve hemoglobin değerleri gibi parametrelerle karşılaştırıldığında; hastaların üç yıllık ölüm oranını belirlemede en güçlü parametrenin serum MPO konsantrasyonu olduğu gösterilmiştir. Hatta MPO’da gözlenen her 1000 pmol/L’lik artışın, üç yıllık ölüm riskini % 8-15 oranında artırdığı öne sürülmüştür. Kalantar-Zadeh ve ark (83)’nın yaptığı bu kapsamlı çalışmada hastalara ait MPO değerleri oldukça geniş bir dağılım göstermiştir. Yazarlara göre, yüksek bulunan MPO değerleri, diğer parametrelerden bağımsız olarak/tek başına, ölüm riskini belirleme gücüne sahiptir ve bu nedenle HD tedavisi alan hastaların öngörülemeyen klinik risklerinin tanısında, MPO ölçümünün oldukça kıymetli bir araç olabileceği söylenebilir.

Oldukça geniş bir dağılım gösteren MPO değerleri nedeniyle, hastaları toplumdan elde edilen referans değerlerle kriterize etmek yerine; hastanın kendine ait MPO değerlerinin bireysel kinetiğini izlemenin daha faydalı olabileceği düşünülebilir. Diğer bir ifade ile referans aralık içinde bulunsan bile, tedricen yükselme eğilimi gösteren MPO profiline sahip bir HD hastasının; “her şey yolunda” biçiminde değil “kötü bir şeyler oluyor” şeklinde algılanarak, daha dikkatli değerlendirilmesi gerektiği düşünülebilir.

Bu çalışma da literatürle uyumlu şekilde, HD hastalarının diyaliz sonrası MPO değerlerinin diyaliz öncesine göre anlamlı şekilde yükseldiği bulunmuştur. Sağlıklı gönüllü içermeyen bu çalışmada ölçülen MPO aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla, daha önce ERÜ Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD’de

Prof. Dr. Kader Köse danışmanlığında yürütülen, KBY hastalarının incelendiği iki ayrı tez çalışmasına ait MPO düzeyleri göz önüne alındı. Plazma MPO aktivitesini, bu çalışma ile aynı metodu kullanarak ölçen bu çalışmalarda, sağlıklı gönüllülere ait MPO aktiviteleri sırasıyla 69.5 ± 16.9 Ü/L (n:42) (66) ve 74.2 ± 17.2 Ü/L (n:43) (84) şeklinde bulunmuştur. Her ne kadar istatistiki bir analiz yapılamasa da, numerik farklar göz önüne alınarak, bu çalışmada ölçülen HD öncesi MPO değerleri, literatür ve bu iki tez çalışmasının kontrol değerleri ile beraber değerlendirilecek olursa; HD hastalarının MPO değerlerinin diyaliz öncesinde de yüksek olduğu ve diyaliz sonrasında daha da artarak yüksek kalmaya devam ettiği söylenebilir.

Çoğu nötrofil kaynaklı olmak üzere, monositlerden de salgılanan MPO (35), aktif nötrofillerin varlığını yansıtmaması bakımından önemlidir. Bu çalışmanın bulguları ve literatür bilgileri (81,85) ışığında, HD’de gözlenen oksidatif stresin başlıca kaynağının, MPO ile katalizlenen oksidatif reaksiyonlar olduğu kabul edilebilir.

Nötrofil, monosit ve makrofaj gibi fagositik hücrelerde, solunum patlaması sırasında üretilen SOR türevleri daha ileri etkileşimlerle çok daha güçlü/uzun ömürlü oksidanların oluşumunu tetikleyebilmekte; özellikle MPO katalizli reaksiyonlar ile, en toksik ve en reaktif SOR türlerinden olan klorlu oksidanlar (HOCl ve kloraminler) üretilmektedir (35). Diğer radikallere göre çok daha uzun ömürlü olan klorlu oksidanların başlıca hedefi, proteinlerin yapısında bulunan tiyol gruplarıdır (86).

İnsanlarda HOCl sentezleme yeteneği sadece MPO enzimine ait olduğundan (35), yüksek MPO aktivitelerinin oluşturabileceği hasarların tanı ve takibinde oksidan HOCl ürününün etkilediği biyomoleküllerin analizi/tespiti önem kazanacaktır.

MPO-HOCl sisteminin spesifik bir *marker*’ı olarak kabul edilen 3-klorotirozinin, sağlıklı gönüllülerde ölçülemeyecek kadar düşük olmasına rağmen, kronik HD hastalarından izole edilen plazma proteinlerinde yüksek bulunması (82); MPO aracılı gerçekleşen hasarın takibi için bir fikir verebilir. Aynı çalışmada beklenmedik bir şekilde, 3-klorotirozin düzeylerinin, diyaliz seansının 15. dakikasından itibaren yükselen MPO değerlerine zıt davranarak, değişmediği de saptanmıştır. Tezat gibi görünen bu sonuçlar, renal yetmezlik ile oluşan kronik fagositik hücre uyarılmasına bağlı kronik MPO yüksekliğine ve/veya seans içi yükselen MPO ile oluşan HOCl gibi “uzun” ömürlü oksidanların diyaliz sonrası etki göstermesine bağlanmıştır (82).

Diğer bir ifade ile HD seansında yükselen MPO, oksidan etkilerini seans sonrası da gösterebilmektedir.

Literatürde ilk defa, hemodiyaliz tedavisi alan hastaların plazmasında tanımlanan, yapısının ileri derecede okside olmuş protein türevlerinden oluştuğu gösterilen AOPP, protein oksidasyonunun son çapraz bağlanma ürünleri olarak kabul edilmektedir (27). Başlıca plazma albümininden oluştuğu gösterilen AOPP, düşük (80 kD) ve yüksek (600 kD) molekül ağırlığına sahip iki formda bulunur (4).

Saf ticari insan serum albümini (human serum albumin-HSA)'nin, eşit konsantrasyonlarda HOCl, kloramin ve H₂O₂ gibi oksidan ajanların, tedricen artan düzeyleriyle (0, 10 ve 100 mM) *in vitro* inkübasyonu sonucunda; AOPP, ditirozin ve PCC oluşturma kapasitesi bakımından HOCl ve kloraminlerin doza bağımlı şekilde artırıcı etki gösterdiği; buna karşılık H₂O₂'nin herhangi bir artışa neden olmadığı belirlenmiştir. Bu *in vitro* deneyin sonuçları, AOPP ve PCC oluşumundan sorumlu en önemli oksidan ajanın, aktif nötrofillerden salınan MPO aracılığı ile üretilen HOCl olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (87).

Diğer taraftan nötrofil aktivasyon belirteci olarak yaygın şekilde kullanılan NADPH oksidaz ve nötrofil solunum patlama kapasitesi gibi parametreler ile AOPP değerleri arasında HD hastalarında bulunan anlamlı ilişkilerin; KBY hastalarında saptanamaması, Capeillere-Blandin ve ark (81) tarafından KBY hastalarında tespit edilen AOPP'lerin MPO bağımsız mekanizmalarla oluştuğu biçiminde yorumlanmıştır. KBY hastalarında AOPP ile monosit aktivasyon *marker*'ı olan neopterin arasında bulunan pozitif ilişki, KBY'de bulunan AOPP'nin üremik toksinlerle indüklenen monosit aktivasyonu ile oluşabileceğini düşündürmüştür (81).

KBY hastalarında AOPP ve GFR arasında negatif korelasyon bulan bir çalışmada, belirgin bir nötrofil aktivasyonu olmamasına rağmen yüksek ölçülen AOPP seviyelerinin; renal yetmezliğe sekonder gelişen azalmış AOPP klirensinin bir sonucu olabileceği öne sürülmüştür. Aynı çalışmada AOPP yüksekliğinin erken dönem KBY hastalarında bile gözlenmesi bu teoriyi destekler niteliktedir (87).

HD işlemiyle aktifleşen nötrofiller tarafından MPO-HOCl aracılı oksidasyonla plazma albümininden oluşan AOPP'nin, konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde, nötrofil ve monositlerde solunum patlamasını uyarmak gibi, biyolojik etkilere de sahip olduğu belirlenmiştir. Bu etki sağlıklı kişilerden izole edilen

nötrofiller ve üremik hastaların plazmasından izole edilen AOPP ile de yinelenmiştir. Ayrıca AOPP'nin TNF- α , IL-8 gibi sitokinlerin sentezini de tetiklediği rapor edilmiştir. Üremide gözlenen enflamasyon-oksidatif stres kısır döngüsü birlikte dikkate alındığında; hem sonuç hem de sebep gibi gözüken AOPP'nin plazma seviyelerinin azaltılmasıyla, tedavi performansının iyileştirebileceği açıktır. Sağlıklı gönüllülerden ve hemodiyaliz hastalarından izole edilerek AOPP ve zimosanla uyarılan nötrofillerin gösterdiği artmış solunum patlaması cevabı; ortama eklenen NAC ile AOPP grubunda önlenirken; zimosan grubunda önlenememiştir (88).

Literatürde HD tedavisi alan SDBY hastalarında AOPP düzeylerinin sağlıklı gönüllülere göre yükseldiğini (27,66,69,70,81,89-93); diğer taraftan HD işleminin yüksek AOPP düzeylerini daha da yükselttiğini (27,67,92,93), değiştirmediğini (70, 89,90,92,93) ve azalttığını (66) bildiren farklı çalışmalar bulunmaktadır.

HD işleminin AOPP değerlerini azalttığını öne süren Sarpkaya ve ark (66), bu bulgularını, diyaliz işlemi sonunda kontrol grubu düzeylerine yaklaşan tiyol değerlerinin oluştuğu ilave antioksidan etkiye bağlamışlardır. AOPP yapısındaki disülfid bağlarının tiyol grupları ile kısmen redüklenebileceğini ve dolayısıyla plazma AOPP değerlerinin bu nedenle düşmüş olabileceğini ifade etmişlerdir (66).

HD işleminin AOPP seviyelerini değiştirmediğini öne süren çalışmalar farklı mekanizmalar öne sürmüşlerdir:

Her ikisi de yüksek akım olan, farklı diyalizer (polisülfon ve selüloz triasetat) ile HD sonunda değişmeyen AOPP değerlerinin; diyaliz sonunda normal bulunan nötrofil oksijen radikal üretimine ve AOPP'nin büyük molekül ağırlığına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. İki farklı diyalizer arasında, nötrofil oksijen radikal üretimi ve protein oksidasyonu açısından bir fark bulunamamıştır (90). Birbirine benzer iki çalışmada, sentetik (92,93) ve selüloz triasetat (93) membranlarının yüksek (92,93), orta (93) ve düşük (92,93) akım ile çalışan tiplerinin kullanılması sonucunda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kullanılan membranın yüksek akım oluşu HD giriş-çıkış AOPP farkı oluşturmazken (92,93); orta (93) ve düşük (92,93) akım membranlarla HD sonunda daima daha yüksek AOPP değerleri elde edilmiştir (92,93). AOPP'nin yüksek molekül ağırlığı göz önüne alınırsa; küçük por çapına sahip düşük akım membranlardan geçemeyen AOPP birikmekte, bir seans (93) ve 8 haftalık (92) HD periyodu sonunda başlangıca göre yüksek bulunmaktadır. Akım farkı gözetmeksizin

tüm periyotların hem giriş hem de çıkış AOPP değerlerinin, kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu bu çalışmalarda, yüksek akımlı HD işleminin AOPP klirensini artırdığı gösterilmiştir (92,93). Protein oksidasyon belirteci olan AOPP, aynı zamanda *in vivo* biyolojik etkilere sahip, monosit aktivasyonu da yapabilen bir üründür (34). AOPP değerlerinin, yüksek akım membranlarla uzaklaştırılarak diyaliz sonrası artışının önlenmesi (92,93), bu hastalarda varlığı kabul edilen ve pek çok KBY komplikasyonu patogenezinin sorumlu tutulan mikroyenflamasyon/oksidatif stres döngüsünün derecesi ve yaygınlığının azaltılmasında önemli bir katkı sağlayabilir.

Literatürde HD işleminin AOPP düzeylerini arttırdığını tespit eden çalışmalar (27,67,81,92,93); bu değişikliği membranın düşük akım olmasına (92,93) veya membranın nötrofil aktivasyonu yapmasına (27,67,81) bağlamışlardır. AOPP değerlerini artırmada, membranın farklı yapıda olmasının (rejenere selülöz ve polisülfan) etkili olmadığı da iddia edilmiştir (67).

Bu çalışmada HD işleminin plazma AOPP düzeylerini yaklaşık iki kat artırdığı tespit edilmiştir. Plasebo grubunda diyalizle belirgin yükselen AOPP düzeylerinin; kullanılan selülöz diasetat membranlarının düşük akımlı olması ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Ayrıca ve daha önemli olarak, bu yükselmeden HD sonrası daha da yükseldiği belirlenen MPO-HOCl sisteminin sorumlu olduğu öne sürülebilir. HD seansı sırasında akut yükselme gösteren oksidatif olaylar, seanslar arası dönemde plazma düzeyleri giderek artan üremik toksinlerin oksidatif etkileri ile süreklilik gösterir. Diğer bir ifade ile, HD hastaları seanslar arası hafif, seans içi şiddetli olmak üzere “sürekli bir oksidatif hasar ile karşı karşıyadırlar” gibi gözükmektedir. Bunu destekler şekilde, bu çalışmada HD giriş MPO değerlerinin literatür kontrol grubu MPO değerlerinden yüksek oluşunu da tekrar vurgulamak önemli olabilir.

