



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**“Οξειδοαναγωγικές μεταβολές κατά την περιτοναϊκή κάθαρση
και μέθοδοι αντιμετώπισής τους”**

Μπουντούρης Γιώργος
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Ημερομηνία αίτησης του κ. Μπουντούρη Γεωργίου: 19-12-2001

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 476^α/27-5-2002

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μάλαμας Μιχάλης Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Χαραλαμπόπουλος Κωνσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 10-9-2003

«Οξειδοαναγωγικές μεταβολές κατά την περιτοναϊκή κάθαρση και μέθοδοι αντιμετώπισής τους»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 708^α/8-3-2011

Ανωγειανάκης Γεώργιος	Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
Ευαγγέλου Άγγελος	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Χαραλαμπόπουλος Κωνσταντίνος	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης
Καλφακάκου Βασιλική	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μάλαμας Μιχάλης	τ. Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Βεζυράκη Πατρώνια	Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Καρκαμπούνας Σπυρίδων	Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις **28-6-2011**

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Η Γραμματέας της Σχολής

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ

Αφιερώσεις

Στους γονείς και στην αδερφή μου

Στην οικογένειά μου:

τη Μαρία, τη Φοίβη, τον Ανέστη και το Γιώργη

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η χρόνια νεφρική νόσος χαρακτηρίζεται από αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα, στην οποία συνεισφέρουν η επιτάχυνση της αθηρωματικής διαδικασίας και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Στις παραπάνω καταστάσεις κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζουν κλασσικοί και νεώτεροι παράγοντες κινδύνου, καθώς και άλλοι που σχετίζονται με την νεφρική ανεπάρκεια καθαυτή. Μάλιστα, ολοένα και περισσότερο γίνεται λόγος για τη συνεισφορά της οξειδωτικής διαδικασίας, ώστε η οξειδωτική καταπόνηση να θεωρείται σημαντική συνιστώσα του λεγόμενου «υπολειπόμενου» καρδιαγγειακού κινδύνου, δηλαδή εκείνου που προκύπτει, παρά τη διόρθωση των παραδοσιακών παραγόντων. Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια παρατηρείται σημαντικού βαθμού επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας, η οποία αυξάνει παράλληλα με την εξέλιξη της νεφρικής νόσου και επιδεινώνεται περαιτέρω με την έναρξη εξωνεφρικής κάθαρσης. Σ' αυτή την επιδείνωση συντελούν η ανεπάρκεια των αντιοξειδωτικών συστημάτων, η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση, η δυσθρεψία, η βιοασυμβατότητα των μεθόδων εξωνεφρικής κάθαρσης ή των χρησιμοποιούμενων σ' αυτές υλικών, μεταβολικοί παράγοντες, η χρήση διαλυμάτων γλυκόζης, κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ασθενών, όπως για παράδειγμα η αυξημένη ηλικία, αλλά και η ουραιμία *per se*. Συμπερασματικά, οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς βρίσκονται σε μια κατάσταση αυξημένου οξειδωτικού stress, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, παρότι δε φτάνουν τα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης των αιμοκαθαιρόμενων. Η χρήση αντιοξειδωτικών παραγόντων θα μπορούσε να ασκεί ευεργετική δράση και δοκιμάζεται σε διάφορες ομάδες ασθενών στην κατεύθυνση του δυνητικού περιορισμού του επιπλέον καρδιαγγειακού κινδύνου, με άλλοτε άλλα αποτελέσματα. Οι ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση χαρακτηρίζονται από ελαττωμένα επίπεδα ασκορβικού οξέος στον ορό του αίματος αλλά και από ενδοκυττάρια ένδεια ατοκοφερόλης, παρά τα φυσιολογικά επίπεδά της στον ορό, αντικατοπτρίζοντας πιθανώς διαταραχές στη σχέση της βιταμίνης και των φορέων της. Στους ασθενείς αυτούς, και σε μια σειρά μελετών, έχουν χορηγηθεί οι παραπάνω αντιοξειδωτικές βιταμίνες, αλλά ποτέ σε συνδυασμό, πράγμα που δοκιμάστηκε σε αιμοκαθαιρόμενους νεφροπαθείς. Στη μελέτη που ακολουθεί θα εκτιμηθεί η δράση του συνδυασμού των βιταμινών C και E, σύμφωνα με το δοσολογικό σχήμα σχήμα που επιλέχτηκε, στη βελτίωση της οξειδωτικής κατάστασης, όπως αντικατοπτρίζεται σε μια σειρά παραμέτρων που μετρήθηκαν στον ορό, στα ερυθροκύτταρα, στα ούρα και στο περιτοναϊκό έκπλυμα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Πρωτίστως, τον Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Άγγελο Ευαγγέλου, που, παρότι με γνώρισε μέσα από ένα τυπικό βιογραφικό σημείωμα, μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διδακτορική διατριβή, βοηθώντας με στην επιλογή του θέματος, στην καθοδήγησή του, παραχωρώντας μου πρόσβαση στο εργαστήριο Φυσιολογίας, και διευκολύνοντάς με στην εκπόνηση της έρευνας.

Το συμπατριώτη και φίλο μου, Επίκουρο Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Σπύρο Καρκαμπούνα, που με στήριξε σε θεωρητικό επίπεδο, αλλά και μου προσέφερε σημαντικότερη υλικοτεχνική συμπαράσταση.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακολογίας κ. Μιχαήλ Μάλαμα για τις εύστοχες υποδείξεις του και την καθοδήγηση κατά την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής.

Το φίλο μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Τμήματος Αναλυτικής Χημείας κ. Πάνο Βελτσίστα, για το αξιοσημείωτο ενδιαφέρον, τις χρησιμότητες συζητήσεις μας, τη συμπαράσταση στα τόσα ξενύχτια, καθώς και για την προμήθεια πρότυπων ουσιών που χρειάστηκα. Του χρωστώ –συν τοις άλλοις- τη γνωριμία μου με την αναλυτική χημεία.

Τον Καθηγητή Βιολογικής Χημείας κ. Δημήτρη Γαλάρη που μου προσέφερε φιλοξενία στο εργαστήριό του και μου γνώρισε την Κα Μαρία Μελίδου, η οποία με δίδαξε τη μέθοδο της TAC κατά Randox.

Τους Διδάκτορες της Ιατρικής Σχολής κ. Γιάννη Βεργινάδη και κ. Γιάννη Σίμο για την ανεκτίμητη συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Τους ανθρώπους του Εργαστηρίου Φυσιολογίας, που με φιλοξένησαν με ευγένεια και με διευκόλυναν πάντοτε.

Τέλος ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω το δάσκαλό μου, Καθηγητή Παθολογίας κ. Αθανάσιο Δημητριάδη, που μου έμαθε να σκύβω με ενδιαφέρον πάνω στους περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, μου παραχώρησε πλήρη πρόσβαση στη μονάδα περιτοναϊκής κάθαρσης «Σταύρος Αντωνίου», του Γ.Ν.Θ. «Αγ. Δημήτριος», η οποία –δυστυχώς- δεν υπάρχει πια, με βοήθησε στο σχεδιασμό της μελέτης αλλά, και για τόσα άλλα που του χρωστώ.

Την Κα Φρειδερίκη Φαντίδου, για τη φιλολογική της ματιά στο τελικό κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
1.1 Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, οξειδωτικές διαδικασίες και αντιοξειδωτικά συστήματα	7
1.2 Η οξειδωτική καταπόνηση στη «φυσιολογική» κατάσταση και στη νόσο- Δράσεις στα βιολογικά συστήματα	13
1.3 Ο ρόλος των EPO στη γήρανση και στη νόσο	16
1.4 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και οξειδωτική καταπόνηση- Επιδράσεις στην περιτοναϊκή κάθαρση.....	18
1.5 Το οξειδωτικό stress στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.....	22
1.6 Το σύνδρομο δυσθρεψίας, φλεγμονής και αθηρωμάτωσης [malnutrition, inflammation, atherosclerosis (MIA)]	25
1.6.1 Δυσθρεψία.....	26
1.6.2 Φλεγμονή	28
1.6.3 Αθηροσκληροσληρυντική καρδιαγγειακή νόσος	30
1.7 Οξειδωτική καταπόνηση και περιτοναϊκή κάθαρση	33
1.8 Αντιοξειδωτικά συστήματα- Δείκτες αυξημένης οξειδωτικής διαδικασίας: Από τη χρόνια νεφρική νόσο στην περιτοναϊκή κάθαρση.....	44
1.8.1 Βιταμίνη C	46
1.8.2 Βιταμίνη E.....	48
1.8.3 Ερυθροκυτταρικά αντιοξειδωτικά	48
1.8.4 TAC & MDA	50
1.8.5 Γλυκοσυλιωμένα παράγωγα	53
1.9 ΟΙ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ C ΚΑΙ E: Από τη θεωρία στην πράξη	56
1.9.1 Γενικά	56
1.9.2 Βιταμίνη C	57
1.9.2.1 Δράσεις της βιταμίνης C σε παθολογικές διαδικασίες.....	58
1.9.2.2 Τοξικότητα	59
1.9.3 Βιταμίνη E.....	60
1.9.3.1 Δράσεις της βιταμίνης E.....	60

1.9.3.2 Δράσεις της βιταμίνης E σε παθολογικές διαδικασίες	62
1.9.4 Η χορήγηση αντιοξειδωτικών σε «ειδικούς» πληθυσμούς	63
1.9.5 Συγχορήγηση συμπληρωμάτων βιταμινών C και E	63
1.9.6 Χορήγηση βιταμινών C και E σε χρόνιους νεφροπαθείς και σε ασθενείς υπό Περιτοναϊκή Κάθαρση	65
1.10 ΑΛΛΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ.....	70
1.10.1 Πρόληψη.....	70
1.10.2 Θεραπεία.....	71
2. Στόχος	77
3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	79
3.1.1 Ομάδα Μελέτης (Ομάδα A).....	79
3.1.2 Ομάδα Ελέγχου (Ομάδα B)	80
3.2 Χορήγηση Αντιοξειδωτικών Παραγόντων.....	81
3.3 Μετρήσεις της οξειδοαναγωγικής κατάστασης	81
3.4. Μέθοδοι.....	83
3.4.1 Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)	83
3.4.2 Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)	84
3.4.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)	85
3.4.4 Φθορισμομετρικός προσδιορισμός παραπροϊόντων λιπιδικής υπεροξείδωσης (TBARS) ..	87
3.4.5.1 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονυλοδιαλδεύδης (MDA)	90
3.4.5.2 Προσδιορισμός της MDA με τη χρήση μεθόδου υγρής χρωματογραφίας – φασματοφωτομετρίας Μάζας (LC-MS).....	91
3.4.6 Προσδιορισμός καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών με χρήση ELISA.....	92
3.5 Στατιστική ανάλυση	96
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	97
4.1 Υπεροξειδάση της δισμουτάσης (SOD).....	97
4.2 Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx).....	98
4.3 Μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	99
4.4 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονυλο-διαλδεύδης (MDA)	107

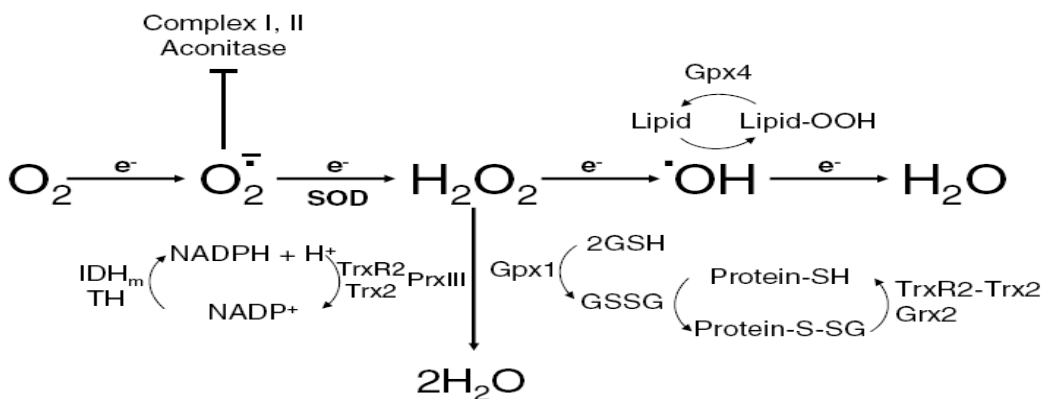
4.5 Αποτελέσματα φθορισμομετρικού προσδιορισμού TBARS ορού.....	110
4.6 Προσδιορισμός της μαλονυλοδιαλδεύδης (MDA) με υγρή χρωματογραφία- φασματοφωτομετρία μάζας (LC-MS).....	112
4.7 Προσδιορισμός καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών	116
4.8 Συσχετίσεις του βαθμού της οξειδωτικής καταπόνησης με την υπολειπομένη νεφρική λειτουργία και βιοχημικές παραμέτρους.....	121
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ	123
6. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ	141
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	147

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, οξειδωτικές διαδικασίες και αντιοξειδωτικά συστήματα

Ως οξειδοαναγωγική, ορίζεται μια χημική αντίδραση, κατά την οποία τροποποιείται ο οξειδωτικός αριθμός των στοιχείων- ατόμων της. Συγκεκριμένα, οξείδωση προκύπτει από την αύξηση του οξειδωτικού αριθμού, ενώ αναγωγή από τη μείωσή του. Αυτοί οι νέοι ορισμοί, αποτέλεσμα μιας σύγχρονης θεώρησης περί ηλεκτρονικού νέφους, υποδηλώνουν ότι οξειδοαναγωγή συμβαίνει και χωρίς πραγματική μεταφορά ηλεκτρονίων. Σε παλαιότερους ορισμούς, η μεταφορά αυτή, μεταξύ μορίων, ατόμων ή ιόντων, θεωρούνταν κυρίαρχο και απαραίτητο στοιχείο, ώστε οξείδωση να θεωρείται η απόδοση και αναγωγή η πρόσληψη ηλεκτρονίων.

Ως ελεύθερες ρίζες, περιγράφονται άτομα, μόρια ή ιόντα που περιέχουν στην εξωτερική τους στοιβάδα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, τα οποία τους προσδίδουν αξιοσημείωτο βαθμό αντιδραστικότητας (Halliwell and Gutteridge 1999). Για παράδειγμα, το ατμοσφαιρικό οξυγόνο θεωρείται διπλή ελεύθερη ρίζα, η οποία φέρει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην τροχιά Π (orbital Π), με παράλληλα τροχιακά, άρα εμφανίζει ικανότητα -μειωμένη πάντως- αντίδρασης με βιομόρια. Με μια σειρά διαδοχικών αναγωγών, το μοριακό οξυγόνο μετατρέπεται σε ένα μόριο νερού, δίνοντας γένεση σε ενδιάμεσες ουσίες, με χαρακτηριστικά ελευθέρων ριζών.



Σχήμα 1. Η δημιουργία των ελευθέρων ριζών οξυγόνου.

Το ανιόν του υπεροξειδίου είναι η πρωτογενής ελεύθερη ρίζα οξυγόνου (EPO), η οποία μάλιστα υποδέχεται το 1-3% των ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλύσου, ενώ η ρίζα του υπεροξειδίου, όπως άλλωστε και τα περισσότερα μόρια αυτής της κατηγορίας, εμφανίζει ελαττωμένο χρόνο ημίσειας ζωής και -σε συνθήκες stress- απελευθερώνει ελεύθερο σίδηρο από μόρια, μια αντίδραση που πρωτοπεριγράφηκε από τον Fenton το 1984:



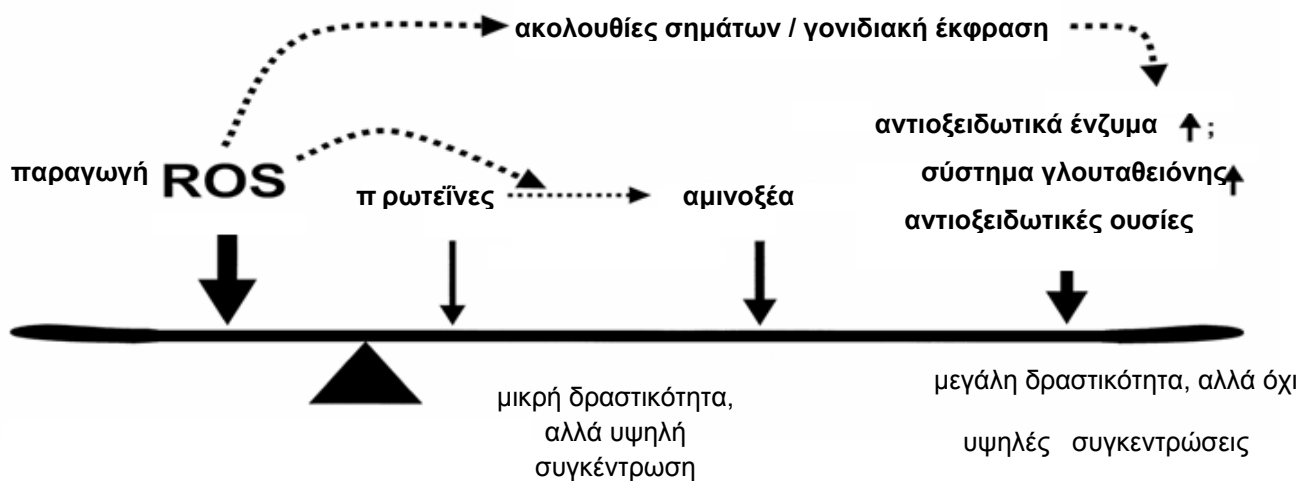
Παράλληλα συμμετέχει στην αντίδραση Haber-Weiss ($\text{O}_2\cdot^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$), ανάγοντας ταυτόχρονα το σίδηρο ($\text{Fe}_3^+ + \text{O}_2\cdot^- \rightarrow \text{Fe}_2^+ + \text{O}_2$). (Liochev & Fridovich 1994)

Στον οργανισμό, σημαντικά σημεία παραγωγής οξειδωτικών ουσιών αποτελούν το μιτοχόνδριο (κυρίως μέσω της αναπνευστικής αλύσου), τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα- μακροφάγα. Στους νεφρούς, πηγές αποτελούν τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες και τα διαμεσοσωληναριακά κύτταρα (Ichikawa et al., 1994).

