



T. C. ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA
C VİTAMİNİ İNFÜZYONUNUN LİPİT PROFİLİ, APOLİPOPROTEİN B-
İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN OKSİDASYONU VE SERUM
PARAOKSONAZ-ARİLESTERAZ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Selda ERDİNÇ

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2007



T. C. ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA
C VİTAMİNİ İNFÜZYONUNUN LİPİT PROFİLİ, APOLİPOPROTEİN B-
İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN OKSİDASYONU VE SERUM
PARAOKSONAZ-ARİLESTERAZ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Selda ERDİNÇ

UZMANLIK TEZİ

Danışmanı: Doç. Dr. Emre SARANDÖL

BURSA – 2007

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	ii
İNGİLİZCE ÖZET	iii - iv
GİRİŞ	1 - 22
GEREÇ VE YÖNTEM	23 - 32
BULGULAR	33 - 37
TARTIŞMA VE SONUÇ	38 - 44
EKLER	45
KAYNAKLAR	46 - 58
TEŞEKKÜR	59
ÖZGEÇMİŞ	60

ÖZET

Hemodiyaliz hastalarında kardiyovasküler sistem hastalıkları en sık görülen komplikasyonlardır. Hemodiyaliz hastalarında eksikliği görülen C vitamininin yerine koyma tedavisi dışında anemi gibi çeşitli nedenlerle de kullanımı önerilmektedir. Önemli antioksidan moleküllerden biri olan C vitamini bazı koşullarda oksidasyonu kolaylaştırıcı etki de gösterebilmektedir. Ayrıca C vitamininin lipid profili üzerine etkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmada C vitamini uygulamasının ateroskleroz gelişimi ile yakından ilişkili olan lipid profili ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalı Hemodiyaliz Ünitesi'nde tedavi alan 29 hasta çalışmaya alınmıştır. 4'er ay süre ile her diyaliz seansı sonrasında sırasıyla 100 ve 500 mg intravenöz C vitamini verilmiştir. Hastalarda 0. , 4. ve 8. ay sonunda lipid profili, serum paraoksonaz1/arilesteraz aktivitesi ve apolipoprotein B-içeren lipoproteinlerin oksidasyonu ve oksidasyona duyarlılıkları incelenmiştir. 4. ve 8. ay sonunda trigliserid düzeyi azalmış ve paraoksonaz aktivitesi giderek artmıştır. 8. ay sonunda total-kolesterol, HDL-kolesterol, LDL- kolesterol ve apolipoprotein B düzeyi ve apolipoprotein B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona direncinde artış gözlenmiştir. Bu değişikliklerin C vitamini konsantrasyonları ile korelasyonu saptanmamıştır.

Sonuçta 500 mg intravenöz C vitamini uygulamasının serum paraoksonaz1 aktivitesi ve apolipoprotein B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona direncine olumlu etki göstererek kardiyovasküler sistem hastalıklarından korunmada rol oynayabileceği görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Hemodiyaliz, kardiyovaskuler sistem hastalığı, C vitamini, paraoksonaz, lipoprotein oksidasyonu

SUMMARY

Effects of vitamin C infusion on lipid profile, oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins and serum paraoxonase-arylesterase enzyme activities in hemodialysis patients.

Cardiovascular system disease are the most prevalent complications observed in patients treated with hemodialysis. Vitamin C, which is reduced in hemodialysis patients, is suggested to be used in the treatment of anemia, besides its resubstitution treatment. Although it is one the most important antioxidant molecules, vitamin C can also exert pro-oxidant activity. Vitamin C has also been reported to modify the lipid profile. The aim of the present study was to investigate the effects of vitamin C on the lipid profile and oxidant-antioxidant system that plays important roles in atherogenesis. For this purpose, 29 hemodialysis patients, that had been treated in the Hemodialysis Unit of Internal Medicine Department in Uludag University Medical Faculty, were included in this study. The patients were treated with 100 and 500 mg intravenous vitamin C for four months of periods, respectively. At the end of 4th and 8th months, lipid profile, serum paraoxonase activity and oxidation and oxidizability of apolipoprotein B-containing lipoproteins were investigated. Triglyceride levels and paraoxonase activity were significantly increased at the end of both 4 and 8 months. Total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and apolipoprotein B levels were increased and oxidizability of apolipoprotein B-containing lipoproteins were reduced at the end of 8 months. There were not any significant correlations between vitamin C and any of the parameters.

We conclude that 500 mg iv infusion of vitamin C may protect hemodialysis patients from development of cardiovascular system disease by increasing serum paraoxonase activity and reducing the oxidizability of apolipoprotein B-containing lipoproteins.

Key words: Hemodialysis, cardiovascular system disease, vitamin C, paraoxonase, lipoprotein oxidation

GİRİŞ

I.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) glomerüler filtrasyon oranında ilerleyici ve geri dönüşümsüz azalmayla karakterize işlevsel bir tanıdır. Klinik bulgu ve semptomlarının toplamı “üremik sendrom” olarak bilinir (1).

Belirtiler: Bulantı, Kusma,
İştahsızlık, Yorgunluk,
Halsizlik , Zihinsel durumda değişiklik,
Ölüm.

Bulgular: Derinin soluk görünmesi

Nefesin amonyak veya idrar gibi kokması

Üremik perikardit bulguları (örn perikardit frömanı)

Üremik motor nöropati (örn ayak ve bilek düşmesi)

Kanama zamanında uzama

Anemi

Sol ventrikül hipertrofisidir.

Bu belirtiler ve bulgular genellikle kreatinin klirensi 10 ml /dakika/ 1.75 m² 'nin altına indiğinde görülür (2).

KBY glomerüler filtrasyon hızında azalma düzeyine göre hafif, orta ve şiddetli olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo-1).

Tablo-1: Glomerüler filtrasyon hızında azalma düzeyine göre kronik böbrek yetmezliğinin sınıflandırılması

Böbrek yetmezliği	GFH (ml/dk)	65 kg bir kişide tipik serum kreatinin düzeyi (mg/dL)
Hafif	30- 50	2
Orta	10- 29	4
Şiddetli	<10	8
Son dönem	<5	17

GFH: Glomerüler filtrasyon hızı

KBY terimi ile “son dönem böbrek yetmezliği” (SDBY) terimi birbirinin yerine kullanılmasına rağmen aslında aynı şeyi ifade etmemektedirler. SDBY KBY’nin ileri dönemini tanımlar.

KBY’nin en sık görülen nedenleri Tablo-2’de, tanı koymak ve altta yatan nedeni belirlemek için kullanılan laboratuvar bulguları ise Tablo-3’te verilmiştir (1,3).

Tablo-2: Kronik böbrek yetmezliğinin en sık görülen nedenleri

HASTALIK	İNSİDANS (%)
Diabetik nefropati	30
Hipertansif nefroskleroz	25
Kronik glomerülonefrit	15
Kistik böbrek hastalığı	4
Ürolojik hastalıklar	6
Diğer/ bilinmeyen	20

Tablo-3: Kronik böbrek yetmezliği tanısını koymak ve altta yatan nedeni belirlemek için kullanılan laboratuvar bulguları

Özgün olmayan bulgular	
Serum kalsiyum düzeyinde artış	Paratiroid hormon düzeyinde artış
Serum fosfor düzeyinde artış	Metabolik asidoz
Serum potasyum düzeyinde artış	Anemi
Serum ürik asit düzeyinde artış	
Etyolojisine yönelik özgün laboratuvar bulguları	
Ağır proteinüri (>3.5 g/gün)	İdrar immunoelektroforezi (+)
Hafif proteinüri (1.5 g/gün)	Anti-nükleer antikor (+)
İdrarda eritrosit silendirleri	Anti-nötrofilik sitoplazmik antikor (+)
İdrarda lökosit silendirleri	Kompleman düşüklüğü
	Kalsiyum yüksekliği

Laboratuvar bulguları, ultrason ve biopsi incelemesi sonucu tanısı koyulan ve altta yatan nedeni belirlenen hastalarda sıra tedavinin belirlenmesine gelmektedir. KBY tedavisinde başlangıç döneminde ilaç, beslenmenin düzenlenmesi ve koruyucu önlemler yeterli olurken, SDBY geliştiğinde diyaliz veya organ nakline gereksinim duyulmaktadır (4).

KBY hastalarında, özellikle de hemodiyaliz (HD) uygulananlarda en sık ortaya çıkan komplikasyonlar kardiyovasküler sisteme ait olanlardır ve normal popülasyona kıyasla HD hastalarındaki artmış ölüm oranı bu sisteme ait hastalıklara bağlanmaktadır (5- 7). Nitekim ATP III (Adult Treatment Panel III) kılavuzuna göre on yılı aşkın süre KBY olan kişilerde kardiyovasküler hastalık (KVH) riski %20 artış göstermektedir ve bu risk özellikle HD tedavisi görenlerde daha fazladır. Foley ve ark. (8) çalışmalarında KBY olan hastalardaki ölümlerin yüzde ellisinden fazlasının esas nedeninin erken KVH olduğunu belirlemişlerdir. Üremik ortamın aterosklerotik plağın niteliğini ve niceliğini etkilediğini öne süren çalışmalar mevcuttur. Bunlardan biri Schwarz ve ark.'nın (9) çalışmasıdır. Bu çalışmada üremik hastalardaki koroner plaklarda media kalınlığının arttığı ve makrofaj infiltrasyonu ile aktivasyonunun hızlandığı, belirgin kalsifikasyonun meydana geldiği gösterilmiştir. Aynı şekilde Buzello ve ark. (10) apolipoprotein (apo) E eksik farelerde yaptıkları çalışmada böbrek işlevlerinde orta dereceli bir kaybın aterom plağının alanında dramatik bir artışa ve morfolojisinin kötüleşmesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Üremik yetersizlik durumunda aterojenik sürecin hızlanmasının altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak SDBY olan hastalarda geleneksel olan ve olmayan kardiyovasküler risk faktörlerinin görülme sıklığının ve derecesinin genel popülasyona göre yüksek olduğu bilinmektedir. Bu risk faktörleri Tablo-4'de gösterilmiştir (11).

Tablo-4: Genel popülasyon ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalardaki aterosklerotik kardiovasküler hastalık risk faktörleri

Geleneksel risk faktörleri	Geleneksel olmayan risk faktörleri
Yaş	Oksidatif stres
Erkek olmak	İnflamasyon
Sigara kullanmak	Vasküler kalsifikasyon
Diabetes Mellitus	Malnütrisyon
Hipertansiyon	Hiperhomosisteinemi
Dislipidemi	Artmış glikozilasyon son ürünleri
Obezite	Genetik değişiklikler
Kalıtımsal yatkınlık	

Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sonucunda oksidatif stresin SDBY’de görülen ateroskleroz ve diğer komplikasyonların (anemi, malnütrisyon, diyalizle ilişkili amiloidoz) patogenezinde rol oynayabileceğini destekleyen bulgular artmaktadır. Aterosklerotik KVH riskinin artması ve aterogenezin hızlanmasıyla oksidatif stres arasında ilişki olabileceğini gösteren SDBY olan ve olmayan hastalarda yapılmış çalışmalar mevcuttur (12, 13, 14, 15). Nitekim oksidatif stresin erken ateroskleroz oluşumunda önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (16). Ateroskleroz oluşumunu açıklayan teoriler (hasara yanıt teorisi, klonal teori, enfeksiyöz teori) içinde en çok kabul gören “hasara yanıt hipotezi” dir. Bu hipoteze göre ateroskleroz patogenezinde olayları başlatan temel basamak endotel hasarı ve buna bağlı endotel işlev bozukluğudur (17). Bilinen risk faktörlerinin hemen hepsi (hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet, sigara) endotelde hasar ve işlevsel bozukluğun oluşmasına yol açmaktadır. Tetikleyici etken bunlardan hangisi olursa olsun ateroskleroz lezyonlarının oluşumunda esas rolü okside düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oynamaktadır. Buna göre aterogenezde LDL’deki lipitlerin oksidatif modifikasyonu ile başlar ve endotel işlev bozukluğu, trombositlerin aşırı aktivasyonu ve agregasyonu, köpük hücresi oluşumu, inflamasyon ve

trombozisin iç içe olduğu olaylar dizisinin birbirini izlemesiyle gelişir (14, 15, 17, 18). Üremik hastalarda lipoprotein oksidasyonunda artış olduğu ve bunun da bu grup hastalarda ateroskleroz oluşumunu hızlandırarak KVH görülme sıklığını arttırdığı çeşitli çalışmalarda (19- 21) ileri sürülmüştür.

I.2. HEMODİYALİZ TEDAVİSİ ALAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA LİPİT PROFİLİ

Serum lipitleri endotel işlevleri üzerine doğrudan etkilidir ve anormal serum lipit profilinin endotel işlev bozukluğu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kronik hiperlipidemik şartlarda dolaşımdaki LDL partikülleri endotel hücreleri tarafından alınarak okside edilebilir (14, 15). Hiperlipidemi ile seyreden tablolardan biri de KBY'dir.

Genel popülasyonda hiperlipidemiye eşlik eden veya neden olan lipoprotein tablosundaki değişiklikler şu şekildedir (22) :

1. Okside LDL düzeyinin artması
2. Apolipoprotein içeriği artmış küçük, yoğun LDL seviyelerinin yüksek olması
3. Kalıntı lipoprotein (IDL) düzeylerinin yüksek olması
4. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (VLDL-K) düzeyinin yüksek ve yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-K) düzeyinin düşük olması
5. Lipoprotein (a) [Lp(a)] düzeyinin yüksek olması.

SDBY olan hastalarda lipid profilinde bozukluk görülme sıklığı Tablo-5'da verilmiştir.

Tablo-5: Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda lipid profilinde bozukluk görülme sıklığı

(mg/dl)	Total-K>240	LDL-K>130	HDL-K<35	TG>200	Lp(a) > 30
Genel popülasyon	% 20	% 40	% 15	% 15	% 15
Hemodiyaliz popülasyonu	% 20	% 30	% 50	% 45	% 30
Peritoneal diyaliz popülasyonu	% 25	% 45	% 20	% 50	% 50

K: Kolesterol, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, TG: Trigliserid, Lp(a): Lipoprotein (a)

HD hastalarında VLDL-K ve IDL-K yüksekliği, HDL-K azalması ve LDL partiküllerinin apo B'den zengin küçük yoğun LDL'ye dönüşümünde artış görülmektedir. İlginç olan uzun süreli HD uygulanan hastalarda KVH varlığı ile LDL-K düzeyleri arasında daha zayıf bir ilişki olmasıdır. Ayrıca HD hastalarında belirgin LDL-K artışı da olağan değildir. Bununla birlikte HD hastalarında apo B partiküllerinin trigliserid (TG) içeriğinde belirgin artış gösterilmiştir. Küçük yoğun LDL baskınlığına kayışın nedeni de HDL metabolizmasındaki ve kolesterol ester transfer protein (CETP) aktivitesindeki değişikliklerin olabileceği ileri sürülmüştür. CETP antiaterojenik HDL partikülleri ile proaterojenik VLDL ve LDL partikülleri arasında nötral lipidlerin (kolesterol esterleri, TG) değişiminin sağlanmasından sorumludur. HD hastalarındaki karakteristik lipid profili değişiklikleri sıklıkla glomerüler filtrasyon hızı 50ml/dk'nın altına indiğinde başlamaktadır (22). Kronik HD hastalarında aortik aterosklerozun gelişimi ile IDL, VLDL, LDL arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (23, 24). Apo B-içeren lipoproteinlerin kolesterol içeriğini gösteren "non HDL-K" düzeyinin bir parametre olarak kullanılabileceği ve bu parametrenin de diyaliz hastalarında aterosklerotik KVH'a bağlı ölümler için belirleyici olabileceği gösterilmiştir (25). Total-

kolesterol (total-K), TG, IDL-K düzeylerinde meydana gelen artış ile HDL-K düzeylerinde oluşan azalmanın kronik HD hastalarının lipit metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu değişiklikler (22):

1. VLDL metabolizmasında yavaşlama sonucu apo B yapımının artması:

VLDL metabolizmasının azalması apo CII ve apo CIII konsantrasyonlarındaki değişikliklere bağlanmıştır. Apo CII lipoprotein lipaz (LPL) için kofaktör, apo CIII ise baskılayıcıdır. HD hastalarında apo CIII düzeyi artarken apo CII/apo CIII oranı azalır. Dolayısıyla LPL aktivitesinin baskılanmasına bağlı olarak VLDL'nin TG içeriğinin yıkımı azalır. Buna apo B yapımının artması eşlik eder. Ayrıca apo CII'nin HDL'den VLDL'ye aktarılmasında da bozukluk veya aksaklık vardır.