Serbest oksijen radikallerinin protein zincirinde bulunan prolil, lizil, arjinil ve treonil gibi amino asit artıkları ve/veya peptid bağlarıyla ya da sisteinil, lizil, histidil artıklarının lipid ya da karbohidratlardan türeyen reaktif karbonil bileşikleriyle etkileşimi sonucu protein üzerinde oluşan PCC, erken oksidatif protein hasarının gösterilmesinde, sıklıkla kullanılmaktadır (25).

Üremide düzeyleri artan reaktif karbonil bileşiklerinin (PCC’yi de kapsayacak şekilde) proteinlerde meydana getirdiği karbonil modifikasyonlara “karbonil stres”

adını veren Miyata ve ark (32); oksidatif stres kaynaklı da olabilen bu moleküllerin ateroskleroz, KVH vb pek çok fizyopatolojik sonuçlara yol açabileceğini öne sürmüşlerdir.

Eşit konsantrasyonda (10 mM) HOCl ve H₂O₂ ile *in vitro* inkübe edilen plazma örneklerinde, HOCl'nin H₂O₂'den ~120 kat daha fazla PCC oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (85). AOPP'nin yanı sıra, MPO-HOCl'nin sorumlu olduğu oksidatif hasarların takibinde plazma PCC düzeylerinin de bir *biyomarker* olarak kullanılabileceği söylenebilir.

AOPP'nin yanı sıra, güvenilir bir oksidatif stres *marker*'ı olarak kabul edilen PCC'nin; HD hastalarında sağlıklı gönüllülere göre yükseldiğini (8,66,85,90,92-97); ayrıca HD işleminin yüksek olan PCC düzeylerini daha da yükselttiğini (90,92,97), değiştirmediğini (8,66,85,93) ya da azalttığını (92,93) bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

HD hastalarında yüksek bulunan PCC düzeyleri, hem oksidatif strese bağlı RCC oluşumunun artmasına hem de antioksidan kaybına bağlı RCC detoksifikasyonunun azalmasına bağlanmıştır (96).

PCC düzeylerinin HD işlemi ile değişmediğini bildiren çalışmalar (8,66,85,93) farklı görüşler ortaya atmışlardır: diyaliz sırasında (8,85) veya diyaliz sonunda (85) PCC oluşumuna neden olabilecek herhangi bir oksidasyon söz konusu değildir; PCC oluşumuna HD işlemi değil, renal yetmezliğin bizzat kendisi ya da intradiyalitik artan MPO'nun interdiyalitik dönemde yaptığı protein oksidasyonu etkisi neden olmaktadır (66); kullanılan membranın düşük ve orta akım hızına sahip olması PCC düzeylerini belirlemede daha önemlidir (93).

Her ikisi de yüksek akım olan farklı diyalizerler (polisülfon ve selüloz triasetat) ile yapılan HD işlemi sonunda artan PCC değerlerinin; diyalizin erken dönemlerinde artış gösteren nötrofil oksijen radikal üretiminin bir sonucu olduğunu öne süren Ward ve ark (90)'na tezat olarak; yüksek akım polisülfon (92, 93) ve selüloz triasetat (93) kullanan başka çalışmalarda düşük molekül ağırlığından dolayı PCC düzeylerinin azaldığı (92,93), küçük por çapına sahip düşük akım polisülfon membranla klirensinin azalmasına bağlı arttığı (92) veya değişmediği (93) bildirilmiştir

İki farklı (kuprofan ve polisülfon) membran kullanılan bir çalışmada; PCC düzeylerinin diyaliz sonunda kuprafon membran ile yüksek, polisülfon membran ile değişmemiş olduğu belirlenmiştir. Bu durum kuprafon membranın oksidatif stresi daha çok uyardığı şeklinde yorumlanmıştır (97).

Bu çalışmada plasebo grubunda diyaliz sonunda PCC düzeylerinin, AOPP değerlerine benzer şekilde, önemli ölçüde yükseldiği gözlenmiştir. Hem AOPP hem de PCC'nin yüksek değerleriyle ifade edildiği gibi, HD işlemi ile tetiklenen MPO-HOCl sisteminin seans sırasında belirgin bir protein oksidasyonuna neden olduğu söylenebilir. Diğer taraftan, bu çalışmada düşük akım hızına sahip selüloz diasetat membranlarının kullanımına bağlı, uzaklaştırılamayan PCC'nin birikiyor olduğu da öne sürülebilir.

Oksidatif stres nedeniyle oluşan tiyol kaybı Himmelfarb ve ark (85) tarafından “tiyol stres” olarak adlandırılmıştır. Tiyol stres hem protein oksidasyonunu hem de antioksidan gücün kaybını göstermesi bakımından önemlidir.

Tiyol bileşiklerinin seçici olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilindiğinden, plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir. Albümin serbest tiyol gruplarından dolayı plazmanın en önemli antioksidanıdır (17).

In vitro koşullarda plazma örnekleri, 10 mM HOCl ve 10 mM H₂O₂ ile inkübe edildiğinde, HOCl'nin H₂O₂'ye göre tiyol konsantrasyonunda yaklaşık üç kat daha fazla azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (85). Himmerfalb ve ark (85)'nin yaptığı bu çalışmanın sonuçlarına dyanarak, tiyol oksidasyonundan HOCl'nin sorumlu olduğu; diğer bir ifade ile tiyolün HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidan olduğu söylenebilir.

Tiyol düzeylerinin, sağlıklı gönüllülere göre HD hastalarında azaldığı (5,8,66,84, 85,90,94,95); diyaliz öncesi düşük olan tiyol düzeylerinin ise diyaliz sonrasında yükseldiği (8,66,84,85,90) bildirilmektedir.

HD tedavisi alan ve almayan KBY hastalarının RCC ve tiyol düzeyleri arasında fark bulamayan Mimic Oka ve ark (94), KBY derecesinin şiddeti ile yüksek RCC ve düşük tiyol düzeyleri arasında herhangi bir ilişki gösterememişlerdir. Numerik olarak en düşük tiyol ve en yüksek RCC seviyelerinin HD grubuna ait olması da; KBY'de süregelen oksidatif stresin HD işlemi sırasında akut alevlenme gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

Gerek yüksek akım-biyouyumlu gerek düşük akım-biyouyumsuz iki membranla yapılan HD işleminde, plazma tiyol düzeylerinin seans boyunca giderek yükseldiğini ve HD sonunda normal düzeye ulaştığını bildiren Himmerfarb ve ark (85); üremik hasta plazmasında protein oksidasyonuna neden olan küçük molekül ağırlıklı, diyalizabl toksinlerin var olabileceğini öne sürmüşlerdir. HD sonrası 30. ve 60. dakikalarda bile değişmeyen tiyol değerleri ise, diyaliz sonunda oksidasyon olmadığı şeklinde yorumlanmıştır (85).

Yüksek akıma sahip iki farklı membran (polisülfon/selüloz triasetat) ile plazma tiyol değerlerinin, HD sonunda artarak normal düzeye ulaşması; serbest aminotiyoller ve/veya protein -SH gruplarına geri dönüşümlü bağlanan üremik toksinlerin uzaklaştırılması sonucu olabileceği bildirilmiştir (90).

Düşük akım selülöz diasetat membran ile gerçekleştirilen bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak, HD öncesi düşük olan tiyol düzeylerinin HD sonunda yaklaşık iki kat yükseldiği belirlendi.

Bu çalışmada MPO, AOPP ve PCC gibi oksidatif stres parametrelerinin HD sonunda yükselmesine bağlı olarak azalması beklenen tiyol düzeylerinin de artmış bulunması tezat gibi görünse de; bu bulgu diyalizle uzaklaştırılan üremik toksinlerden kaynaklanan oksidasyonun, hem yaygınlık hem de etkinlik bakımından, ne denli büyük olduğunu yansıtabilir. Diğer bir ifadeyle üremik şartlarda gerçekleşen kronik oksidatif stresin, bu hastalarda gözlenen KVH patogenezinde en az HD işlemi sırasında oluşan akut oksidatif stres kadar etkili olduğu söylenebilir.

Karaciğerde sentezlenen, arilesteraz, paraoksonaz ve laktonaz aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında kalsiyum bağımlı ester hidrolaz olan PON1; dolaşımda HDL-C yapısında taşınır (47).

HDL-C'nin, sadece ters kolesterol transportunu gerçekleştirerek değil aynı zamanda PON1 aktivitesiyle LDL-C'yi oksidasyondan koruyarak da etki gösterdiği öne sürülmektedir. PON1'in antioksidan etkilerinden sorumlu olan aktif bölgesinin sisteinden zengin olması, bu enzimi aynı zamanda oksidatif stres için ideal bir hedef haline getirmektedir (98).

Literatürde HD hastalarında PON1 aktivitesinin sağlıklı gönüllülere göre düşük olduğu (5-7,12,13,70,84,99); hemodiyaliz işlemi ile PON1 aktivitesinin diyaliz sonunda değişmediği (84) ya da yükseldiği (6,70,99) bildirilmektedir.

Yapılan çalışmalarda HD hasta grubunda sağlıklı gönüllülere göre PON1 aktivitesi, HDL-C ve Apo-A1 seviyelerinin belirgin düştüğü (7,12,13,70); HDL-C ile standardize edilmiş PON1 aktivitesinin düştüğü (13) veya değişmediği (7,12,84); Apo-A1 ile standardize edilmiş PON1 aktivitesinin düştüğü (13) veya değişmediği (7) bildirilmiştir. PON1 aktivitesinde gözlenen bu azalmanın, bu hastalarda saptanan HDL-C ve Apo A1 düşüklüğüne (7,12), üremik ortamın bir sonucu olabileceğine (7,12) ya da HDL-C ve Apo-A1 seviyelerindeki değişikliklerden bağımsız (13) olabileceğine dair teoriler vardır.

Farklı doz ve sürelerde olmak üzere, HD hastası plazma ultrafiltratları ile inkübe edilen sağlıklı kişi plazmalarında PON1 aktiviteleri incelendiğinde; ultrafiltrat dozuna ve inkübasyon zamanına bağımlı olarak PON1 aktivitesinin üç kat azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmanın *in vivo* bölümünde, hastalara ait HDL-C değerlerinde anlamlı bir değişim olmaksızın, PON1 aktivitelerindeki artışın, diyaliz etkinliği ile yüksek korelasyon göstermesi, PON1 üzerine inhibitör etki yapan üremik toksinlerin HD işlemi ile uzaklaştırılmasına bağlanmıştır (70).

Gugliucci ve ark (99), sağlıklı gönüllülere göre HD hastalarında üç kat yüksek bulunan akrolein ve düşük bulunan PON1 düzeylerinin HD işleminden sonra sırasıyla % 32 azaldığı ve % 20 arttığı bildirilmiştir. HD sonrası düşen akrolein ile yükselen PON1 aktiviteleri arasında belirlenen anlamlı korelasyonlar, bu iki parametre arasında neden/sonuç ilişkisi olabileceği biçiminde yorumlanmıştır. Araştırmacılara göre, HD hastalarında yükselen akrolein, antioksidan etki gösteren aktif bölge için kritik olan sistein artığını modifiye ederek, PON1 inaktivasyonuna neden olmaktadır (99).

Buna benzer şekilde, Sutherland ve ark (100) sağlıklı kişilerden elde edilen serum örneklerini eşit konsantrasyonlarda HOCl veya H₂O₂ gibi oksidanların giderek artan miktarlarıyla inkübe ettiklerinde; H₂O₂ ile neredeyse hiç değişmeyen PON1 aktivitesinin HOCl ile doza bağımlı olarak azaldığını göstermişlerdir. HOCl ile PON1 aktivitesinde oluşturulan etki, HD hasta serumlarıyla da tekrar elde edilmiştir. Diğer bir ifade ile, HOCl ile inkübe edilen serumun üremik oluşu, ilave PON1 azalışına neden olmamıştır. PON1 aktivitesinde gözlenen bu azalma HOCl ile beraber ortama eklenen sistein ve lizin ile tamamen önlenebilmiştir (100).

Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak diyaliz sonrasında ölçülen PON1 aktiviteleri, yükselmiş olarak bulundu. Üremik toksinlerin diyalizle uzaklaştırılması ile arttığı düşünülen tiyol düzeylerinin, “sacrificial-kurban” antioksidan görevi görerek, diyaliz sırasında ortaya çıkan SOR türevlerine karşı ilk müdahaleyi yaparak PON1’i oksidatif modifikasyonlardan koruduğu öne sürülebilir. Diğer bir ifadeyle, diyaliz sırasında antioksidan olarak tüketilenden çok daha fazla oranda tiyol grubu üremik toksin baskısından kurtulmakta; sonuç itibarıyla seans içinde tüketilmesine rağmen diyaliz sonunda yüksek bulunmaktadır.

Dolaşımda bulunan PON1, HDL-C yapısında yer aldığından, HDL-C konsantrasyonundaki değişimler de PON1 düzeylerini etkileyebilir. HDL-C ve/veya Apo-A1 değişimine bağlı PON1 değişimlerini nötralize etmek için, PON1/HDL-C ve PON1/Apo-A1 oranları ile PON1 düzeylerini karşılaştıran çalışmalar da, PON1 bulgularının değiştiği (13) ya da değişmediği (7,12,84) öne sürülmüştür. Bu çalışmada plasebo grubu HD çıkışına ait HDL-C düzeyleri çalışılmadığından; PON1 düzeylerinde belirlenen bu yükselmenin HDL-C artışına bağlı bir değişim olup olmadığına karar verilemedi.