Οι EPO, λόγω της χημικής τους υπεραντιδραστικότητας, αποτελούν -δυσνητικά- επικίνδυνα μόρια για τα βιολογικά συστήματα και -σε υψηλές συγκεντρώσεις- μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβες κυτταρικών δομών, νουκλεϊκών οξέων, λιπιδίων και πρωτεϊνών (Valko et al., 2006). Συγκεκριμένα, η ρίζα του υδροξυλίου αντιδρά με όλα τα στοιχεία του DNA (δεοξυριβόζη, πουρίνες, πυριμιδίνες), γεγονός που μπορεί να αποτελεί το πρώτο βήμα σε μετάλλαξη, καρκινογένεση ή γήρανση (Halliwell and Gutteridge 1999). Η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων δίνει ως τελικό προϊόν μαλονυλοδιαλδεύδη (MDA) ή 4-OH-2 nonenal (HNE). Η MDA, με τη σειρά της προκαλεί μεταλλάξεις και -τελικά- καρκινογένεση σε πειραματόζωα, ενώ η HNE εμφανίζει ασθενή μεταλλαξιογόνο, αλλά σημαντική τοξική δράση. Οξειδωτική βλάβη υφίστανται και οι πρωτεΐνες και μάλιστα τα αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη αποτελούν τον κύριο στόχο (Stadtman 2004). Πάντως, σταθερό χαρακτηριστικό της επίδρασης του οξειδωτικού stress είναι η ενεργειακή απώλεια σε επίπεδο ATP, ενώ σε ακραίες καταστάσεις μπορεί να προκύψει ως και κυτταρικός θάνατος (Brebogowicz et al., 1993).

Η έκθεση των οργανισμών στις δυσνητικά επικίνδυνες δράσεις των ελεύθερων ριζών οδήγησε στην ανάπτυξη αμυντικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών, (Cadenas 1997) οι οποίοι στοχεύουν στην πρόληψη ή στην αποκατάσταση της οξειδωτικής βλάβης. Τα

αντιοξειδωτικά συστήματα μπορεί να είναι ενζυμικά ή μη. Τα πρώτα περιλαμβάνουν την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και την καταλάση (CAT). Η SOD μετατρέπει το O_2^- σε H_2O_2 , το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε νερό (H_2O) από την καταλάση, ενώ η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, μόριο το οποίο περιέχει σελήνιο, αντιδρά με λιπιδικές υπεροξειδάσες. Από την άλλη, τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα αντιπροσωπεύονται από εξωγενείς ουσίες, όπως οι βιταμίνες A, C και E, ο χαλκός και το σελήνιο, (Locateli et al., 2003; Canaud et al., 1999; González Díez 2003) (Σχήμα 2), καροτενοειδή και φλαβονοειδή, αλλά και μια σειρά ενδογενών μορίων, όπως η φερριτίνη, η τρανσφερρίνη, η σερούλοπλασμίνη, το ουρικό, η λευκωματίνη, η γλουταθειόνη (GSH), η οποία αντιδρά με H_2O_2 , OH^- και χλωριωμένες οξειδωτικές ουσίες, κ.α. Σημειώνεται όμως, ότι η λευκωματίνη, στο περιβάλλον του νεφρού, πέρα από την παραπάνω επωφελή αντιοξειδωτική της δράση, μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή φλεγμονογόνων κυτοκινών στα εγγύς σωληναριακά κύτταρα, μέσω της ενεργοποίησης του γονιδίου του πυρηνικού παράγοντα κB (NF- κB). Ο μηχανισμός αυτός αποτελεί μια ελκυστική θεωρία για τη βλάβη του νεφρού από την πρωτεϊνουρία (Agarwal 2003).



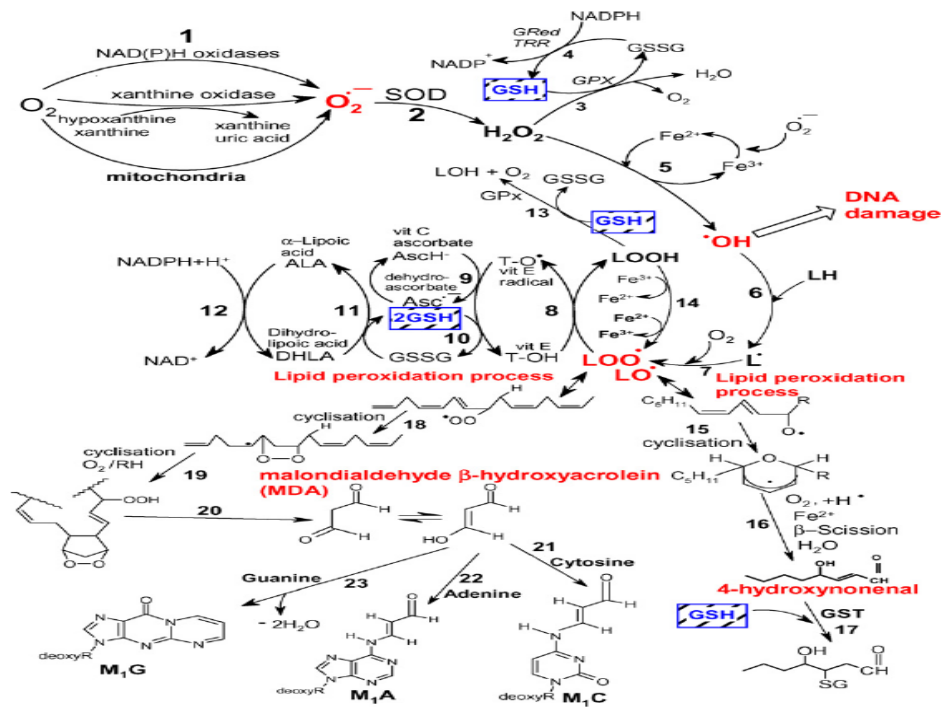
Σχήμα 2. Η οξειδοαναγωγική ομοιόσταση: μια ευαίσθητη ισορροπία μεταξύ των οξειδωτικών ουσιών και των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού.

Κατά την παραγωγή μεγάλης ποσότητας οξειδωτικών ουσιών, τα αντιοξειδωτικά συστήματα, όχι μόνο δεν επαρκούν, αλλά μπορεί τα ίδια να εκτρέπουν την ισορροπία προς μια κατεύθυνση «περαιτέρω» οξειδωτικού stress. Για παράδειγμα, έντονη δραστηριότητα

της SOD, αλλά ανεπαρκής στη συνέχεια δράση της καταλάσης, μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση OH^\cdot , υπό την παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού, μέσω της αντίδρασης Fenton, που ήδη αναφέρθηκε (Ichikawa et al., 1994).

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), η ρίζα του υπεροξειδίου (O_2^\cdot), του υδροξυλίου (OH^\cdot) και του μονοξειδίου του αζώτου (NO^\cdot) αποτελούν τις σημαντικότερες οξειδωτικές ουσίες (Galle 2001). Τα παραπάνω μόρια παράγονται συνεχώς στον οργανισμό και –όπως τονίστηκε- έχουν βραχύ χρόνο ημίσειας ζωής. Επομένως, η απλή ανίχνευσή τους -εκτός από τη δυσκολία που εμπεριέχει- δεν αποτελεί σαφή ένδειξη αυξημένης οξειδωτικής καταπόνησης (Halliwell 1993). Οι ουσίες που προκύπτουν από την οξειδωτική μετατροπή των λιπιδίων, των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των νουκλεϊκών οξέων έχουν χρόνους ημίσειας ζωής ωρών μέχρι εβδομάδων και αποτελούν πιο «ασφαλείς» δείκτες ανίχνευσης του οξειδωτικού stress. Τα βιομόρια που υπόκεινται ευκολότερα στη δράση ελεύθερων ριζών είναι τα λιπίδια. Πιο συγκεκριμένα, με μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων που ακολουθούν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, προκύπτουν αλδεύδες, όπως η ακρολεΐνη, η μαλονυλοδιαλδεύδη (MDA), η 4 hydroxynonenal (HNE) και ενεργές ενώσεις του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS). Τα F_2 -ισοπροστάνια προέρχονται από την οξείδωση του αραχιδονικού οξέος και αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους δείκτες, όπως και τα όψιμα προϊόντα λιποξειδωσης (ALEs) ή τα αντισώματα έναντι των οξειδωμένων, χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (anti-ox-LDLs). Η οξείδωση των πρωτεϊνών μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία πρωτεϊνικών καρβονυλικών ενώσεων (Dalle-Donne et al., 2003; Dalle-Donne et al., 2005), η μαζική άθροιση των οποίων σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια οδηγεί σε μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται ως «καρβονυλικό stress», κύριοι μηχανισμοί ανάπτυξης του οποίου θεωρούνται η αυξημένη φλεγμονή και το οξειδωτικό stress (Li et al., 2006). Παράλληλα, μπορεί να παρατηρείται αύξηση προϊόντων ανθεκτικών στην πρωτεόλυση, όπως τα πρωτεϊνικά προϊόντα προκεχωρημένης (όψιμης) οξείδωσης (AOPPs) -κατ' αναλογία με τα προκεχωρημένα (όψιμα) προϊόντα της τελικής γλυκοσυλίωσης (AGEs) (Witko-Sarsat et al., 1996). Τα τελευταία μάλιστα αποτελούν μια κατηγορία σύνθετων προϊόντων που είναι στην πραγματικότητα το αποτέλεσμα γλυκοξειδωσης, αλλά μπορεί να αποτελούν τα τελικά προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων. Προκύπτουν από την αντίδραση Maillard, μια μη ενζυματική διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει αντιδράσεις μεταξύ υδατανθράκων και ελεύθερων αμινο-ομάδων πρωτεϊνών. Τα ενδιάμεσα προϊόντα ονομάζονται Amadori,

βάσεις Schiff και Maillard, σύμφωνα με τα ονόματα των ερευνητών που τα πρωτοπεριέγραψαν. Τα περισσότερα AGEs είναι ασταθείς και αντιδραστικές ενώσεις, με καλύτερα χαρακτηρισμένα μόρια της κατηγορίας στον άνθρωπο την πεντοσιδίνη και την καρβοξυλ-μεθυλ-λυσίνη (CML) (Wautier et al., 2001).



Σχήμα4: Παθοφυσιολογικές οδοί στο σχηματισμό των ελευθέρων ριζών- Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών:

Αντίδραση 1: Η ρίζα του ανιόντος του υπεροξειδίου σχηματίζεται από την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου, που διαμεσολαβείται από την οξειδάση της NAD(P)H και την ξανθινο-οξειδάση ή μη ενζυματικά από ημι-ubiquinone της μιτοχονδριακής αλύσου.

Αντίδραση 2: Η ρίζα του υπεροξειδίου με τη δράση της (SOD) οδηγεί στο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου.

Αντίδραση 3: Δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθεινής (GPx).

Αντίδραση 4: Η οξειδωμένη γλουταθεινή (GSSG) ανάγεται σε GSH από την αναγωγή της (Gred).

Αντίδραση 5: Μερικά μέταλλα μεταφοράς (π.χ. Fe^{2+} , Cu^{+} κ.α.) μπορούν να μετατρέψουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε ρίζα υδροξυλίου (Fenton reaction).

Αντίδραση 6: Γένεση λιπιδικής ρίζας ($L\cdot$).

Αντίδραση 7: Γένεση ρίζας λιπούπεροξειδίου.

Αντίδραση 8: Η ρίζα του λιπούπεροξειδίου ανάγεται στη μεμβράνη από τις ανηγμένες μορφές της Vitamin E

Αντίδραση 9: Η αναγέννηση της Vitamin E από τη Vitamin C: Η ρίζα της Vitamin E ($T-O\cdot$) ανάγεται σε Vitamin E ($T-OH$)

Αντίδραση 10: Η αναγέννηση της Vitamin E από τη GSH.

Αντίδραση 11: Η οξειδωμένη γλουταθεινή (GSSG) και η ρίζα του ασκορβικού ($Asc\cdot^-$) ανάγονται σε GSH και ασκορβικό μονοανιόν, $AscH^-$

Αντίδραση 12: Αναγέννηση της DHLA της ALA, με τη χρήση της NADPH.

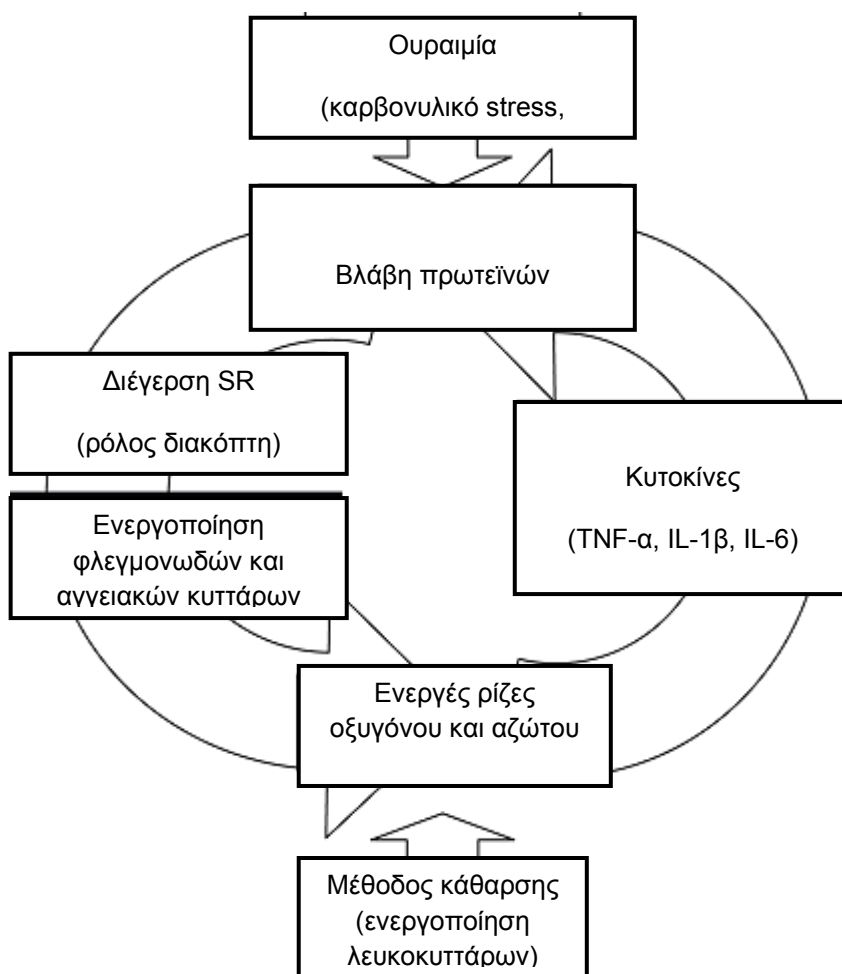
Αντίδραση 13: Τα υδροϋπεροξείδια των λιπιδίων ανάγονται σε αλκοόλες από GPx χρησιμοποιώντας GSH.

Αντίδραση 14: υδροϋπεροξείδια των λιπιδίων μπορούν να αντιδράσουν με Fe^{2+} προς σχηματισμό λιπιδικών υπεροξειδικών ριζών ($LOO\cdot$).

Αντίδραση 15: Η λιπιδική αλκοξυλική ρίζα ($LO\cdot$) σχηματίζει βμελές δακτύλιο υδροϋπεροξειδίου.