2. Hem LPL hem de hepatik trigliserid lipaz (HTGL) aktivitesinin azalması:

LPL aktivitesinde azalma VLDL ve şilomikron (ŞM) yıkımını azaltır. HTGL aktivitesinde azalma ise ŞM kalıntılarının ve IDL'nin birikimine neden olur. Bu enzimlerde meydana gelen değişiklikler şu 3 faktöre bağlanabilir. Birincisi üremik toksinler, ikincisi HD hastalarında kullanılan heparinin bu enzimler üzerindeki baskılayıcı etkisi, üçüncüsü ise HD hastalarında görülen insülin rezistansına ikincil olarak gelişebilir.

3. Lipoproteinler ve bunların reseptörlerinde oksidasyona, karbamilasyona, glikozilasyona bağlı değişimler sonucu lipoproteinlerin temizlenme kapasitesinin değişmesi:

4. Zamanla çöpçü reseptörlerde "up regülasyon" oluşması.

5. HDL-K düzeyinin azalması:

HD hastalarında HDL-K düzeyinin azalmasının nedeni açık olmamakla birlikte iki faktöre bağlanabilmektedir. Birincisi HDL olgunlaşmasında kritik öneme sahip olan lesitin kolesterol açiltransferaz (LCAT) ve HTGL enzimlerinin aktivitelerindeki doğrudan azalma, ikincisi de apo AII üretimi belirgin azalırken apo AI yıkımının artmasıdır. Apo AI'nin kolesterolün esterleşmesini sağlayan LCAT enziminin aktivatörü olduğu bilinmektedir. Apo AII'nin görevi tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen LCAT

enzimini inhibe ettiği düşünölmektedir. Dolayısıyla da bu bozukluk HDL partikölündeki kolesterolün esterleşmesinin azalmasına, buna bağlı olarak da olgun HDL oluşumunda yetersizliğe yol açmaktadır.

6. Lp(a) konsantrasyonunun yüksek olması

I.3. HEMODİYALİZ TEDAVİSİ ALAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OKSİDATİF STRES

Organizmada serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin aşırı miktarda üretildiği ya da antioksidan savunmanın yetersiz kaldığı durumlarda, oksidan antioksidan sistemler arasındaki denge bozulmakta ve oksidatif stres tablosu açığa çıkmaktadır (26).

SOR çok kısa yarı ömürlü olmalarına rağmen, hücrelerin protein, lipit ve nükleik asitleri ile etkileşerek hücre yapı ve işlevlerinde önemli değişikliklere yol açarlar. Aerobik organizmalar için SOR'nin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Moleküler oksijen sitokrom oksidaz yolu ile suya indirgenirken, %1-5'i ise oksijenaz yolu ile potansiyel olarak toksik reaktiflere dönüşür. Biyolojik sistemde bulunan en önemli SOR:

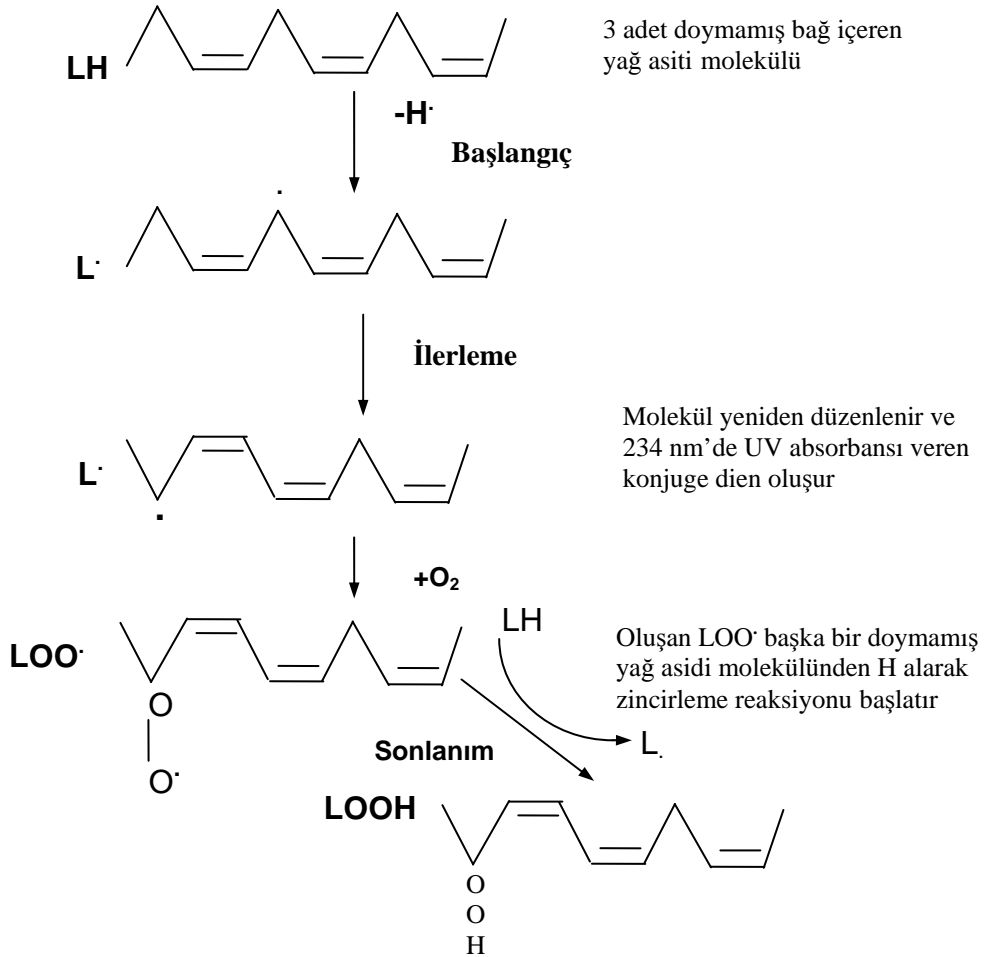
- I. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)
- II. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)
- III. Hidrojen peroksittir (H_2O_2)

Süperoksit radikali en çok üretilen ancak tepkiciliği (reaktivitesi) düşük olan radikalken, hidroksil radikali tepkiciliği en yüksek ve yarı ömrü en kısa radikaldir. Hidrojen peroksit ise gerçek bir serbest radikal olmayan ancak demir, bakır, mangan gibi geçiş elementleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açan ve dolaylı yoldan oksidan etki gösteren moleküldür. Bu SOR'nin yol açtığı hücresel hasarı dört ana başlıkta incelemek mümkündür.

1. Lipid peroksidasyonu
2. Protein oksidasyonu
3. Karbonhidrat oksidasyonu

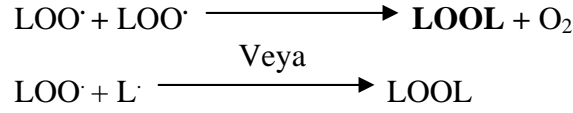
4. DNA hasarı

Hücre zarında oksidasyona en duyarlı bileşikler çoklu doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated fatty acids = PUFA) dir. SOR'nin etkisi ile oluşan tepkimelerin en iyi bilineni ve üzerinde en fazla araştırma yapılanı lipit peroksidasyonudur (27). Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksidleyici bir radikalın zar yapısında bulunan PUFA zincirindeki metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırması ile başlamaktadır. Lipit peroksidasyonunu başlatan başlıca radikal hidroksil radikalidir (28). Lipit peroksidasyonu 3 aşamada gerçekleşir. Başlangıç dönemi, ilerleme dönemi ve sonlanma dönemi (Şekil-1).



Şekil-1: Lipit peroksidasyonunun başlangıç, ilerleme ve sonlanma aşamaları. LH: Yağ asiti, L•: Lipit radikali, LOO•: Lipit hidroperoksil radikali, LOOH: Lipit hidroperoksit

Bütün bu zincirleme tepkimeler sonucunda oluşan lipid peroksidasyon ürünleri en sonunda bir başka lipid peroksidasyon ürünü ile tepkimeye girer ve tepkime sonlanır. Sonuçta oluşan ürün siklik bir peroksittir (LOOL).



Oluşan lipid hidroperoksitleri (LOOH) ve siklik peroksitler (LOOL) daha sonra siklik endoperoksitlere dönüşür ve bunlara oksijen, ısı, hidroliz, katalitik metal iyonlarının vb. etkisi ile malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal gibi aldehit yıkım ürünleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan konjuge dien ve MDA oksidatif hasarın en sık kullanılan göstergelerindedir. Bu ürünler vücudumuzda çeşitli moleküller ile etkileşime girerek onların yapı ve işlevlerini değiştirirler:

1. Zarların yapı ve işlevlerinde bozulmaya neden olurlar.
2. Proteinlerin tiyol ve amino grupları ile etkileşerek kümelenmiş proteinler oluştururlar. Yaşlılık pigmentinin oluşumu buna örnek olarak verilebilir.
3. Mutajen olarak etki ederler.
4. LDL yapısını değiştirerek metabolizmasını bozar ve ateroskleroz gelişimine aracılık ederler.

Organizmada oluşan SOR'nin yol açtığı hücresel hasara karşı çeşitli savunma sistemleri bulunmaktadır. Oksidatif hasarı önleyen, sınırlandıran veya kısmen tamir eden moleküllere "antioksidanlar" denir.

Antioksidan enzimler:

1. Süperoksit dismutaz (SOD)
 2. Katalaz (KAT)
 3. Glutasyon peroksidaz (GPx)
 4. Glutasyon redüktaz (GR)
 5. Sitokrom oksidaz (SO)
 6. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)
- } birincil antioksidan enzimler

Antioksidan vitaminler:

1. E vitamini (LDL'de en fazla bulunan antioksidan)
2. β - Karoten
3. C vitamini

E vitamini hücre zarının yüzeyine yakın, β -Karoten hücre zarının iç kısmında, C vitamini ise sulu fazda bulunur. Bu üç vitaminin bileşik etkisi hücre zarını ve LDL'yi oksidasyona karşı korumaktır (27).

Üremik hastalar antioksidan sistem aktivitesinde azalma ve/veya oksidasyonu uyarıcı aktivitede artış sonucu oksidatif strese maruz kalırlar. Bu hastalarda SOR üretiminde artış ve/veya antioksidan sistem aktivitesinde azalma olduğu çeşitli çalışmalarla (19, 29, 30, 31, 32) gösterilmiştir. Oksidatif stresin KBY'nin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu bilinmemektedir (29, 33). KBY'nin oluşumunu açıklamak üzere bir birinden farklı birçok mekanizma öne sürülmüştür. Glomerüler hücreler, nötrofiller, monosit/makrofajlar, trombositler, kompleman ve koagülasyon sistemi, sitokinler ve büyüme faktörleri, trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi biyoaktif lipitler, anjiyotensin II, endotelin, nitrik oksit ve SOR gibi birçok molekülün böbrek hasarı oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir (34). Bunlar içinde SOR ve SOR kaynaklı ürünler böbrek hücrelerinin enerji üretimini ve transport işlevlerini bozar. Morfolojik lezyonların oluşumundan ve proteinlere karşı glomerül geçirgenliğinin bozulmasından sorumlu tutulurlar. Prostaglandin, tromboksan ve PAF gibi vazoaaktif lipitlerin salınımında rol oynadıkları da öne sürülmektedir (35, 36).

SDBY hastalarının kaçınılmaz tedavilerinden birisi olan HD de oksidatif stresi artırıcı etki göstermektedir (30, 31). HD esnasında SOR üretiminin artmasının bir nedeni kullanılan membranlar ve diyalizat sıvılarının aktive ettiği polimorfonükleer lökositlerde oluşan solunum patlamasıdır (37, 38). Bunda:

1. Polimorfonükleer lökositlerin doğrudan uyarılması

2. Alternatif kompleman sisteminin aktivasyonu (39, 40)
3. İnterlökin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımının artması etkili olabilir (41).

HD hastalarında antioksidan sistemdeki yetersizliği de 3 faktöre bağlamak mümkündür.

1. Üremik toksinlerin antioksidan enzimlerin protein yapısını bozması (32)
2. Bu enzimlerin böbrekteki yapımının azalması (42, 43)
3. Antioksidan vitaminlerin (E vitamini, C vitamini) ve antioksidan enzimlerin aktivitesi için gerekli olan eser elementlerin (örn Selenyum) diyaliz sıvısına geçmesi sonucu düzeylerinin azalması (44- 46).

Hepatit B ve C gibi HD hastalarında sık rastlanılan kronik inflamasyon ile seyreden hastalıklar da oksidatif stresi artırıcı etki göstermektedir (47). Oksidatif stresin artmasına neden olan diyabet, yaşlılık, hipertansiyon, dislipidemi ve sigara gibi etkenlerin sıklığının HD hastalarında yüksek olması da önemli faktörler arasındadır (48).

I.4. HEMODİYALİZ TEDAVİSİ ALAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA APOLİPOPROTEİN B-İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN OKSİDASYONU ve OKSİDASYONA DUYARLILIĞI

Apo B-içeren lipoproteinler LDL'nin yanı sıra VLDL ve IDL dir. Apo B-içeren lipoproteinlerin bakır iyonu ile uyarılan *in vitro* oksidasyonu, lipoproteinlerin oksidasyonunu ve oksidasyona olan duyarlılıklarını değerlendirmede, dolayısıyla da KVVH gelişme riskinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden birisidir. Aterosklerozun başlangıcında ve ilerlemesinde LDL ve diğer apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir (49). Lipoproteinler okside olduklarında hidroperoksitler salınır ve reaktif aldehytler açığa çıkarlar (örn MDA ve 4-hidroksinonenal). Bu aldehytler apo B 'nin lizin

rezidüleri ile etkileşime girerek LDL reseptörlerine ilgisini azaltırken çöpçü reseptörler tarafından yakalanmasında artışa neden olurlar (50). Böylece köpük hücre oluşumuna ve aterogenezin ilerlemesine yol açarlar. Değişime uğramış LDL (başlıca okside LDL) daha fazla monositin arter duvarına yapışmasını ve geçmesini sağlayarak köpük hücre oluşumunda artışa neden olur ve aterogenez oluşumunu hızlandırır (51). Okside LDL ve veya VLDL kan damarlarında hücre hiperplazisini ve inflamatuvar süreçleri tetikleyebilmektedir. Okside LDL'nin aterogenezdeki etkileri şöyle özetlenebilir (15):

1. Monosit kemotaktik faktör salınımına yol açarak monositler için kemotaktik etki gösterir.
2. T lenfositler için kemotaktiktir.
3. Makrofajların migrasyonunu inhibe ederek arter duvarından uzaklaşmasını engeller.
4. Endotel hücreleri ve düz kas hücrelerine doğrudan hasarlayıcı etki gösterir.
5. Okside LDL ile dolu köpük hücreleri düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu uyarır.
6. Makrofajlardan IL-1 salınımını uyarır. Bu da düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve lökositlerin endotele yapışmasına neden olur.
7. Doku faktörü ve plazminojen aktivatör inhibitörünün yapımını indükleyerek pıhtılaşma sistemini etkiler.
8. Endotel adezyon moleküllerinin üretimini uyararak monosit ve T lenfositlerinin damar duvarına adezyonunu kolaylaştırır (14, 15).
9. LDL anjiyotensin II tip I reseptörünün "up regülasyonu"na neden olarak anjiyotensine karşı vazokonstriksiyon yanıtını artırır (52).