Serbest tiyol grubu içeren bir amino asit olan Hcy’in yükselmiş plazma düzeyleri, KVH için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (101).

Sağlıklı gönüllülere göre, HD hastalarında homosistein düzeylerinin yükseldiği (84,102-106) veya değişmediği (107); HD öncesi yüksek olan homosistein düzeylerinin diyaliz sonunda azaldığı (75,84,102-106) veya değişmediği (107) bildirilmektedir.

Hemodiyaliz işleminin plazma homosistein düzeylerini % 40 (106), % 38.6 (104) % 23.7 (102) ve % 19 (103) gibi farklı oranlarda azalttığı; bu azalmanın diyaliz tekniği (102-104) ve diyaliz sıklığı (102) ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Bu azalmanın plazma serbest Hcy fraksiyonunun ve/veya Hcy metabolizmasındaki enzimler üzerine inhibisyon yapabilen, üremik toksinlerin diyaliz ile uzaklaştırılmasına bağlı olabileceği öne sürülmüştür (102,106).

Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak plasebo grubu HD sonrası Hcy düzeylerinin yaklaşık % 40 azaldığı gösterildi. Hcy metabolizması enzimleri üzerinde üremik toksinlerle oluşturulan inhibisyonun, HD işlemi ile ortadan kaldırıldığı ve böylece metabolize olabilen Hcy miktarının artırıldığı söylenebilir. Bu

çalışmada plasebo grubuna ait, laktonaz aktivitesine de sahip olan, plazma PON1 aktivitelerinin HD sonunda yükselmesi de (~% 20); Hcy azalmasının muhtemel bir nedeni olarak sayılabilir.

N-homosisteinilasyon reaksiyonlarına kolayca girmesi nedeniyle, Hcy toksisitesinden sorumlu ana molekül olarak kabul edilen Hcy-tiyolakton (Hcy-T), PON1'in laktonaz aktivitesi ile Hcy'ye dönüştürülür (51). Hcy'nin non-diyalizabl protein kompleksleri şeklinde vücutta birikimine neden olabilen Hcy-T'nin artmış PON1 aktivitesine bağlı olarak daha az reaktif Hcy'ye dönüştürülmesinin faydalı olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada ve literatürde (8,66,84,85,90) gösterildiği gibi, HD işlemi ile yükselen tiyol gruplarının, hem aktif bölgesinde serbest tiyol grubu içeren PON'in aktivitesini arttırdığı hem de Hcy'nin serbest tiyol grubu oksidasyonu ile çeşitli reaksiyonlara girmesini önlediği düşünülebilir.

Yükselmiş oxLDL düzeylerinin, koroner arter hastalığının şiddetini belirlemede önemli bir *marker* olduğu gösterilmiştir (55). *In vivo* oxLDL oluşumundan, metal aracılı oksidasyondan ziyade arteriyel duvarda hücre aracılı oksidatif, enzimatik aktivitenin rol oynadığı belirtilmektedir (108). Arteriyel duvarda özellikle MPO-H₂O₂-NO₂ sistemi tarafından lipid peroksidasyonuna neden olan reaktif nitrojen türleri oluşmaktadır (55). Prospektif bir çalışmada 4 yıl izlenen 94 HD hastasına ait oxLDL'ye karşı gelişen otoantikör seviyeleri ile kardiyovasküler mortalite oranları arasında anlamlı ilişkiler gösterilmiştir (109).

In vitro bir çalışmada HD tedavisi uygulanan hastalarda HDL-C yokluğunda bakırla indüklenen LDL oksidasyonunda, lag fazının kısaldığı; yani LDL'nin oksidasyona duyarlılığının belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Yazarlar bu durumu HDL ile ilişkili PON1 enziminin yokluğu ile ilişkilendirmişlerdir (72).

Yapılan literatür taramasında HD hastalarında sağlıklı gönüllülere göre oxLDL düzeylerinin arttığı (107); HD işleminin oxLDL düzeylerini yükselttiği (110-112) ya da değiştirmede (107,110,112,113) bildirilmektedir.

Bir kısmında diyabet bulunan 48 HD hastasında, vasküler kalsifikasyonu olanlarda daha belirgin olmak üzere, HDL-C düzeylerinin düşük, oxLDL/LDL-C oranının ve CRP düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiş; kardiyovasküler hastalıklar ile periferik vasküler hastalıkların ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (71).

E vitamini ile kaplanmış selülöz (110) ve polisülfon (111) membranlar ile kaplanmamış selülöz (110), polisülfon (107,111) membranların tek seans kullanımını inceleyen çalışmalarda; kaplanmamış membranlarla diyaliz sonrası oxLDL düzeylerinin arttığı (110,111) ya da değişmediği (107); E vitamini kaplanmış membranlar da ise arttığı (111) ya da değişmediği (110) bildirilmiştir. Tek seanslık HD işleminin iki membran arasında fark oluşturmadığını, diyaliz membranının E vitamini ile kaplanmasının akut olumlu bir etki göstermeyerek oxLDL farkı yaratmadığı gösterilmiştir (111). Kronik olarak (18 ay) polisülfon membran kullanımının oxLDL düzeylerinde fark oluşturmadığı; farklı bir gruba 6 aylık E vitamini kaplı polisülfon ve ardından 12 ay polisülfon membran ile HD yapıldığında; 6. ayın sonunda oxLDL düzeylerinde başlangıca göre anlamlı bir azalma belirlenmiştir. Bunu takiben uygulanan E vitamini kaplanmamış polisülfon membran uygulaması (12 ay), E vitamini uygulanan periyoda göre oxLDL'yi artırmış ancak çalışma ilk başlangıç değerlerine göre farksız bulunmuştur. Morimoto ve ark (111), bu bulguları “HD işlemi ile artan oksidatif stres, antioksidan E vitamini ile kaplı membran tarafından elimine edilebilir” şeklinde yorumlamışlardır.

Polisülfon ve kuprofan membranlarla yapılan HD işleminin oxLDL düzeylerini etkilemediği; oxLDL'yi etkileme bakımından da membranlar arasında fark olmadığı öne sürülmüştür. Serum vitamin E düzeylerinin düşmesine neden olan kuprofan membranla yapılan HD işleminde oxLDL değerlerinin etkilenmemesi, hemodiyaliz sırasında oluşan yeni oxLDL bileşiklerinin hızlı bir şekilde uzaklaştırılması ile açıklanmıştır (113).

Düşük akım selüloz diasetat membran kullanılan bu çalışmada, HD sonrasında plasebo grubunda oxLDL düzeylerinde numerik bir artışa rağmen istatistikî bir fark olmadığı belirlendi. HD işlemi ile yükseldiği belirlenen MPO-HOCl sistemine bağlı olarak artması beklenen oxLDL düzeylerinin, artmış PON1 aktivitesi nedeniyle değişmediği düşünülebilir.

Kronik böbrek yetmezliğinde, SOR üretiminde artma ve antioksidan defansta yetersizlikle seyreden bir oksidatif stres söz konusudur. Hemodiyaliz işlemi oksidatif stresin daha da artmasına neden olur. KBY'de ateroskleroz, diyalize bağlı amiloidozis, anemi, malnütrisyon ve artmış kanser riskinin patogeneğinde rol oynayan oksidatif stres, morbidite ve mortaliteyi artıran önemli sebeplerden biridir. Bu nedenle KBY'de oksidatif stresi azaltmak için, enflamatuvar hücre

aktivasyonunun ve mediyatörlerinin azaltılması, antioksidan etkili terapötik ajanların tedaviye eklenmesi önerilmektedir. Bu hastalarda statin kullanımı veya artırılmış diyaliz dozuna rağmen azaltılamayan KVH riskinin, vitamin C ve E uygulamaları ile azaltıldığının gösterilmesi; antioksidan kullanımını daha fazla önemsemenin daha faydalı sonuçlar üreteceğini düşündürebilir (114).

İki yıl boyunca 800 Ü/gün E vitamini verilen 196 HD hastasında, KVH riskinde belirgin azalma gözlenmesine rağmen total ölüm ve kardiyovasküler ölüm nedenleri arasında herhangi bir fark gözlenmediği bildirilmiştir (115).

SDBY'li hastalarda gözlenen oksidatif stresin ana sorumlusunun, kronik olarak üremik toksinlerle ve/veya akut olarak diyaliz işlemi ile aktiveleşen nötrofil-MPO-HOCl sisteminin olduğu düşünüldüğünde; tedavide hangi antioksidanın kullanılacağı önem kazanmaktadır. Tiyol bileşiklerinin seçici olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı ve plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu düşünüldüğünde (17); serbest tiyol gruplarına sahip olan NAC'ın (57,58) HD hastalarında oksidatif stresin azaltılmasına yönelik en ideal tedavi yaklaşımı olabileceği söylenebilir.

Sistein amino asidinin N-asetil türevi olan NAC (57), yıllardır mukolitik ajan olarak solunum sistemi hastalıklarında kullanılmaktadır. Mukolitik etki; NAC'ın sahip olduğu serbest tiyol grubu ile balgamin mukoprotein yapısındaki disülfid köprülerini kırmasına ve böylece balgamin viskozitesini azaltmasına bağlanmaktadır (14,58).

HD hastalarına oral NAC uygulayan çalışmalar; 2x600 mg/gün (116-119), 3x200 mg/gün (120), 1x600 mg/gün (121) gibi farklı dozlar ve iki haftadan (116) 14.5 aya (117) kadar değişen süreler tercih etmişlerdir. Diyaliz seansı sırasında *iv* NAC kullanan çalışmalarda ise, genellikle 5 gr/seans (102,104,106) tercih edilmiştir. Sağlıklı bireylerde plazma Hcy düzeylerini etkin şekilde düşürebilen dozun *iv* 50 mg/kg olması (122) ve kontrast madde ile indüklenen nefropatiyi önleyebilen dozun *iv* 150 mg/kg olması (123) nedeniyle; bu çalışmada kullanılacak NAC dozunun *iv* 50 mg/kg vücut ağırlığı olmasına karar verildi. Plasebo uygulamasının yapıldığı seansı takip eden ardışık iki seans için, hastalara seans başlangıcından sonuna kadar, arteriyel yoldan SF içinde NAC uygulandı.

Literatürde sağlıklı gönüllülere (122,124-126), seans içi (75,102,104,106,127,128) ve seanslar arası (116-121,129-131) olmak üzere HD hastalarına; oral (116-121,129-

131) veya *iv* (75,102,104,106,127,128) NAC uygulaması yapan çalışmaların çoğunda herhangi bir yan etki rapor edilmemiştir. Sadece bir çalışmada 10 ardışık HD seansı boyunca *iv* NAC (5 g, % 5 glukoz içinde) verilen hastalarda, görülme sıklıkları % 6'yı geçmeyecek şekilde; abdominal ağrı, taşikardi, hipotansiyon, kaşıntı gibi yan etkiler rapor edilmiştir (127). Bu çalışmada iki HD seansı boyunca *iv* 50 mg/kg dozunda uygulanan NAC ile belirgin hiçbir yan etki gözlenmemiştir.

Sağlıklı gönüllülere 2 gün boyunca 2x600 mg/gün oral verilen NAC'tan 4 saat sonra kreatinin ve üre düzeylerinin azaldığı, GFR'nin arttığı, sistatin C düzeylerinde değişiklik olmadığı bildiren Hoffmann ve ark (125), NAC'ın kreatinin, BUN ve GFR değerlerine doğrudan etkilerinin olabileceğini öne sürmüşlerdir. Moist ve ark (132) tarafından daha yakın zamanda yapılan diğer bir çalışmada, Hoffmann ve ark (125)'nın bulgularına zıt sonuçlar elde edilmiştir. SDBY hastalarına 2x1200 mg/gün dozunda, 2 gün uygulanan oral NAC tedavisinin, kreatinin (serum/idrar), sistatin C, idrar protein düzeyi ve GFR gibi rutin böbrek fonksiyon testlerini etkilemediği gösterildiğinden, NAC uygulamasının hastanın var olan renal fonksiyonları üzerine olumsuz bir etki göstermediği öne sürülmüştür (132). Hatta kronik HD hastalarına 2x1200 mg/gün oral NAC uygulamasının rezidüel renal fonksiyonları düzelttiği de bildirilmiştir (116). Bu çalışmada plasebo grubu HD giriş değerleri ile NAC-2 grubu HD çıkış değerleri karşılaştırıldığında, HD işlemi ile BUN, kreatinin gibi testlerde gözlenen azalmalara, NAC tedavisinin ilave bir etkisi olmadığı görüldü.

SDBY hastalarında gözlenen lipoprotein anormallikleri, bu hastalarda gözlenen artmış KVVH riskini açıklamada suçlanan faktörlerden biridir. Çeşitli kolesterol düşürücü tedavilerin beklenen klinik faydaları vermemesi, bu hastalarda genellikle referans sınırlar içinde rapor edilen LDL-C düzeylerinin ateroskerozdan sorumlu olmadığını işaret etmektedir. Bu hastalarda gözlenen aterojenik etkilerden, oksidatif strese sekonder oluşan oxLDL'nin sorumlu olduğu fikri giderek önem kazanmaktadır.