Αντίδραση 16: Σχηματισμός 4-hydroxy-nonenal.

Οι καρβονυλικές ενώσεις καθαίρονται από τον οργανισμό από μια τάξη πρωτεϊνικών μεμβρανικών υποδοχέων, τους εκκαθαριστικούς υποδοχείς (SR: scavenger receptors). Όταν παρατηρείται χρόνια, υπέρμετρη συγκέντρωση καρβονυλίων, AOPPs και AGEs, καθώς και υπερδιέγερση των SR, αυτοί οι τελευταίοι μπορούν να λειτουργήσουν ως ένας διακόπτης της φλεγμονώδους διαδικασίας. Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (XNA) υπό κάθαρση, η επίδραση του οξειδωτικού stress, δημιουργεί ένα φαύλο κύκλο φλεγμονής και περαιτέρω οξειδωτικής καταπόνησης, όπως εικονίζεται ανάγλυφα στο σχήμα 3:



Σχήμα 3. Ο φαύλος κύκλος φλεγμονής και οξειδωτικού stress, που δημιουργείται από την υπέρμετρη διέγερση των εκκαθαριστικών υποδοχέων (SR) από τις οξειδωμένες πρωτεΐνες (καρβονύλια/ AOPPs), λιπίδια και υδατάνθρακες (AGEs). (Galli 2007)

Κάθε κύτταρο χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένη συγκέντρωση ηλεκτρονίων, τα οποία είναι αποθηκευμένα σε κυτταρικά συστατικά και η οποία παριστά την οξειδοαναγωγική του κατάσταση, καθορίζοντας εν πολλοίς τη λειτουργικότητά του (Schafer & Buettner

2001). Παλαιότερα ο όρος οξειδοαναγωγική κατάσταση χρησιμοποιούνταν για την περιγραφή της κατάστασης ενός οξειδοαναγωγικού ζεύγους, για παράδειγμα GSSG/GSH, Asc•-/AscH-. Η ενδοκυττάρια οξειδοαναγωγική ομοιόσταση καθορίζεται κυρίως από την ενεργοποίηση των αναγωγασών της GSH και της θειορεδοξίνης (TRX.) (Halliwell and Gutteridge 1995).

1.2 Η οξειδωτική καταπόνηση στη «φυσιολογική» κατάσταση και στη νόσο- Δράσεις στα βιολογικά συστήματα

Ως οξειδωτική καταπόνηση (επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας ή οξειδωτικό stress), χαρακτηρίζεται κάθε κατάσταση, στην οποία προκύπτει διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής οξειδωτικών ουσιών και της αντιοξειδωτικής δράσης των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού υπέρ των πρώτων (με άλλα λόγια μια ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής ελευθέρων ριζών και της ικανότητας των βιολογικών συστημάτων να τις εκκαθαρίζουν, να τις ανενεργοποιούν ή να αποκαθιστούν προκύπτουσες διαταραχές). Οι EPO, με την τάση τους να υπεραντιδρούν στα βιολογικά συστήματα, μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε μια σειρά βιολογικών διαδικασιών, μερικές από τις οποίες είναι αναγκαίες για τη διατήρηση της ζωής, όπως για παράδειγμα η χρήση τους ως χημικού όπλου ενάντια σε εισερχόμενους μικροοργανισμούς ή οι δράσεις τους ως σηματοδοτικών μορίων σε μια σειρά διαδικασιών, όπως η μεταγραφή γονιδίων, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η απόπτωση (Pacher et al., 2007). Συνεπώς, η παραγωγή οξειδωτικών ουσιών αποτελεί σημαντικό στοιχείο της φλεγμονώδους διαδικασίας και των αμυντικών μηχανισμών κατά βακτηρίων, άλλων μικροοργανισμών ή και κατά νεοπλασματικών κυττάρων, ενώ συμβάλλει στη διαδικασία της ανάπλασης των ιστών μετά από βλάβη (Locateli et al., 2003). Η μη θανατηφόρος οξειδωτική έκθεση των κυττάρων οδηγεί επίσης στη γονιδιακή έκφραση πρωτεϊνικών συστημάτων για την αντιμετώπιση του ίδιου του οξειδωτικού stress.

Ένας σημαντικός αριθμός φυσιολογικών δράσεων ελέγχονται από οξειδοαναγωγικές- κυρίως σηματοδοτικές- παθοφυσιολογικές οδούς, επισημαίνοντας την ύπαρξη κάποιου βαθμού οξειδωτικής καταπόνησης και στη «φυσιολογική» κατάσταση. Συγκεκριμένα, αυτές οι οξειδοαναγωγικές διαδικασίες περιλαμβάνουν:

- 1) Την οξειδοαναγωγική ρύθμιση της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου (NO)
- 2) Την οξειδωτική «έκρηξη», η οποία αποτελεί μαζική παραγωγή αντιμικροβιακών και αντινεοπλασματικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου (EPO), σε φλεγμονώδες περιβάλλον, από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και μακροφάγα, διά της φαγοκυτταρικής ισομορφής της NAD(P)H- οξειδάσης.
- 3) Την παραγωγή EPO από NAD(P)H- οξειδάσες σε μη φαγοκυτταρικά κύτταρα (ινοβλάστες, ενδοθηλιακά, αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα, καρδιακά μυϊκά κύτταρα, κύτταρα θυρεοειδικού ιστού κ.α.), μια διαδικασία που παίζει ρόλο στη ρύθμιση της καρδιακής και της ενδοθηλιακής αγγειακής λειτουργίας.
- 4) Την παραγωγή EPO από την 5-λιποξυγενάση (5-LOX) στα λεμφοκύτταρα, η οποία συντελεί στη διαμεσολαβούμενη από 5-LO και CD-28 σηματοδοτική μεταφορά.
- 5) Την παραγωγή EPO από την κυκλοξυγενάση-1 (COX-1)
- 6) Τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και άλλων ρυθμιστικών λειτουργιών μέσω NO (Δράσεις μέσω της ενεργοποίησης της γουανυλ-κυκλάσης από H₂O₂/ NO και μέσω της δράσης του c.GMP, ως 2^{ου} αγγελιοφόρου, με συνεπακόλουθη τροποποίηση δράσης πρωτεϊνικών κινασών ή/και αντλιών).
- 7) Τη δράση των EPO ως αισθητήρων της PaO₂ με συνεπακόλουθες δράσεις στον έλεγχο του αερισμού.
- 8) Την οξειδοαναγωγική ρύθμιση μέσω του μεταγραφικού παράγοντα που διεγείρεται από την υποξία (HIF-1): τροποποίηση μιτοχονδριακών EPO μέσω διέγερσης των καρωτιδικών σωμάτων διεγείρει τον HIF-1, ελέγχοντας την παραγωγή της ερυθροποιητίνης, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα II (IGF-II).
- 9) Τη ρύθμιση της κυτταρικής προσκόλλησης: προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα επάγεται από EPO (κινάση προσκόλλησης: pp125FAK) και η έκφραση μορίων προσκόλλησης διεγείρεται από LPS, TNF, IL-1.

10) Τη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης: οι EPO και η ελάττωση του λόγου GSH/GSSG οδηγεί σε αύξηση της ενεργοποίησης των T- λεμφοκυττάρων, σε αυξημένη παραγωγή IL-2 και σε τροποποίηση της δράσης των μακροφάγων.

11) Οξειδοαναγωγικές αποπτωτικές δράσεις, μέσω διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ απόσυρσης θετικών σημάτων (NGF/ IL-2) και ανάδυσης αρνητικών (ενδοκυττάρια οξειδωτικά/οξειδωμένο DNA). Εμπλέκονται τρεις δυνητικοί μηχανισμοί: i) Μιτοχονδριακός (ενδογενής), ii) Εξωγενής, iii) Μέσω παράγοντα που επάγει την απόπτωση (AIF) (Martin et al., 2007)

Ειδικότερα, σε ό,τι αφορά την ενδοκυττάρια σηματοδότηση οι οξειδοαναγωγικές δράσεις συνοψίζονται ως εξής:

α) Αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες, μοριακοί προσδέτες, οδηγούν στην παραγωγή EPO, οι οποίες, με τη σειρά τους, μέσω μηχανισμών θετικής ανατροφοδότησης, επάγουν την ενδοκυττάρια σηματοδότηση (π.χ. η αύξηση, μέσω EPO της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης και η καταλυτική της ενεργοποίηση συνεισφέρει σε άλλα πρωτεϊνικά στοιχεία ενδοκυττάριας σηματοδότησης)

β) Αύξηση ενδοκυττάριας σημάτων μέσω οξειδωτικής αναστολής πρωτεϊνικών τυροσινικών φωσφατασών.

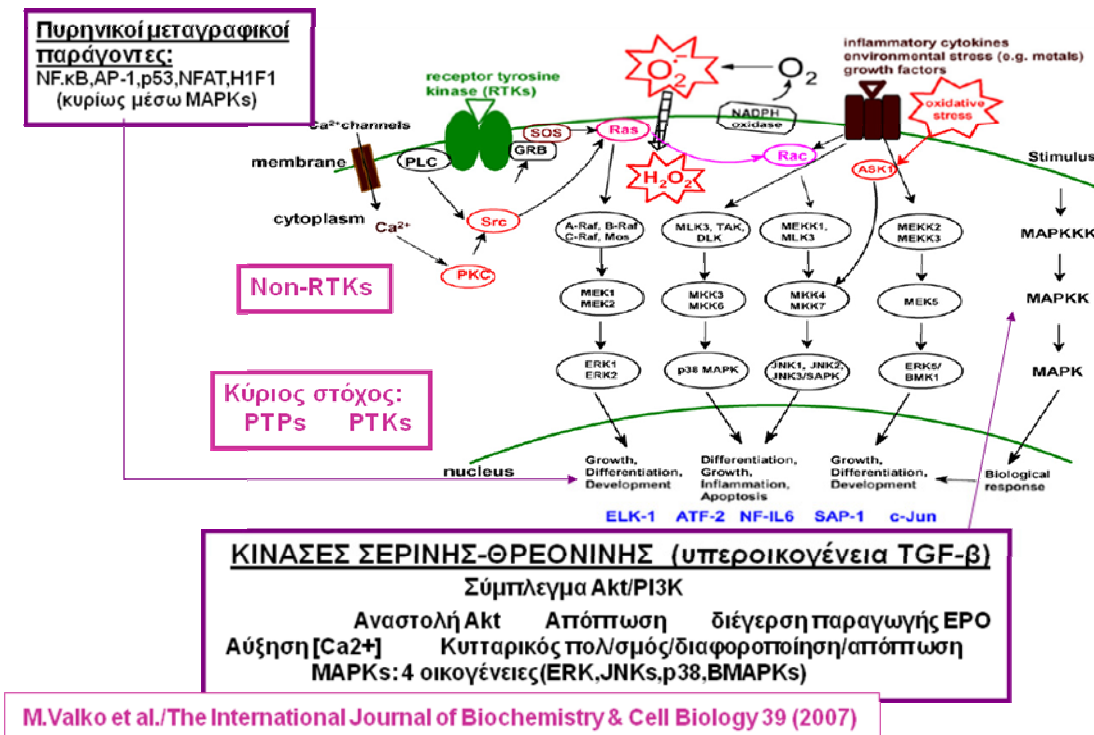
γ) Ρύθμιση στη δραστηριότητα της κινάσης του υποδοχέα της ινσουλίνης.

δ) Ενεργοποίηση κυτταροπλασματικών πρωτεϊνικών κινασών, μέσω EPO.

ε) Οξειδωτική ενεργοποίηση του καταρράκτη της οδού των MAP κινασών και των ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C.

στ) Διαφοροποιήσεις των ενδοκυττάριας συγκεντρώσεων Ca^{2+} .

ζ) Ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων AP-1, NF- κB.



Σχήμα 4. Ο ρόλος των ελευθέρων ριζών στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση (Valko et al., 2007)

1.3 Ο ρόλος των EPO στη γήρανση και στη νόσο

Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται σε μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως η καρδιαγγειακή νόσος, νεοπλασίες, νευροεκφυλιστικά νοσήματα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η HIV- λοίμωξη, το σύνδρομο της αποφρακτικής (υπνικής) άπνοιας, ο σακχαρώδης διαβήτης, η μη αλκοολική στεατοηπατική νόσος, σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, η ΧΝΑ, καθώς και στη «φυσιολογική» διαδικασία της γήρανσης (Dalle-Donne et al., 2006; Jenner 2003; Sayre et al., 2001) και μάλιστα με δυο διακριτές οδούς: Είτε μέσω μιτοχondριακού οξειδωτικού στρες (καρκίνος και σακχαρώδης διαβήτης), είτε μέσω της αύξησης της δραστηριότητας της οξειδάσης της NAD(P)H (αθηροσκλήρωση ή χρόνια φλεγμονή) ή της ξανθινο-οξειδάσης (ισχαιμία- επαναιμάτωση) (Wulf Droge 2002; Wulf Droge 2005; Valko et al., 2007; Young et al., 2001).

Από την άλλη, οι EPO μπορεί να επιδράσουν σε κύτταρα του ίδιου του οργανισμού, κυρίως σε περιοχές φλεγμονής. Κάτι τέτοιο παρατηρείται σε ποικιλία νεφρικών παθήσεων, όπως η σπειραματονεφρίτιδα, η οξεία ή η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και η

διαμεσοσωληναριακή νεφροπάθεια (Klahr 1997). Αναφέρεται επίσης ότι μπορεί να συμμετέχουν στην υπερτροφία των σωληναριακών κυττάρων, καθώς και στην παθογένεση της οξείας σωληναριακής νέκρωσης, ισχαιμικής αιτιολογίας (Dobashi et al., 2000).

Επιπλέον, η μειωμένη δραστηριότητα της SOD, ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού stress, έχει ενοχοποιηθεί για την παραγωγή αυτοαντισωμάτων έναντι των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Iuchi et al., 2007).

Όσον αφορά την επίδραση του οξειδωτικού stress στο καρδιαγγειακό σύστημα, το NO, το οποίο δρα ως αγγειοδιασταλτικός παράγοντας, αδρανοποιείται από το O_2^- , και το προϊόν της αντίδρασης [υπεροξυνιτρίτιο ($ONOO^-$)] ευνοεί τον περαιτέρω σχηματισμό EPO, όπως το OH^- . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου και μεταβολών της κυτταρικής αναδιαμόρφωσης. Οι αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες [LDL και Lp(a) (λιποπρωτεΐνη-α)] εισέρχονται σ' ένα φαύλο κύκλο οξείδωσης και γένεσης EPO υπενδοθηλιακά. Επομένως το οξειδωτικό stress αποτελεί υπόβαθρο της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας και κατ'επέκτασιν της καρδιαγγειακής νόσου και της συστηματικής υπέρτασης (Ichikawa et al., 1994; Nguyen-Khoa et al., 2001). Τελευταία, ερευνάται ο ρόλος του οξειδωτικού stress στην καρκινογένεση, στην αρθροπάθεια από β2-μικροσφαιρίνη και αμυλοειδές, σε νευροεκφυλιστικές νόσους και στη γήρανση (Grune 2004; Descamps-Latscha et al., 2001). Η οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων, μπορεί να συμβάλλει στη μεταλλαξιογένεση και ογκογένεση, οδηγώντας σε προϊόντα όπως η 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανοσίνη (8-OHdG) (Tarnag et al., 2000).

Συνοψίζοντας, μια υπέρμετρη, «απρόσφορη» ή δυσπροσαρμοστική ενεργοποίηση των οξειδωτικών διαδικασιών και η υπερπαραγωγή οξειδωτικών ουσιών κατά τη διάρκεια χρόνιων παθολογικών καταστάσεων, όπως για παράδειγμα η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας που θα μας απασχολήσει στη συνέχεια, μπορεί να οδηγεί σε κυτταρική και ιστική βλάβη (Witko-Sarsat et al., 1996), συντελώντας -σε ένα βαθμό- σε σημαντικές επιπλοκές και -πιθανώς- εμπλέκεται στην επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση, στην αναιμία, στην κακή θρέψη και στην αμυλοείδωση, καταστάσεις που συχνά συνοδεύουν ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (Haugen et al., 1999).

1.4 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και οξειδωτική καταπόνηση- Επιδράσεις στην περιτοναϊκή κάθαρση

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία και μάλιστα παρατηρείται διαρκής αύξηση της συχνότητάς της, ιδιαίτερα την τελευταία 30ετία, ώστε για παράδειγμα, στις ΗΠΑ να προσεγγίζει ποσοστό περίπου 10% του ενήλικου πληθυσμού. Μάλιστα, σχετίζεται με υψηλό επιπολασμό καρδιαγγειακών νοσημάτων, αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα, επιδείνωση της ποιότητας ζωής των ασθενών και, τελικά, δυσβάσταχτο κόστος για τα συστήματα υγείας (Jones et al., 1998; Snyder et al., 2005; Nanayakkara et al., 2010; Sarnak et al., 2003; Xue et al., 2010; Szczech et al., 2004; Coresh et al., 2003).