Kronik HD hastalarında plazma antioksidan savunma sisteminin zayıfladığı, SOR üretimi ile LDL oksidasyonunun ve oksidasyona duyarlılığının arttığı gösterilmiştir (53). Güllülü ve ark. (54) yaptıkları çalışmada KBY'nin en sık

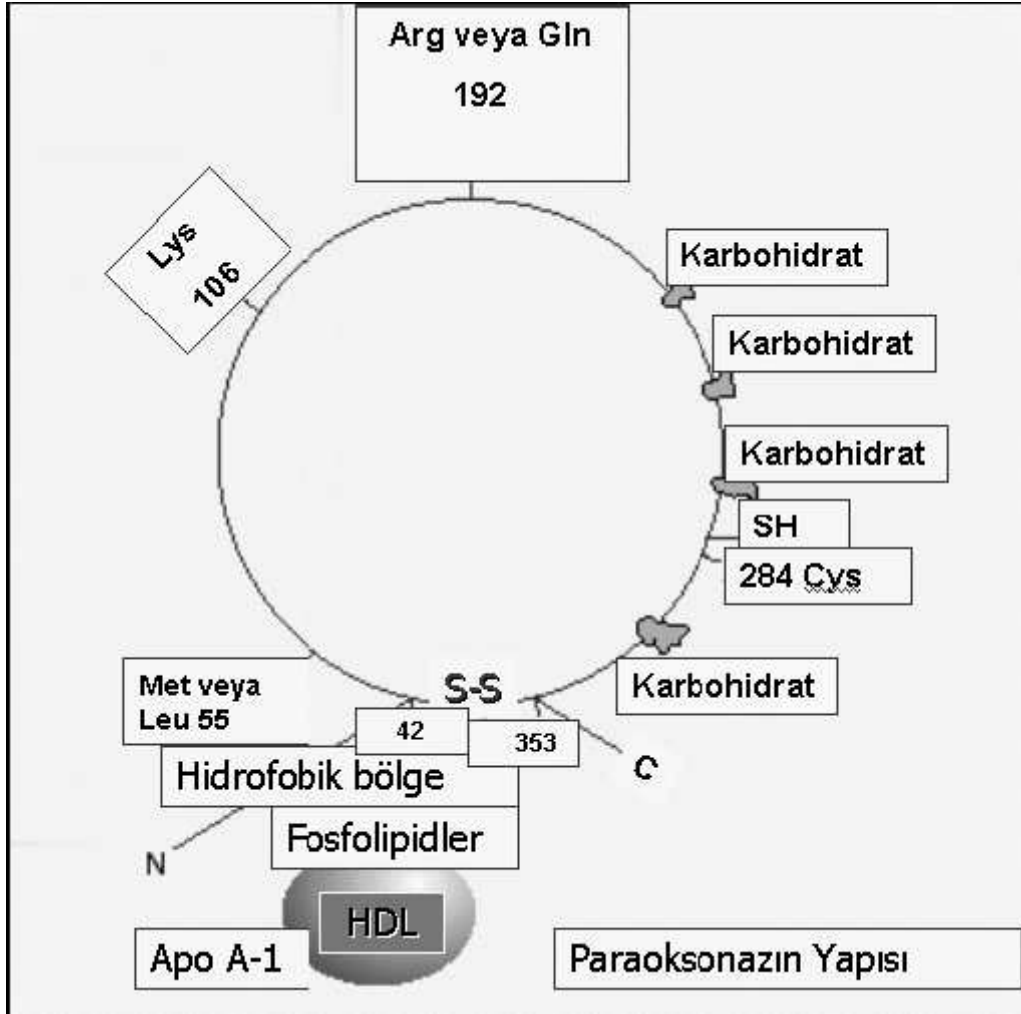
görülen nedenleri arasında yer alan glomerülonefritik hastalığı olan grupta apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığının kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğunu saptamışlardır. Buna karşın Dirican ve ark. (55) ise apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığının HD tedavisi uygulanan KBY'li hastalarla sağlıklı bireyler arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

I.5. PARAOKSONAZ ENZİMİ (EC 3.1.8.1)

Serum total-K ve LDL-K düzeylerinin yüksek, buna karşılık HDL-K düzeylerinin düşük olması, aterosklerotik kalp damar hastalığı için risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. HDL'nin ateroskleroz oluşumundan koruyucu etkisi öncelikle ters kolesterol taşınmasından sorumlu olmasıyla ilişkilendirilmektedir (56). Ancak HDL'nin ateroskleroz oluşumundan koruyucu rolü, ters kolesterol taşınması ile sınırlı değildir. HDL aynı zamanda nitrik oksit gibi bazı damar genişletici moleküllerin yapımını artırır, inflamasyon ve tromboz oluşumunu önleyici etki gösterir, adezyon moleküllerinin yapımını azaltır ve endotel tamirini uyarır (57). HDL'nin bir başka önemli etkisi ise, aterosklerozun başlangıç ve gelişiminden başlıca sorumlu tutulan LDL'deki oksidatif değişimleri önlemesidir. HDL'nin bu etkisinin kısmen HDL ile ilişkili enzimlere bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda özellikle paraoksonaz (PON) ve platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz (PAFAH) enzimleri üzerinde durulmaktadır. Ancak PAFAH insanda HDL'den çok LDL üzerinde bulunan bir enzimdir. HDL'ye özgü olan ve lipid peroksidleri hidroliz etmekte güçlü etkisi olduğu bildirilen enzim ise PON'dur (58).

PON (arildialkil fosfataz) insanda 7. kromozom ile kalıtılır. Aynı kromozom üzerinde üç ayrı PON geni (PON1, PON2, PON3) bulunmaktadır. Üç proteinin aminoasit dizileri arasında yaklaşık %53 oranında homoloji bulunmaktadır. Dokularda ekspresyonu ve dağılımı birbirinden farklılık göstermektedir. PON1 ile PON3'ün karaciğer ve plazmada bulunmasına karşılık, PON2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle

endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yer aldığı gösterilmiştir (59). İnsan serum PON1'i 354 aminoasitten oluşan 43 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Enzim sınıflamasına göre fosforik triester hidrolaz üyesi (EC 3.1.8.1) bir aromatik esterazdır (60, 61). Bir organofosfat olan parationun vücuttaki aktif metaboliti olan paraoksonu hidrolize ettiği için bu isim verilmiştir (62). PON1 enzimi başlıca 2 polimorfizm gösterir. Bunlardan birisi Q / R polimorfizmidir. 192. aminoasit Glutamin ise A izoenziminden (Q aleli, düşük aktiviteli form), Arginin ise B izoenziminden (R aleli, yüksek aktiviteli form) bahsedilir. İkincisi ise M / L polimorfizmidir. Bunda da 55. aminoasit Lösin ise L izoenzimi, Metiyonin ise M izoenzimi olarak adlandırılır. PON1 aktivitesi bakımından bireyler arasında yaklaşık olarak 10 ile 40 kat varyasyon olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni henüz tam olarak bilinmemektedir. Kişiler arasındaki varyasyonun yaklaşık olarak %73-76'sının 192 A / B (Q / R aleli) polimorfizmine bağlı olduğu saptanmıştır (63). PON enzimi aynı zamanda arilesteraz aktivitesi de gösterir, bir aromatik ester olan fenilasetatı hidrolize ederek fenol ve asetata ayırır. Açığa çıkan fenol miktarı spektrofotometrik olarak tayin edilerek arilesteraz aktivitesi ölçülür (64, 65). Arilesteraz aktivitesinin PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak enzimin konsantrasyonunun bir göstergesi olduğu kabul edilmektedir (66). PON2 ve PON3'ün 105. pozisyonunda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemedikleri öne sürülmüştür (60). PON1'in yapısı Şekil-2'de özetlenmiştir (67)



Şekil-2: İnsan Serum Paraoksonaz (PON1) Enziminin Yapısı

PON1 üç tane sistein bölgesi içerir. Bunlardan iki tanesi molekül içi disülfid bağının oluşumuna katılırken, 284. pozisyondaki sistein ise serbest haldedir ve LDL'yi oksidasyondan korumada önemli bir işleve sahiptir (60, 68). PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi ile HDL lipitlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri apo A1 ve apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden apo A1 ve apo J'nin bağlanmada rol oynadığı düşünülmektedir (69). PON1 enziminin başlıca substratları; organofosfatlar (paraoxon, diazoxon), karbamatlar, sinir gazları (sarin, tabun, soman), mikrobiyal endotoksinler (salmonella, tripanozoma), arilesterler (fenilasetat), lakton molekülleri (homosistein tiolakton), okside lipidler (fosfolipid hidroperoksidleri)'dir (70). Ancak enzimin doğal substratı kesin olarak belli değildir. Serum PON1 düzeyi genetik faktörlerin dışında beslenme şekli, akut

faz reaktanları, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve yaş ile değişir (71- 73). PON1'in LDL'deki lipid hidroperoksidleri hidrolize ederek ve bunların LDL'de birikmesini engelleyerek ateroskleroza karşı koruyucu olduğu ve HDL'nin kendisini de lipid peroksidasyonundan koruduğu saptanmıştır (68, 74, 75). HDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisini 283. pozisyonunda bulunan serbest sisteinin sülfidril grubunun okside olmuş lipidlerle tepkimeye girmesiyle gerçekleştirdiği düşünülmektedir (68). HDL'nin okside olmasının önlenmesi, kolesterol esterleriyle dolmuş köpük hücresi haline gelmiş makrofajlardan serbest kolesterolün alınıp karaciğere taşınmasında ve ateroskleroz gelişiminin önlenmesinde çok önemli olabilir (70, 76, 77). PON1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi kalsiyuma bağımlı iken, lipid peroksitlerinin birikimini önlemede kalsiyumun gerekli olmadığı bildirilmiştir (78).

Yapılan çalışmalar üremik hastalarda lipoprotein oksidasyonu ile yakın ilişkili olduğu bilinen serum PON1 aktivitesinin sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğunu göstermiştir (79- 84). Bunlardan biri de Dirican ve ark. (85) yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmaya 44 tanesi HD tedavisi alan 72 KBY olan hasta ile 26 sağlıklı kişi katılmış ve uzun dönem HD tedavisi alan hastalarda PON1 ve arilesteraz aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir. Bu düşüşün HDL-K, apo AI düzeylerindeki azalma ve üre, kreatinin düzeylerindeki artış ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Dirican ve ark. (55) yaptığı bir başka çalışmada da KVH'ı olan HD hastalarında PON1 aktivitesinin KVH'ı olmayanlara kıyasla belirgin düşük olduğu gösterilmiş ve bunun HD hastalarında artmış KVH görülme riskine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür.

I.6. C VİTAMİNİ (ASKORBİK ASİT, AA)

KBY olan hastalarda yeterli demir desteği ve eritropoietin verilmesine rağmen bazı hastalarda anemi tablosunda istenen düzeyde düzelmeye görülmemektedir. Bu tedaviyi etkinleştirecek seçenekler araştırılmaktadır. AA destek tedavisi de üzerinde durulan seçeneklerden birisidir. Adjuvan tedavi

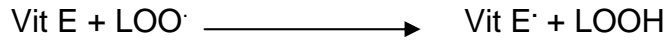
olarak AA'nın, subklinik C vitamini eksikliği düşünölen hastalara 1- 1.5 gr/hafta oral veya her diyaliz seansından sonra haftada 3 kez 300- 500 mg olacak şekilde kullanımı önerilmektedir (86, 87). Deneysel çalışmalar C vitamininin, demir alımı ve sekestrasyonu da dahil olmak üzere demir transportunun pek çok aşamasında etkin olduğunu göstermiştir (88- 90).

C vitamini vücudun normal metabolik işlevleri için gerekli suda çözünen bir vitamindir (91). Yeşil renkli taze sebze ve meyvelerde özellikle turunçgillerde bulunmaktadır. Bağırsaklardan aktif transport ile kolayca emilir. Emilimi alınan doz arttıkça kısmen azalır (92, 93). Yetişkinler için önerilen günlük C vitamini dozu 60 mg dır. Sigara içenlerde C vitamini katabolizması hızlandığı için günde 100 mg alınmalıdır. Gebelik döneminde günde 70 mg, laktasyon döneminde ise 95 mg alınmalıdır (27). Vücutta hem hücre içi, hem de hücre dışı ortamda bulunur ve hücre dışı ortamın en önemli antioksidanıdır (94). Antioksidan özelliklerini "söndürücü etki" ile göstermektedir. Oksidanlarla etkileşime girip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya baskılayan etkinliğe "söndürücü" etki denir (27). Bu etkisini askorbatın (C vitamini'nin indirgenmiş veya aktif formu) dehidroaskorbik aside (C vitamini'nin yükseltgenmiş veya inaktif formu) geri dönüşümlü oksidasyonunda elektronlarını verme yeteneğıyle gerçekleştirir. Askorbat ve dehidroaskorbat vücut sıvılarında denge halinde bulunurlar ve kolayca birbirlerine dönüşerek redoks niteliğı gösterirler (94). İdeal bir elektron vericisidir. Çünkü elektronunu verdiğı zaman oluşan serbest radikal ara ürünü (semihidroaskorbik asit) diğeri serbest radikaller ile karşılaştırıldığında tepkici değildir. C vitamini;

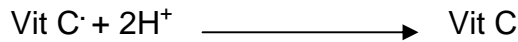
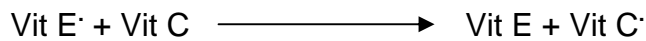
- a. Süperoksit radikalini, hidroksil radikalini ve hipokloröz asidi indirger.
- b. Aktif nötrofil ve monositlerden kaynaklanan oksidanları etkisizleştirir.
- c. Lipid peroksidasyonu başlamadan önce sulu ortamdaki peroksil radikalleriyle doğrudan tepkimeye girerek zarları peroksidatif hasardan korur.
- d. LDL oksidasyonunu önler ve elektronları zardaki E vitaminine aktarır.

e. Oluşan E vitamini radikalini indirgeyerek E vitamininin yeniden kullanılabilmesini sağlar (27).

E vitamini yağda çözünen bir vitamindir. Alfa tokoferol insan dokularında en fazla bulunan ve en yüksek biyolojik aktiviteye sahip olan şeklidir (95, 96). Hücre zarı ve lipoproteinlerde çözünen en önemli zincir kırıcı antioksidan ve lipid peroksitlerine karşı korunma mekanizmalarından ilki olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan peroksil radikali (LOO[·]), lipofilik özelliğinden dolayı zarda bulunan E vitamini ile tepkimeye girer ve daha zayıf bir oksidan olan lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüştürürken, E vitamini ise zayıf bir radikal halini alır.