Diyaliz tedavisi alsın almasın, SDBY hastalarında tespit edilen düşük HDL-C düzeylerinin; hem ters kolesterol taşınmasını azaltarak hem de PON1 enzim aktivitesinde eksikliğe neden olarak, ateroskleroza katkı yapabileceği düşünülmektedir. Oksidatif stresle ilişkili bu bulgular, SDBY hastalarında gelişen artmış KVVH riski ile mücadelede, sadece lipoprotein metabolizmasının değil aynı

zamanda oksidan-antioksidan dengenin de dikkate alınması gerektiğini düşündürmektedir (68).

Kolesterolden zengin diyetle 8 hafta beslenen ratlara, *ip* yoldan düşük, orta ve yüksek doz (25, 50 ve 100 mg/kg/gün) NAC uygulandığında; plazma TG düzeyinin düşük ve yüksek dozlarda; TC düzeylerinin ise sadece yüksek dozlarda düştüğü belirlenmiştir. Karaciğer dokusunda ise TC düzeylerinin her üç dozla, TG düzeylerinin ise yüksek dozda düştüğü gözlenmiştir (133).

Böbrek fonksiyonları normal hiperlipidemik 10 hastaya, farklı dozlarda (1200, 2400 ve 3600 mg/gün) 4 hafta uygulanan NAC ile; hiçbir dozda TC, TG ve lipoprotein (a) düzeylerinin değişmediği, HDL-C düzeylerinin ise doza bağımlı bir tarzda olmak üzere, en yüksek dozda ~10mg/dL-% 16.2 yükseldiği gözlenmiştir. HDL-C düzeylerindeki artışı; lipoprotein lipaz aktivitesindeki artışa ve/veya hepatik lipaz aktivitesindeki inhibisyona bağlayan yazarlar, NAC'ın HDL-C düzeylerini modüle etmede ilginç bir farmakolojik ajan olabileceğini öne sürmüşlerdir (134). Renal transplantasyon yapılan, böbrek fonksiyonları stabil 25 hastaya 8 ay boyunca 2x600 mg/gün oral NAC uygulandığında; HDL-C düzeylerinin yükseldiği, TC, LDL-C ve TG düzeylerinin değişmediği belirlenmiştir (135).

Literatürde HD hastalarına uygulanan NAC tedavisinin lipid profiline etkisini inceleyen sadece bir çalışmada; oral, 6 ay boyunca, 600 mg/gün NAC tedavisi alan HD hastalarında TG, TC, LDL-C ve HDL-C düzeylerinde bir değişiklik gözlenmemiştir (119).

Bu çalışmada plasebo grubu HD giriş değerleri ile NAC-2 grubu HD çıkış değerleri karşılaştırıldığında, HDL-C düzeylerinin arttığı ve TC, TG, LDL-C düzeylerinin etkilenmediği görüldü. Plasebo grubu çıkış ve NAC giriş düzeyleri çalışılmadığından bu değişikliklerin HD işlemine mi yoksa NAC tedavisine mi bağlı olduğuna karar verilemedi.

GSH sentezini artırdığı; glukoz 6 fosfat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı; HOCl, HO[•] ve H₂O₂ gibi SOR türevleri ile doğrudan reaksiyona girdiği; NO üretim ve etkisini artırarak vazodilatatör etki gösterdiği (57,58) bilinen NAC'ın, kronik HD hastalarına farklı süre/dozlarda oral uygulamaları sonucunda; plazma MDA düzeylerinin düştüğü [2x600 mg/gün/1 ay] (131) veya değişmediği [2x600 mg/gün/1 ay] (118); SOD, GSH-Px, katalaz gibi

antioksidan enzimlerin ve total antioksidan kapasitenin etkilenmediği (118); aneminin düzeldiği, total antioksidan kapasitenin arttığı ve 8-izoprostan düzeylerinin azaldığı [3x200 mg/gün/4 ay] (120); ADMA, arjinin ve sistein düzeylerinin değişmediği [1x 600 ve 1x1200 mg/gün/2 hafta] (121) rapor edilmiştir.

Periton diyalizi ile tedavi edilen hastalara, 2x600 mg/gün oral NAC'ın 8 hafta uygulanmasından sonra, IL-6 düzeylerinde anlamlı bir azalma, TNF- α , hsCRP, pentraksin 3 düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (136). Hemodiyaliz hastalarına tek bir seans sırasında *iv* verilen NAC'ın (5 g) TNF- α ve IL-10 düzeylerini değiştirmede (75) gösterilmiştir.

Literatürde HD işlemi sırasında uygulanan NAC tedavisinin TNF- α düzeylerine etkisini inceleyen başka bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada plasebo grubunda HD işlemi ile gözlenen artış, NAC-1 ve NAC-2 gruplarında da gözlemlendi. Plasebo, NAC-1 ve NAC-2 gruplarının TNF- α artış değişimlerinin sırasıyla % 55.6, % 29, % 36 olduğu gözlemlendiğinde; NAC uygulamasının “artış miktarında azalma”ya neden olduğu; ancak istatistiksel fark elde edilemediği söylenebilir. Diğer bir ifade ile HD işlemiyle % 55.6 artış gösteren TNF- α değerleri, iki doz NAC uygulaması ile ortalama % 33 artış göstermiştir. TNF- α düzeyindeki artışın, NAC ile azalma eğilimi göstermesi; NAC doz ve/veya süresinin yetersizliğine bağlı olarak değerlendirildi. Yükselmiş TNF- α değerlerinin diyaliz hastalarında mortalite belirleyicisi olduğu dikkate alınırsa (38), daha yüksek doz ve sürelerle NAC uygulamasının incelemeye değer olacağı söylenebilir.

İzole rat kalbi modelinde neopterinle oluşturulan oksidatif stresin, NAC ile önlenemediğini belirleyen Balogh ve ark (137); günümüzde hücrel immün sistem aktivasyon göstergesi olarak kullanılan neopterin, aynı zamanda kronik hastalıklarda sıklıkla gözlenen kardiyak patolojilerin bir nedeni de olabileceğini öne sürmüşlerdir. Literatürde NAC tedavisinin neopterin düzeyleri üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada, plasebo grubunda HD işlemi ile gözlenen neopterin düşüşü, NAC-1 ve NAC-2 gruplarında da gözlemlendi. Ancak NAC tedavisinin bu düşüşe anlamlı bir katkısının olmadığı belirlendi. Neopterin seviyelerini düşürmeye yeterli insan NAC dozu hakkında literatür bilgisi bulunamamasına rağmen, uygulanan doz ve/veya sürenin yetersiz kaldığı düşünüldü.

Gerek üremik toksinler gerekse HD işleminin bizzat kendisinin başta nötrofiller olmaz üzere, çeşitli immün hücreleri aktive ederek oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir (63,64). KBY de gözlenen oksidatif hasar kaynağının aktif nötrofil-MPO-HOCl sistemi olduğu (29) baz alınarak, NAC ile yapılan antioksidan tedavi çalışmalarında, farklı doz, uygulama yolu ve süresi kullanılmıştır.

Sağlıklı kişilerden elde edilen nötrofillerin, 16 μ M ve 35 μ M konsantrasyonlarda NAC ile inkübasyonu, solunum patlamasını doza bağımlı bir şekilde inhibe edebilmiştir. Ayrıca yüksek dozda bile nötrofillerin fagositoz ve bakteri öldürme yetenekleri etkilenmemiştir. Oral 600 ve 1200 mg, tek doz NAC'ın insanlara verilmesi ile oluşan *in vivo* konsantrasyonlara karşılık gelen bu düzeyler karşılaştırıldığında; günlük tek doz 1200 mg NAC tedavisinin kronik oksidatif stres oluşturan hastalıklarda, enfeksiyona yatkınlık oluşturmada, güvenle kullanılabileceği öne sürülmüştür (138).

Oral yoldan, 2 hafta boyunca, 600 mg/gün NAC verilen sağlıklı gönüllülerden çalışma öncesi, ilaç verilmesinden 2 saat ve 2 hafta sonra izole edilen nötrofillerin solunum patlaması kapasiteleri ve kemotaksi yetenekleri karşılaştırıldığında; 2 saat sonra etkisiz olan NAC'ın 2 hafta sonunda bu parametrelerde belirgin düşmelere neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *in vitro* NAC ile inkübe edilen nötrofillerde elastaz salınımı ve solunum patlaması da inhibe edilebilmiştir. Bu bulgularına dayanarak Sadowska ve ark (126), hücrel tiyol düzeylerini yükselterek *in vivo* redoks durumunda iyileştirici etki yapabilmek için düşük NAC dozlarının daha uzun süre kullanılması gerektiğini önermişlerdir. Diğer taraftan nötrofil aktivasyonunu önleyebilmek için de yüksek NAC konsantrasyonlarının gerekli olduğunu öne sürmüşlerdir.

HSA ile HOCl inkübasyonu sonucu elde edilen düşük molekül ağırlıklı AOPP (HSA-AOPP)'nin, sağlıklı kişilerden izole edilen nötrofillerde, konsantrasyona bağımlı bir şekilde, hem NADPH oksidaz hem de MPO aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir (88). Şiddeti HSA-AOPP ile gözlenenden daha az olacak şekilde, benzer bulgular sentetik ve selüloz membranla HD yapılan hastaların plazmalarından elde edilen yüksek molekül ağırlıklı plazma fraksiyonları (yüksek molekül ağırlıklı AOPP'ye karşılık olacak şekilde) ile de elde edilmiştir. Nötrofil ve monositlerin 1 mg/mL NAC ile ön inkübasyonu sonrası tekrarlanan deneylerde, NADPH oksidaz ve/veya MPO aktivitelerinin anlamlı derecede azaldığı; benzer sonuçların NAC benzeri glutatyon

ve ditiyotreitol gibi moleküllerle de ortaya çıktığı gösterilmiştir. 0.01 mg/mL gibi daha düşük NAC konsantrasyonlarında, monositlerde hala önleyici etkiler gözlenirken, nötrofillerde önleyici bir etki görülmemiştir. HD hastalarından elde edilen nötrofillerin sağlıklılara göre daha aktif olduğu, HSA-AOPP gibi uyarılara daha da abartılı cevaplar vererek daha fazla SOR ürettiği öne sürülmüştür. Üremik hasta nötrofillerinin 1 mg/mL NAC ile ön inkübasyonu sonrası tekrarlanan deneylerde söz konusu bu uyarılmanın tamamen önlendiği belirlenmiştir (88). Witko Sarsat ve ark (88)'na göre; hücrelerin AOPP indüksiyonuna verdikleri solunum patlaması cevabı izlenerek, HD hastalarında gözlenen oksidatif stresi azaltmaya yönelik tedavi stratejilerinin etkinliği değerlendirilebilir. Diğer bir ifade ile, üremik hastalara uygulanan farklı antioksidan tedavilerin/moleküllerin etkinliğini belirlemede, AOPP ile indüklenen solunum patlaması cevabı bir “marker” olarak kullanılabilir. Yazarlara göre NAC ile gözlenen olumlu etkiler sadece onun antioksidan etkilerine değil, ayrıca ve büyük oranda hücre içi sinyal mekanizmaları ile yaptığı etkileşimlerle alakalıdır (88). Her ne kadar doğrudan MPO aktivitesi ölçülme de, aktifleşen nötrofillerin solunum patlaması izlenerek, MPO cevabının dolaylı olarak değerlendirildiği bu çalışmada, üremik hastalara NAC kullanımının faydalı sonuçlar doğuracağı öne sürülmüştür.

Literatürde HD hastalarına uygulanan NAC'ın plazma MPO aktivitesi üzerine etkilerini inceleyen sadece bir çalışmaya rastlanılmıştır. Oral, 2x600 mg/gün NAC'ın 6 ay uygulanması sonunda, MPO değerlerinin, azalmasına rağmen, anlamlı şekilde değişmediği belirlenmiştir (119).

Bu çalışmada, HD membranı ile uyarılan nötrofillerden kaynaklandığı düşünülen ve plasebo grubunda diyalizle yükselen MPO aktiviteleri; NAC-1 ve NAC-2 gruplarında da seans girişine göre anlamlı yüksek bulundu. Her üç diyaliz seansı çıkışında da yükselen MPO aktiviteleri, takip eden seansın girişinde bir önceki seans girişine göre farksız bulundu. Bu çalışmada NAC ile MPO aktivitelerinin yükselmesi önlenememiştir. Bu yetersizlik uygulanan NAC'ın doz ve uygulama süresi yetersizliğine bağlanabilir. MPO aktivitesini substrat oksidasyonu üzerinden değerlendiren metotların, üremik toksinlerle bazı interferanslar gösterdiği belirlendiğinden (81), KBY hastalarında MPO değişimlerini değerlendirmeyi hedefleyen çalışmalarda ELISA vb immünolojik yöntemlerin kullanılmasının daha faydalı olabileceği söylenebilir.