Η ΧΝΑ κατηγοριοποιείται σε 5 στάδια, ανάλογα με το βαθμό της σπειραματικής διήθησης (GFR) και την παρουσία σημείων νεφρικής βλάβης, ως εξής:

1^ο στάδιο: $GFR > 90 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ και σημεία νεφρικής βλάβης,

2^ο στάδιο: $GFR = 60\text{-}89 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ και σημεία νεφρικής βλάβης,

3^ο στάδιο: $GFR = 30\text{-}59 \text{ ml/min/1.73 m}^2$,

4^ο στάδιο: $GFR = 15\text{-}29 \text{ ml/min/1.73 m}^2$,

5^ο στάδιο: $GFR < 15 \text{ ml/min/1.73 m}^2$.

Τα δεδομένα της μελέτης NHANES III στις ΗΠΑ υποδεικνύουν πως περισσότεροι από 8 εκατομμύρια ενήλικες έχουν ΧΝΑ σταδίων 3–5, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες (K/DOQI), με εκτιμώμενη GFR μικρότερη των $60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ (Levey et al., 2005; Van Holder et al., 2001). Παράλληλα, μεγάλο ποσοστό των χρόνιων νεφροπαθών δε διαγιγνώσκεται σε πρώιμα στάδια της νόσου και, συνακόλουθα, παραμένει χωρίς θεραπεία (Mc Clellan et al., 1997; Kausz et al., 2001; Coresh et al., 2001).

Στο 5^ο στάδιο, ο νεφρός αδυνατεί να διατηρήσει την ομοιόσταση του οργανισμού, οι προκύπτουσες μεταβολικές διαταραχές είναι ασύμβατες με τη ζωή και οι ασθενείς πρέπει να ενταχθούν σε πρόγραμμα υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας, με κάποια μέθοδο κάθαρσης ή να οδηγηθούν σε μεταμόσχευση. Πάντως, εκτός από τη νεφρική

μεταμόσχευση, καμιά μέθοδος θεραπείας της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας δεν έχει κατορθώσει ως τώρα να υποκαταστήσει το φυσιολογικό ομοιοστατικό ρόλο του νεφρού.

Ισοδύναμη της αιμοκάθαρσης (ΑΚ), η περιτοναϊκή κάθαρση (ΠΚ) είναι μια από αυτές τις θεραπείες και, στις αναπτυγμένες χώρες, εφαρμόζεται στο 15% των καθαιρόμενων χρόνιων νεφροπαθών (Gokal et al., 1999). Παρόμοια είναι τα ποσοστά εφαρμογής ΠΚ στις ΗΠΑ, όπου προσεγγίζουν το 16% (Excerpts from United States Data System 1994 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 1994;24: s1-176). Στην Ιαπωνία, στο τέλος του 2003, καθαιρόνταν 237.710 ασθενείς και ποσοστό μόλις 3,8% από αυτούς υποβάλλονταν σε περιτοναϊκή κάθαρση (Patient Registration Committee, Japanese Society for Dialysis Therapy. *An overview of regular dialysis treatment in Japan (as of Dec. 31, 2003)*. Tokyo: Japanese Society for Dialysis Therapy; 2004).

Παρά ταύτα, η μέθοδος αυτή αποτελεί τη θεραπεία εκλογής για άτομα με πλήρως ενεργό τρόπο ζωής, παιδιά και νεαρούς ενήλικες πριν από μεταμόσχευση και για πάσχοντες από καρδιακή ανεπάρκεια ή ασταθή στηθάγχη. Μάλιστα, στις δύο τελευταίες αυτές υποομάδες ασθενών η υπεροχή της περιτοναϊκής κάθαρσης προκύπτει από το γεγονός της αδυναμίας τους να ανεχθούν ταχείες, δραστικές μετακινήσεις υγρών ή μεταβολές της αρτηριακής πίεσης, καταστάσεις που συνοδεύουν την αιμοκάθαρση. Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι ασθενείς υπόκεινται σε αυξημένο οξειδωτικό κίνδυνο, που προκύπτει ως συνέπεια: α) της διαρκούς έκθεσης της περιτοναϊκής κοιλότητας σε διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης, β) της συνυπάρχουσας χρόνιας φλεγμονώδους κατάστασης, γ) της αυξημένης συχνότητας συνύπαρξης σακχαρώδους διαβήτη, δ) της προκεχωρημένης ηλικίας και ε) της απώλειας αντιοξειδωτικών μικρομορίων στην περιτοναϊκή κοιλότητα (όπως για παράδειγμα του ασκορβικού οξέος) και παρά τη διατήρηση συγκρίσιμων ή και υψηλότερων επιπέδων βιταμίνης E στον ορό, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Sundl et al., 2009; Boeschoten et al., 1988; Blumberg et al., 1983; Ozden et al., 2002; Tarnig et al., 2002; Bonnefont-Rousselot et al., 1997).

Η διάρκεια της θεραπείας με περιτοναϊκή κάθαρση είναι σχετικά περιορισμένη εξ' αιτίας προοδευτικής βλάβης της περιτοναϊκής μεμβράνης, από τη μια λόγω χρόνιας ενεργοποίησης των μακροφάγων της περιτοναϊκής κοιλότητας και της χρόνιας -ήπιου βαθμού- φλεγμονής και από την άλλη λόγω παρεμπιπτούσων επεισοδίων βακτηριακής περιτονίτιδας, μιας σημαντικότερης επιπλοκής της μεθόδου (McGregor et al., 1996; Li et

al., 1998; Topley et al., 1998). Μακροχρόνια έκθεση της περιτοναϊκής μεμβράνης στα ίδια τα διαλύματα της κάθαρσης οδηγεί σε προοδευτικές αλλαγές στη διαπερατότητά της και, τελικά, σε απώλεια της υπερδιήθησης (Davies et al., 1996). Ακολουθούν μορφολογικές αλλαγές, όπως βλάβη των μεσοθηλιακών κυττάρων και αποδιοργάνωση του διάμεσου δικτύου του περιτοναίου (Dobbie et al., 1994), ενώ χρόνια έκθεση μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση της φυσιολογικής αμυντικής θωράκισης και αυτή με τη σειρά της σε επιδεκτικότητα για περιτονίτιδα (Liberek et al., 1993). Σε πειραματικά μοντέλα περιτοναϊκής κάθαρσης, οι ελεύθερες ρίζες συντελούν στην απώλεια της υπερδιηθητικής ικανότητας και σε αυξημένη απορρόφηση γλυκόζης από την περιτοναϊκή κοιλότητα ή, ανάστροφα, σε αυξημένη διαφυγή πρωτεϊνών εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας (Brebrowicz et al., 1993).

Οι καθαιρόμενοι -αλλά και ειδικότερα οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι- νεφροπαθείς χαρακτηρίζονται από αυξημένη θνητότητα, όταν συγκρίνονται με το γενικό πληθυσμό, παρά τις προόδους στις εφαρμοζόμενες μεθόδους κάθαρσης (Zoccali et al., 2005), ενώ το επίπεδο της νεφρικής δυσλειτουργίας αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων και για τη συνολική θνητότητα (Shlipak et al., 2001; Mann et al., 2001; Dries et al., 2002; McCullough et al., 2000; Matts et al., 1993; Muntner et al., 2002; Manjunath et al., 2003). Άλλωστε, τη συχνότερη αιτία θνητότητας σε καθαιρόμενους αποτελούν τα καρδιαγγειακά νοσήματα. (USRDS: Excerpts from United State Renal Data System 1999. Annual Data Report. Am J Kidney Dis 1999; 34:S1-176). Συγκεκριμένα, συχνή επιπλοκή της νεφρικής νόσου αποτελεί η επιταχυνόμενη αθηρωματική νόσος. Η ΧΝΑ προάγει υπέρταση και δυσλιπιδαιμία, ενώ, αντίστροφα, η διαβητική νεφροπάθεια είναι η συχνότερη αιτία της ΧΝΑ στις ανεπτυγμένες χώρες. Είναι γνωστό ότι ο σακχαρώδης διαβήτης συνιστά αίτιο αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου, τουλάχιστον ισοδύναμο της ισχαιμικής νόσου του μυοκαρδίου. Σε χρόνια νεφρική νόσο τα επίπεδα κάποιων φλεγμονωδών μεσολαβητών είναι ιδιαίτερα αυξημένα και το σύστημα ρενίνης- αγγειοτενσίνης είναι συχνά ενεργοποιημένο και συνεισφέρει, μέσω και της αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών, σε επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση. Το 2003 η ετήσια θνητότητα των καθαιρόμενων νεφροπαθών υπολογιζόταν σε 9.3%, ενώ τα ποσοστά μονοετούς, πενταετούς, δεκαετούς και δεκαπενταετούς επιβίωσης ήταν αντίστοιχα: 87.3%, 61.4%, 39.2% και 28.7% (Shlipak et al., 2002, Schiffrin et al., 2007; Menon et al., 2005; Foley et al., 1998). Στην Ιαπωνία τις κύριες αιτίες θνητότητας σε καθαιρόμενους

αποτελούν η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (25%), λοιμώξεις (18.5%), η αγγειακή εγκεφαλική νόσος (10.7%), κακοήθειες (8.5%) και εμφράγματα μυοκαρδίου (6.2%).

Ειδικότερα, οι χρόνιοι νεφροπαθείς χαρακτηρίζονται τόσο από αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση όσο και από φλεγμονή (Stenvinkel et al., 1999; Panichi et al., 2001; Diepeveen et al., 2004; Pecoits-Filho et al., 2003; Dounousi et al., 2006) και μάλιστα, κλινικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ του βαθμού του οξειδωτικού στρες (ΟΣ) και αρκετών βιολογικών δεικτών φλεγμονής. Δείκτες αθηροσκλήρυνσης, όπως ο λόγος έσω- μέσου χιτώνα (IMT) της αορτής και η ταχύτητα του παλμικού της κύματος σχετίζονται με δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης, φλεγμονή και ίνωση σε ασθενείς διαφόρων σταδίων ΧΝΑ (Cottone et al., 2008; Drüeke et al., 2002).

Οι ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο εμφανίζουν σημαντικό αριθμό επιπλοκών, οι οποίες, με τη σειρά τους, οδηγούν, όπως ήδη τονίστηκε, σε αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Τελευταία δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην αυξημένη οξειδωτική διαδικασία και τονίζεται ο σημαντικός ρόλος της -πέρα από την ανάπτυξη καρδιαγγειακής ή εγκεφαλικής αγγειακής νόσου- στην επιτάχυνση της γήρανσης και στη γένεση επιπλοκών της νεφρικής νόσου, όπως καταρράκτη, αρθροπάθειας από β2- μικροσφαιρίνη, ελαττωμένη παραμόρφωση του τοιχώματος των ερυθρών και αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία.

Η επίταση της οξειδωτικής καταπόνησης συνοδεύει επίσης τη χρόνια νεφρική νόσο, με τη συμμετοχή της στην περαιτέρω εξέλιξη της νεφρικής δυσλειτουργίας, αλλά και σε μια σειρά συνοδών της καταστάσεων, και τη συνεισφορά της-εν τέλει- στην αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια. Πειραματικά δεδομένα ήδη από το 1997, έδειξαν ότι οι ελεύθερες ρίζες παίζουν πρωτεύοντα ρόλο σε παθοφυσιολογικές οδούς ποικίλων νεφρικών νόσων (Baud et al., 1986; Nath et al., 1990). Αυτές περιλαμβάνουν το ανιόν του υπεροξειδίου, την υδροξυλική ρίζα, το υποχλωρικό οξύ και το υπεροξυνιτρίτιο, που μπορεί να δημιουργηθούν από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και μεσαγγειακά κύτταρα μέσω σειράς μεταβολικών διαδικασιών (Andreoli 1991). Οι EPO είναι πρωτογενείς μεσολαβητές σε σπειραματονεφρίτιδα και ρυθμιστικοί παράγοντες στη σπειραματική διαπερατότητα των πρωτεϊνών, στην ανάπτυξη δομικών αλλοιώσεων αλλά και στην αλλαγή της αιμοδυναμικής του σπειράματος (Baud et al., 1993).

Συμπερασματικά, το οξειδωτικό stress δεν είναι μόνον συνεπακόλουθο, αλλά και παράγοντας που συνεισφέρει στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης. Ο ρόλος του οξειδωτικού και του νιτροσυλιωτικού στρες στην παθογένεση της πειραματικής και συνολικά της νεφρικής βλάβης έχει αποδειχθεί ήδη σε πειραματικά μοντέλα (Coimbra et al., 2000; Gealekman et al., 2004).

1.5 Το οξειδωτικό stress στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

Η νεφρική ανεπάρκεια αποτελεί, όπως ήδη αναφέρθηκε, μια προϊούσα νόσο. Η κατάλληλη διατροφική αγωγή (κυρίως ο περιορισμός της πρόσληψης λευκώματος) και η φαρμακευτική αγωγή (αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, αποκλειστές των AT1 υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II κ.α.) δεν έχουν επιτύχει εντυπωσιακά αποτελέσματα στην επιβράδυνση της εξέλιξής της. Παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης είναι η αρτηριακή υπέρταση, η πλούσια σε λευκώματα διατροφή, η πρωτεϊνουρία, τα υψηλά επίπεδα λιπιδίων στον ορό, και το οξειδωτικό stress (Klahr 1997; Efstratiadis 1998). Ο βαθμός της πρωτεϊνουρίας έχει συσχετιστεί θετικά με το ρυθμό προόδου της νεφρικής νόσου (Agarwal 2003; Walls 2001), ενώ η εστιακή πειραματική υπερδιήθηση και η προοδευτική σκλήρυνση των σπειραμάτων των υπόλοιπων ανέπαφων νεφρών οδηγεί στην περαιτέρω επιδείνωση της νόσου (Klahr 1997).

Το οξειδωτικό stress παίζει πρωτεύοντα ρόλο σε πειραματικές παθήσεις (μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα, IgA νεφροπάθεια, νόσος μετ' ελαχίστων αλλοιώσεων), στην οξεία φαρμακογενή ισχαιμική νεφρική ανεπάρκεια, στην αποφρακτική νεφροπάθεια και την πυελονεφρίτιδα, στις παθοφυσιολογικές μεταβολές μετά από μεταμόσχευση νεφρού, καθώς και στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (González Díez 2003). Οι EPO μπορούν να συμβάλλουν στην πρόοδο της χρόνιας νεφρικής νόσου μέσω πρόκλησης αιμοδυναμικών διαταραχών, οξειών και χρόνιων φλεγμονωδών αντιδράσεων, υπέρμετρων ή παθολογικών αυξητικών δράσεων, και αυξημένης κυτταρικής απόπτωσης (λόγω απώλειας του κυτταρικού φαινοτύπου) (Haugen et al., 1999). Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται να ασκούν πολύτροπες δράσεις: στη πειραματική συσκευή μπορούν, σε περίπτωση παθολογικών καταστάσεων, όπως η σπειραματονεφρίτιδα ή η τοξική βλάβη, να προκαλέσουν κυτταρικό οίδημα, ενδοθηλιακή βλάβη, απώλεια της βασικής μεμβράνης, θρόμβωση, βλάβες του

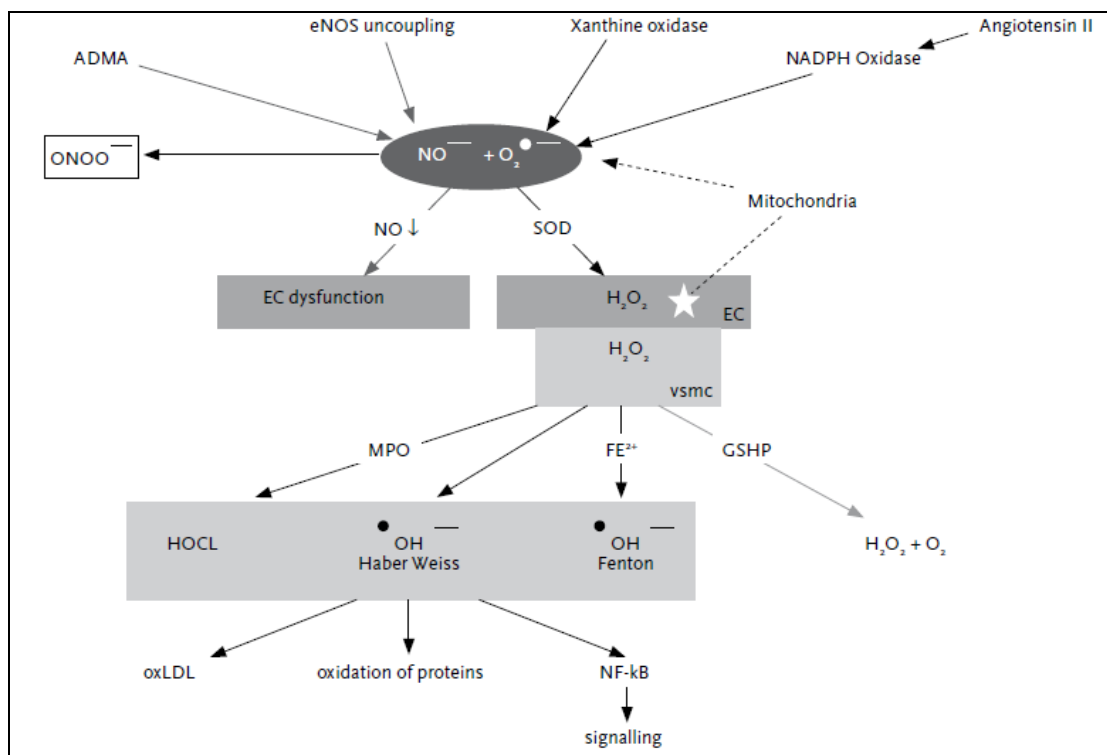
μεσαγγείου (υπερτροφία και ίνωση), καθώς και αυξημένη διαπερατότητα με πρωτεϊνουρία. Στα νεφρικά σωληνάρια μπορεί να οδηγήσουν σε κυτταρικό οίδημα, αποκόλληση από τη βασική μεμβράνη και λύση, αυξημένη διαπερατότητα, μεταβολή του διαμεμβρανικού δυναμικού και επίταση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Τέλος, οι αγγειακές νεφρικές τους δράσεις προκαλούν οίδημα, θρόμβωση και βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της αγγειακής αντιδραστικότητας, την προσκόλληση φλεγμονωδών κυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων (Ichikawa et al., 1994; González Díez 2003; Baud et al., 1993).