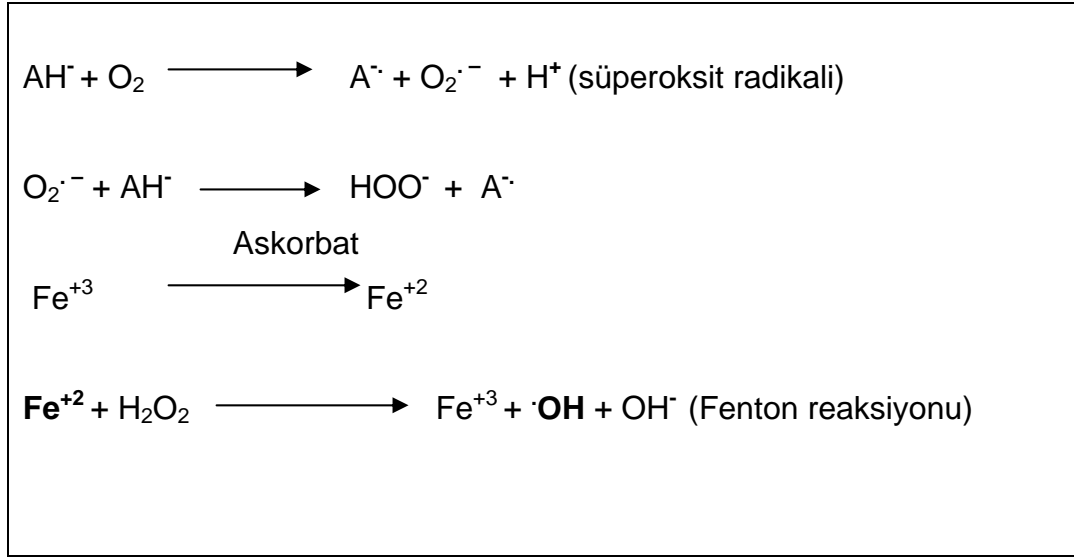


Oluşan tokoferol radikalinin (E vitamini radikali) reaktivitesi zayıf olduğu için komşu yağ asitlerine saldırmaz ve sonuç olarak zincir reaksiyonu durur. Ortamda bulunan C vitamini E vitamini radikalini (vit E[·]) tekrar aktif E vitaminine dönüştürür. C vitamini radikali (Vit C[·]) ise 2H⁺ ile tepkimeye girerek tekrar aktifleşir (27).



C vitamininin antioksidan etkisinin yanı sıra bazı durumlarda oksidasyonu kolaylaştırıcı etki gösterebildiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda AA'nın antioksidan etkisinin konsantrasyona bağımlı olduğu, düşük kan konsantrasyonlarında antioksidan etkisinin azalarak, oksidasyonu kolaylaştırıcı etkisinin ortaya çıktığı bildirilmiştir (97, 98). İn vitro şartlarda ortamda endojen peroksid, oksijen ve demir gibi metal iyonları varlığında C vitamini konsantrasyonu düşük olduğunda lipid peroksidasyonunda artış,

yüksek olduğunda ise antioksidan etki göstererek lipid peroksidasyonunda azalma olduğu gösterilmiştir (99). Bunun yanı sıra yüksek O₂ parsiyel basıncında ve geçiş metal iyonlarının yoğun olduğu ortamlarda da pro-oksidan etki gösterebilmektedir. Şekil-3'deki formülde görüldüğü gibi yüksek O₂ parsiyel basıncında ortamdaki askorbat tüketilmekte ve serbest radikalleri yakalayamamaktadır. Aynı zamanda Fe⁺³ ve Cu⁺² gibi geçiş metallerini indirgeyerek güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşumuna yol açabilmektedir. "Fenton reaksiyonu" olarak isimlendirilen bu durum da Şekil-3'de özetlenmiştir (27).



Şekil- 3: C vitamininin oksidasyonu kolaylaştırıcı etkisi

HD hastalarında plazma, tam kan veya lökosit askorbat seviyeleri her zaman olmasa da sıklıkla referans değerlerin altında bildirilmiştir (100- 106). Diyaliz hastalarındaki C vitamini eksikliği öncelikle hiperkalemi riski nedeniyle taze meyve ve sebzelerin tüketiminin kısıtlanmasına ve diyaliz esnasında kaybına bağlanmıştır (102, 104, 107). Suda çözünen C vitamini diyaliz ile kolayca kaybedilebilmektedir (92, 93). Modifiye hemodiyafiltrasyon yöntemi kullanıldığında, her bir diyaliz seansında ortalama 66 mg C vitamini kaybedilir ve bu da plazma C vitamini seviyelerinde dramatik azalmaya neden olur (108). C vitamini desteği almayan HD hastalarında plazma AA düzeyinin, diyaliz öncesi değere göre %40 ± 4, C vitamini desteği (250- 500 mg/gün,

oral) alanlarda ise 68 ± 4 azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca plazma AA düzeyi 0.11 mg/dl olan hastada diyalizata 130 mg, 11.77 mg/dl olan hastada ise 780 mg askorbat kaybı olduğu tespit edilmiştir (102). Bu durum beslenme sınırlamaları yüzünden diyaliz hastasında yaklaşık olarak sadece 400 mg olan haftalık C vitamini alımının büyük bir kısmının kaybına yol açar. Diyaliz hastalarında sadece toplam C vitamini konsantrasyonu değil aynı zamanda C vitamininin indirgenmiş hali olan askorbat da (aktif formu) azalır (109, 110). Dehidroaskorbattan askorbat oluşumunda indirgenmiş glutatyona (GSH) ihtiyaç vardır (111). Diyaliz hastalarında ise GSH eksikliği de görülmektedir. Dolayısı ile C vitamininin başka etkenlere bağlı yetersizliği de söz konusu olabilmektedir (110). HD hastalarındaki C vitamini eksikliği ateroskleroz gelişimine katkıda bulunarak kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi artırabilir (112). Nitekim C vitamini verilen HD hastalarında kardiyovasküler mortalite ve morbiditede azalma olduğu gözlenmiştir (101). HD hastalarında tek bir diyaliz seansında (4 saat) meydana gelen askorbat kaybına (destek almayan hastalarda 70- 100 mg) ve beslenme ile azalmış askorbat alımına (40 mg/günden az) bağlı olarak bu hastalara 150- 200 mg/gün askorbat desteği gerektiği kabul edilmektedir (102). Daha sık diyalize giren ve daha kısıtlı beslenenlerde ise daha fazla destek gerekmektedir (113). HD hastalarında önerilen C vitamini destek dozu 70- 250 mg/gün arasında değişmektedir. C vitamini kullanımının eritrosit GSH düzeyini ve plazma antioksidan kapasitesini artırırken, lipid peroksidasyonunun azalmasına yol açtığı görülmüştür (114). HD esnasında düşük infüzyon hızında yüksek doz AA uygulanmasının E vitamini yenilenmesini arttırarak lipid peroksidasyonunun artışını engelleyebileceği öne sürülmüştür (115).

HD hastalarında özellikle oksidan-antioksidan sistem dikkate alındığında C vitamininin farklı etkilerinin olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Oksidan sistem üzerinde çift yönlü etkisi olduğu bilinen AA'nın adjuvan tedavi olarak kullanılması sırasında oksidan – antioksidan sistem ve aterosklerotik süreç üzerine nasıl etki edeceği bilinmemektedir. Biz de bu nedenle HD hastalarında C vitamini infüzyonunun lipid profili ile apo B-içeren

lipoproteinlerin oksidasyonu ve serum PON1-amilsteraz enzim aktiviteri
zerine nasıl etki ettiğini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

II.1. Gereç

II.1.1. Olgular

Uludağ Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalı Hemodiyaliz Ünitesi'nde, SDBY nedeni ile en az 6 aydır izlenen ve eritropoetin tedavisi alan 29 hasta çalışmaya alındı. Hemoglobinopati, hiperparatiroidi, alüminyum toksisitesi, B12, B6 ve folik asit eksikliği, akut veya kronik kan kaybı saptanan, kan transfüzyonu alan, akut veya kronik karaciğer hastalığı ve inflamatuvar başka bir hastalığı olan olgular, 6 ayın altında diyaliz süresi olanlar, eritropoietin tedavisi almayanlar veya 6 aydan az süredir kullanmakta olanlar ile son 6 ay içinde hastaneye yatış öyküsü olanlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan hastalara, çalışma hakkında bilgi verilerek bilgilendirilmiş olur formu imzalatıldı. Nefroloji Bilim Dalı'nda hastalardan anamnez (böbrek yetmezliği etiyolojisi, süresi, diyaliz süresi, AA kullanımı, eritropoetin dozunun sorgulanması) alındı ve ayrıntılı sistemik fizik muayene yapıldı.

Böbrek yetmezliği etyolojisinde yer alan primer böbrek hastalıkları şöyle idi: Hipertansiyon: 5, glomerülo nefrit: 7, trafik kazası: 3, nedeni bilinmeyen: 5, polikistik böbrek, SLE, diyabetik nefropati, akut tubuler nekroz, agenezi, kronik pyelonefrit, vezikoüretal reflü, tubulointerstisyel nefrit, kortikotubuler nekroz: 1 kişi. Bu hastalara polysulfon (Gambro) türü diyaliz membranı kullanılarak en az 6 aydır haftada 3 kez 4- 5 saat düzenli hemodiyaliz uygulanmaktaydı.

II.1.2. Örnek Toplanması

Çalışmaya alınan olgulara çalışmanın başlamasıyla birlikte 16 hafta süreyle 100 mg AA iv, takip eden 16 hafta süresince de 500 mg AA iv olarak (100 cc %0,9 NaCl içinde) her diyaliz seansı sonunda haftada 3 kez infüze edildi. 0. , 4. ve 8. aylarda (0. , 16. , 32. hafta) kan örnekleri bir gecelik açlığı takiben diyaliz öncesi alındı. Bir kuru tüp, bir heparinli ve bir etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)'li tüp kullanıldı. Tüm kan numuneleri 1500 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Kan sayımı ve biyokimyasal testlerin bazıları (üre , total protein, albümin, glukoz, kreatinin) kan alındığı gün çalışılırken apo B - içeren lipoproteinlerin oksidasyonu ve oksidasyona duyarlılığını incelemek için ayrılan EDTA'lı plazma +2- 8 °C' de saklanarak 24 saat içinde çalışıldı. Serum PON1-arilesteraz enzim aktiviteleri, total-K, HDL-K, TG, apo A1-B ve C vitamini ölçümü için ayrılan serum ve plazma örnekleri ise -20 °C'de saklandı.

II.1.3. Araç ve Gereçler

1. Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1202" (Japonya)
2. Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1601" (Japonya)
3. Su banyosu, "Julabo UC" (Almanya)
4. Su banyosu, "Nüve BM 302" (Türkiye)
5. Santrifüj, "Sanyo Mistral 2000 R" (İngiltere)
6. Santrifüj, "Hettich Rotofix 32" (Almanya)
7. Santrifüj, "Hettich EBA 20" (Almanya)
8. Karıştırıcı (vorteks), "Elektro-mag SPEED M16" (Almanya)
9. Otomatik pipet (10 µL), "Eppendorf" (Almanya)
10. Otomatik pipet (20 µL), "Eppendorf" (Almanya)
11. Otomatik pipet (20-200µL), "Eppendorf" (Almanya),
12. Otomatik pipet (500-5000µL), "Eppendorf" (Almanya)
13. Otomatik pipet (100-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)

14. Derin dondurucu (-20° C), “Uğur“ (Türkiye)
15. Derin dondurucu (-20° C), “Arçelik“ (Türkiye)
16. Buzdolabı, “Arçelik” (Türkiye)
17. Buzdolabı, “Bosch” (Türkiye)
18. Hassas tartı, “OHAUS analytical plus“ (İsviçre)
19. Tartı, “Mettler PJ 3000“ (İsviçre)

II.1.4. Ticari Kitler

1. Kolesterol, “Randox Lab.” (İngiltere) , Kat no: CH200
2. ApoAI, “Abbott Lab.” (A.B.D), Kat no: 9D92- 01
3. ApoB, “Abbott Lab.” (A.B.D), Kat no: 9D93- 01
4. Kolesterol, “Abbott Lab.” (A.B.D), Kat no: 7D62- 20
5. Trigliserid, “Abbott Lab.” (A.B.D), Kat no: 7D74- 20
6. HDL kolesterol, “Sentinel Diagnostics”. (İtalya), Kat no: 17646- 02CE

II.1.5. Kimyasal Malzemeler

1. 2-Tiyobarbitürik asit (>% 98), “Sigma” (A.B.D.) Kat. no: T 5500
2. Triklorasetik asit, “Sigma” (A.B.D.) Kat no: S T9159
3. n-Bütül alkol, “Sigma“ (A.B.D.) Kat.no: S 15,467-9
4. Sodyum hidroksit, “Merck” (Almanya) Kat no: 6462
5. Paraokson (Dietyl p-nitrofenil fosfat), “Sigma” (A.B.D.) Kat no: D9286
6. Fenil asetat (% 99), “Aldrich“ (A.B.D.) Kat.no: 10,872-3
7. Sodyum klorür, “Merck“ (Almanya) Kat.no : 6400
8. Tris, “Merck” (Almanya) Kat no: 8387
9. Kalsiyum klorür, “Merck” (Almanya) Kat no: 2389
10. Glisin, “Merck” (Almanya) Kat no: 4201
11. Dekstran Sülfat, “Sigma“ (A.B.D.) Kat no: D-6924
12. Magnezyum klorür, “Merck“ (Almanya) Kat no: 5832
13. Sodyum dihidrojen fosfat, “Merck“ (Almanya) Kat no: 6345
14. Bakır (II) sülfat, “Merck” (Almanya) Kat no: 2787

15. Hidroklorik asit, “Merck” (Almanya) Kat no:1.00314
16. Metafosforik asit, “Sigma” (A.B.D.) Kat no: 6250
17. Sülfürik Asit (% 95-98), “Merck” (Almanya) Kat no: 713
18. Askorbik asit, “Sigma” (A.B.D.) Kat no: S A5960
19. 2,4,Dinitrofenilhidrazin, “Riedel-De-Haen” (Almanya) Kat no: 33145
20. Tiyoüre, “Carlo Erba” Kat.no : 33145
21. EDTA (Titripleks III), “Merck” (Almanya) Kat no:8421

II.2. Yöntemler

II.2.1. Kan Sayımı ve Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Alınan kan numuneleri hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi için Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller Eğitim ve Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda otomatik kan sayım cihazında (Abbott CELL-DYN 3700, A.B.D.) çalışıldı. Biyokimyasal parametrelerin (üre, total protein, albümin, glukoz, kreatinin) belirlenmesi içinde Abbott marka kitler kullanılarak otoanalizörde (Aeroset, A.B.D) ölçüm yapıldı.

II.2.2. Lipit Profilinin İncelenmesi

Total-K, TG Abbott, HDL-K Sentinel Diagnostics marka kitler kullanılarak enzimatik olarak otoanalizörde (Architect ci8200, A.B.D.) ölçüldü. VLDL-K, LDL-K düzeyleri Friedewald denklemi ile hesaplandı. Apo A1 ve apo B düzeyleri Dade Behring-BNProSpec (Almanya) cihazında immünotürbidimetrik yöntemle ölçüldü.

Friedewald denklemi:

$$\text{LDL-K} = \text{Total-K} - (\text{HDL-K} + \text{VLDL-K})$$

$$\text{VLDL-K} = \text{TG} / 5$$

II.2.3. Apolipoprotein B-İçeren Lipoproteinlerin Oksidasyonunun ve Oksidasyona Duyarlılığının Ölçümü (Bazal-MDA, Δ -MDA)

Apo B - içeren lipoproteinlerin oksidasyonunun ve oksidasyona duyarlılığının ölçümü Zhang ve ark. (116) tanımladığı yöntemle yapıldı.