Sadece üremik hastalarda (139) değil üremik olmayan hastalarda da (140), fagositik hücre kaynaklı oksidatif stresin neden olduğu kardiyovasküler komplikasyonlar için en ilişkili belirtecin AOPP olduğu önerilmiştir (88). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, düşük akım polisülfon veya poliakrilamid membranlarla tedavi edilen 1539 HD hastasında ölçülen AOPP düzeylerinin, iskemik kalp hastalığı (İKH) gelişme riskini belirleyen bağımsız bir faktör olduğu öne sürülmüştür (91). SAPD hastalarına göre HD hastalarında daha yüksek ölçülen AOPP değerlerinin; yaş, diyaliz süresi, kolesterol düzeyi gibi parametrelerin yanı sıra MDA ve İKH varlığı ile anlamlı pozitif korelasyonlar gösterdiği de belirlenmiştir. Yukarıda özetlendiği gibi, HD hastalarında hem fagosit kaynaklı oksidatif hasarın hem de KVH riskinin belirlenmesinde, AOPP düzeyi takibinin önemli bir araç olabileceği söylenebilir.

Yüksek KVH riskine sahip 14 hastaya 20 gün boyunca 600 mg/gün, oral verilen NAC'ın, AOPP düzeylerinde belirgin azalma oluşturduğu bildirilmiştir (141). SAPD hastalarına 2x600 mg/gün oral NAC'ın iki ay uygulanması ile tedavi sonunda AOPP düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (136).

Literatürde HD işlemi sırasında NAC uygulamasının AOPP düzeylerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada seans içi NAC uygulaması ile her iki NAC seansında da, hem kendi giriş değerlerine göre hem de plasebo grubu giriş ve çıkış değerlerine göre anlamlı AOPP düşüşleri elde edildi. Diğer bir ifade ile NAC kullanımının hem diyalizin tetiklediği AOPP yükselişini önlediği hem de ilave bir AOPP düşüşüne neden olduğu belirlendi. Elde edilen bu düzeltici etkilere rağmen, takip eden diyaliz seansı girişinde hastaların aynı AOPP değerlerine sahip olduğu gözlemlendi. HD seansının ve/veya NAC etkisinin bitmesi ile beraber hastada gelişen üremik ortamın oluşturduğu oksidatif stresin, müteakip seansa kadar hastada tekrar hasara neden olduğu söylenebilir. HD seansı esnasında meydana gelen akut oksidatif stres her ne kadar NAC ile önlenemedi ise de, HD seansları arası gelişen kronik oksidatif stresi önlemek için de ilave tedavilerin planlanması gerektiği söylenebilir.

Marsche ve ark (142), sırasıyla *in vivo* ve *in vitro* olacak şekilde, HD hastalarından izole edilen albümin ile AOPP-albümin komplekslerinin, HDL-C reseptörü olan scavenger reseptör klas B tip 1 (SR-BI)'i bloke ettiğini; sonuçta HDL-C'nin ters kolesterol taşınması fonksiyonunu zayıflatarak, arter duvarı köpük hücre oluşumuna doğrudan katkı sağladığını öne sürmüşlerdir (142). NAC ile sağlanan AOPP

düşüşünün, buna benzer mekanizmaları da önleyerek faydalı sonuçlar oluşturabileceği düşünülmelidir.

Literatürde, HD tedavisi alan hastalara uygulanan NAC'ın, protein oksidasyonunun önemli belirteçlerinden olan PCC seviyeleri üzerine etkisini inceleyen iki çalışma tespit edilebilmiştir. Oral NAC'ın, 600 mg/gün (121) ve 1200 mg/gün (119,121) dozlarında, 14 gün (121) ve 6 ay (119) süreyle uygulanması ile plazma PCC düzeylerinin değişmediği bildirilmiştir.

Literatürde diyaliz seansı sırasında uygulanan *iv* NAC ile PCC düzeylerinde oluşan değişimleri inceleyen bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada ardışık iki seans sırasında uygulanan NAC ile serum PCC değerlerinin, hem kendi giriş değerlerine göre hem de plasebo grubu giriş ve çıkış değerlerine göre anlamlı düşüşler gösterdiği gözlemlendi. Diğer bir ifade ile plasebo grubunda HD işlemi ile anlamlı derecede yükselen PCC değerlerinin; NAC ile hem yükselmesi önlenebilmiş hem de giriş değerlerinden daha düşük düzeylere inmesi sağlanabilmiştir. AOPP parametresinde gözlenen değişikliğe benzer şekilde; elde edilen bu düzeltici etkilere rağmen, sonraki diyaliz seansı girişinde hastaların plasebo giriş PCC değerlerine yeniden ulaştığı gözlemlendi. Bu bulgular NAC kaynaklı antioksidan desteğin tükenmesi ve/veya HD işleminden çıkan hastada birikmeye başlayan üremik toksinlerin yeniden oksidatif hasara yol açmasıyla açıklanabilir. NAC uygulamasıyla akut oksidatif stresin (seans içi) önlenemediği oysa kronik oksidatif stresin (seanslar arası) önlenemediği de düşünülebilir.

Dolaşımda başlıca albümin yapısında bulunan serbest tiyol gruplarının, seçici olarak HOCl ve kloraminler gibi nötrofil kaynaklı oksidan bileşikler yakaladığı bilindiğinden, plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidan molekül olduğu söylenebilir (17).

Kolesterolden zengin diyetle 8 hafta beslenen ratlara, *ip* yoldan 25, 50 ve 100 mg/kg/gün NAC uygulamasının, her üç dozda da, doza bağımlı olarak glutatyon düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (133).

SAPD hastalarına iki ay 2x600 mg/gün, oral NAC uygulanması ile tedavi sonunda tiyol ve glutatyon düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (136).

HD hastalarına 14 gün boyunca oral 600 ya da 1200 mg/gün dozunda uygulanan NAC tedavilerinin, glutatyon düzeylerine etkili olmadığı bildirilmiştir (121).

Literatürde HD hastalarına seans sırasında verilen NAC'ın plazma tiyol düzeylerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada birbirini takip eden iki seans sırasında uygulanan NAC ile HD çıkış plazma tiyol düzeylerinin, plasebo çıkış düzeylerinden istatistiksel olarak farklı olmamasına rağmen, numerik olarak yüksek olduğu belirlendi. Üremik toksinlerin uzaklaştırılmasına bağlı azalan oksidatif stres nedeniyle, HD işleminin tiyol düzeylerini rejenere ederek yükselttiği gösterilmiştir (8,66,84,85,90). HD sırasında oluşan akut oksidatif stresin, NAC varlığında hafifletilmesi/önlenmesi nedeniyle, tiyol rejenerasyonu daha belirgin hale gelmiş olabilir. Ancak, NAC ile nispeten daha da yükseltilebilen tiyol değerlerinin, takip eden seansın girişine kadar geçen sürede azalarak, plasebo grubu giriş tiyol değerlerine düştüğü görüldü. Diyaliz işleminden hemen sonra yavaş yavaş, tekrar birikmeye başlayan üremik toksinlerin oksidan etkisine bağlanabilecek bu değişim, seanslar arası da antioksidan bir tedavinin gerekli olduğunu düşündürülebilir.

Hem LDL-C'yi hem de HDL-C'yi oksidasyondan koruyan PON1; ayrıca lipoprotein kaynaklı peroksidleri hidroliz eder (49).

Üremik toksin (70) veya HOCl (100) ile oluşturulan PON1 inaktivasyonunun ortama eklenen sistein ile önlenemediği gösterilmiştir (99,100).

HD hastalarında gözlenen HDL-C'den daha fazla azaldığı tespit edilen PON1 aktivitesinin; akrolein gibi moleküllerle (99) ve/veya üremik toksinlerle (70) oluşan inaktivasyonla azaldığı öne sürülmüştür. Bu teoriyi destekler şekilde, bir RCC olan akrolein ile inkübe edilen PON1'de oluşan inaktivasyonun sistein ile önlenirken aminoguanidin ve karnozinle önlenemeyişi; akrolein vb oksidan bileşiklerin PON1 yapısında bulunan sistein grubunu hedef aldıkları şeklinde yorumlanmıştır (99).

İster akrolein (99) ister HOCl (100) isterse üremik toksin (70) kaynaklı olsun, HD hastalarında gözlenen oksidatif PON1 inaktivasyonunun, antioksidan bir ajanla önlenemediğini gösteren in vivo bir çalışma literatürde bulunamamıştır.

Bu çalışmada NAC uygulanan iki HD seansında da tiyol düzeylerindeki değişime benzer şekilde, diyaliz çıkış plazma PON1 aktivitelerinin, plasebo çıkış aktivitelerinden istatistiksel olarak farklı olmamasına rağmen, numerik olarak yüksek olduğu gözlemlendi. Üremik toksinlerin diyalizle uzaklaştırılması nedeniyle inaktivasyondan kurtularak yükselen PON1 aktivitelerinin, NAC varlığında daha da yükseldiği söylenebilir. Yükselen PON1 aktivitelerinin takip eden HD seansı

girişinde plasebo grubu giriş değerlerine yakın olacak şekilde düşük bulunması; üremik toksinlerin seanslar arası birikimiyle açıklanabilir. PON1 aktivitesinde NAC ile belirgin ve anlamlı bir yükselme elde edilemeyişi, doz ve/veya uygulama süresi yetersizliğine bağlanabilir. Azalmış PON1 aktivitesi ile KVH arasında belirlenen güçlü ilişkiler (51) göz önüne alınacak olursa; PON1 aktivitelerini tamamen düzeltebilecek etkin NAC dozunu belirlemek için, HD tedavisi alan KBY hastalarına daha yüksek doz ve sürelerle NAC uygulaması önerilebilir.

Yükselmiş plazma düzeyleri, KVH için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilen Hcy'nin (101), sağlıklı kişilere oral (124) ve *iv* (122) verilen NAC ile azaltılabildiği gösterilmiştir. NAC'ın, proteinlere bağlı Hcy'i NAC-sistein, NAC-homosistein gibi karışık disülfid formlarına çevirerek üriner atılımını artırdığı; ayrıca plazma sistein düzeylerini de artırdığı belirlenmiştir (122,124).

SAPD hastalarına, iki ay boyunca, 2x600 mg/gün NAC'ın oral uygulanması ile tedavi sonunda homosistein düzeylerinde değişiklik oluşmadığı belirlenmiştir (136). HD hastalarına 14 gün, 600 ya da 1200 mg/gün, oral NAC tedavisi ile; her iki NAC dozunda da homosistein düzeylerinin belirgin azaldığı bildirilmiştir (121).

Hastalara *iv* verilen NAC ile HD işlemi sonrası Hcy düzeyinin plasebo grubuna göre daha belirgin azaldığı (102,104,106) ya da fark olmadığı (75) bildirilmiştir.

HD işleminin tek başına sağladığı Hcy düşürme oranlarının, bir HD seansı boyunca, *iv* verilen 5 g/seans NAC ile daha da artırıldığı rapor edilmiştir. HD ve HD+NAC değişimlerini sırasıyla gösterecek şekilde; % 40-% 90 (106), % 38.6-% 65.3 (104) ve % 23.7-% 88.3 (102) oranında plazma Hcy azalmaları gözlenmiştir. Gözlenen bu olumlu etkiler, proteinlere bağlı Hcy'nin, NAC etkisiyle serbestleşmesi ve diyalizle uzaklaştırılabilme ihtimalinin artırılmasıyla açıklanmıştır (102,104,106). Bu olumlu etkilere ilave olarak, NAC tedavisi ile nabız basıncında ve endotelial fonksiyonda da iyileştirici etkiler belirlenmiştir (102,106). HD hastalarında en sık ölüm nedeni olarak belirlenen KVH riskine katkıda bulunabileceği düşünülen hiperhomosisteineminin; HD işlemi ile tek başına normalize edilemeyeceği ama *iv* verilen NAC ile düzeltebileceği öne sürülmüştür (102,106). Scholze ve ark (106), NAC ile sağlanan olumlu Hcy değişimlerinin sadece HD seansı sonrası 48. saate kadar sürdüğünü belirlemişlerdir. Diğer bir ifade ile seanslar arası zamanda, hiperhomosisteinemi yeniden baskın hale geliyor gibi görünmektedir. Her ne kadar

yazarlar tarafından dile getirilmese de, diyaliz seansları arası dönemde de NAC kullanımının, bu olumsuz etkiyi önleyebileceği düşünülebilir.

Plasebo, metilen tetrahidrofolat (15 mg/seans, *iv*) ve metilen tetrahidrofolat (*iv*) + NAC (5 g/seans, *iv*) şeklinde üç farklı tedavi uygulanan hastaların plazma Hcy düzeyleri, ilk HD seansı sonunda eşit derecede azalmıştır. Söz konusu tedavilerin 10. HD seansı giriş değerleri karşılaştırıldığında; plasebo grubuna göre, her iki tedavi grubunda da (aralarında fark olmaksızın) belirgin düşük Hcy düzeyleri elde edilmiştir. 10. seans sonu bakımından NAC tedavisi ile düşen Hcy değerlerinin normal sınırlara indiği; buna rağmen metilen tetrahidrofolatla %50 oranında azaltılan Hcy değerlerinin hala normal sınırların üstünde, yüksek olduğu rapor edilmiştir. Perna ve ark (127)'na göre, HD hastalarında total Hcy düzeylerini normalize etmeyi hedefleyen stratejilerde, NAC uygulaması önemli bir seçenek olarak düşünülmelidir. Yazarlara göre ortamda bulunan NAC, Hcy ve/veya sisteine göre albumin ile daha hızlı ve daha kolay reaksiyona girerek, homosisteinilizasyon reaksiyonlarına bağlı Hcy birikimini önlemektedir (127).