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από μια «ανισορροπία» μεταξύ της παραγωγής οξειδωτικών ουσιών και της αντιροπιστικής δράσης των αντιοξειδωτικών συστημάτων. Σ' αυτό συμβάλλουν, από τη μια μεριά, τα ελαττωμένα επίπεδα της βιταμίνης C (λόγω του διαιτητικού περιορισμού φρούτων και λαχανικών υπό το φόβο συνεισφοράς τους σε υπερκαλιαιμία, καθώς και η απώλειά της, κατά τη διαδικασία της εξωνεφρικής κάθαρσης), τα χαμηλά ενδοκυττάρια επίπεδα βιταμίνης E, ιδιαίτερα για τους αιμοκαθαρόμενους, η ελαττωμένη συγκέντρωση σεληνίου, και οι διαταραχές στα αντιοξειδωτικά συστήματα της γλουταθειόνης (Locateli et al., 2003; Galli 2007; Bayés et al., 2006).

Παρόλο που τα επίπεδα των βιταμινών A και E είναι αυξημένα στο πλάσμα ασθενών υπό κάθαρση, ίσως λόγω αυξημένης κινητοποίησης από τις αποθήκες τους μέσω πρωτεϊνών-φορέων, συχνά είναι τα κλινικά σημεία ενδοκυττάριας ένδειάς τους. Η παρουσία συμπλόκων βιταμινών-φορέων είναι σημαντική και αποτελεί δείκτη της διαθεσιμότητας μιας βιταμίνης. Σε μια μελέτη ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των βιταμινών A και E και των φορέων τους (προ-αλβουμίνη και πρωτεΐνη που δεσμεύει τη ρετινόλη για τη βιταμίνη A, και χοληστερόλη/ τριγλυκερίδια για τη βιταμίνη E) και παρατηρήθηκε διαταραχή της σχέσης βιταμίνης/ φορέα, η οποία αποδόθηκε σε αυξημένη κινητοποίηση των βιταμινών (Aguilera et al., 2002).

Η αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση μπορεί να σχετίζεται με την ουραιμία καθαυτή ή/και με την επίδραση των υλικών της εξωσωματικής κυκλοφορίας του αίματος ή των διαλυμάτων της κάθαρσης (Samouilidou et al., 2003; Galli 2002; Ono 1989; Pupim et al., 2004; Asoyama et al., 1990). Σε ουραιμία, οι μηχανισμοί οξειδωτικού stress εμπλέκουν την ενεργοποίηση της οξειδάσης του ανηγμένου NAD [NAD(P)H], την ξανθινοοξειδάση,

την ασύζευκτη ενδοθηλιακή συνθετάση του NO, τη μυελοϋπεροξειδάση και μιτοχονδριακές οξειδάσες. Η NAD(P)H οξειδάση είναι η πιο σημαντική πηγή στο αγγειακό δένδρο και διεγείρεται από την αγγειοτενσίνη II και άλλους παράγοντες (Touyz et al., 2005). Ελεύθερες ρίζες προκύπτουν ακόμη από λευκοκύτταρα που ενεργοποιούνται μετά από επαφή με τη μεμβράνη της κάθαρσης, όπως και από σίδηρο που απελευθερώνεται συνεπεία αιμόλυσης (Eiselt et al 1999).



Σχήμα 5. Γένεση, διαθεσιμότητα και δράσεις EPO στη νεφρική νόσο. (Nanayakkara et al., 2010).

Όπως αναφέρθηκε, το οξειδωτικό στρες αυξάνεται παράλληλα με την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, ενώ η επιλογή της μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό του ενέχει προβλήματα και περιορισμούς (Dounousi et al., 2006). Ειδικότερα, θετική συσχέτιση μεταξύ της λιπιδικής υπεροξειδωσης και του επιπέδου της κρεατινίνης του ορού σε ασθενείς υπό κάθαρση αντικατοπτρίζει τη σύγχρονη σχέση της οξειδωτικής διαδικασίας με την επάρκεια των υπό εφαρμογή μεθόδων (Samouilidou et al., 2003).

Η χρόνια νεφρική νόσος αποτελεί μια προ-οξειδωτική κατάσταση, τόσο λόγω των χαρακτηριστικών των ασθενών που πάσχουν από τη νόσο, αλλά και στα πλαίσια της ουραιμίας καθαρής, η οποία συμμετέχει συν τοις άλλοις στην επιδείνωση της νεφρικής

λειτουργίας και την εξέλιξη της νεφρικής ανεπάρκειας, ενώ έχει συσχετιστεί και με αυξημένη συγκέντρωση φλεγμονογόνων τοξινών- επίταση του οξειδωτικού stress (Galli 2007; Vanholder et al., 2006), όπως αναλυτικά θα αναφερθεί στη συνέχεια. Η σύσταση του ουραιμικού πλάσματος είναι μοναδική, διότι περιέχει πληθώρα μεταβολιτών και τοξινών, τεκμηριωμένων και μη. Η εφαρμογή μεθόδων εξωνεφρικής κάθαρσης σε χρόνιους νεφροπαθείς συντελεί στην περαιτέρω αύξηση της οξειδωτικής καταπόνησης (Locateli et al., 2003; Galli 2007; Nguyen-Khoa et al., 2001).

Συμπερασματικά, η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών συστημάτων παρουσιάζεται ήδη από τα αρχικά στάδια της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας - με επίταση κατά την εξέλιξή της- και γίνεται περισσότερο έντονη και εμφανής σε καθαιρόμενους, και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση. Τα κλινικά συμπτώματα και οι βιοχημικοί δείκτες του οξειδωτικού stress και της φλεγμονής σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια επηρεάζονται από το βαθμό της νεφρικής βλάβης και από το είδος της εφαρμοζόμενης θεραπείας, με την εξής διαβάθμιση από μικρότερου βαθμού προς μεγαλύτερο: *μεταμόσχευση νεφρού < συντηρητική φαρμακευτική θεραπεία < περιτοναϊκή κάθαρση < αιμοκάθαρση*. Μάλιστα, η νεφρική μεταμόσχευση χαρακτηρίζεται από σχεδόν πλήρη διόρθωση των παραπάνω βιοχημικών δεικτών (Galli 2007; Van Biesen et al., 2007).

1.6 Το σύνδρομο δυσθρεψίας, φλεγμονής και αθηρωμάτωσης [malnutrition, inflammation, atherosclerosis (MIA)]

Σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζει η παρουσία ενός συνδρόμου, το οποίο σχετίζει την κακή θρέψη, τη φλεγμονώδη διαδικασία και την παρουσία αθηροσκληρυντικής αγγειακής νόσου. Το σύνδρομο αυτό ονομάστηκε MIA, από τα αρχικά των επιμέρους στοιχείων που το συναπαρτίζουν (Malnutrition-Inflammation- Atherosclerosis syndrome) και προτάθηκε για πρώτη φορά από τον P. Stenvinkel και τους συνεργάτες του (Stenvinkel et al., 1999; Stenvinkel et al., 2000).

Παρατηρείται σε μεγάλο αριθμό ασθενών που υπόκεινται σε εξωνεφρική κάθαρση και σχετίζεται με υψηλό ποσοστό θνητότητας, το οποίο μάλιστα προσεγγίζει αυτό των ασθενών με μεταστατική κακοήθεια (Stenvinkel 2001).

1.6.1 Δυσθρεψία

Η δυσθρεψία (κακή θρέψη) προκαλείται από ανεπαρκή πρωτεϊνική και θερμιδική πρόσληψη, σε αντιδιαστολή με την καχεξία, η οποία χαρακτηρίζεται από διαταραχή στην απορρόφηση και χρήση των θρεπτικών συστατικών, όπως σε καταστάσεις υπερκαταβολισμού και συστηματικής φλεγμονής. Σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου - καθαίρομενους και μη- παρατηρούνται και τα δύο γεγονότα. Αιτίες της κακής θρέψης και φλεγμονής σε χρόνιους νεφροπαθείς είναι: α) η απώλεια της όρεξης, κυρίως λόγω κατακράτησης ουραιμικών τοξινών ή/και της παρουσίας μεταβολικής οξέωσης β) η απώλεια αμινοξέων σε κάθε συνεδρία αιμοκάθαρσης ή περιτοναϊκής κάθαρσης (4-9 gr σε νηστικούς ασθενείς ή 8-12 gr μετά από γεύμα, και 9 gr ολικών λευκωμάτων και 6 gr λευκωματίνης την ημέρα αντίστοιχα -μέχρι 20 gr σε περίπτωση περιτονίτιδας) (Blumenkrantz et al., 1981; Passlick-Deetjen et al., 2001) γ) ενδοκρινικές και μεταβολικές διαταραχές, όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, με αποτέλεσμα την ελάττωση της πρωτεϊνοσύνθεσης και την προαγωγή του καταβολισμού των πρωτεϊνών δ) η πιθανή βιοασυμβατότητα των μεμβρανών που χρησιμοποιούνται στις θεραπείες υποκατάστασης, καθώς και οι επιπτώσεις που σχετίζονται με τα χρησιμοποιούμενα διαλύματα της κάθαρσης (π.χ. μικρόβια, τοξίνες κ.α.) ε) η παρουσία συνοδών λοιμωδών ή άλλων νοσημάτων στ) ιατρογενείς αιτίες, όπως για παράδειγμα η σύσταση για ελαττωμένη πρόσληψη πρωτεϊνών και ζ) η δυνητική συμβολή ψυχολογικών και κοινωνικο-οικονομικών παραγόντων (καταθλιπτική διαταραχή, αναπηρία, ανεργία κ.α.) (Locatelli et al., 2002).

Σε ΧΝΑ τελικού σταδίου, η πρωτεϊνική δυσθρεψία και η υπολευκωματιναιμία συνιστούν ανεξάρτητους προγνωστικούς δείκτες θνητότητας και, μεμονωμένα, η υπολευκωματιναιμία δείκτη αγγειακής θνητότητας (Cooper et al., 2003), ενώ για τους καθαίρομενους νεφροπαθείς θα μπορούσε συμπερασματικά να ειπωθεί ανάλογα πως η υπολευκωματιναιμία αποτελεί ισχυρό προγνωστικό δείκτη πρώιμης θνητότητας (Acchiardo et al., 1983). Κατά την ένταξη σε περιτοναϊκή κάθαρση παρατηρείται δυσθρεψία σε ποσοστό που κυμαίνεται μεταξύ 42-55% των ασθενών (Churchill et al., 1996; Chung et al., 2000; Chung et al., 2003), ενώ υπολευκωματιναιμία ανευρίσκεται γενικά σε μεγαλύτερο βαθμό σε νεφροπαθείς υπό ΠΚ έναντι της αιμοκάθαρσης, λόγω σημαντικότερων πρωτεϊνικών απωλειών αλλά και μικρότερης διαιτητικής πρόσληψης

(Blumenkrantz et al., 1981; Nakamoto et al., 2002). Η περαιτέρω ελάττωση του επιπέδου της λευκωματίνης του ορού μετά την έναρξη της κάθαρσης αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου και σημαντικό ρυθμιστή αγγειακών επιπλοκών σε ΠΚ (Hiroschi et al., 2006), ενώ η δυσθρεψία σχετίστηκε με αυξημένη θνητότητα (2.7 φορές υψηλότερη) και μάλιστα ο σχετικός κίνδυνος αυξανόταν περισσότερο, αν δεν υπήρχε συν-νοσηρότητα (3.3 φορές) (Chung et al., 2003). Βέβαια, παρόμοιος βαθμός δυσθρεψίας αφορά και τους ασθενείς με ΧΝΑ πριν από την έναρξη της κάθαρσης (Stenvinkel et al., 2002; Suliman et al., 2002).

Η ελάττωση της λευκωματίνης του ορού σε ασθενείς υπό ΠΚ αποτελεί το σημαντικότερο προγνωστικό δείκτη αγγειακών επιπλοκών, γεγονός που καταδεικνύει το σημαντικότερο ρόλο της δυσθρεψίας (Hiroschi et al., 2006), παρότι αρνητική σχέση της πτωχής θρεπτικής κατάστασης στο κλινικό αποτέλεσμα ισχύει εξίσου και για την αιμοκάθαρση, ιδιαίτερα σε ότι αφορά την ισχαιμική νόσο του μυοκαρδίου (Leavey et al., 1998; Marckmann 1989; Foley et al., 1994; Wheeler et al., 2003; Wang et al., 2002).

Η δυσθρεψία είναι συχνή σε ουραιμικούς ασθενείς και μπορεί να συνεισφέρει στην επίταση της οξειδωτικής καταπόνησης (Stenvinkel et al., 1999; Danielski et al., 2003).

Αντίστροφα, το οξειδωτικό στρες, όπως αντικατοπτρίζεται και από τα επίπεδα των όσιμων οξειδωτικών προϊόντων των πρωτεϊνών ή των υδατανθράκων (AOPPs/AGEs), συνιστά σημαντικό παράγοντα κινδύνου σε ΠΚ. Η αρνητική συσχέτιση μεταξύ λευκωματίνης από τη μια και AGEs και TBARS από την άλλη, υποδεικνύει ότι η ελάττωση της λευκωματίνης μπορεί να συνεισφέρει στην αυξημένη όσιμη γλυκοσυλίωση και στη λιπιδική υπεροξειδωση (Sahin et al., 2008).

Η λευκωματίνη, ανάλογα με την οξειδοαναγωγική κατάσταση της κυστεΐνης στη θέση 34 από το N- άκρο, διακρίνεται σε οξειδωμένη (αναστρέψιμα ή ισχυρά) και μη. Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς η ολική οξειδωμένη λευκωματίνη αντιστοιχεί σε ποσοστό 35- 55% της ολικής, παρόμοιο ποσοστό με το παρατηρούμενο σε ΧΝΑ 5^{ου} σταδίου, σε σχέση με το χαμηλότερο, περίπου 20- 25% των υγιών μαρτύρων. Δεδομένης της σημαντικής συσχέτισης της ολικής οξειδωμένης μορφής με το επίπεδο της ουρίας και όχι με τον όγκο των ούρων ή το επίπεδο της β2- μικροσφαιρίνης στον ορό, φαίνεται ότι η οξείδωση της λευκωματίνης σε ΠΚ επάγεται από μικρομοριακές παρά από μεσομοριακές τοξίνες (Terawaki et al., 2007). Συμπληρώματα διατροφής δε βελτίωσαν τα επίπεδα της

λευκωματίνης του ορού ή το σωματικό βάρος σε ΠΚ, ενώ ασθενείς υπό ΑΚ οφελήθηκαν σε ό,τι αφορά τα επίπεδα της λευκωματίνης (Roxanne et al., 2008).