Yöntem: Çöktürme yöntemiyle ayrılan apo B - içeren lipoproteinlerin kolesterol konsantrasyonu 200 $\mu\text{g/mL}$ ' ye ayarlandıktan sonra 3 saat süresince bakır sülfat ile inkübe edilerek oluşan MDA miktarının ölçülmesi prensibine dayanır.

Ayırıcılar:

1. EDTA (Titriplex) %1'lik
2. Çöktürücü: 20 gr/L Dextran sülfat + 20 mol/L MgCl_2 (1:1)
*pH'ı 0.1 mol HCL ile 7'ye ayarlandı.
3. %0.9'luk Tuzlu fosfat tamponu (PBS): 0.15 mol/L NaCl+ 10 mmol/L NaH_2PO_4
*pH'ı 0.1 mol NaOH ile 7'ye ayarlandı.
4. %4'lük PBS: 0.68 mol/L NaCl+10 mmol/L NaH_2PO_4
*pH'ı 0.1 mol NaOH ile 7'ye ayarlandı.
5. Tiyobarbitürik asit (TBA): 26 mmol/L 2-TBA + 920 mmol/L triklorasetik asit (TCA)
*1000 ml'ye 0.25 M HCL ile tamamlandı.
6. n- Butanol
7. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.5 mmol/L

Deneyin yapılışı:

EDTA içeren tüplere alınan kan örnekleri 1500 x g'de 10 dk santrifüj edilerek plazması ayrıldı. 1 mL plazma 1 mL distile su ile sulandırıldı, üzerine 0.2 mL çöktürücü eklendi ve 1 dakika karıştırıldı. 10 dk beklendikten sonra 1500 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra pellet, EDTA'yı uzaklaştırmak amacıyla 2 mL % 0.9' luk PBS ile çözüldü. 0.1 mL çöktürücü eklenip karıştırıldıktan sonra tekrar 1500 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılıp pellet % 4'lük PBS ile çözüldü. Elde edilen apo B-içeren lipoprotein süspansiyonunun kolesterol miktarı enzimatik kit (Linear chemicals) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Kolesterol konsantrasyonu 200 µg/mL olacak şekilde % 4'lük PBS ile sulandırıldı. Ardından her numune için iki tüp hazırlandı. Her iki tüpe 0.5' er mL hazırlanan çözeltiden konuldu. Tüplerden birinin üzerine 50 µL 0.5 mmol/L bakır sülfat eklendikten sonra 37° C' de 3 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon bitimi reaksiyonun durdurulması amacıyla su banyosundan çıkartılan tüp buz içinde 4°C' ye soğutuldu ve üzerine 25 µL %1'lik EDTA eklendi. Bu sırada hazırlanan diğer tüpe de 50 µL 0.5 mmol/L bakır sülfat ve 25 µL %1'lik EDTA aynı anda eklendi. Takiben tüplerdeki MDA içeriğini saptamak için her iki tüpe de 2 mL TBA ayırıcı koyulduktan sonra 15 dk 100 °C' de inkübe edildi. Tüpler buzlu suda soğutulduktan sonra 2.5 mL n-butanol eklenip karıştırıldı ve 1500 x g'de 15 dk santrifüj edildi. Pembe organik fazın absorbansı 532 nm'de okundu.

Hesap:

MDA' nın molar absorbtivite katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak MDA konsantrasyonları elde edildi ve sonuçlar mg kolesterol başına nmol MDA olarak ifade edildi (nmol MDA/ mg kolesterol).

II.2.4. Serum PON1 Aktivitesinin Ölçümü

PON1 aktivitesi ölçümü Eckerson ve ark. (117) tanımladığı yöntemle yapıldı.

Yöntem: Serumdaki PON enzimi tarafından paraoksonun hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenolün spektrofotometrik olarak belirlenmesi prensibine dayanır.

Ayırıcılar:

1. 0.1 M Glisin (7.50 g/L)
2. 0.1 N NaOH (4 g/L)
3. 100 mM CaCl₂ (11.04 g/L)
4. 0.5 M Paraokson (Dietil p-nitrofenil fosfat)

Deneyin yapılışı:

PON1 aktivitesinin saptanması amacıyla pH:10.5'da 0.05 M glisin-sodyum hidroksit tamponu içinde 1.0 mM CaCl₂ ve 1.0 mM paraokson içeren 2.5 ml'lik karışıma 15.6 µL serum eklendi. Paraoksona PON'un etki etmesi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol miktarı, spektrofotometrede 25 °C'de 412 nm dalga boyunda kinetik olarak 3 dakika süreyle takip edildi. Paraoksonun non-enzimatik kendiliğinden hidroliz oranı ayıraç körü kullanılarak saptandı ve bu değer düşülerek gerçek absorbans değeri elde edildi.

Hesap:

Bir ünite PON1 aktivitesi 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesi olarak tanımlandı. Molar absorbtivite katsayısı kullanılarak (18.290

$M^{-1} cm^{-1}$) 1 dakikada oluşan p-nitrofenol konsantrasyonu belirlendi. Serum PON1 aktivitesi ünite/litre (Ü/L) şeklinde ifade edildi.

II.2.5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü

Arilesteraz aktivitesi ölçümü Eckerson ve ark.'nın (117) yöntemine göre yapıldı.

Yöntem: Serumdaki PON1 tarafından fenil asetatın hidrolizi sonucu açığa çıkan fenolün spektrofotometrik olarak belirlenmesi prensibine dayanır.

Ayırıcılar:

1. 0.2 M Tris (24.23 g/L)
2. 0.1 N HCL
3. 100 mM $CaCl_2$ (11.10 g/l)
4. Fenilasetat %99'luk

Deneyin yapılışı:

Reaksiyon karışımı pH:8.0'de 9.0 mM tris /HCl tamponu içinde 0.9 mM $CaCl_2$ ve 1.0 mM fenilasetat içeriyordu. Reaksiyon 2.5 mL tampon/substrat ayırıcına 1:3 oranında tamponla sulandırılmış 16.7 μ L numune eklenmesiyle başlatıldı. Fenilasetat'ın hidrolizi ile açığa çıkan fenol oluşumu 270 nm dalga boyunda kinetik olarak saptandı. 10. ve 70. saniyede absorbanslar kaydedildi ve böylece bir dakikada açığa çıkan fenol miktarı saptandı.

Hesap:

Bir ünite arilesteraz aktivitesi; 1 dakikada 1 µmol fenol açığa çıkaran enzim aktivitesi olarak tanımlandı. Molar absorbtivite katsayısı kullanılarak ($1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 1 dakikada oluşan fenol konsantrasyonu belirlendi ve serum arilesteraz aktivitesi kÜ/L olarak ifade edildi.

II.2.6. Plazma C Vitamini Düzeyinin Ölçümü

Plazma C vitamini ölçümü Mc Cormick ve ark. nın (118) tanımladığı yöntemle göre yapıldı.

Yöntem: AA'nın Cu^{+2} ile dehidroaskorbik asite okside olması ve bu bileşiğin de asidik ortamda 2,4- dinitrofenilhidrazin ile 450 nm de absorbans veren kırmızı renkli bis-hidrazona dönüşmesi prensibine dayanır.

Ayırıcılar:

1. Metafosforik asit solüsyonu: 6 gr/dL (günlük hazırlandı)
2. Sülfürik asit: 4.5 mol/L ve 12 mol/L
3. 2,4 –Dinitrofenilhidrazin ayıracı: 2 gr/dL (4.5 mol/L sülfürik asit içinde)
*Bir gece buzdolabında bekletilip süzüldü.
4. Tiyoüre ayıracı: 5 gr/dL
5. Bakır sülfat ayıracı: 0.6 gr/dL
6. Dinitrofenilhidrazin- tiyoüre- bakır sülfat ayıracı (DTCS): 5 mL tiyoüre
5 mL bakır sülfat ve 100 mL dinitrofenilhidrazin karıştırılarak hazırlandı.

AA standartları (günlük hazırlandı):

*Ana çözelti: 50 mg/dL, metafosforik asit içinde

*Ara çözelti (5 mg/dL): 10 mL ana çözültiden alıp 100 mL' ye metafosforik asit çözültisi ile tamamlandı

*Çalışma çözültileri: Ara çözültiden 0.1, 0.4, 0.8, 1.2, 2, 3, 4 mg/dL' lik konsantrasyonlarda bir seri çalışma çözültisi hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

2 mL taze metafosforik asit ile 0.5 mL heparinli plazma karıştırılarak 2500 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Berrak süpernatandan 1.2 mL alındı (Kör için: 1.2 mL metafosforik asit kullanıldı). Üzerine 0.4 mL DTCS ayırıcı eklendi. Karıştırılıp 3 saat 37⁰C'de inkübe edildi. Su banyosundan çıkarıldıktan sonra 10 dk buzlu suda bekletildi. Her tüpe karıştırarak yavaşca 2 mL soğuk sülfürik asit (12 mol/L) ilave edildi. Tüplerin ağzı kapatılarak vortekslendi. Spektrofometrede 520 nm. de köre karşı okundu. 0.1, 0.4, 0.8, 1.2, 2, 3, 4 mg/dL konsantrasyonlarda AA içeren standartlar da serum örnekleri gibi çalışıldı ve standart eğri grafiği çizildi.

Hesap:

Numunelerin konsantrasyonu standart eğri grafiğinden bulundu ve sonuçlar 5 ile çarpıldı (Plazmanın metafosforik asit ile sulandırılmasından kaynaklanan düzeltme faktörü). Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

II.2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS paket programı ile yapıldı. Veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma (SS) olarak verildi. Verilerin dağılımının belirlenmesinde "One-Sample Kolmogorov-Smirnov" testi, gruplar arası farklılık olup olmadığının belirlenmesinde "Multivariate test ve Mauchly's test"i kullanıldı. Daha sonra da farklılık olduğu belirlenen parametrelerin gruplar arası farkının değerlendirilmesinde normal dağılıma uyan parametreler için "Paired-Samples T" testi, normal dağılıma uymayanlar için "Two-related-samples" Testi (Wilcoxon analizi) uygulandı. Pearson korelasyon analizi ile C vitamini düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki ilişki incelendi.

BULGULAR

III.1. Demografik Veriler

Çalışmaya alınan 29 hastanın 14'ü kadın, 15'i erkekti. Yaşları 39 ± 11 yıl, diyaliz alma süreleri 66.0 ± 55.0 ay, vücut kitle indeksleri (VKİ) 22.4 ± 3.7 kg/m^2 olarak belirlendi. Hastaların sekiz aylık takipleri süresince VKİ'lerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı (0. ay: 22.4 ± 3.7 kg/m^2 , 4.ay: 22.4 ± 3.8 kg/m^2 , 8.ay: 22.4 ± 3.9 kg/m^2 ($p>0,05$)).

III.2. Kan Sayımı Değerleri ve Biyokimyasal Testlerin Sonuçları

0., 4. ve 8. ayda ölçülen kan sayımı değerleri ve biyokimyasal veriler Tablo-6'da verilmiştir. Her üç dönemdeki değerler kıyaslandığında kan sayımı verilerinde ve üre, albümin, glukoz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Total protein ve kreatinin düzeylerinin 0. aydaki değerlerine göre 4. ay ve 8. ayda daha yüksek olduğu bulundu.

Tablo-6: Hemodiyaliz hastalarının (n: 29) 0. , 4. ve 8. ayda ölçülen kan sayımı değerleri ve biyokimyasal testlerin sonuçları

	0.ay	4.ay	8.ay
Lökosit (x10³/mm³)	6.85 ± 2.16	6.76 ± 2.23	7.018 ± 2.12
Eritrosit (x10⁶/mm³)	3.53 ± 0.47	3.44 ± 0.51	3.36 ± 0.30
Hemoglobin (g/dl)	11.4 ± 3.5	10.4 ± 1.3	10.3 ± 1.0
Hematokrit (%)	31.61 ± 5.86	31.08 ± 3.81	31.29 ± 3.02
Trombosit (x10³/mm³)	177 ± 63	180 ± 56	179 ± 79
Üre (mg/dL)	151 ± 30	150 ± 27	159 ± 30
Total protein (gr/dL)	6.89 ± 0.48	7.10 ± 0.41 ^{a**}	7.04 ± 0.49 ^{a*}
Albumin (g/dL)	4.20 ± 0.24	4.24 ± 0.25	4.31 ± 0.22
Glukoz (mg/dL)	85.7 ± 21.9	75.8 ± 41.6	86.0 ± 31.2
Kreatinin (mg/dL)	10.9 ± 2.24	9.53 ± 2.07 ^{a*}	9.43 ± 2.32 ^{a**}

a: 0. ay ile karşılaştırma
İstatistiksel anlamlılık düzeyi: *p<0.05, **p<0.01

III.3. Lipit Profili

Serum lipit parametreleri kıyaslandığında; 0. ay ile 4. ay ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark sadece TG (p<0.01) ve VLDL-K (p<0.01) düzeylerinde saptandı. Her iki parametre de 0. aya kıyasla daha düşük bulundu. 0. ay ile 8. ayın karşılaştırılmasında ise TG (p<0.05) ve LDL-K düzeyleri (p<0.01) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı. TG düzeyi 8. ayda düşerken, LDL-K düzeyi yükselmekteydi. Bir diğer karşılaştırma da 4. ve 8. ay arasında yapıldı. Bu karşılaştırma sonucunda total-K, LDL-K, HDL-K düzeylerinin 8. ayda anlamlı artış gösterdiği saptandı. En fazla artış LDL-K düzeylerinde gözlemlendi (Tablo-7).

Serum apolipoprotein düzeyleri kıyaslandığında; apo AI düzeylerinin her üç ölçüm arasında anlamlı bir farklılık göstermediği, apo B düzeyinin ise 8. ayda 4. aya kıyasla artış gösterdiği saptandı (Tablo-7).

Tablo-7: Hemodiyaliz hastalarının (n: 29) 0. , 4. ve 8. ayda alınan kan örneklerinde ölçülen serum lipit ve apolipoprotein düzeyleri (mg/dl)

	0.ay	4.ay	8.ay
TG	213 ± 117	164 ± 75 ^{a**}	168 ± 99 ^{a*}
Total-K	160 ± 40	152 ± 35	165 ± 44 ^{b**}
VLDL-K	43 ± 23	32 ± 16 ^{a**}	34 ± 20
LDL-K	76 ± 28	79 ± 24	90 ± 31 ^{a**b***}
HDL-K	42 ± 9	40 ± 7	42 ± 8 ^{b*}
Apo AI	110 ± 21	108 ± 18	109 ± 18
Apo B	78 ± 23	75 ± 23	82 ± 27 ^{b**}

a: 0. ay ile karşılaştırma

b: 4. ay ile karşılaştırılma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

TG: Trigliserid, K: Kolesterol, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, Apo: Apolipoprotein

III.4. Apolipoprotein B-İçeren Lipoproteinlerin Oksidasyonu ve Oksidasyona Duyarlılığı ile Serum Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitesi

Bu parametrelere ait veriler Tablo-8'da gösterilmiştir. Yapılan istatistik doğrultusunda PON1 aktivitesi ile PON1/HDL-K ve PON1/Apo AI oranlarının ölçümler arasında giderek artış gösterdiği saptandı. PON1 düzeylerindeki artış özellikle 8. ayda daha yüksek düzeydeydi. Oranlar arasındaki en büyük anlamlılık ise yine 8. ayda PON1/Apo AI oranında saptandı. Δ-MDA düzeyleri 0. aya kıyasla 4. ayda anlamlı bir değişiklik göstermezken, 8. ayda önemli oranda (p<0.01) azalma gösterdi. Arilesteraz ve Bazal-MDA sonuçları ölçümler arasında anlamlı bir değişiklik göstermedi.