Literatürdeki bazı çalışmalarla (75,84,102-106) uyumlu olacak şekilde, bu çalışmada da plasebo grubunda HD işlemi ile % 40 oranında anlamlı şekilde düşen Hcy düzeylerinin; NAC ilaveli 1. ve 2. HD işlemlerinde sırasıyla % 55.7 ve % 59 oranında anlamlı şekilde azaltılabildiği gösterildi. Ayrıca seans içi NAC uygulaması ile elde edilen Hcy düşüşlerinin, her iki NAC seansında da, plasebo grubu giriş ve çıkış değerlerine göre anlamlı olacak şekilde, daha da azaltılabildiği belirlendi. Diğer bir ifade ile, NAC kullanımının diyalizin azalttığı homosistein düzeylerinde ilave bir azalma meydana getirdiği belirlendi. İlk NAC uygulamasını izleyen HD seansı giriş Hcy değerlerinin (NAC-2 grubu giriş değerleri), plasebo giriş değerlerinden farksız olduğunun bulunması; *iv* NAC tedavisi ile azaltılabilen Hcy düzeylerinin, seanslar arası dönemde yeniden yükseldiğini düşündürmektedir. Seanslar arası gelişen bu yükselişin önlenmesi amacıyla, sadece diyaliz içi değil diyaliz seansları arası dönemde de NAC kullanımının gerekli olduğu söylenebilir.

Toksisite ve reaksiyona girebilme gücü bakımından adı ön plana çıkan ve diyalize edilemeyen Hcy-T; PON1-laktonaz aktivitesiyle daha az toksik ve diyalize edilebilen Hcy molekülüne dönüştürülür (51). Bu çalışmada plasebo grubunda belirlenen diyaliz sonrası tiyol ve PON1 artışlarının ve Hcy azalışlarının NAC ilavesi ile daha da şiddetlenmesi birlikte yorumlanacak olursa; NAC ile sağlanan ilave antioksidan

gücün, hem PON1'i oksidatif modifikasyondan koruyarak Hcy-T oluşumunu azalttığı hem de albümin gibi proteinleri Hcy ile reaksiyona girmekten koruduğu söylenebilir. “N ve S” şeklinde, iki farklı mekanizma ile gerçekleşen homosisteinilizasyon reaksiyonlarını önleyebilen NAC, yükselmiş Hcy düzeylerini azaltmada etkin bir rol oynayabilir.

Çeşitli SOR türlerinin, LDL-C yapısında bulunan ApoB-100'deki pozitif yüklü lizil kalıntılarının ε-amino grupları ile reaksiyona girdiği; LDL partikülünün biyolojik ve elektroforetik özelliklerini değiştirdiği; oxLDL olarak adlandırılan bu molekülün doğal LDL reseptörüne karşılık scavenger reseptörüne yüksek afinite gösterdiği bilinmektedir (55).

Hemodiyaliz hastalarına oral verilen 3x200 mg/gün NAC'ın 4. ayın sonunda, oxLDL düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (120). Tepel ve ark (117)'nin plasebo kontrollü çalışmalarında, ortalama 14.5 ay süre ile 2x600 mg/gün oral NAC verilen HD hastalarında, oxLDL düzeylerinin düştüğü ayrıca myokard enfarktüsü, iskemik felç vb kardiyovasküler olaylarda % 40'lık bir azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Ölüm nedenlerinin, kardiyovasküler kaynaklı olup olmaması üzerine NAC uygulamasının etkisiz olduğu belirlenen bu çalışmada, hastalara NAC önerilmiştir.

Literatürde HD işlemi sırasında *iv* NAC uygulaması ile oxLDL düzeylerindeki değişimleri inceleyen bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada NAC uygulanan iki HD seansında da diyaliz çıkış serum oxLDL düzeylerinin girişten farksız olduğu; kısacası NAC tedavisinin oxLDL düzeylerine etki etmediği belirlendi. Yüksek oxLDL düzeylerinin diyaliz hastalarında ateroskleroza neden olduğu (55) görüşü dikkate alındığında, NAC uygulamasının daha yüksek doz ve sürelerle kullanılması gerektiği söylenebilir. Ayrıca lipooksijenaz, MPO, reaktif nitrojen türleri ve metal iyonları gibi birbirinden farklı pek çok mekanizmanın LDL oksidasyonuna neden olduğu bilindiğinden (55); NAC ile bu mekanizmalardan sadece bir kısmı önlenebilmiş, diğer faktörler etkilenmemiş ve dolayısıyla plasebo ile elde edilenden farklı bir oxLDL cevabı elde edilememiş olabilir.

HD hastalarına seans içi uygulanan *iv* NAC (50 mg/kg/seans) ile MPO, neopterin, AOPP, PCC, tiyol, PON1 ve oxLDL düzeylerinde gözlenen değişimlerin incelendiği bu ilk çalışmada; NAC ile AOPP, PCC, Hcy düzeylerinin anlamlı bir şekilde düşürüldüğü ve tiyol ve PON1 değerlerinin ise kısmen düzeltilebildiği belirlendi. HD sırasında aktifleşen nötrofillere bağlı oluşan “akut” oksidatif stresin NAC ile kısmen

önlenebilmesine karşın; diyaliz seansları arasında gelişen üremik ortama bağlı oluşan “kronik” oksidatif stresin önlenemediği gözlemlendi. Düzenli HD tedavisi alan 13 KBY hastasına ardışık iki HD seansı boyunca uygulanan NAC’ın hiçbir yan etkiye neden olmadığı, tüm hastalar tarafından rahatça tolere edildiği tespit edildi.

Bu çalışmada tercih edilen dozlardan daha yüksek doz ve daha uzun sürede olmak üzere; HD seansı sırasında *iv*, seanslar arasında da oral yoldan uygulanacak NAC tedavisinin, bu hastalarda arttığı gösterilen KVH riskini azaltmada etkin bir girişim olacağı söylenebilir.

6. SONUÇLAR

HD işleminin, oksidatif stresle ilişkisini göstermek ve hastaların mevcut tedavilerine eklenen NAC'ın, ölçülen parametreler üzerine muhtemel etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar:

- Plasebo grubu ve her iki NAC grubu HD giriş değerleri karşılaştırıldığında; bütün parametreler için HD girişleri arasında fark olmadığı görüldü.
- Plasebo grubu HD giriş ve çıkış değerleri karşılaştırıldığında, çıkışta; MPO ve PON1 aktivitelerinin, TNF- α , AOPP, PCC ve tiyol düzeylerinin daha yüksek; homosistein ve neopterin düzeylerinin daha düşük olduğu; oxLDL düzeylerinin ise değişmediği belirlendi.
- İki NAC grubu birbirleriyle karşılaştırıldığında; hem HD giriş hem de çıkış değerleri arasında, bütün parametreler bakımından fark olmadığı görüldü.
- Her iki NAC grubu kendi içinde HD giriş ve çıkış değerleri bakımından karşılaştırıldığında; HD çıkışta AOPP, PCC, homosistein ve neopterin düzeylerinin düştüğü; tiyol, TNF- α düzeylerinin, MPO ve PON1 aktivitelerinin yükseldiği; oxLDL düzeylerinin değişmediği belirlendi.
- Plasebo ve NAC grupları HD çıkış değerleri karşılaştırıldığında; plasebo çıkışta daha da yükselen AOPP ve PCC düzeylerinin, NAC gruplarında anlamlı şekilde düştüğü; tiyol düzeyleri ve PON1 aktivitesinde NAC grupları ve plasebo arasında fark olmasa da NAC gruplarında daha yüksek olduğu; MPO aktivitesi

TNF- α , neopterin ve oxLDL düzeylerinde gruplar arasında fark olmadığı; homosistein düzeylerinin ise NAC gruplarında daha da düştüğü tespit edildi.

7. KAYNAKLAR

1. Akpolat T, Utaş C. Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı. Anadolu Yayıncılık, Kayseri 2001.
2. Massy ZA, Nguyen-Khoa T, Beauvais CH. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. J Nephrol 2002; 15: 336-41.
3. Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 16-24.
4. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. Kidney Int Suppl 2001; 78: 108-13.
5. Prakash M, Shetty JK, Rao L, Sharma S, Rodrigues A, Prabhu R. Serum paraoxonase activity and protein thiols in chronic renal failure patients. Indian J Nephrol 2008; 18: 13-6.
6. Nagane NS, Ganu JV. Lipid profile and serum paraoxonase1 activity in CRF patients pre and posthemodialysis. Al Ameen J Med Sci 2011; 4: 61-8.
7. Binbaş F, Uzunçan N, Aslanca D, Belten E, Karaca B. Hemodializ hastalarında serum paraoksonaz aktivitelerinin değeriendirilmesi. Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2005; 31: 15-22.
8. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Çetinkaya G. Hemodiyalizin protein karbonil içeriğı ve sülfidril grubları düzeyi üzerine etkisi. Turk Neph Dial Transpl 2001; 10: 83-5.
9. Zaki AM, Ragab MS, Magour GM, Gaber EW, Khalil GI, Zaytoun SS. Evaluation of plasma levels of neopterin and advanced oxidation protein products in patients with end stage renal failure and those on maintenance hemodialysis. JMRI 2008; 29: 162-9.
10. Yi F, Li PL. Mechanisms of homocysteine-induced glomerular injury and sclerosis. Am J Nephrol 2008; 28: 254-64.
11. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients. Am J Kidney Dis 2005; 45: 16-153.

12. Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol* 2004; 17: 813-8.
13. Kaya H, Polat F, Çetinkaya R, Taysi S, Odabaş AR, Selçuk Y. Kronik hemodiyaliz hastalarında serum paraoksanaz aktivitesi. *Türk Neph Dial Transpl* 2000; 3: 176-9.
14. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-acetylcysteine-a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 355-9.
15. K/DOQI practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1-246.
16. Serdengeçti K, Süleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N. Türkiye’de nefroloji-diyaliz ve transplantasyon. Registry 2010. *Türk Nefroloji Derneği Yayınları*, İstanbul 2011.
17. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine (2nd ed). Clarendon Press, Oxford 1996, pp. 10-19, 86-130, 196.
18. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
19. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
20. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-5.
21. Valdez LB, Arnaiz SL, Bustamante J, Alvarez S, Costa LE, Boveris A. Free radical chemistry in biological systems. *Biol Res* 2000; 33: 1-8.
22. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-35.
23. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 307-26.
24. Kayalı R, Çakatay U. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 83-9.
25. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 20313-6.
26. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-63.
27. 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: 1304-13.
28. Hu ML, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 257-62.

29. Morena M, Cristol JP, Cal SL, Moragues HL, Krieter D, Canaud B. Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? *Kidney Int* 2002; 61: 109-14.
30. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007-17.
31. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology* 2012; 17; 311-21.
32. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity ("carbonyl stress"). *Kidney Int* 2001; 59: 25-31.
33. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000;3: 373-84.
34. Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? *Kidney Int Suppl* 2003; 84: 11-4.
35. Malle E, Furtmüller PG, W Satter, Obinger C. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *Brit J Pharmacol* 2007; 152: 838-54.
36. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 598-625.
37. Camussi G, Albona E, Tetta C, Bussolino F. The molecular action of tumor necrosis factor- α . *Eur J Biochem* 1991; 202: 3-14.
38. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia-the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005; 67: 1216-33.
39. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999; 8: 167-76.
40. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. *Inflamm Res* 2003;52: 313-21.
41. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 175-87.
42. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLEs, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med* 2002; 2: 175-89.
43. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.

44. Prakash M, Shetty MS, Tilak P, Anwar N. Total thiols: biomedical importance and their alteration in various disorders. *OJHAS* 2009; 8: 1-9.
45. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler A, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62: 1524-38.
46. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1-18.
47. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
48. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 473-80.
49. Kmiecik AO, Majdak MO. The role of genetic (PON1 polymorphism) and environmental factors, especially physical activity, in antioxidant function of paraoxonase. *Postepy Hig Med Dosw* 2009; 63: 668-77.
50. La Du BN, Aviram M, Billecke S, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 379-88.
51. Jakubowski H. Pathophysiological consequences of homocysteine excess. *J Nutr* 2006; 136 (Suppl 6): 1741-9.
52. Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet* 2008; 49: 267-82.
53. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 279-98.
54. Karolczak K, Olas B. Mechanism of action of homocysteine and its thiolactone in hemostasis system. *Physiol Res* 2009; 58: 623-33.
55. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 2001; 15: 2073-84.
56. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1716-23.
57. Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev* 1998; 3: 114-27.
58. Sadowska AM, Verbraecken J, Darquennes K, De Backer WA. Role of N-acetylcysteine in the management of COPD. *Therapeut Clin Risk Manag* 2006; 2: 3-18.
59. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 593-7.