1.6.2 Φλεγμονή

Η φλεγμονή αποτελεί μια φυσιολογική απάντηση του οργανισμού απέναντι σε μια σειρά βλαπτικών παραγόντων (εξωγενών και ενδογενών) και χαρακτηρίζεται κυρίως από την αντίδραση οξείας φάσης. Αν η φλεγμονή είναι παρατεταμένη και επίμονη, παρατηρείται χρόνια αντίδραση οξείας φάσης, η οποία οδηγεί σε ανορεξία, υπερκαταβολισμό -ιδιαίτερα πρωτεϊνικό- απώλεια μυϊκής μάζας και λιπώδους ιστού, ενδοθηλιακή βλάβη και αθηροσκλήρωση (Suffredini et al., 1999).

Έχει πλέον αποδειχθεί ότι ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια έχουν μεγαλύτερη επίπτωση φλεγμονής οξείας φάσης και οξειδωτικού stress, με αποτέλεσμα αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα (Stenvinkel et al., 1999; Stenvinkel 2001).

Πιο συγκεκριμένα, ενεργός φλεγμονώδης αντίδραση παρατηρείται στο 30-50% περίπου των χρόνιων νεφροπαθών, είτε αυτοί καθαίρονται, είτε όχι. Τα αίτια της αντίδρασης αυτής είναι πολλαπλά. Καταρχήν, οι παραπάνω ασθενείς μπορεί να παρουσιάζουν επίμονες λοιμώξεις, είτε λόγω της δυσλειτουργίας του ανοσιακού τους συστήματος είτε λόγω επιμόλυνσης από τα χρησιμοποιούμενα υλικά των ίδιων των μεθόδων υποκατάστασης. Επιπλέον, η ελαττωμένη νεφρική κάθαρση φλεγμονογόνων κυτοκινών, η άθροιση οξειδωτικών ουσιών και προϊόντων ενδογενούς οξείδωσης, καθώς και συνυπάρχουσες καταστάσεις (π.χ. η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια), συμβάλλουν στη διατήρηση μιας ενεργού φλεγμονώδους κατάστασης. Τέλος, συνδράμουν και παράγοντες που σχετίζονται με την ίδια τη θεραπεία υποκατάστασης (Stenvinkel 2002).

Πίνακας 1. Οι κύριες αιτίες φλεγμονής σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου.

Τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια	Αιμοκάθαρση (επιπλέον αίτια)	Περιτοναϊκή κάθαρση (επιπλέον αίτια)
Ελαττωμένη νεφρική κάθαρση κυτοκινών	Φλεγμονή της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης	Περιτονίτιδα
Αθροισή AGEs	Βιοασυμβατότητα της μεμβράνης αιμοκάθαρσης	Βιοασυμβατότητα του διαλύματος κάθαρσης
Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια		
Αθηροσκλήρωση	Έκθεση σε ενδοτοξίνες και παραγωγή κυτοκινών λόγω μολυσμένου διαλυτικού μέσου	
Φλεγμονώδεις νόσοι		
Άγνωστης αιτίας εμμένουσες λοιμώξεις		

Δείκτες φλεγμονής στη νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου αποτελούν η CRP (ή η hsCRP), τα AGEs, η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) (Bayés et al., 2006; Stenvinkel 2002; Malindretos et al., 2007), ενώ πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν νεότερους δείκτες, όπως η IL-8 (Aydin et al., 2007). Τα επίπεδα ορού της CRP, που αποτελεί κύρια πρωτεΐνη οξείας φάσης, σχετίζονται θετικά με τα καρδιαγγειακά επεισόδια σε ασθενείς με σταθερή ή ασταθή στηθάγχη. Επιπλέον, τα αρχικά επίπεδά της σε υγιείς ενήλικες μπορούν να προβλέψουν το μελλοντικό κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου και περιφερικής αγγειακής νόσου (Blackburn et al., 2001; Ridker et al., 2000).

Η CRP σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια έχει αναδειχθεί ως προγνωστικός παράγοντας καρδιαγγειακής θνησιμότητας, αλλά και συνολικής θνητότητας και μπορεί να ανευρεθεί πέντε έως δέκα φορές πιο αυξημένη, σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό (Bayés et al., 2006; Owen et al., 1998; Pearson et al. 2003). Σε XNA και ειδικότερα σε νεφροπαθείς υπό ΠΚ, έχουν βρεθεί τρία γονίδια (*MIF*, *IL8RB* and *CXCL12*), το καθένα από τα οποία σχετίζεται ανεξάρτητα με τη φλεγμονή, όπως φαίνεται από τη συσχέτισή τους με τα επίπεδα της CRP, υποδεικνύοντας τη σύνδεσή της φλεγμονώδους διαδικασίας με ειδικούς γονιδιακούς τύπους. Ειδικότερα η *MIF*, που εμφανίζει υψηλή έκφραση σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς, κωδικοποιεί μια πρώιμη απάντηση κυτοκινών που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε μια σειρά φλεγμονωδών αποκρίσεων (Zaza et al., 2008). Όσον αφορά τα AGEs, μπορούν να ξεκινήσουν τη φλεγμονώδη απάντηση και να προκαλέσουν διέγερση των μονοκυττάρων, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή CRP (Schwedler et al., 2001). Η IL-6 συντονίζει την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης και

θεωρείται προγνωστικός δείκτης νεφρικής νόσου. Ο TNF-α επίσης παρεμβαίνει στο συντονισμό παραγωγής πρωτεϊνών οξείας φάσης και θεωρείται σημαντικός δείκτης φλεγμονώδους νόσου στους αιμοκαθαιρόμενους νεφροπαθείς (Suffredini et al., 1999). Σε μια μελέτη, η IL-6 αποδείχθηκε ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης καρδιαγγειακής θνητότητας από την CRP (Panichi et al., 2004).

1.6.3 Αθηροσκληροσληρυντική καρδιαγγειακή νόσος

Όπως ήδη αναφέρθηκε, σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου η αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας (Coresh et al., 2003; Brown et al., 1994), με εκτιμώμενο σχετικό κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβαμάτων 3,5- 50 φορές υψηλότερο, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (Levey et al., 1998; Brunner et al., 1992). Οι χρόνιοι νεφροπαθείς παρουσιάζουν ακόμη δυσμενέστερες καρδιαγγειακές κλινικές επιπτώσεις και παρουσιάζουν επιταχυνόμενη επέκταση των εμφράκτων, σε συνδυασμό με αυξημένη φλεγμονή και οξειδωτικό stress (Foley et al., 1998).

Σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών η καρδιαγγειακή θνητότητα είναι υψηλότερη (Held et al., 1992). Παρότι τα ποσοστά της έναντι της ολικής θνητότητας δε διέφεραν στις διάφορες ηλικιακές ομάδες, για τους ηλικιωμένους νεφροπαθείς αποτελούσαν ποσοστό περίπου 45% της συνολικής θνητότητας, ενώ για εκείνους, ηλικίας μεταξύ 20-44 ετών, περιοριζόνταν σε 40%. Η επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση σε ΧΝΑ οφείλεται σε συνεργική δράση κλασικών και μη παραγόντων κινδύνου. Στους πρώτους συγκαταλέγονται η αυξημένη ηλικία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η αριστερή κοιλιακή υπερτροφία, ο αυξημένος όγκος παλμού, η μειωμένη σωματική άσκηση, το κάπνισμα, αυξημένα επίπεδα Lp(a) και ομοκυστεΐνης, ενώ οι μη κλασικοί περιλαμβάνουν το μεταβολικό σύνδρομο, την αναιμία, τη φλεγμονή, την επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας και την τροποποίηση του μεταβολισμού του ασβεστίου και του φωσφόρου (Menon et al., 2005). Μάλιστα, αυτοί οι παράγοντες είναι παρόντες σε πρώιμα στάδια της νεφρικής νόσου (Foley et al., 1998), με επίτασή τους ήδη από το 3ο στάδιο, όταν η εκτιμώμενη GFR είναι μικρότερη των 60 mL/min/1.73 m², όπως προαναφέρθηκε (Fortes et al., 2007).

Οι χρόνια νεφροπαθείς παρουσιάζουν συχνά αύξηση φλεγμονωδών διαβιβαστών και ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης (η οποία συνεισφέρει σε επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση, μέσω και αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου). Επιπλέον, οι ασθενείς που υποβάλλονται σε χρόνια περιτοναϊκή κάθαρση παρουσιάζουν συχνά υπερφόρτωση υγρών στον εξωκυττάριο χώρο και υπερτροφία της αριστερής κοιλίας σαν επιπλοκή της μεθόδου, σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι οι αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς. Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας, ενώ η παρουσία συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας προβλέπει επίσης τη θνητότητα σε ασθενείς υπό κάθαρση (Wang 2007; Ates et al., 2001; Harnett et al., 1995; Zoccali et al., 2004).

Η ελάττωση της λευκωματίνης του ορού σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση ήταν ο σημαντικότερος προγνωστικός δείκτης αγγειακών (καρδιαγγειακών και εγκεφαλικών) επιπλοκών (Arima et al., 2006).

Διατυπώνεται η άποψη ότι η αύξηση των τελικών προϊόντων οξειδωτικού και καρβονυλικού stress (AOPP, AGEs), των αυτοαντισωμάτων έναντι τροποποιημένων βιολογικών δομών και οι πρωτεΐνες οξειδίας φάσης συμμετέχουν επίσης στην ανάπτυξη επιταχυνόμενης αθηροσκλήρωσης. Παρόλο που οι παραπάνω παθογενετικοί μηχανισμοί θεωρείται ότι δρουν συνεργικά, το οξειδωτικό stress φαίνεται ότι σχετίζεται στενότερα με τη φλεγμονή και την αντίδραση οξειδίας φάσης σε σχέση με την προκεχωρημένη γλυκοτελική οξείδωση και τα προϊόντα της. Επομένως, τα AOPPs φαίνεται ότι περιγράφουν καλύτερα την οξεία φάση οξειδωτικού stress, ενώ τα AGEs ίσως αποτελούν καλύτερο δείκτη χρόνιας βλάβης (Miyata et al., 1999).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η CRP αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη αθηροσκλήρωσης των στεφανιαίων αρτηριών και σχετίζεται με τον αριθμό των αθηροσκληρωτικών πλακών στις καρωτίδες των ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου (Stenvinkel et al., 1999; Zimmermann et al., 1999; Zoccali et al., 2000). Το Αμερικάνικο Κολλέγιο Παθολόγων (CAP) θεωρεί τιμές άνω των 3 mg/l ως επικίνδυνες για την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου (Locatelli et al., 2002). Το παραπάνω όριο έχει περιορισμένη εφαρμογή στην κατηγορία των αιμοκαθαιρόμενων ασθενών, εξαιτίας των -ούτως ή άλλως- υψηλότερων επιπέδων CRP που παρουσιάζουν. Μια πρόσφατη μελέτη προτείνει ως προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακής νόσου σε

αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς τα επίπεδα CRP άνω των 10 mg/l. Τονίζεται όμως, ότι η συγκέντρωση της CRP του ορού δεν αποτελεί καλό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου, πιθανότερα λόγω της θετικής συσχέτισης μεταξύ CRP και ηλικίας (οι ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια είναι συνήθως ηλικιωμένοι). Σημειώνεται ακόμα, ότι δεν είναι δόκιμη η χρησιμοποίηση της CRP ως μακροπρόθεσμου δείκτη φλεγμονής και ελέγχου του καρδιαγγειακού κινδύνου σε αιμοκαθαιρόμενους -μια ενδιαφέρουσα άποψη που χρειάζεται περαιτέρω πειραματική επιβεβαίωση. Στην ίδια μελέτη αποδεικνύεται ότι το χρόνια οξειδωτικό stress, εκφραζόμενο με τον τίτλο των αντισωμάτων έναντι της οξειδωμένης LDL (anti-ox-LDL) -σε αντίθεση με τη χρόνια φλεγμονή- αποτελεί τον κύριο παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής θνησιμότητας στον πληθυσμό των ηλικιωμένων ασθενών υπό αιμοκάθαρση, μετά από μια περίοδο παρακολούθησης τεσσάρων ετών (Bayés et al., 2006).

Το οξειδωτικό stress ασκεί προ-αθηρογενετική δράση, μέσω της αλληλεπίδρασης με το NO (διαταραχή αγγειοδιασταλτικής ικανότητας) και της οξείδωσης των LDL και Lp(a) (βλάβη αγγειακού τοιχώματος και πυροδότηση διαδικασίας αθηροσκλήρωσης). Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε περιτοναϊκή κάθαρση έχουν υψηλότερα επίπεδα ηλεκτραρνητικής LDL σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, τα οποία όμως είναι χαμηλότερα από τα ανευρισκόμενα σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς. Ως ηλεκτροαρνητική LDL χαρακτηρίζεται η ελάχιστη οξειδωμένη -λόγω οξειδωτικής μετατροπής- LDL, η οποία, σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια, μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο δείκτη οξειδωτικού stress και καρδιαγγειακού κινδύνου (Annuk et al., 2001). Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια μπορεί να προκαλέσει διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειοδιασταλτικής ικανότητας και με άλλους μηχανισμούς πέραν του οξειδωτικού stress, και έχει αποδειχθεί η ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ της αγγειοδιασταλτικής ικανότητας που εξαρτάται από το ενδοθήλιο και των επιπέδων κρεατινίνης ορού (Lobo et al., 2008; Guldener et al., 1998; Annuk et al., 2001).

Η επιταχυνόμενη αθηρωμάτωση σχετίζεται με αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του VEGF (Lemström et al., 2000; Vaziri et al., 2003; Zwolinska 1998; Deicher et al., 2003; Dursun et al., 2002; Zwolinska et al., 2004; Massy et al., 2002; Ece et al., 2006; Usberti et al., 2002). Ειδικότερα, οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς χαρακτηρίζονται από καταστάσεις

που αυξάνουν (επιδείνωση λιπιδαιμικής εικόνας, υπερινσουλιναιμία και σχηματισμός προκεχωρημένων τελικών προϊόντων γλυκοσυλίωσης) και άλλες που ελαττώνουν (καλύτερη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και έλεγχος της αναιμίας) τον καρδιαγγειακό κίνδυνο (García-López et al., 2007).

Τέλος, σε μία μελέτη 130.000 ηλικιωμένων άτομων με ΧΝΑ, φάνηκε ότι η παρατηρούμενη αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων μπορεί εν μέρει να σχετίζεται και με το γεγονός ότι δε λαμβάνονταν η ενδεδειγμένη καρδιοπροστατευτική θεραπεία (Shlipak et al., 2002; Schiffrin et al., 2007).

1.7 Οξειδωτική καταπόνηση και περιτοναϊκή κάθαρση

Η περιτοναϊκή κάθαρση χαρακτηρίζεται ως «λιγότερο επεμβατική» μέθοδος σε σχέση με την αιμοκάθαρση. Κι αυτό, γιατί η διαδικασία συντελείται στην περιτοναϊκή κοιλότητα του ασθενούς, μέσω των αγγείων της περιτοναϊκής μεμβράνης, με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται η ιδιαίτερα αυξημένη φλεγμονή και η επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας, καταστάσεις που χαρακτηρίζουν την εξωσωματική κυκλοφορία. Οι ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου υπό κάθαρση, εκτός από τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικών ουσιών, εμφανίζουν και αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα, σε μια προσπάθεια διατήρησης της ισορροπίας (Samouilidou et al., 2003) και μάλιστα διατηρούν αυτήν την αύξηση των δεικτών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, ακόμα και μετά από κάθε συνεδρία κάθαρσης (Rysz et al., 2010).

Παρά ταύτα, όπως τονίστηκε ήδη στην ενότητα της ΧΝΑ, σε ασθενείς υπό κάθαρση, η όποια επίταση της οξειδωτικής καταπόνησης και της φλεγμονής σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου (Himmelfarb et al., 2006).

Η διατήρηση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας στη νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου είναι ιδιαίτερα σημαντική, επειδή συμβάλλει στην επάρκεια της ίδιας της εξωνεφρικής κάθαρσης, αλλά και επειδή επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών, τη διατροφική τους κατάσταση και τη θνητότητα (Bregorowicz et al., 2006). Ιδιαίτερα ευεργετικός είναι ο ρόλος της στην αποτροπή ή καθυστέρηση της ανάπτυξης της αθηρωματικής διαδικασίας, γεγονός που τεκμηριώνεται από την ανάστροφη συσχέτισή της με δείκτες αγγειακού κινδύνου, όπως για παράδειγμα με τα επίπεδα του κυκλοφορούντος

διαλυτού αγγειακού μορίου προσκόλλησης-1 (VCAM-1) (Wang et al., 2005; Pecoits-Filho et al., 2002; Rao et al., 2005; Tripepi et al., 2005).