Tablo-8: Hemodiyaliz hastalarının (n: 29) 0. , 4. ve 8. ayda ölçülen Δ -malondialdehit, bazal-malondialdehit düzeyleri ve serum paraoksonaz- arilesteraz enzim aktiviteleri

	0. ay	4. ay	8. ay
PON (Ü/L)	161 \pm 71.6	174 \pm 70.3 ^{a*}	184 \pm 76.2 ^{a***b*}
PON1 /HDL-K	3.93 \pm 1.80	4.37 \pm 1.63 ^{a**}	4.50 \pm 1.93 ^{a**}
PON1/Apo AI	1.48 \pm 0.68	1.63 \pm 0.64 ^{a**}	1.73 \pm 0.79 ^{a***}
Ariesteraz (kÜ/L)	69.2 \pm 19.2	74.3 \pm 19.1	66.1 \pm 21.8
Δ-MDA (nmol MDA/ mg K)	52.3 \pm 17.2	49.0 \pm 12.3	43.6 \pm 14.8 ^{a**b**}
Bazal-MDA (nmol MDA/mg K)	7.23 \pm 1.06	7.45 \pm 0.84	6.99 \pm 1.06

a: 0.ay ile karşılaştırma

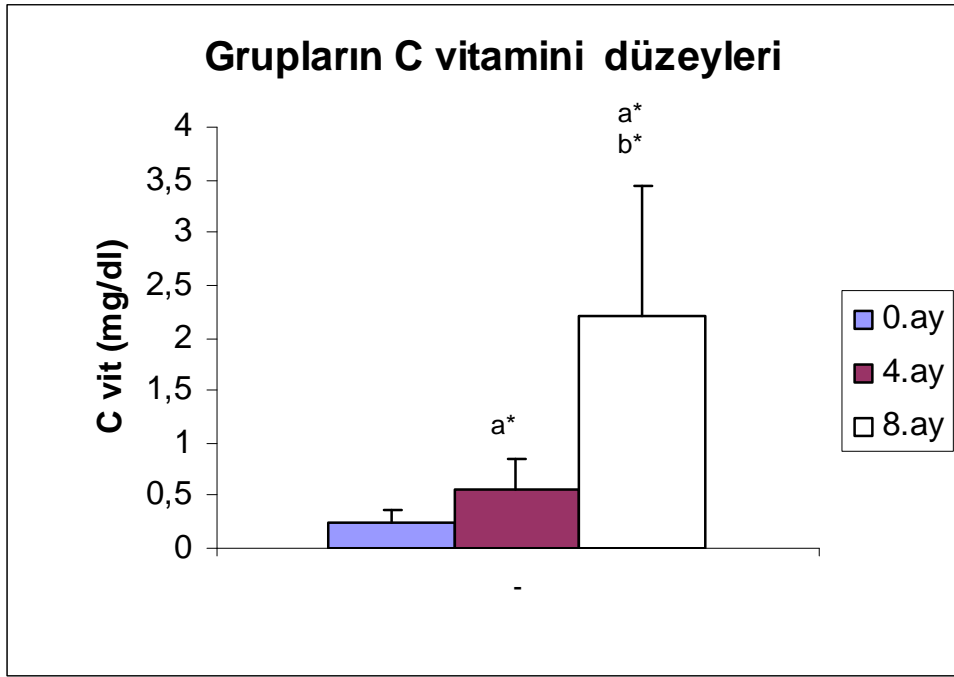
b: 4.ay ile karşılaştırılma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

PON: Paraoksonaz, K: Kolesterol, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, Apo: Apolipoprotein, MDA: Malondialdehit , K: Kolesterol

III.5. Plazma C vitamini Konsantrasyonu

Plazma C vitamini konsantrasyonu 4. ve 8. ayda anlamlı düzeyde artış gösterdi (Şekil-4): 0. ayda 0.25 \pm 0.12, 4. ayda 0.55 \pm 0.31, 8. ayda 2.21 \pm 1.23 mg/dl olarak saptandı.



Şekil-4: Hemodiyaliz hastalarının 0., 4. ve 8. aylardaki C vitamini konsantrasyonu

a:0.ay ile karşılaştırma

b:4.ay ile karşılaştırılma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.001$

III.6. Korelasyon incelemeleri

Plazma C vitamini düzeyi ile diğer parametrelerin ilişkisi Pearson'un korelasyon analizi ile incelendi ve parametrelerin hiçbirisiyle arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

TARTIŞMA

KBY'i olan hastalarda özellikle HD tedavisi alanlarda mortalite ve morbiditenin en sık nedeni KVH'dır (119). Dislipidemi KVH risk faktörlerinden birisidir ve KBY'de oldukça sık görülmektedir. Hastalarda sıklıkla TG artmış, total-K normal veya hafif artmıştır. VLDL, IDL artmış, LDL içeriğinde ise TG/K oranı artmıştır. HDL, özellikle de HDL2 azalmıştır. Lp(a) artmış, apo CIII normale oranla 4- 5 kat artarken apo AI ve AII azalmıştır (120). Bu bulguları destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur (79, 121- 125). Diğer yandan Ramos ve ark. (126) HD planlanan SDBY olan 41 kişide HD'in lipit profili üzerine olumsuz etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde Schiavon ve ark.'nın (78) bulguları bu çalışmayı desteklemektedir. Onlar da HD hastalarında serum total-K, TG, HDL-K, apo AI, apo B düzeylerinin kontrollere göre anlamlı bir farklılık göstermediğini saptamışlardır. Bu konudaki farklı sonuçlara rağmen HD hastalarında sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında HDL-K düzeyinde azalma, TG ve apo AI düzeylerinde artış ortak bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Anemisi olan KBY hastalarında AA'nın destek tedavisi olarak kullanılması önerilmektedir ve AA'nın lipit profili üzerine de etkili olma olasılığı söz konusudur. Sağlıklı kişilerde C vitamininin lipoprotein kompozisyonunda değişiklik yapabileceği öne sürülmektedir. Munoz ve ark. (127) 124 sağlıklı gönüllüde C vitamini verilmesi ile lipit profilinde oluşabilecek olası değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Grubun yarısına bir ay boyunca 1 veya 2 gr oral C vitamini vererek lipit düzeylerini incelemişler ve 2 gr C vitamini kullanımının apo B düzeylerinde belirgin azalmaya ($p=0,019$) ve alkol tüketimi olmayan erkeklerde HDL3-K düzeyinde belirgin artışa neden olduğunu saptamışlardır. Cerna ve ark. (128) 500 mg C vitamini alımının kolesterol düzeyleri üzerine olası etkisini hiperlipidemisi olan 140 kişilik bir grupta incelemişlerdir. 83 kişiye 500 mg C vitamini verirken 57 kişiyi kontrol grubu olarak almışlardır. 18 ay boyunca takip ettikleri hastaların kan değerlerini 6 ay arayla ölçmüşler ve C vitamininin total-K ve LDL-K

düzelelerini önemli düzeyde azaltırken HDL-K düzeyini artırdığını bulmuşlardır. Jacques ile ark. (129) yaşları 20 ila 65 arasında olan 138 sağlıklı bireye sekiz ay boyunca günde 1gr C vitamini vermişler ve bunun plazma HDL-K, LDL-K, total-K, apo B, TG konsantrasyonu üzerine önemli düzeyde etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir. Apo AI konsantrasyonunda anlamlı olmayan ($p<0.10$) ancak C vitamini ile belirgin korelasyon ($p<0,05$) gösteren bir artış saptamışlardır. HDL-K düzeyi ise plasebo alan grup ile C vitamini alan grup arasında belirgin farklılık ($p<0,05$) göstermiştir. Khajehdeh (130), HD tedavisi alan hastalarda yaptığı çalışmada kısa süreli vitamin desteğinin lipit profili üzerine etkisini incelemiş ve 200 mg/gün C vitaminin 3 aylık uygulamasından sonra serum TG, total-K, LDL-K, HDL-K düzeylerini ölçmüştür. Sonuçta C vitamini kullanımının LDL-K, total-K düzeylerini ve LDL-K/HDL-K ve total-K/HDL-K oranını belirgin düzeyde azalttığını göstermiştir.

Bizim çalışmamızda diyaliz seansı sonrası 100 mg C vitamini infüzyonu sonucunda TG ve VLDL-K düzeylerinde anlamlı düşüş olduğu saptandı ($p<0,01$). 500 mg C vitamini uygulaması sonrasında ise TG düzeyi başlangıç değerine göre anlamlı derecede ($p<0,05$) düşük iken, VLDL-K düzeyindeki azalmanın anlamlı düzeyde olmadığı gözlemlendi. LDL-K düzeyi 500 mg uygulama sonrasında başlangıç değerine göre anlamlı derecede ($p <0,01$) yüksek bulundu. 100 mg ve 500 mg C vitamini sonrası değerler karşılaştırıldığında total-K, LDL-K, HDL-K 'ün yüksek doz C vitamini kullanımından sonra belirgin arttığı gözlemlendi. Ancak en yüksek artış LDL-K düzeyinde saptandı ($p<0,001$). Yine apo B düzeyi de 500 mg C vitamini kullanımı sonrasında artış gösterdi. Bu bulgularla diğer çalışmaların bulguları uyumlu değildi. Bu durum, kullanılan C vitamini dozuna, süresine ve başka çalışmalarda sıklıkla E vitamini ile birlikte kullanılmış olmasına bağlı olabilir.

Oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların patogenezinde SOR'nin üretimi ile antioksidan aktivite arasındaki denge önemlidir. Antioksidan sistemin zayıfladığı durumlarda SOR hastalıkların patogenezinde önemli bir risk

faktörü olarak karşımıza çıkar (131). Farklı bulgular olmasına rağmen üremide oksidatif stresin arttığına dair genel bir fikir birliği mevcuttur (132-135). Kronik HD hastalarında plazma antioksidan aktivitesinin azaldığı ve LDL'nin oksidasyona daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (136). HD hastalarında artan oksidatif stresin olası etkilerinden birisi de ateroskleroz gelişim riskini artırmasıdır. Yazıcı ve ark. (34) yaş, cinsiyet ve diyabet gibi etkenler düzeltildikten sonra bile KBY hastalarının toplumdan 10 - 20 kat daha yüksek kardiyovasküler mortalite/morbiditeye sahip olmalarında kronik inflamasyona bağlı myeloperoksidaz kaynaklı oksidatif stresin önemli etkenlerden biri olabileceğini öne sürmüşlerdir. Özşahin ve ark. (137) KBY hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi alanlarda gözlenen yüksek KVH riski ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla; yaşları 16- 64 arasında değişen toplam 42 HD hastası (21 kadın, 21 erkek) ve 42 sağlıklı bireyde (21kadın, 21 erkek) yaptıkları çalışmalarında hastalardan diyaliz öncesi ve sonrası elde edilen plazma örneklerinde lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA ve plazmadaki antioksidanlardan biri olan tiyol düzeylerini tayin etmişlerdir. Kontrol grubuna göre, HD hastalarında MDA değerleri daha yüksek (3.15 ± 0.63 / 4.04 ± 1.19 $\mu\text{mol/L}$); buna karşılık tiyol seviyeleri daha düşük (358 ± 65 / 214 ± 82 $\mu\text{mol/L}$) bulunmuştur ($p<0.05$). HD tedavisiyle hastalarda tiyol değerlerinin arttığı ($p<0.05$), MDA seviyelerinin ise değişmediği ($p>0.05$) belirlenmiştir. Diyaliz tedavisini takiben, MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre hastalarda hala yüksek olduğu (3.15 ± 0.63 / 4.22 ± 2.56 $\mu\text{mol/L}$) gözlenmiştir ($p<0.05$). Buna karşılık tiyol seviyeleri bakımından (358 ± 65 / 310 ± 107 $\mu\text{mol/L}$), hasta ve kontrol grupları arasında fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Sonuçta HD hastalarında oksidan antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulduğunu ve lipid peroksidasyonunda artış ile karakterize oksidatif stres tablosunun meydana geldiğini bildirmişlerdir. Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu gibi mekanizmalarla doku hasarına neden olmaktadır (138). Lipit peroksidasyonu özellikle LDL-oksidasyonu aterosklerozun başlangıcında ve ilerlemesinde anahtar role sahiptir. LDL gibi diğer apo B- içeren lipoproteinler de (VLDL, Lp(a)) aterojenik lipoproteinler olarak kabul

edilirler. VLDL ve Lp(a)'nın okside formları da okside-LDL'ye benzer özellikler taşırlar (139). Chiu ve ark. (140) KVH'larda hem LDL'nin hem de VLDL'nin *in vitro* oksidasyona daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Dirican ve ark.'nın (141) yaptığı çalışmada koroner anjiyografi yapılarak KVH tanısı konmuş hastalarda (145 erkek, 32 kadın) ve normal olanlarda (30 erkek, 45 kadın) serum lipit ve lipoprotein düzeyleri ile apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılıkları incelenmiştir. Sonuçta KVH olan hem kadın, hem de erkek hastalarda apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılıklarının artmış olduğu belirlenmiştir. Serdar ve ark.'nın (142) yaptığı çalışmanın sonuçları da benzerdir. Onlar da 208 kişide yaptıkları çalışmalarında anjiyografi ile tanısı konan 104 KVH'lığı olan kişide LDL-K, TG, apo B seviyelerinin ve apo B-içeren lipoproteinlerin bakır ile indüklenen oksidasyona duyarlılığının belirgin arttığını saptamışlardır. Aynı zamanda HDL-K, apo AI, PON1/Arilesteraz aktivitesinin, plazma C ve E vitamini seviyelerinin belirgin azaldığını bulmuşlardır.

En önemli antioksidan moleküllerden birisi olan C vitamininin HD hastalarında destek tedavisi olarak verilmesi oksidatif stresi azaltmada etkili olabilir (143). Nitekim C vitamini kullanımının HD hastalarında eritrosit GSH düzeyini ve plazma antioksidan kapasitesini artırırken, lipid peroksidasyonunun azalmasına yol açtığı (113) ve bu hastalarda kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi azalttığı gözlenmiştir (100). HD'de yüksek doz AA'nın düşük hızda devamlı infüzyonunun (500 mg, 2.1 mg/dk infüzyon hızında) lipit peroksidasyonunda artışı engellediği gösterilmiştir ve araştırmacılar bu etkisinin C vitamininin E vitaminini yenileyici etkisinden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir (144). KBY olan ve özellikle diyaliz tedavisi alan hastalarda lipoproteinlerin ve hücre membranlarının lipit peroksidasyonuna duyarlılıklarının artmış olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (18, 30, 134). Dirican ve Taş (145) tıpkı KBY'liği gibi patogenezinde SOR'nin önemli olduğu düşünülen hastalıklardan biri olan hipertiroidili hayvanlarda yaptıkları çalışmada apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığında artış olduğunu ve E vitamini ile C vitamini

kullanımının lipoproteinleri bakırla oluşturulan oksidasyondan koruduğunu göstermişlerdir. Guglicci A ve ark. (146) 30 sağlıklı kişi 30 diyabetik hastada yaptıkları bir çalışmada intravenöz yolla verilen C vitamininin apo B-içeren lipoproteinleri oksidasyondan %95'den fazla koruduğunu belirlemişlerdir. Yazarlar kullanılan C vitamini konsantrasyonunun oral alımla kolayca ulaşılabilecek düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Ramos ve ark. (126) yaptıkları çalışmada HD başlanması planlanan SDBY olan 41 hastanın yarısına bir yıl süreyle 1gr/gün C vitamini yarısına da plasebo uygulamışlar ve çalışmaya başladıkları an ve bir yıl sonra hastaların lipit profilini ve LDL ile HDL'nin oksidasyona duyarlılığını incelemişlerdir. Sonuçta C vitamini alan grup ile almayan grup arasında belirgin bir fark olmadığını saptamışlardır. LDL ve HDL oksidasyon ürünleri değerlendirildiğinde oksidasyona direnç fazında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır.