60. Bradley PP, Priebe DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 206-69.
61. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-27.
62. Dalrymple LS, Katz R, Kestenbaum B, Shlipak MG, et al. Chronic kidney disease and the risk of end-stage renal disease versus death. *J Gen Intern Med* 2011; 26: 379-85.
63. Libetta C, Sepe V, Esposito P, Galli F, Dal Canton A. Oxidative stress and inflammation: implications in uremia and hemodialysis. *Clin Biochem* 2011; 44: 1189-98.
64. Carrero JJ, Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease-what have we learned in 10 years? *Seminars in Dialysis* 2010; 23: 498-509.
65. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-80.
66. Sarpkaya S. Kronik böbrek yetmezliğinde protein oksidasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2003, ss 40-60.
67. Wu CC, Chen JS, Wu WM. Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single haemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1134-9.
68. Cheung AK. Is lipid control necessary in hemodialysis patients? *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 95-101.
69. Marques de Mattos A, Marino LV, Ovidio PP, Jardim AA, Almeida CC, Chiarello PG. Protein oxidative stress and dyslipidemia in dialysis patients. *Ther Apher Dial* 2012; 16: 68-74.
70. Gugliucci A, Mehlhaff K, Kinugasa E, et al. Paraoxonase-1 concentrations in end-stage renal disease patients increase after hemodialysis: correlation with low molecular AGE adduct clearance. *Clin Chim Acta* 2007; 377: 213-20.
71. An WS, Kim SE, Kim KH, Bae HR, Rha SH. Associations between oxidized LDL to LDL ratio, HDL and vascular calcification in the feet of hemodialysis patients. *J Korean Med Sci* 2009; 24 (Suppl 2): 115-20.
72. Morena M, Cristol JP, Dantoin T, Carbonneau MA, Descomps B, Canaud B. Protective effects of high-density lipoprotein against oxidative stress are impaired in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 389-95.

73. Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, et al. IL-1 β , TNF- α and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1964-70.
74. Goldstein SL, Currier H, Watters L, Hempe JM, Smeth RD, Silverstein D. Acute and chronic inflammation in pediatric patients receiving hemodialysis. *J Pediatr* 2003; 143: 653-7.
75. Tsai JP, Yang FL, Wang CH, Fang TC, Lee RP, Hsu BG. Effect intravenous N-acetylcysteine on plasma total homocysteine and inflammatory cytokines during high flux hemodialysis. *Tzu Chi Med J* 2010; 22: 90-5.
76. Rysz J, Banach M, Cialkowska-Rysz A, et al. Blood serum levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha and IL-1beta in patients on maintenance hemodialysis. *Cell Mol Immunol* 2006; 3: 151-4.
77. Tarakçıoğlu M, Erbağcı AB, Usalan C, Deveci R, Kocabas R. Acute effect of hemodialysis on serum levels of the proinflammatory cytokines. *Mediators of Inflamm* 2003; 12: 15-9.
78. Doğan A, Akbulut HH, Bulut V. Kronik hemodiyaliz hastalarında neopterin seviyeleri. *Türk Neph Dial Transpl* 2001; 11: 18-21.
79. Smolle KH, Kaufmann P, Stadlbauer V, et al. Intermittent haemodialysis-induced oxidative stress and the effect on inflammatory parameters in critically ill patients. *CEMED* 2010; 4: 79-88.
80. Rao AM, Anand U, Anand CV. Myeloperoxidase in chronic kidney disease. *Ind Clin Biochem* 2011; 26: 28-31.
81. Capeillère-Blandin C, Gausson V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Respective role of uraemic toxins and myeloperoxidase in the uraemic state. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1555-63.
82. Himmelfarb J, McMenamin ME, Loseto G, Heinecke JW. Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients. *Free Radic Biol Med* 2001; 3: 1163-9.
83. Kalantar-Zadeh K, Brennan ML, Hazen SL. Serum myeloperoxidase and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 59-68.
84. Özşahin EA. Hemodiyaliz hastalarında bazı kardiyovasküler risk faktörleri: oksidatif stres, paraoksonaz ve hiperhomosisteinemi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2004, ss 46-9.
85. Himmelfarb J, McMonagle E, Mc Menamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2001; 58: 2571-8.

86. Weiss SJ, Lampert MB, Test ST. Long-lived oxidants generated by human neutrophils: characterization and bioactivity. *Science* 1983; 222: 625-8.
87. 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 1,2. *J Immunol* 1998; 161: 2524-32.
88. 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.
89. Kalousova M, Zima T, Tesar V, Lachmanova J. Advanced glycation end product and advanced oxidation protein products in hemodialyzed patients. *Blood Purif* 2002; 20: 531-6.
90. Ward RA, Ouseph R, Mcleish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003; 63: 353-9.
91. Zhou Q, Wu S, Jiang J, et al. Accumulation of circulating advanced oxidation protein products is an independent risk factor for ischaemic heart disease in maintenance haemodialysis patients. *Nephrology* 2012; 17: 642-9.
92. El-Wakil HS, Abou-Zeid AA, El-Gohary IE, Abou El-Seoud NA, Abou El-Yazeed MA, El-Leithy MA. Effect of high flux versus low flux hemodialysis on serum beta-2 microglobulin, advanced oxidation protein products and protein carbonyl. *Alexandria Journal of Medicine* 2011; 47: 37-42.
93. Bordonì V, Piroddi M, Galli F, et al. Oxidant and carbonyl stress-related apoptosis in end-stage kidney disease: impact of membrane flux. *Blood Purif* 2006; 24: 149-56.
94. 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.
95. Dursun B, Dursun E, Suleymanlar E, et al. Carotid artery intima-media thickness correlates with oxidative stress in chronic haemodialysis patients with accelerated atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1697-703.
96. 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: 389-99.
97. Varan HI, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: comparison of two dialysis membranes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2010; 3: 39-45.

98. Gupta N, Gill KD, Singh S. Coronary artery disease-new insights and novel approaches edit. Intechopen Press, 2012, pp. 115-36.
99. Gugliucci A, Lunceford N, Kinugasa E, Ogata H, Schulze J, Kimura S. Acrolein inactivates paraoxonase 1: changes in free acrolein levels after hemodialysis correlate with increases in paraoxonase 1 activity in chronic renal failure patients. Clin Chim Acta 2007; 384: 105-12.
100. Sutherland WH, de Jong SA, Walker RJ. Hypochlorous acid and low serum paraoxonase activity in haemodialysis patients: an in vitro study. Nephrol Dial Transplant 2004; 19: 75-82.
101. Wu CC, Zheng CM, Lin YF, Lo L, Liao MT, Lu KC. Role of homocysteine in end-stage renal disease. Clin Biochem 2012; 45: 1286-94.
102. Thaha M, Yogiandro M, Tomino Y. Intravenous N-acetylcysteine during haemodialysis reduces the plasma concentration of homocysteine in patients with end-stage renal disease. Clin Drug Investig 2006; 26: 195-202.
103. Bulucu F, Vural A, Yeşilova Z ve ark. Hemodiyaliz hastalarında plazma total homosistein düzeyleri. Turk Neph Dial Transpl 1998; 3: 132-6.
104. Erkan S, Erkan D, Erce S, Ahmet Y. Effect of intravenous acetylcysteine on plasma homocysteine in hemodialysis patients. BANTAO Journal 2008; 6: 37-40.
105. Çetinkaya R, Odabaş AR, Aktaş E, Selçuk Y. Kronik hemodiyaliz hastalarında hemodiyaliz yeterliliğinin homosistein düzeylerine etkisi. Turk Neph Dial Transpl 2001; 10: 219-22.
106. Scholze A, Rinder C, Beige J, Riezler R, Zidek W, Tepel M. Acetylcysteine reduces plasma homocysteine concentration and improves pulse pressure and endothelial function in patients with end-stage renal failure. Circulation 2004; 109: 369-74.
107. Mahrooz A, Zargari M, Sedighi O, Shaygani H, Gohari G. Increased oxidized-LDL levels and arylesterase activity/HDL ratio in ESRD patients treated with hemodialysis. Clin Invest Med 2012; 35: 144-51.
108. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. Circulation 1998; 98: 1487-94.
109. Bayés B, Pastor MC, Bonal J, Foraster A, Romero R. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis-role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up. Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 984-9.

110. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, et al. Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation* 2000; 101: 1002-6.
111. Morimoto H, Nakao K, Fukuoka K, et al. Long-term use of vitamin E-coated polysulfone membrane reduces oxidative stress markers in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2775-82.
112. Demirtaş S, Nergisoğlu G, Akbay A, Karaca L. The relation between low-density lipoprotein (LDL) oxidation and hemodialysis with respect to membrane types protective effects of vitamin E-bonded membrane. *Turk J Med Sci* 2002; 32: 93-100.
113. Kosch M, Levers A, Fobker M, et al. Dialysis filter type determines the acute effect of haemodialysis on endothelial function and oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1370-5.
114. Coombes JS, Fassett RG. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int* 2012; 81: 233-46.
115. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end stage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1213-8.
116. Feldman L, Shani M, Sinuani I, Beberashvili I, Weissgarten J. N-acetylcysteine may improve residual renal function in hemodialysis patients: a pilot study. *Hemodial Int* 2012; 4: 512-6.
117. Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation* 2003; 107: 992-5.
118. Dashti-Khavidaki S, Khalili H, Barzegar E, et al. Effect of 4-week treatment with oral N-acetylcysteine on plasma homocysteine concentration and antioxidant activity of patients on chronic hemodialysis. *Kidney* 2008; 17: 122-5.
119. Counago IG, De Gracia Guindo MC, Molina M, et al. Modulation of oxidative stress in haemodialysis patients with N-acetylcysteine. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 16 (Suppl 4): 200-9.
120. Hsu SP, Chiang CK, Yang SY, Chien CT. N-acetylcysteine for the management of anemia and oxidative stress in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2010; 116: 207-16.
121. Nolin TD, Ouseph R, Himmelfarb J, McMenamin ME, Ward RA. Multiple-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of N-acetylcysteine in patients with end-stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1-7.

122. Ventura P, Panini R, Pasini MC, Scarpetta G, Salvioli G. N-Acetylcysteine reduces homocysteine plasma levels after single intravenous administration by increasing thiols urinary excretion. *Pharmacol Res* 1999; 40: 345-50.
123. Baker CS, Wragg A, Kumar S, De Palma R, Baker LR, Knight CJ. A rapid protocol for the prevention of contrast-induced renal dysfunction: the RAPPID study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 114-8.
124. Ventura P, Panini R, Abbati G, Marchetti G, Salvioli G. Urinary and plasma homocysteine and cysteine levels during prolonged oral N-acetylcysteine therapy. *Pharmacology* 2003; 68: 105-14.
125. Hoffmann U, Fischereder M, Krüger B, Drobnik W, Kramer BK. The value of N-acetylcysteine in the prevention of radiocontrast agent-induced nephropathy seems questionable. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 407-10.
126. Sadowska AM, Manuel-y-Keenoy B, Vertongen T, et al. Effect of N-Acetylcysteine on neutrophil activation markers in healthy volunteers: in vivo and in vitro study. *Pharmacol Res* 2006; 53: 216-25.
127. Perna AF, Violetti E, Lanza D, et al. Therapy of hiperhomocysteinemia in hemodialysis patients: effects of folates and N-acetylcysteine. *J Ren Nutr* 2012; 22: 507-14.
128. Thaha M, Widodo, Pranawa W, Yogiantoro M, Tomino Y. Intravenous N-acetylcysteine during hemodialysis reduces asymmetric dimethylarginine level in end-stage renal disease patients. *Clin Nephrol* 2008; 69: 24-32.
129. Swarnalatha G, Ram R, Neela P, Naidu MU, Dakshina Murty KV. Oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy and the role of N-acetylcysteine in preventing oxidative stress. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2010; 2: 852-8.
130. Amore A, Sabrina Balegno S, Formica M, et al. The treatment with antioxidant drugs after each hemodialysis session for one month normalizes the transcriptional factor kB in peripheral lymphomonocytes of diabetic HD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 16 (Suppl 4): 200-9.
131. Trimarchi H, Mongitore MR, Baglioni P, et al. N-acetylcysteine reduces malondialdehyde levels in chronic hemodialysis patients-a pilot study. *Clin Nephrol* 2003; 59: 441-6.
132. Moist L, Sontrop JM, Gallo K, et al. Effect of N-acetylcysteine on serum creatinine and kidney function: results of a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2010; 56: 643-50.

133. Bayır S, Eskiocak S, Altaner Ş, Çakır E. Kolesterolde zengin beslenen ratlarda N-asetilsisteinin antioksidan/prooksidan etkileri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2006; 4: 15-23.
134. Franceschini G, Werba JP, Safa O, Gikalov I, Sirtori CR. Dose-related increase of HDL-cholesterol levels after N-acetylcysteine in man. *Pharmacol Res* 1993; 28: 213-8.
135. Ruiz Fuentes MC, Moreno Ayuso JM, Ruiz Fuentes N, Vargas Palomares JF, Asensio Peinado C, Osuna Ortega A. Treatment with N-acetylcysteine in stable renal transplantation. *Transplant Proc* 2008; 40: 2897-9.
136. Nascimento MM, Suliman ME, Silva M, et al. Effect of oral N-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress markers in peritoneal dialysis patients: a placebo-controlled study. *Perit Dial Int* 2010; 30: 336-42.
137. Balogh A, Mittermayr M, Schlager A, et al. Mechanism of neopterin-induced myocardial dysfunction in the isolated perfused rat heart. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1724: 17-22.
138. Allegra L, Dal Sasso M, Bovio C, Massoni C, Fonti E, Braga PC. Human neutrophil oxidative bursts and their in vitro modulation by different N-acetylcysteine concentrations. *Arzneimittelforschung* 2002; 52: 669-76.
139. Drüeke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease. *Circulation* 2002; 106: 2212-7.
140. Kaneda T, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002; 162: 221-5.
141. Lazárová M, Stejskal D, Lacnák B, et al. The antioxidant acetylcysteine reduces oxidative stress by decreasing level of AOPPs. *Biomed Papers* 2004; 148: 131-3.
142. Marsche G, Frank S, Hrzenjak A, et al. Plasma-advanced oxidation protein products are potent high-density lipoprotein receptor antagonists in vivo. *Circ Res* 2009; 104: 750-7.