Υπ' αυτή την έννοια, ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση έχουν μικρότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο, καθώς εμφανίζουν μικρότερη απώλεια της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους. Σύμφωνα με μελέτη του LM Moist και των συνεργατών του, οι ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με περιτοναϊκή κάθαρση είχαν 65% μικρότερο κίνδυνο απώλειας της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας, σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους (Moist et al., 2000).

Σ' αυτήν οι σημαντικότεροι προγνωστικοί παράγοντες απώλειας της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας περιλαμβάνουν: α) τη διάρκεια της κάθαρσης, η οποία σχετίζεται επίσης με το βαθμό της οξειδωτικής καταπόνησης αλλά και τα επίπεδα των προαθηρογόνων κλασμάτων των κυτοκινών (Pawlak et al., 2007) β) τη χαμηλή εκτιμώμενη τιμή GFR κατά την έναρξη της θεραπείας γ) το γυναικείο φύλο, σε αντίθεση με την πλειοψηφία άλλων μελετών (Coggins et al., 1998; Kang et al., 2004), ίσως λόγω μεθοδολογικών διαφοροποιήσεων) δ) τη μη λευκή φυλή ε) την παρουσία σακχαρώδους διαβήτη και στ) το ιστορικό συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας. Από την άλλη, τα υψηλά επίπεδα ασβεστίου στον ορό και η χρήση αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης και αποκλειστών διαύλων ασβεστίου σχετίζονταν με καλύτερη διατήρηση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας. Τέλος, σημειώνεται ότι στους ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση ο σχετικός κίνδυνος θνητότητας είναι μικρότερος στα πρώτα έτη θεραπείας, σε σύγκριση με τους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς, ενώ αυξάνει με την πάροδο των ετών θεραπείας, και επομένως με την πρόοδο της απώλειας της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας. Μάλιστα, η επιβίωση σχετίζεται στατιστικά πιο σημαντικά με την υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία παρά με την επάρκεια της περιτοναϊκής κάθαρσης (Diaz-Buxo et al., 1999) και μάλιστα για κάθε 0,5 ml/min μεγαλύτερο GFR ο κίνδυνος θανάτου ελαττώνεται κατά 9% (Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group, 1996). Η υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία (Residual renal function: RRF) σε ΠΚ σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση, επειδή οδηγεί σε μικρότερη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης, ενώ σχετίζεται και με μικρότερο βαθμό υπερτροφίας της αριστερής κοιλίας (Chung et al., 2003). Παράλληλα, οι ασθενείς με RRF εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικού stress, αφού ένα μέρος των οξειδωτικών προϊόντων καθαίρονται μόνον από το νεφρό και όχι

μέσω περιτοναϊκής κάθαρσης (Ignace et al., 2009; Bargman et al., 2001; Wang et al., 2005; Chung et al., 2003). Τα επίπεδα της πεντοσιδίνης και των προκεχωρημένων προϊόντων γλυκοσυλίσωσης των πρωτεϊνών βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση και υπολειπόμενη διούρηση μικρότερη από 300 ml ανά ημέρα, ενώ, υπολειπόμενη διούρηση μεγαλύτερη ή ίση με 300 ml ημερησίως εμφανίζει σημαντική δράση στην ελάττωση του οξειδωτικού και του καρβονυλικού stress (Furuya et al., 2009).

Συνολικά, οι ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση (ΠΚ) έχουν υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού stress σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, όπως φαίνεται από τον προσδιορισμό διαφόρων δεικτών, όπως για παράδειγμα των επιπέδων των θειοβαρβιτουρικών και της ελεύθερης θειόλης. Τα αυξημένα αυτά επίπεδα σχετίζονται με τον αριθμό των αντιγράφων του mtDNA στα περιφερικά λευκοκύτταρα (Chen et al., 2008).

Μελέτες έδειξαν ότι η περιτοναϊκή κάθαρση σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικού stress και φλεγμονωδών δεικτών έναντι των αιμοκαθαιρόμενων, όπως αναλύθηκε στο γενικό μέρος (Van Biesen et al., 2007). Ειδικότερα, τα επίπεδα του οξειδωτικού stress, όπως προσδιορίζονται από τη μέτρηση των 8-ισοπροστανοειδών, ενός ιδιαίτερα αξιόπιστου δείκτη για ασθενείς με XNA, εμφανίζονται υψηλότερα κατά 30% σε αιμοκαθαιρόμενους σε σχέση με τους ασθενείς υπό ΠΚ και αυτό αντικατοπτρίζει παράλληλα αυξημένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Συγκεκριμένα, σε *in vitro* μελέτες, οι αρτηρίες των ασθενών υπό ΑΚ, έδειξαν μεγαλύτερη ελάττωση της συσταλτικότητας και της ενδοθηλιοεξαρτώμενης διαστολής τους, σε σχέση με περιτοναϊκά καθαιρόμενους, αλλά και έναντι νεφροπαθών που δεν καθάιρονταν (Chung et al., 2010). Άλλες μελέτες έδειξαν παρόμοιο βαθμό φλεγμονής και περαιτέρω κινητοποίησης της οξειδωτικής διαδικασίας σε ΑΚ και ΠΚ, σε σχέση με μη καθαιρόμενους νεφροπαθείς. Παράγοντες όπως το ουρικό, η παραθορμόνη, η β 2-μικροσφαιρίνη και η λιπιδαιμική εικόνα, σχετίζονται με την επίταση της οξειδωτικής καταπόνησης σε σχέση με μάρτυρες, όπως φαίνεται από τα επίπεδα της TAC και της SOD (Filiopoulos et al., 2009). Ειδικότερα, οι ηλικιωμένοι καθαιρόμενοι περιτοναϊκά χαρακτηρίζονται από ελάττωση τόσο των επιπέδων του σεληνίου του πλάσματος, όσο και της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης των ερυθροκυττάρων και των αιμοπεταλίων. Τα επίπεδα των θειοβαρβιτουρικών (TBARS) του πλάσματος υπολογίζονται σημαντικά υψηλότερα, ενώ η υπεροξειδική δισμουτάση των ερυθροκυττάρων εμφανίζεται χαμηλότερη έναντι των υγιών μαρτύρων. Ο Daschner και οι συνεργάτες του θεωρούν ότι δεν παρατηρείται γενικευμένη

αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε παιδιά υπό CAPD. Από την άλλη, σε ηλικιωμένους νεφροπαθείς υπό ΠΚ η μέθοδος αυτή καθαυτή δε φαίνεται να αυξάνει περαιτέρω τη λιπιδική υπεροξειδωση, σε σχέση με μόνη την πάροδο της ηλικίας, όπως εκτιμάται με τον προσδιορισμό των TBARS (Bonnefont-Rousselot et al., 1997).

Οι ουραιμικοί ασθενείς βρίσκονται σε κατάσταση αυξημένης φλεγμονής, οξειδωτικού και καρβονυλικού στρες και μάλιστα τα δύο πρώτα είναι κύριοι καθοριστές του τρίτου (Li et al., 2006). Η φλεγμονώδης διαδικασία και τα επίπεδα των φλεγμονογόνων κυτοκινών, κατ' αναλογία με την οξειδωτική καταπόνηση, είναι χαμηλότερα σε ασθενείς υπό ΠΚ έναντι ΑΚ (Ando et al., 2005). Αυτή η χαμηλότερη ενεργοποίηση σχετίζεται με την απουσία επαφής του αίματος με βιοασύμβατα μέσα, μολονότι η βιοασυμβατότητα των ίδιων των διαλυμάτων της ΠΚ και τα συχνά επεισόδια περιτονίτιδας παριστούν σημαντικές αιτίες επίτασης της χρόνιας φλεγμονής, σε μικρότερο βέβαια επίπεδο, έναντι της εξωσωματικής κυκλοφορίας των αιμοκαθαιρόμενων. Σε χρόνιους νεφροπαθείς υπό ΑΚ και ΠΚ, ο σημαντικός ρόλος της φλεγμονής φαίνεται από το γεγονός ότι τα επίπεδα της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης μπορούν να προβλέπουν αξιόπιστα την ΚΑ θνητότητα (Zimmermann et al., 1999), ενώ, σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου, τα επίπεδα της IL-6 είναι ο καλύτερος δείκτης στην πρόγνωση της καρδιαγγειακής έκβασης (Panichi et al., 2004), όπως τονίστηκε ήδη στο γενικό μέρος.

Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν τη στενή σύνδεση της χρόνιας φλεγμονής με το αυξημένο οξειδωτικό stress (ΟΣ). Ούτως ή άλλως σε ΧΝΑ υπό κάθαρση υπάρχει ανισορροπία μεταξύ προ- και αντιοξειδωτικών δράσεων, που οδηγούν σε αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση, δυσρύθμιση του ανοσιακού συστήματος και ενεργοποίηση ενδοκυττάρων οδών που οδηγούν σε κλινικές επιπλοκές (Becker et al., 1997; Canaud et al., 1999). Ιδιαίτερα σε ΠΚ παρατηρείται ελάττωση αντιοξειδωτικών μηχανισμών και μάλιστα του συστήματος της γλουταθειόνης και των βιταμινών C & E (Tarnagel et al., 2002).

Το ΟΣ σε ασθενείς υπό κάθαρση, επιδεινούμενο μάλιστα κατά τη διάρκειά της (Pawlak et al., 2007), συντελεί σε σοβαρές επιπλοκές, όπως η επιταχυνόμενη αθηρωματική διαδικασία, η αμυλοείδωση, η αιμόλυση και η ανάπτυξη χρόνιας φλεγμονής (Descamps-Latscha et al., 2001). Για την πρώτη και σημαντικότερη δράση στο ενδοθήλιο και συνολικά για τους ασθενείς με ΧΝΑ, η σχέση προκύπτει από τη μελέτη διαφόρων

δεικτών, όπως του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, του οποίου τα επίπεδα παρακολουθούν την πρόοδο της οξειδωτικής διαδικασίας (Pawlak et al., 2008).

Παρά τα χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους, οι ασθενείς υπό ΠΚ υπόκεινται σε αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης, πιθανώς λόγω και της αυξημένης συχνότητας συνύπαρξης μεταβολικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (Malyszko et al 2001; Ozdemir et al., 2001). Στους τελευταίους, και ειδικά στην υποομάδα των διαβητικών, σημαντική είναι επίσης η σχέση της αυξημένης οξειδωτικής διαδικασίας και των αυξημένων επιπέδων του ιστικού παράγοντα και του αναστολέα του. Η αυξημένη ινωδολυτική ικανότητα, η οποία διαμεσολαμβάνεται από την οξειδωτική καταπόνηση, μπορεί να είναι τμήμα της εξισορρόπησης της ενεργοποίησης της πηκτικής διαδικασίας (Pawlak et al., 2006; Pawlak et al., 2007). Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς, με ή χωρίς σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ), έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα TF, TFPI, Cu/Zn SOD και μαλονυλοδιαλδεΐδης. Η ουραιμία και η συνοδός παρουσία σακχαρώδους διαβήτη αυξάνουν την οξειδωτική καταπόνηση και προκαλούν ενδοθηλιακή βλάβη, με συνεπακόλουθη απελευθέρωση TFPI. Όταν αναλύθηκαν ξεχωριστά, η σχέση μεταξύ TF και των δεικτών του οξειδωτικού stress παρέμενε σημαντική μόνο στην ομάδα των διαβητικών. Τα επίπεδα TFPI σχετίζονταν άμεσα με τους δείκτες του οξειδωτικού στρες σε διαβητικούς και μη ασθενείς, όπως επίσης και με τα επίπεδα σιδήρου, και αυτό υποδεικνύει μεγαλύτερη συνεισφορά της ουραιμίας καθαρής έναντι τυχόν συνυπαρχουσών μεταβολικών διαταραχών (Zemanova et al., 2003; Malgorzewicz et al., 2004; Pawlaka et al., 2007).

Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ), παρότι στις μέρες μας ολοένα και περισσότερο αμφισβητείται ως αυτοτελής οντότητα, θεωρείται ανεξάρτητος παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου, ανεξάρτητα από τις επιμέρους συνιστώσες του, και η επίπτωσή του είναι αυξημένη στη σοβαρή νεφρική νόσο. Σε σχέση με τα επίπεδα του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης, για $GFR > 90$ mL/min, το ποσοστό ασθενών με μεταβολικό σύνδρομο υπολογίζεται περίπου σε 18%, για GFR μεταξύ 45-89 mL/min σε 21% και για $GFR < 45$ mL/min σε 33% (Beddhu et al., 2005). Ο συνολικός επιπολασμός του ΜΣ σε ΧΝΑ σταδίων 4-5 υπολογίζεται σε 30.5%, ποσοστό μεγαλύτερο από το 20%, που παρατηρείται στο γενικό πληθυσμό, αλλά μικρότερο για παράδειγμα του 55% των μεταμοσχευθέντων νεφροπαθών. Μάλιστα, σε μεγαλύτερο βαθμό αφορά ασθενείς τρίτης ηλικίας, συχνότερα υπό ΠΚ, όπου προσεγγίζει έως και το 50% (με συχνότερη διαταραχή,

την αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης νηστείας) ή σε αιμοκάθαρση μακράς διάρκειας. Μόνοους προγνωστικούς του παράγοντες αποτελούν οι υψηλότερες συγκεντρώσεις MDA και τα χαμηλά επίπεδα της λιπονεκτίνης. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υπερινσουλιναμία σχετίζονται με ελαττωμένη παραγωγή NO και αυξημένο οξειδωτικό στρες (Sarafidis et al., 2006; Johnson et al., 2007). Παρά ταύτα η σοβαρότητα της χρόνιας φλεγμονής και της οξειδωτικής καταπόνησης (όπως φαίνεται από τον προσδιορισμό των καρβονυλικών ενώσεων), σε νεφροπαθείς υπό ΠΚ, δε σχετίζονται με το δείκτη μάζας σώματος (BMI) (Małgorzewicz et al., 2010).

Όπως αναφέρθηκε και στο γενικό μέρος, τα ελαττωμένα επίπεδα των βιταμινών A, E και C και η ελάττωση της δραστηριότητας της GSH των ερυθροκυττάρων φαίνεται πως συνεισφέρουν σε μεγάλο βαθμό στην αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση των ΠΚ νεφροπαθών (Zwolinska et al., 2009). Παρά ταύτα η ουραιμία καθαυτή φαίνεται να παραμένει ο σημαντικότερος καθοριστής της (Ruiz et al., 2003).

Στους ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση το αυξημένο οξειδωτικό στρες προκαλείται σε ένα βαθμό από την υψηλή περιεκτικότητα γλυκόζης, ως κύριου ωσμωτικού παράγοντα στα χρησιμοποιούμενα διαλύματα και από παράγοντες, όπως η μη ενζυματική γλυκοσυλίωση πρωτεϊνών και η αυτο-οξείδωση μονοσακχαριτών, που οδηγούν στη γένεση όσιμων γλυκοσυλιωμένων τελικών προϊόντων (AGEs). Η διαδικασία θερμικής αποστείρωσης των διαλυμάτων, η αποθήκευσή τους αλλά και η μακροχρόνια -σε αυτά- έκθεση του περιτοναίου συμβάλλουν στην άθροιση GDPs (προϊόντα αποδόμησης της γλυκόζης), τα οποία επιταχύνουν την παραγωγή των AGEs στην περιτοναϊκή κοιλότητα, με αποτέλεσμα την πόκληση διαταραχών της περιτοναϊκής μεμβράνης. Η άθροιση των AGEs και των GDPs έχει παρατηρηθεί κυρίως στο μεσοθήλιο, στον υπομεσοθηλιακό ιστό και στο αγγειακό τοίχωμα της περιτοναϊκής μεμβράνης (Annuk et al., 2001; Bonnefont-Rousselot et al., 1997; Zareie et al., 2005).

Σε XNA τελικού σταδίου, δεν παρατηρείται διαφορά στα επίπεδα των AGEs μεταξύ διαβητικών ή μη ασθενών. Τα επίπεδά τους κινούνται λοιπόν ανεξάρτητα με τις τιμές της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, γεγονός που υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός της υπέρμετρης παραγωγής τους στην ουραιμία δε σχετίζεται πρωτίστως με τα υψηλά επίπεδα γλυκαιμίας (Boulangier et al., 2006).