Biz de C vitamininin apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyonuna ve oksidasyona duyarlılığına etkisini incelediğimiz çalışmamızda bazal MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamazken Δ -MDA düzeylerinin 500 mg C vitamini kullanımı sonrası başlangıç değerlerine kıyasla belirgin azaldığını ($p<0,01$), ancak 100 mg C vitamini kullanımının herhangi bir etkisi olmadığını saptadık. Bu da bize 500 mg C vitamini kullanımının LDL, VLDL, IDL gibi aterojenik lipoproteinlerin oksidasyona direncini artırdığını düşündürmüştür.

Özellikle lipoproteinlerdeki lipit peroksitlerinin parçalanması ve detoksifiye edilmesinde görev alan enzimlerden birisi olan PON1, LDL oksidasyonunu inhibe ederek ateroskleroza karşı korur (147). Üremik hastalarda PON1 aktivitesinin belirgin şekilde düştüğü bildirilmiştir (54, 84, 148, 149). Kaya ve ark. (150) yaptıkları çalışmalarında 76 tane kronik HD hastası ile 66 sağlıklı bireyi karşılaştırmışlar ve hasta grubunda serum PON1 aktivitesi, HDL ve apo AI seviyelerinin önemli derecede azaldığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda PON1/HDL ve PON2/apo AI oranlarını da düşük bulmuşlardır. Bu da HDL-K ve apo AI düzeylerinden bağımsız olarak PON1 aktivitesinin azaldığını göstermiştir. Benzer bulgular başka çalışmalarda (78, 147) da

saptanmıştır. HD hastalarında PON1 aktivitesinin düşmesi sonucu HDL'nin oksidasyondan korunması ve kolesterolün köpük hücrelerinden alınıp karaciğere taşınması bozulabilir. Ayrıca LDL oksidasyona karşı korunamadığından LDL oksidasyonu artar. Bundan dolayı PON1 aktivitesinin düşük olması üremik hastalarda ateroskleroz patogenezinde rol oynayan önemli faktörlerden biri olarak kabul edilebilir. Nitekim KVH'ı olan kişilerde ve KVH riski yüksek olan pek çok tabloda (DM, hiperlipidemi vs) PON1 aktivitesinin azaldığı çeşitli çalışmalar (143, 151-153) ile saptanmıştır. Serumdaki PON1 düzeyi ve aktivitesi bireyler arasında çok değişkenlik gösterir. Bunun nedeni olarak PON geninde görülen polimorfizm, beslenme farklılıkları, sigara kullanımı, akut faz reaktanlarının artması, gebelik, apo AI metabolizmasına etki eden bozukluklar, lipit düşürücü statin ve fibrat grubu ilaçların kullanılması sayılabilir. Bunun yanı sıra PON1'in substratı olan ve oksidatif strese düzeyi artan lipit peroksidlerinin de PON1 aktivitesini baskıladığı bilinmektedir (153). LDL oksidasyonu esnasında oluşan okside fosfolipidlerden okside kolesterol esterleri, lizofosfatidilkolinler PON1 enzimidaki serbest sülfidril grubu ile etkileşime girer ve enzimin inaktive olmasına yol açarlar. LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna dair görüşler çeşitli çalışmalarda (67, 154) desteklenmiştir. PON1 aktivitesindeki oksidatif strese bağlı değişikliklerin antioksidan kullanımından etkilenebileceği tahmin edilmektedir. Jarvik ve ark. (155) yaptıkları çalışmada C vitamini ve E vitamini varlığının PON1 aktivitesi için pozitif prediktör olduğunu bulmuşlardır. Aynı şekilde Calla ve ark. (156) da C vitamininin oksidatif stres durumunda HDL'deki PON1 aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. HDL'yi hem lipofilik, hem de hidrofilik peroksil radikali ile C vitamini varlığında (50 ve 100 µmol/L) ve yokluğunda inkübe etmişlerdir. C vitamini yokluğunda her iki radikal tipinde de lipit oksidasyon ürünlerinin birikiminin benzer olduğunu, PON1 aktivitesindeki kaybın ise hidrofilik radikale maruz kalanlarda daha fazla olduğunu saptamışlardır. C vitamini ilavesinin de enzim aktivitesini koruduğunu belirlemişlerdir.

Biz de çalışmamızda PON1 aktivitesinin C vitamini dozu ile giderek arttığını saptadık. Bu da yapılan diğer çalışmaların verileri ile uyumluydu. PON1'in HDL yapısında yer aldığı ve HDL'ye bağlanmada apo AI önemli olduğundan aktivitesindeki artışın HDL ve apo AI düzeylerindeki değişikliklere bağlı olup olmadığını anlamak için PON1 aktivitesini HDL-K ve apo AI düzeylerine oranlayarak değerlendirdik. Sonuçta oranların da giderek arttığını gördük. Bu da PON1 aktivitesindeki artışın HDL-K ve apo A-I düzeylerinden bağımsız olduğunu gösterdi. Arilesteraz aktivitesinde ise herhangi bir değişiklik saptanmadı. Arilesteraz aktivitesinin enzimin kütlesini yansıttığı genel olarak kabul gördüğünden (157) C vitamininin PON1'in aktivitesi üzerine etkili olabileceği, yapımına her hangi bir etkisinin olmadığı düşünüldü.

Bütün bu sonuçlara rağmen plazma C vitamini konsantrasyonu ile hiçbir parametre arasında korelasyon bulunmaması bu çalışmada üzerinde tartışılması gerekli bir noktadır. Biz bunu C vitaminin tüm bu etkileri gerçekleştirirken PON1 aktivitesi üzerine doğrudan etkili olmadığını, E vitaminini yenileyici etkisi ve lipit peroksidasyon ürünlerini doğrudan azaltıcı etkisi vasıtasıyla gerçekleştirebileceğini düşündük. Ayrıca plazma AA düzeyleri, son C vitamini alımını yansıtmaktadır. Lökosit AA konsantrasyonu ise doku C vitamini depolarının iyi bir göstergesidir (158). Dolayısıyla çalışmaya alınan hastaların C vitamini depolarının düzeylerinin farklı olması ölçülen AA değerlerinin esas bu etkilerden sorumlu olabilecek C vitamini konsantrasyonunu yansıtmadığı olasılığını akla getirmektedir.

Sonuç olarak biz bu çalışmada anemi tedavisine destek amacıyla kullanılması önerilen C vitamininin özellikle 500 mg dozunda, apo B-içeren lipoproteinlerin oksidasyona direncini ve serum PON1 aktivitesini arttırdığını gözlemledik. Bu nedenle bu şekilde kullanımı sırasında C vitamininin antioksidan özellik göstereceği ve HD hastalarında KVK gelişmesini önlemede önemli destek sağlayacağı görüşüne varıldı.

EKLER

1. Etik kurul onay yazısı

KAYNAKLAR

- 1.Thomas E. Andre Oli, J.Cloude Bennett, Chales J. Carpenter, Fred Tlum, Lloyd H. Simit, Jr. Cecil Essential of Medicine. Çev. Ed. Muzaffer Tuzcu. İstanbul, Savaş Tıp Kitap evi, 1995;244-254.
- 2.Daugirdas JT, Ing TS. Diyaliz El Kitabı. Çev. ed. Bozfakioğlu S. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi. 1997;3-4.
- 3.Samir P. Desai, MD, Sana Isa-Pratt, MD. Klinisyenler İçin Laboratuar Tıbbi Rehberi. Çev. ed. Engin Ulukaya. Bursa, Nobel&Güneş Tıp kitapevi. 2004;529-37.
- 4.Steiner M, Appen von K, Klinkmann H, Ernst B. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation products in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 1992;7:368-9.
- 5.Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. N Engl J Med. 2004;351:1296-305.
- 6.Culleton BF, Larson MG, Wilson PW, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. Kidney Int. 1999;56:2214-9.
- 7.Goodkin DA, Bragg-Gresham JL, Koenig KG, Wolfe RA, Akiba T, Andreucci VE et al. Association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). J Am Soc Nephrol. 2003;14:3270-7.
- 8.Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease. J Am Soc Nephrol. 1996;7:728-36.
- 9.Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G et al. Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. Nephrol Dial Transplant. 2000;15:218- 23.
- 10.Buzello M, Törnig J, Faulhaber J, Ehmke H, Ritz E, Amann K. The apolipoprotein E knockout mouse: a model documenting accelerated atherogenesis in uremia. J Am Soc Nephrol. 2003;14:311-6.
- 11.Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Coronary artery disease in end-stage renal disease: no longer a simple plumbing problem. J Am Soc Nephrol. 2003;14:1927-39.

12. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104:2673-8.
13. Drüeke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, Descamps-Latscha B, Guerin AP, Marchais SJ et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease. *Circulation*. 2002;106:2212-7.
14. Holvoet P. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. *Thromb Haemostasis*. 1999;3:287-293.
15. Heinecke JW. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis*. 1998;141:1-15.
16. Schleicher E, Friess. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney Int Suppl*. 2007;106:S17-26.
17. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med*. 1986;314:488-500.
18. Mach F, Schönbeck U, Libby P. CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis? *Atherosclerosis*. 1998;137:889-95.
19. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F et al. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis. *Kidney Int*. 1994;45:876-83.
20. Gali F, Canestrari F, Buoncristiani U. Biological effects of oxidant stress in hemodialysis: The possible roles of vitamin E. *Blood Purif*. 1999;17:79-94.
21. Himmelfarb J, Hakim RM. Oxidative stress in uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2003;12:593-8.
22. Liu J, Rosner MH. Lipid abnormalities associated with end-stage renal disease. *Semin Dial*. 2006;19:32-40.
23. Shoji T, Kawagishi T, Emoto M, Maekawa K, Taniwaki H, Kanda H et al. Additive impacts of diabetes and renal failure on carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2000;153:257-8.
24. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, Kawasaki K, Taniwaki H, Tabata T et al. Intermediate density lipoprotein as an independent risk factor for aortic atherosclerosis in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9:1277-84.

25. Nishizawa Y, Shoji T, Kakiya R, Tsujimoto Y, Tabata T, Ishimura E et al. Non-high density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) as a predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl.* 2003;84:8117–20.
26. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioksidants. *Exp Physiol* 1997;82:291-5.
27. Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004; 52:794-804.
28. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr.* 1993;57:715-25.
29. Schmidtman S, Miiller M, Baehr Von R, Precht T. Changes of antioxidative homeostasis in patients on chronic hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 1991;3:71-4.
30. Loughery CM, Young IS, Lightbody JH et al. Oxidative stress in hemodialysis. *Q J Med.* 1994;87:679-83.
31. Canaud B, Cristol JP, Moena M et al. Imbalance of oxidants and antioksidants in hemodialysis patients. *Blood Purif.* 1999;17:99-106.
32. Aruoma OI, Halliwell B. Action of hypochlorous acid on the antioxidant protective enzymes superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. *Biochem J.* 1987;15;248:973-6.
33. Hussain SA, Hassan MQ, Zeki MA. Antioxidant profile of human erythrocytes after kidney transplantation. *Clinical Biochemistry.* 1995;28:607-10.
34. Cevat Yazıcı, Kader Köse. Oxidative Stress and “Biomarker”s in Chronic Renal Failure. *Official Journal of the Turkish Society of Nephrology.* 2004;13:117-24.
35. England BK, Mitch WE. Mechanisms of progression of renal insufficiency. In: Massry SG, Glasscock RJ (eds), *Textbook of Nephrology.* 3rd ed, Volume 2. Baltimor, Williams and Wilkins, 1995:1261-69.
36. Heinzelmann M, Mercer- Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:384-99.
37. Ward R, Mcleish K. Polymorphonuclear leukocyte oxidative burst is enhanced in patients with chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol.* 1994;5:167-72.

- 38.Chen MF, Chang CL, Liou SY. Increase in resting levels of superoxide anion in the whole blood of uremic patients on chronic hemodialysis. *Blood Purif.* 1998;16:290-300.
- 39.Stroncek DF, Keshaviah P, Craddock PR et al. Effect of dialyzer reuse on complement activation and neutropenia in hemodialysis. *J Lab Clin Med.* 1984;104:304-11.
- 40.Craddock PR, Hammerschmidt DE. Complement mediated granulocyte activation and down-regulation during hemodialysis. *ASAIO J.* 1984;7:50-6.
- 41.Lander H. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J.* 1997;11:118-24.
- 42.Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP et al. Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:335-40.
- 43.Paul JL, Sall ND, Soni T et al. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron.* 1993;64:106-9.
- 44.Saint-Georges MD, Bonnefont DJ, Bourelly BA et al. Correction of selenium deficiency in hemodialyzed patients. *Kidney Int.* 1989;6:274-7.
- 45.Clermont G, Lecour S, Lahet F et al. Alteration of plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovasc Res.* 2000;47:618-23.
- 46.Chao JC, Yuan MD, Chen PY et al. Vitamin C and E supplements improve the impaired antioxidant status and decrease plasma lipid peroxides in hemodialysis patients. *J Nutr Biochem.* 2002;13:653-63.
- 47.Koken T, Kahraman A, Serteser M. Oxidative stress markers in hepatitis C infected hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2002;15:302-7.
- 48.Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 2004;5:9-13.
- 49.Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med.* 2004;255:188-205.
- 50.Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL: Beyond cholesterol. modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989;320:915–24.

51. Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82:5949-53.
52. Nickenig G, Sachinidis A, Michaelsen F, Bohm M, Seewald S, Vetter H: Upregulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low density lipoprotein in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1997;95:473-8.
53. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F et al. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis. *Kidney Int*. 1994;45:876-83.
54. Gullulu M, Kahvecioglu S, Dirican M, Akdag I, Ocak N, Demircan C et al. Paraoxonase activity in glomerulonephritic patients. *Ren Fail*. 2007;29:433-9.
55. Dirican M, Sarandol E, Serdar Z, Ocak N and Dilek K. Oxidative status and prevalent cardiovascular disease in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Clinical Nephrology*. 2007;68:144-50.
56. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J*. 2001;15:2073-84.
57. Calabresi L, Gomaraschi M, Francschini G. Endothelial protection by high-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1724-31.
58. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2004;4:211-7.
59. Hong-Liang L, De-Pei L, Chihj-Chuan L. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases. *J Mol Med*. 2003;81:766-79.
60. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Rev Gen Pharmac*. 1998;31:329-36.
61. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:69-76
62. Costa LG, Cole TB, Furlong CE. Polymorphisms of paraoxonase (PON1) and their significance in clinical toxicology of organophosphates. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003;41:37-45.

63. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanché H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest.* 1997;99:62-6.
64. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1983;35:1126-38.
65. Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (EC 3.1.1.2) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1992;30:391-5.
66. Cao H, Girard-Globa A, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon and is unaffected by the Q-R polymorphism. *J Lipid Res* 1999; 40:133-139.
67. Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today.* 1999;5:381-6.
68. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol & Med.* 1999;26:892-904.
69. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci.* 2004;107:435-47.
70. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paro SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 1998;101:1581-90.
71. Maron DJ, Ridker PM, Pearson TA, Grundy SM. Dyslipidemia, other risk factors, and the prevention of coronary heart disease. Ch 38. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R. *Hurst's The Heart* 10th edn. McGraw Hill Companies. USA 2001;1131-60.
72. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G, Battaglia P, Fasolin A. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO J.* 2003;49:295-9.

- 73.Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T Jr, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol.* 2004;39:59-66.
- 74.Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991;286:152-4.
- 75.Michael M, Bharti M. Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important ? *Free Radic Biol Med.* 2004;37:1317-23.
- 76.Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-80.
- 77.Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1617-24.
- 78.Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry.* 2005;44:6371-82.
- 79.Schiavon R, De Fanti E, Giavarina D, Biasioli S, Cavalcanti G, Guidi G. Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta.* 1996;247:71-80.
- 80.Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, Maxwell AP, Nicholls DP, Young IS. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem.* 1998;44:179-181.
- 81.Suehiro T, Ikeda Y, Shiinoki T, Inoue M, Kumon Y, Itahara T et al. Serum paraoxonase (PON1) concentration in patients undergoing hemodialysis. *J Atheroscler Thromb.* 2002;9:133-8.
- 82.Juretić D, Tadijanović M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricić M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J.* 2001;42:146-150.
- 83.Itahara T, Suehiro T, Ikeda Y, Inoue M, Nakamura T, Kumon Y et al. Serum paraoxonase and arylesterase activities in hemodialysis patients. *J Atheroscler Thromb* 2000;7:152-8.
- 84.Ak G, Ozgönül M, Sözmen EY, Aslan SL, Sözmen B. Renal cortical thickness and PON1 activity both decrease in chronic renal failure. *J Nephrol.* 2002;15:144-49.

85. Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2004;17:813-8.
86. Tarng DC, Huang TP, Wei YH. Erythropoietin and iron: the role of ascorbic acid. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:35-9.
87. Hörl WH. Is there a role for adjuvant therapy in patients being treated with epoetin. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:50-60.
88. Bienfait HF, Van Den Briel ML. Rapid mobilization of ferritin iron by ascorbate in the presence of oxygen. *Biochim Biophys Acta.* 1980;631:507-10.
89. Goldberg A. The enzymic formation of haem by the incorporation of iron into protoporphyrin; importance of ascorbic acid, ergothioneine and glutathione. *Br J Haematol.* 1959;5:150-7.
90. May JM, Qu ZC, Mendiratta S. Role of ascorbic acid in transferrin-independent reduction and uptake of iron by U-937 cells. *Biochem Pharmacol.* 1999;57:1275-82.
91. Jaffe GM. Vitamin C. Machlin L, ed. *Handbook of vitamins.* New York: Marcel Dekker Inc. 1984;199-244
92. Kopple JD, Swendseid ME. Vitamin nutrition in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Kidney Int Suppl.* 1975;2:79-84.
93. Descombes E, Hanck AB, Fellay G. Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation. *Kidney Int.* 1993;43:1319-28.
94. Levine M. New conception the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Engl J Med.* 1986;314:892-902.
95. Rose RC, Bode AM. Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *FASEB J.* 1993;7:1135-42.
96. Robert FC. Vitamin C: The nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Medical Hypotheses.* 1985;18:61-77.
97. Rees S. Ascorbic acid and lipid peroxidation. The cross-over effect. *Acta Biochim Biophys Hung.* 1987;22:241-49.
98. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KV. The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration dependent. *Biochim Biophys Acta.* 1986;884:119-23.

99. Negre-Salvayre A, Affany A, Hariton C et al. Additional antilipoperoxidant activities of alpha-tocopherol and ascorbic acid on membrane like systems are potentiated by rutin. *Pharmacology*. 1991;42:262-72.
100. Ono K. Secondary hyperoxalemia caused by vitamin C supplementation in regular hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 1986;26:239-43.
101. Ono K. The effect of vitamin C supplementation and withdrawal on the mortality and morbidity of regular hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 1989;31:31-34.
102. Sullivan JF, Eisentein AB. Ascorbic acid depletion in patients undergoing chronic hemodialysis. *Am J Clin Nutr*. 1970;23:1339-46.
103. Papastephanidis C, Agroyannis B, Tzanatos-Exarchov H et al. Re-evaluation of ascorbic acid deficiency in hemodialysed patients. *Int Artif Organs*. 1987;10:163-65.
104. Ponka A, Kuhlback B. Serum ascorbic acid in patients undergoing chronic hemodialysis. *Acta Med Scand*. 1983;213:305-7.
105. DeBari VA, Frank O, Baker H et al. Water-soluble vitamins in granulocyte, erythrocytes, and plasma obtained from chronic hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr*. 1984;39:410-18.
106. Tomson CRV, Channon SM, Parkinson IS et al. Correction of subclinical ascorbate deficiency in patients receiving dialysis: Effects on plasma oxalate, serum cholesterol and capillary fragility. *Clin Chim Acta*. 1989;180:255-264.
107. Deicher R, Horl WH. Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients. *Kidney Blood Pres Res* 2003;26:100-6.
108. Morena M, Cristol JP, Bosc JY, Tetta C, Forret G, Leger CL et al. Connective and diffuse losses of vitamin C during hemodiafiltration session: A contributive factor to oxidative stress in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17:422-27.
109. Bakaev VV, Efremov AV, Tityaev II. Low levels of dehydroascorbic acid in uraemic serum and the partial correction of dehydroascorbic acid deficiency by hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14:1472-74.
110. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP et al. Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16:335-40.

111. May JM, Qu ZC, Whitesell RR, Cobb CE. Ascorbate recycling in human erythrocytes: role of GSH in reducing dehydroascorbate. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:543–51.
112. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Deepak S, Block D, Block G. Food intake characteristics of hemodialysis patients as obtained by food frequency questionnaire. *J Ren Nutr.* 2002;12:17-31.
113. Hörl WH. Is there a role for adjuvant therapy in patients being treated with erythropoietin? *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:50-60.
114. Descombes E, Boulat O, Perriard F et al. Water-soluble vitamin levels in patients undergoing high-flux hemodialysis and receiving long term oral postdialysis vitamin supplementation. *Artif Organs.* 2000;24:773-78.
115. Eiselt J, Racek J, Trefil L, Opatrny K Jr. Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane and ascorbic acid infusion on oxidative stress in hemodialysis patients. *Artif Organs.* 2001;25:430-36.
116. Zhang A, Vertommen J, Van Gaal L, De Leeuw I: A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low density lipoprotein and very low density lipoprotein to copper-catalyzed oxidation. *Clin Chim Acta.* 1994;227:159-73.
117. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1983;35:1126-38.
118. McCormick DB, Grene HL. *Tietz Text Book of Clinical Chemistry.* IN: Burtis Ca Ashwood Er (eds). *Vitamins.* 3rd edition. Philadelphia: WB. Saunders Co. 1999;42:430-5.
119. Cases A, Vera M, López Gómez JM. Cardiovascular risk in patients with chronic renal failure. *Patients in renal replacement therapy. Nefrologia.* 2002;22:68-74.
120. Mustafa Güllülü. Lipids and the kidney. *Official Journal of The Turkish Society of Nephrology.* 2001;1-6.
121. Dr. Sevgi Eskiocak, Dr. Hatice Dörtok, Dr. Muhlise Alvur, Dr. Kuddusi Cengiz. The evaluation and clinical importance of plasma lipids and apolipoproteins in chronic renal failure. *Official Journal of the Turkish Nephrology.* 1995;1:40-43.
122. Attman PO, Samuelsson O, Alaupovic P. Lipoprotein metabolism and renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1993;21:573-92.
123. Keane WF. Lipids and the kidney. *Kidney int* 1994;46:910-20.

124. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, Tanaka M, Kawasaki K, Tabata T et al. Atherogenic lipoprotein changes in the absence of hyperlipidemia in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Atherosclerosis*. 1997;131:229-36.
125. Attman PO, Alaupovic P, Tavella M, Knight-Gibson C. Abnormal lipid and apolipoprotein composition of major lipoprotein density classes in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1996 ;11:63-9.
126. Ramos R, Gomez-Gerique N, Martinez-Castelao A. Lipoprotein oxidation profile in and stage renal disease patients. Role of vitamin C supplementation. *Nefrologia*. 2005;25:178-84.
127. Munoz JA, Garcia C, Quilez JL, Andugar MA. Effect of vitamin C on lipoproteins in healthy adults. *Ann Med Interne*. 1994;145:13-9.
128. Cerna O, Ramacsay L, Ginter E. Plasma lipids, lipoproteins and atherogenic index in men and women administered vitamin C. *Cor Vasa*. 1992;34:246-54.
129. Jacques PF, Sulsky SI, Perrone GE, Jenner J, Schaefer EJ. Effect of vitamin C supplementation on lipoprotein cholesterol, apolipoprotein, and triglyceride concentrations. *Ann Epidemiol*. 1995;5:52-9.
130. Khajehdehi P. Effect of vitamins on the lipid profile of patients on regular hemodialysis. *Scand J Urol Nephrol*. 2000;34:62-6.
131. Devasagayan TP, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free Radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Phys India*. 2004;52:794-804.
132. Erdoğan C, Ünlüçerçi Y, Türkmen A, Kuru A, Çetin Ö, Bekpınar S. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta*. 2002;322:157-61.
133. Rigatto C, Singal PK. Oxidative stress in uremia: impact on cardiac disease in dialysis patients. *Seminars in Dialysis*. 1992;12:91-96.
134. Nourooz-Zadeh J. Effect of dialysis on oxidative stress in uraemia. *Redox Report*. 1999;4:2-8.
135. Clermont G, Lecour S, Lahet JJ, Siohan P, Vergely C, Chevet et al. Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovascular Research*. 2000;47:618-23.

136. Paul JL, Sall ND, Soni T, Paignet JL, Lindenbaum A, Man NK et al. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron*. 1993;64:106-9.
137. Elif Azize Özşahin, Cevat Yazıcı, Kader Köse, Cengiz Utaş, Bülent Tokgöz. Malondialdehyde and Thiol Levels in Plasma of Hemodialysis Patients. *E.Ü. Journal of Health Sciences*. 2004;13:8-14.
138. Valdez LB, Arnaiz SL, Bustamante J, Alvarez S, Costa LE, Boveris A. Free radical chemistry in biological systems. *Biol Res*. 2000;33:1-8.
139. Zhang a, Vertommen j, Van Gaal L, De Leeuw I: A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low density-lipoprotein and very-low-density lipoprotein to copper catalyzed oxidatio. *Clin Chim Acta*. 1993;227:159-73.
140. Chiu H, Jeng J, Shieh S: Increased oxidazibility of plasma low density lipoprotein from patients with coronary artery disease. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1225:200-8.
141. Melahat Dirican, Zehra Serdar, Emre Sarandol, Dilek Yeşilbursa, O Akın Serdar, H. Asuman Tokullugil. Koroner arter hastalığı olan kadın ve erkeklerde Apolipoprotein içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığı ve antioksidanlarla ilişkisi. *Bursa Devlet Hastanesi Bülteni*. 1999;15:27-31.
142. Zehra Serdar, Kemal Aslan, Melahat Dirican, Emre Sarandöl, Dilek Yeşilbursa, Akın Serdar. Lipit and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clinical Biochemistry*. 2006;39:794-803
143. Köken T, kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:9-13
144. Eiselt J, Racek J, Trefil L, Opatrny K Jr. Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane and vitamin C infusion on oxidative stres in hemodialysis patients. *Arif Organs*. 2001;25:430-36.
145. Dirican M, Taş S. Effects of vitamin E and vitamin C supplementation on plazma lipid peroxidation and on oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins in experimental hyperthyroidism. *Med Invest*. 1999;46:29-33.
146. Gugliucci A, Menini T, Stahl AJ. Susceptibility to copper-enhanced autoxidation of VLDL+LDL fractions from diabetic patients. *Biochem Mol Biol Int*. 1994;31:139-47.

147. Mackness M, Durrington PN. Paraoxonase: another factor in NIDDM cardiovascular disease. *Lancet*. 1995;346:856.
148. Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Lócsey L, Kárpáti I et al. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron*. 1999;83:126-31.
149. Paragh G, Seres I, Balogh Z, Varga Z, Kárpáti I, Mátyus J et al. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron*. 1998;80:166-70.
150. Hasan Kaya, Fevzi Polat, Ramazan Çetinkaya, Seyithan Taysi, A.Rıza Odabaş, Yılmaz Selçuk. Serum paraoxonase activity in chronic hemodialysis patients. *Official Journal of the Turkish nephrology Association*. 2000;3:176-79.
151. Kabaroglu C, Mutaf I, Boydak B, Ozmen D, Habif S, Erdener D et al. Association between serum paraoxonase activity and oxidative stress in acute coronary syndromes. *Acta Cardiol*. 2004;59:606–11.
152. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E et al. Paraoxonase status in coronary heart disease. Are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1451–7.
153. Tülin Bayrak, Ahmet Bayrak, Ediz Demirpençe, Kamer Kılınc. Yeni bir kardiovasküler belirteç adayı: paraoksonaz. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2005;36:147-51.
154. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of High density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 1999;145:227-38.
155. Gail P Jarvik, Nancey Trevanian Tsai, Laura A. McKinstry et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1329-33.
156. Calla MS, Lynch SM. Vitamin C preserves the cardio-protective paraoxonase activity of high-density lipoprotein during oxidan stres. *Arch Biochem Biophys*. 2006;452:129-37.
157. Cao H, Girard-Globa A, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon and is unaffected by the Q-->R genetic polymorphism. *J Lipid Res*. 1999;40:133-9.
158. Sullivan JF, Eisenstein AB. Ascorbic acid depletion in patients undergoing chronic hemodialysis. *Am J Clin Nutr*. 1970;23:1339-46.

TEŞEKKÜRLER

Bu tez çalışması Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin desteği ile gerçekleştirilmiştir (Proje No: 2004-12/12).

Çalışmalarım boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen uzmanlık tezi danışmanım Doç. Dr. Emre Sarandöl'e, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Melahat Dirican'a, uzmanlık eğitimim boyunca benimle bilgilerini paylaşan diğer bütün hocalarıma, beraber görev yaptığım dostluklarını, arkadaşlıklarını hiçbir şeye değişmeyeceğim sevgili iş arkadaşlarıma ve tezimi hazırlamamdaki destekleri için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Alpaslan Ersoy ile sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Emel Şenol'a teşekkür etmeği bir borç bilirim.

Ayrıca Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller, Eğitim ve Araştırma Merkez Laboratuvarı teknisyenlerine ve elemanlarına sıcak tavırları, yardımları ve dostlukları için teşekkür, eder sevgilerimi sunarım.

Beni bu günlere getiren aileme, hiçbir zaman sevgi, güven ve desteğini esirgemeyen sevgili eşime de teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Son olarak bu çalışmaya katılmayı kabul eden tüm kişilere teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Van'da doğdum. İlkokulu Van Atatürk ilköğretim okulunda ortaokul ve liseyi İzmir Bornova Süphi Koyuncuoğlu Lisesinde tamamladım. 1992'de Ege Üniversitesi Tıp fakültesine girdim. 1999'da mezun oldum. 2000-2003 yıllarında Van'ın Erciş ilçesi 1 Nolu Sağlık Ocağında mecburi hizmetimi yaptım. 2003 ağustos ayından itibaren Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dal'ında uzmanlık eğitimime başladım.