Ek Tablo 1: Plasebo Grubu (1. HD Seansı) HD Giriş Değerleri

	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş (yıl)	HD Süre (Ay)	Vücut Ağırlığı	MPO	TNF α	Neopterin	AOPP	PCC	Tiyol	PON1	Homosistein	oxLDL	BUN	Kreatinin	Albumin	T.Protein	TC	HDL-C	LDL-C	TG	hsCRP	Hb	Hct	Nötrofil	Monosit
1	A.M.	E	61	36	94	87.20	39.11	30.83	18.47	1.39	140.17	51.41	24.46	169.23	65	10.4	3.9	6.6	108	35	61.8	56	2.91	11.4	35.2	6.38	0.76
2	A.B.	K	23	120	50	111.57	33.67	38.06	30.32	1.35	288.50	39.31	19.54	209.23	54	9.1	3.9	7	145	34	81	150	0.17	10.8	33.6	2.5	0.47
3	M.Ç	E	58	60	72	88.49	35.89	23.20	32.34	1.32	155.17	51.41	20.98	158.46	69	10.9	3.5	6.7	121	33	72.2	79	5.19	13.3	41.2	6.68	1.13
4	M.B.	E	63	180	74	73.10	42.56	95.13	27.14	1.11	203.50	39.31	26.34	278.46	87	11.1	3.4	7	108	25	60.6	112	4.84	13.4	40.3	3.59	0.32
5	F.D.	K	27	144	65	97.46	39.22	31.95	30.90	1.42	95.17	58.97	16.95	180.00	63	9.7	3.8	6.7	216	37	103.2	379	0.41	11.3	33.8	3.6	0.33
6	E.S.	K	33	216	52	106.44	39.11	16.22	33.79	1.20	150.17	51.41	12.86	213.85	46	9.1	3.5	6.8	208	32	129.6	232	0.37	9	27.7	2.02	0.19
7	G.D.	K	30	168	45	126.96	23.67	8.72	27.72	1.44	328.50	46.87	14.56	163.08	59	6	3.3	7	166	48	104.2	69	1	15.3	44.8	5.24	0.38
8	A.Y.	K	42	192	55	130.80	27.00	36.58	24.25	1.47	106.83	45.36	26.39	181.54	78	12.1	3	6.2	157	32	102.2	114	0.17	10.3	29.3	2.57	0.33
9	Z.T.	E	68	12	75	132.09	25.89	14.31	29.45	1.43	180.32	27.22	29.59	333.85	32	2.8	2.6	5.5	181	36	113.2	159	10.7	12.5	39.2	8.94	0.59
10	K.Y.	K	62	72	60	130.80	39.11	38.68	20.49	1.14	180.32	57.46	16.97	156.92	54	8.6	2.8	5.1	200	26	110	320	2.73	10.9	36.3	3.61	0.38
11	B.A.	E	59	24	70	121.83	72.56	36.87	21.07	1.10	171.83	51.41	17.26	212.03	62	6.6	2.7	5.7	143	27	87.6	142	10.7	12.2	39.7	4.77	0.29
12	M.D.	E	58	48	68	109.70	63.11	21.76	42.75	1.32	213.50	74.09	30.67	212.03	58	6.8	2.9	5.5	121	21	67	165	0.98	10.2	31.5	3.83	0.31
13	A.E.	K	62	48	57	109.70	27.56	50.56	49.39	1.51	130.17	51.41	20.22	287.69	57	8.95	3.2	7	180	26	96.2	289	6.16	9.8	30.2	5.49	0.47

Ek Tablo 2: Plasebo Grubu (1. HD Seansı) HD Çıkış Değerleri

	Ad-Soyad	MPO	TNF α	Neopterin	AOPP	PCC	Tiyol	PON1	Homosistein	oxLDL
1	A.M.	89.77	63.11	13.91	51.13	1.66	355.17	78.62	18.03	172.31
2	A.B.	116.70	50.33	11.04	66.45	1.51	288.50	55.94	11.61	227.69
3	M.Ç	117.98	61.44	21.14	62.69	1.67	360.17	60.67	15.55	169.23
4	M.B.	110.29	84.22	72.38	56.04	1.43	350.17	60.67	20.42	309.23
5	F.D.	128.24	68.11	13.91	61.82	1.39	338.50	60.67	11.97	240.00
6	E.S.	134.65	72.56	9.11	39.86	1.58	355.17	81.65	7.63	183.08
7	G.D.	161.58	60.67	4.99	61.53	1.66	370.17	46.87	9.68	169.23
8	A.Y.	147.48	60.89	13.28	53.15	1.93	291.83	60.67	19.29	207.69
9	Z.T.	135.93	54.64	10.86	31.47	1.66	346.14	31.75	23.49	432.31
10	K.Y.	182.10	68.11	23.07	59.51	1.72	338.50	60.67	11.49	155.38
11	B.A.	125.68	56.39	20.67	53.44	1.92	378.50	60.67	11.03	228.67
12	M.D.	153.89	37.56	24.81	62.69	1.74	381.83	108.86	19.26	228.67
13	A.E.	110.29	40.33	17.32	55.46	1.76	345.17	60.67	11.86	249.23

Ek Tablo 3: NAC-1 Grubu (2. HD Seansı) HD Giriş-Çıkış Değerleri

	Ad-Soyad	Vücut Ağırlığı		MPO		TNF α		Neopterin		AOPP		PCC		Tiyol		PON1		Homosistein		oxLDL	
		Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
1	A.M.	95	98.74	102.59	68.67	36.44	68.67	26.42	19.35	24.83	10.95	1.44	0.62	63.50	353.50	13.61	28.73	24.29	9.69	146.15	170.77
2	A.B.	51	110.29	148.76	50.33	31.44	50.33	39.65	10.95	26.27	20.20	1.13	1.09	305.17	351.83	36.29	90.72	20.7	7.39	204.62	223.08
3	M.Ç	71	115.42	120.55	29.22	50.89	52.12	22.01	15.83	26.85	10.66	0.92	0.81	238.50	460.17	63.50	120.96	20.82	10	181.54	183.08
4	M.B.	73	116.70	137.22	50.89	52.12	52.12	69.67	51.06	33.21	32.05	0.82	0.77	138.50	358.50	33.26	46.87	24.64	13.62	260.00	356.92
5	F.D.	64	116.70	137.22	45.33	45.33	52.12	30.19	15.29	36.39	8.06	1.49	1.11	183.22	400.17	58.97	84.17	19.74	9.17	240.00	198.46
6	E.S.	51	116.70	137.22	59.22	59.22	76.44	16.22	7.74	59.22	12.69	1.80	0.75	73.50	416.83	55.94	110.38	13.94	5.44	207.69	220.00
7	G.D.	45	111.57	148.76	44.22	44.22	57.56	15.98	9.22	31.76	8.35	1.44	1.37	261.83	451.83	51.41	84.17	17.09	8.23	170.77	183.08
8	A.Y.	54	114.52	120.55	42.00	42.00	66.44	36.58	12.64	24.83	10.95	1.38	1.35	170.17	470.17	46.87	84.17	23.7	11.46	161.54	164.62
9	Z.T.	74	123.11	133.02	25.89	25.89	52.12	15.29	12.20	31.76	13.84	1.38	0.99	180.17	358.50	39.31	84.17	26.81	13.87	366.15	347.69
10	K.Y.	61	114.52	137.22	63.11	63.11	105.33	39.00	48.64	28.01	17.02	1.13	0.93	121.83	341.83	40.82	52.92	17.45	7.51	180.00	167.69
11	B.A.	71	114.52	133.02	40.33	40.33	52.12	36.87	22.40	27.72	26.85	1.38	0.65	200.17	375.17	50.90	131.54	15.53	6.74	223.54	225.87
12	M.D.	69	106.44	133.02	39.78	39.78	44.22	31.05	14.31	26.56	8.06	1.85	1.37	233.50	355.17	78.62	78.62	26.04	10.2	223.54	225.87
13	A.E.	58	129.52	132.09	23.67	23.67	34.22	41.71	19.14	37.54	25.40	1.77	0.52	211.83	470.17	92.23	96.77	16.5	4.74	263.08	283.08

Ek Tablo 4: NAC-2 Grubu (3. HD Seansı) HD Giriş Değerleri

	Ad-Soyad	Vücut Ağırlığı	MPO	TNF α	Neopterin	AOPP	PCC	Tiyol	PON1	Homosistein	oxLDL
1	A.M.	95	91.05	32.00	28.00	24.54	1.72	258.50	37.80	21.46	195.38
2	A.B.	50	87.20	41.19	31.72	23.38	1.24	201.83	48.38	25.5	156.92
3	M.Ç	72	113.99	37.56	23.20	30.90	1.25	101.83	89.21	20.51	146.15
4	M.B.	74	87.20	40.33	87.99	36.10	1.05	170.17	27.22	25.67	295.38
5	F.D.	64	113.99	32.56	20.67	29.45	1.10	146.83	51.41	15.3	192.31
6	E.S.	52	114.13	52.56	18.84	45.06	1.25	230.17	51.71	14.32	198.46
7	G.D.	45	113.99	45.33	16.97	21.65	1.30	251.83	43.85	16.58	180.00
8	A.Y.	54	113.99	40.89	41.71	25.40	1.11	166.83	27.22	27	184.62
9	Z.T.	75	106.44	41.19	41.35	24.54	1.20	260.17	30.24	26.13	389.23
10	K.Y.	61	117.98	55.33	44.34	49.10	2.02	161.83	45.36	17.99	172.31
11	B.A.	71	120.55	28.11	34.14	36.97	1.24	133.50	51.71	15.52	216.50
12	M.D.	69	113.99	49.22	24.96	34.36	1.59	191.83	51.71	23.84	216.50
13	A.E.	58	114.13	39.22	71.45	32.05	1.12	178.50	95.26	17.72	270.77

Ek Tablo 5: NAC-2 Grubu (3. HD Seansı) HD Çıkış Değerleri

	Ad-Soyad	MPO	TNF α	Neopterin	AOPP	PCC	Tiyol	PON1	Homosistein	oxLDL	BUN	Kreatinin	Albumin	T.Protein	TC	HDL-C	LDL-C	TG	hsCRP	Hb	Hct	Nötrofil	Monosit
1	A.M	100.03	55.70	17.78	21.62	0.78	416.83	85.81	11.71	156.92	25	4.7	4.1	7.40	133	39	74	100	2.31	10.2	29.80	5.04	0.41
2	A.B.	146.19	55.70	18.15	18.47	0.67	401.83	85.81	8.42	232.31	12	2.9	4.7	8.90	161	42	78.4	203	0.24	13.4	41.80	5.05	0.54
3	M.Ç	134.01	63.67	15.75	26.85	1.18	466.83	92.23	8.71	164.62	26	5.7	3.8	7.50	137	38	81.8	86	3.03	13.8	43.70	6.05	0.59
4	M.B	155.17	55.70	53.70	20.78	0.62	415.17	85.81	15.19	250.62	33	5.5	4	8.80	126	32	64.6	147	5.6	12.8	37.50	3.9	0.40
5	F.D.	139.78	55.70	9.75	16.73	1.05	406.83	71.06	6.54	224.62	13	3.1	4.6	8.40	204	44	68.8	456	0.22	11	32.80	4.56	0.41
6	E.S.	130.16	55.70	7.32	22.23	0.68	400.17	101.30	4.38	216.92	15	2.9	3.5	6.80	185	34	115.2	179	0.27	7.8	32.40	2.5	0.17
7	G.D.	153.89	74.78	5.17	20.49	1.22	433.50	55.94	6.27	167.69	14	1.8	3.6	7.60	189	53	115.4	103	1.22	10.6	32.90	2.88	0.29
8	A.Y.	130.22	53.11	19.99	24.25	0.92	333.50	30.24	13.07	193.85	21	4.5	3.6	7.80	206	40	141.2	124	0.24	9.8	27.60	3.25	0.29
9	Z.T.	153.89	55.70	13.53	22.80	0.89	388.50	85.81	14.64	250.62	16	1.3	2.3	4.80	158	34	99.6	122	10.7	12.2	36.20	6.57	0.47
10	K.Y.	138.50	65.33	49.59	7.20	1.33	393.50	85.81	6.61	166.15	16	3.2	3.8	7.70	262	44	182.4	178	5.95	13	38.00	4.16	0.47
11	B.A.	130.22	55.70	18.54	6.33	0.83	478.50	104.33	7.2	250.62	15	1.9	2.8	5.80	150	31	100.2	94	10.7	13.2	38.70	3.82	0.31
12	M.D	134.01	53.67	17.32	5.46	0.99	290.17	107.35	10.13	250.62	23	3.5	3.1	5.90	158	23	96.6	192	4.79	10.5	28.60	2.44	0.37
13	A.E.	138.50	50.10	28.59	23.96	0.82	363.50	123.98	6.03	356.92	13	2.4	3.2	7.70	181	33	108	200	10.7	11.2	32.90	4.47	0.46

9. TEZ ONAY SAYFASI

Dr. Feray ERDEM'in ‘‘Hemodiyaliz Hastalarında N-Asetilsisteinin Bazı Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi’’ konulu tezi 27/12/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliğı ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU

Doç. Dr. Cevat YAZICI (Danışman)

Prof. Dr.Kader KÖSE

Prof. Dr.Bülent TOKGÖZ

Prof. Dr Mustafa KULA