Επιπλέον, το οξειδωτικό και το καρβονυλικό stress που συνδέεται με τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και την ουραιμία επιτείνει τη συγκέντρωση των παραπάνω ουσιών (Honda et al., 1999; De Vriese et al., 2006). Πιο συγκεκριμένα, η γλυκόζη του διαλύματος κάθαρσης μετατρέπεται σε δραστικά καρβονυλικά προϊόντα (RCOs: methylglyoxal, glyoxal και 3-deoxyglucosone) κατά τη θερμική τους αποστείρωση (η θερμοκρασία διατήρησης των διαλυμάτων είναι καθοριστικός παράγοντας της ισορροπίας μεταξύ ενεργών και μη ενεργών GDPs), κατά την παραμονή τους εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας καθώς και υπό συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού stress (Erixon et al., 2005). Τα RCOs μπορεί να οδηγούν επίσης στο σχηματισμό AGEs (Yamamoto et al., 2007), ενώ καρβονύλια μικρού μοριακού βάρους, όπως η φορμαλδεΐδη και η μεθυλγλυοξάλη αντιδρούν πιθανότερα με τα μεσοθηλιακά κύτταρα της περιτοναϊκής κοιλότητας, όντας σ' ένα βαθμό υπεύθυνα για την απώλεια των κυττάρων αυτών κατά τη μακροχρόνια ΠΚ (Linden et al., 2001). Η 3-deoxyglucosone ανενεργοποιεί την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, κάτι που μπορεί να οφείλεται στη μετατροπή του ενζύμου από τα AGEs. Επιπλέον, σε διαλύματα περιτοναϊκής κάθαρσης αυξάνεται σταδιακά ο σχηματισμός CML (καρβοξυλ-μεθυλ-λυσίνη), ως κυρίαρχου ανοσολογικού επιτόπου των AGEs (Kaneko et al., 2007; Niwa et al., 2001; Tauer et al., 2001). Πρέπει να σημειωθεί ότι η βιοασυμβατότητα οφείλεται ακόμα σε υψηλή συγκέντρωση γαλακτικών, στο όξινο pH και σε αυξημένη οσμωτική πίεση (Witowski et al., 2004).

Το τελικό αποτέλεσμα της άθροισης των AGEs και GDPs είναι η δημιουργία μορφολογικών και λειτουργικών μεταβολών της περιτοναϊκής μεμβράνης και η κυτταροτοξική δράση στα κύτταρα του περιτοναίου (Davies et al., 2001; Zareie et al., 2005). Οι μορφολογικές μεταβολές που επιφέρουν οι συγκεκριμένες ουσίες περιλαμβάνουν: α) καταστροφή («απογύμνωση») του μεσοθηλίου β) διάμεση ίνωση, με συνεπαγόμενη σκλήρυνση του περιτοναίου γ) ποικίλες αγγειακές αλλοιώσεις, με πιο χαρακτηριστική το διπλασιασμό του πάχους της βασικής μεμβράνης των περιτοναϊκών τριχοειδών, παρόμοιο με εκείνον που παρατηρείται στη διαβητική μικροαγγειοπάθεια (Gotloib et al., 1985; Zareie et al., 2003) δ) σοβαρού βαθμού ίνωση και υαλινοποίηση του αγγειακού τοιχώματος κυρίως των μετατριχοειδικών φλεβιδίων και ε) αύξηση των ινών κολλαγόνου του μέσου χιτώνα των αγγείων και παρουσία εκφυλισμένων λείων μυϊκών κυττάρων με ελάχιστη ποσότητα κυτταροπλάσματος και πυκνωτικούς πυρήνες (Zareie et al., 2005; Honda et al., 1999).

Είναι ενδιαφέρον ότι οι παραπάνω μεταβολές περιορίζονται στο περιτόναιο και δεν επηρεάζουν άλλα όργανα ή ιστικούς στόχους (Honda et al., 1999) και ότι οι πρωτεϊνικές μετατροπές του περιτοναίου δεν οφείλονται μόνο στα δραστικά καρβονυλικά προϊόντα που προέρχονται από το υγρό της περιτοναϊκής κάθαρσης, αλλά και από αυτά που δημιουργούνται από την ίδια την ουραιμία (Miyata et al., 200).

Τα υπεροσμωτικά διαλύματα χαμηλού PH περιέχουν επίσης προϊόντα αποδομής της γλυκόζης (GDPs), τα οποία, όπως αναφέρθηκε, παράγονται σε σημαντικό ποσοστό κατά την παρασκευή και παρατεταμένη αποθήκευσή τους, ιδίως σε υψηλές θερμοκρασίες, και συντείνουν στη χρόνια φλεγμονή. Τα AGEs με τη σειρά τους επάγουν απαντήσεις έναντι της οξειδωτικής καταπόνησης. Συνδεδόμενα με τους υποδοχείς τους οδηγούν στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο πυρηνικός παράγοντας -kappa B (NF- κ B) και κατά συνέπεια σε αύξηση της σύνθεσης φλεγμονογόνων κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης και της ιντερλευκίνης 6, οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν σε αύξηση της σύνθεσης C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στο ήπαρ (Schmidt et al., 1999; Bierhaus et al., 1998; Schwedler et al., 2001; Witowski et al., 2003; Miyata et al., 2002; Erixon et al., 2006).

Τα GDPs και οι ενεργές καρβονυλικές ενώσεις επιταχύνουν το σχηματισμό των AGEs στην περιτοναϊκή μεμβράνη, που με τη σειρά τους μπορούν να εκκινήσουν κυτταρικές αποκρίσεις, όπως διέγερση μονοκυττάρων, έκκριση φλεγμονογόνων κυτοκινών, πολλαπλασιασμό αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων, διέγερση αυξητικών παραγόντων και έκκριση δομικών πρωτεϊνών (Gillerot et al., 2003; Mortier et al., 2003; Ishikawa et al., 2003).

Η ίνωση του περιτοναίου και η σκλήρυνση των αγγείων του αποτελεί ένα ακόμα χαρακτηριστικό της περιτοναϊκής κάθαρσης. Σε πειραματόζωα υπό περιτοναϊκή κάθαρση έχει παρατηρηθεί αυξημένη έκφραση του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα του περιτοναίου (TGF- β 1), του κολλαγόνου τύπου I και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) (Noh et al., 2006). Έχει προταθεί ότι τα AGEs μπορούν να προκαλέσουν αυξημένη χημειοταξία ουδετεροφίλων, μακροφάγων και μονοκυττάρων και να οδηγήσουν σε απελευθέρωση μεσολαβητών, όπως ο TNF- α , η IL-1, ο TGF-1 και ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF: platelet-derived growth factor) κ.α. Οι συγκεκριμένοι μεσολαβητές διεγείρουν τα λεία μυϊκά κύτταρα προς σύνθεση

εξωκυττάριας βασικής ουσίας, με αποτέλεσμα σημαντικού βαθμού ίνωση του αγγειακού τοιχώματος (Honda et al., 1999; Vlassara et al., 1988; Kirstein et al., 1990). Πιο συγκεκριμένα, θεωρείται ότι ο TGF-1 συμμετέχει καταλυτικά στη διαδικασία της μετατροπής των επιθηλιακών κυττάρων σε μυοϊνοβλάστες που παρατηρείται στις περιτοναϊκές μεμβράνες πειραματόζωων, η οποία πιστεύεται ότι συμβάλλει στην ίνωση της περιτοναϊκής μεμβράνης σε ασθενείς υπό κάθαρση (De Vriese et al., 2006). Τα AGEs μπορούν επίσης να διεγείρουν τη σύνθεση TGF-β και τη μετατροπή των επιθηλιακών κυττάρων σε μεσεγχυματικά, με χαρακτηριστικά μυοϊνοβλαστών, μέσω του υποδοχέα επιφανείας τους (RAGE) (Yanez-Mo et al., 2003; Margetts et al., 2005). Όπως έχει καταδειχθεί, η χρόνια ουραιμία οδηγεί σε περιτοναϊκή ίνωση και αγγειακές μεταβολές μέσω της συνάθροισης των AGEs, της θετικής ρύθμισης των RAGE, και της έκφρασης TGF-β (De Vriese et al., 2006).

Τα διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης, σε πειραματικά πρότυπα, προκαλούν αυξημένη έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα στα περιτοναϊκά κύτταρα, που ακολουθείται από πολλαπλασιασμό των αγγείων και υπομεσοθηλιακή ίνωση (Noh et al., 2006; Ksiazek et al., 2007; Gotloib 2009; Faict et al., 2004). Στην παθογένεια της ίνωσης συμβάλλει και η αναφερόμενη «απογύμνωση» του μεσοθηλίου, που έχει παρατηρηθεί σε σημαντικό αριθμό ασθενών, ιδιαίτερα όταν αυτή ακολουθείται από αποτυχία επανεπιθηλιοποίησης (Williams et al., 2002; Dobbie et al., 1992).

Η αρνητική συσχέτιση των επιπέδων της λευκωματίνης με τα επίπεδα των AGEs και των TBARs υποδεικνύει ότι η ελάττωσή της μπορεί να συνεισφέρει στην όψιμη τελική γλυκοσυλίωση και σε λιπιδική υπεροξειδωση. Η αρνητική συσχέτιση του οξειδοαναγωγικού κλάσματος της γλουταθειόνης και των AGEs υποδηλώνει το σημαντικό ρόλο των τελευταίων στην επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας (Sahin et al., 2008). Τα AGEs μπορούν επίσης να ανενεργοποιήσουν το NO, το οποίο -εκτός από την αγγειοδιασταλτική δράση του- ενεργεί και κατά του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων (Hogan et al., 1992).

Τέλος, το καρβονυλικό stress έχει ενοχοποιηθεί στην παθογένεια των μακροχρόνιων επιπλοκών της διαδικασίας κάθαρσης, όπως η αμυλοείδωση. Κατά τη συνεχή περιτοναϊκή κάθαρση στην περιτοναϊκή κοιλότητα περιέχεται μεγάλος αριθμός καρβονυλικών προϊόντων, τα οποία προκύπτουν από διαλύματα πλούσια σε γλυκόζη, από τη θερμική

αποστείρωση των διαλυμάτων και από την ίδια την ουραιμία. Το καρβονυλικό stress όχι μόνο μετατρέπει και μεταβάλλει τη δομή των βασικών πρωτεϊνών του περιτοναίου, αλλά αντιδρά και με πρωτεΐνες της επιφανείας των μεσοθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων, επάγοντας την έναρξη φλεγμονωδών αποκρίσεων. Επομένως, μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη της σκλήρυνσης του περιτοναίου σε μακροχρόνια θεραπευόμενους ασθενείς με περιτοναϊκή κάθαρση (Miyata et al., 1999).

Μια σοβαρή επιπλοκή της μακροχρόνιας συνεχούς περιτοναϊκής κάθαρσης, η οποία σχετίζεται με την ίνωση του περιτοναίου, τη σκλήρυνση των αγγείων του και την υπερδιαβατότητα αποτελεί η ανεπάρκεια της υπερ-διήθησης. Έχει παρατηρηθεί αυξημένη άθροιση AGEs στον ινώδη ιστό του περιτοναίου και στο αγγειακό τοίχωμα των ασθενών με ελαττωμένου βαθμού υπερ-διήθηση. Μάλιστα, η έκταση της άθροισης αυτής παρουσίαζε θετική συσχέτιση με την πρόοδο της διάμεσης περιτοναϊκής ίνωσης και της αγγειακής σκλήρυνσης. Επιπλέον, ο λόγος της ημερήσιας υπερ-διήθησης προς το βάρος σώματος (δείκτης ικανότητας της περιτοναϊκής μεμβράνης για υπερ-διήθηση) παρουσίαζε αντίστροφη συσχέτιση με τη διάμεση ίνωση, την μικρο-αγγειακή σκλήρυνση και την άθροιση των AGEs (Honda et al., 1999).

Η προϊούσα επιδείνωση της διαπερατότητας της περιτοναϊκής μεμβράνης, η οποία προκαλείται από την παραγωγή ελευθέρων ριζών, AGEs και ενεργών καρβονυλικών προϊόντων είναι τελικά περιοριστικός παράγοντας για τη διαχρονικότητα της μεθόδου, οδηγώντας τελικά σε ίνωση και νεοαγγείωση της περιτοναϊκής μεμβράνης και σε σκληρυντικές μορφολογικές αλλοιώσεις της δομής της, που με τη σειρά τους από τη μια ελαττώνουν την ικανότητα υπερδιήθησης και ανάστροφα οδηγούν στην αύξηση της διάχυσης γλυκόζης στον ορό, άρα σε ένα φαύλο κύκλο (Krediet 1995; Nakayama et al., 1997). Αντιοξειδωτικά και αναστολείς των υποδοχέων AT1 της αγγειοτενσίνης II συντελούν στην αποφυγή των δομικών και λειτουργικών αυτών επιζήμιων μεταβολών.

Οι μηχανισμοί της καρδιαγγειακής βλάβης, αλλά και της αυξημένης καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας περιλαμβάνουν την αρτηριακή σκλήρυνση, η οποία οδηγεί σε ελαττωμένη αγγειακή λειτουργία, καθώς και τη μυοκαρδιακή δυσλειτουργία (Gusbeth-Tatomir et al., 2007; Segall et al., 2007). Μελέτες που αξιολογούν την αρτηριακή ακαμψία, όπως η ταχύτητα του παλμικού κύματος της αορτής, αποτελούν προγνωστικούς δείκτες νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς με ΧΝΑ και σχετίζονται τόσο με το

οξειδωτικό stress όσο και με τη φλεγμονή (Blacher et al., 1999; Sutherland et al., 1995; Shoskes et al., 2001; Paragh et al., 1999; Ghanem et al., 1996; Cofan et al., 1999; Massy et al., 2005).

Σε ασθενείς υπό ΠΚ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες ανευρίσκονται υψηλότερα επίπεδα TBARS, MDA, AOPP, AGEs και πεντοσιδίνης ενώ αντίστοιχα χαμηλότερη ελέγχεται η ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD)% και μάλιστα παρατηρείται ανεξάρτητη συσχέτισή της με τα επίπεδα των AOPP. Σε ΠΚ νεφροπαθείς, χωρίς γνωστή αθηρωματική νόσο, τα επίπεδα των AOPP μπορούν ανεξάρτητα να προγνώσουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Kocak et al., 2009).

Σε ασθενείς με ΧΝΑ, σημαντικοί δείκτες ΟΣ θεωρούνται συν τοις άλλοις οι θειόλες (-SH), η 8-υδροξυ-δεοξυγουανωσίνη (8-OHdG) και η οξειδωμένη (ox-) LDL. Σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ, καθώς και σε χρόνιους νεφροπαθείς που δεν καθαίρονταν, οι ομάδες -SH υπολογίζονται σημαντικά ελαττωμένες σε σχέση με υγιείς μάρτυρες ($p=0.01$), ενώ η 8-OHdG παρατηρείται αυξημένη ($p<0.01$). Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές ως προς την ox-LDL (Castoldi et al., 2010).

Σε σχέση με τους χρόνιους νεφροπαθείς οι περιτοναϊκά καθαίρομενοι δείχνουν υψηλότερα επίπεδα γλυκοσυλίωσης, αλλά χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης (Agalou et al., 2005).

Συμπερασματικά, η οξειδωτική καταπόνηση ευθύνεται για την υπεροξειδωση μακρομορίων, μια διαδικασία που οδηγεί σε σημαντικές βλάβες. Ιδιαίτερα σε ασθενείς με ΧΝΑ η αυξημένη οξειδωτική διαδικασία εμπλέκει τη δυσθρεψία και την υπολευκωματιναιμία (καταστάσεις που οδηγούν σε χαμηλή διαθεσιμότητα θειολικών ενώσεων), την ουραιμική κατάσταση καθαυτή ή ιδιαίτερα συνοδά χαρακτηριστικά, όπως η προχωρημένη ηλικία, η αυξημένη συχνότητα σακχαρώδους διαβήτη, η φλεγμονώδης κατάσταση, ο αυξημένος επιπολασμός λοιμώξεων και άλλα, όπως αναλυτικά περιγράφηκαν στο γενικό μέρος (Miyata et al., 2003; Malliaraki et al., 2007; Sosa et al., 2006).

Όπως φάνηκε, η αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση σε νεφροπαθείς, ιδιαίτερα σε όσους καθαίρονται, σχετίζεται αμφίδρομα με σημαντικές διαδικασίες, όπως η φλεγμονή και η δυσθρεψία, οι οποίες με τη σειρά τους συντείνουν στην πρόωμη και επιταχυνόμενη

αθηρωματική διαδικασία που χαρακτηρίζει τη ΧΝΑ, συνιστώντας πλέον, ανεξάρτητο, αυτοτελή, μη κλασσικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου (Rutkowski et al., 2006; Mircescu 2006; Cottone et al., 2008).

Σε μια μελέτη παιδιών με ΧΝΑ, φάνηκε η συσχέτιση δεικτών οξειδωτικής καταπόνησης SOD, CAT, GSH και MDA με τα επίπεδα δεικτών φλεγμονής (CRP, IL-6, TNF-α), αλλά και δεικτών όπως ο IMT και η μάζα της αριστερής κοιλίας (Ece et al., 2006). Σε ασθενείς υπό ΠΚ, αυξημένος λόγος Cu/Zn σχετίζεται με δυσθρεψία, αυξημένο οξειδωτικό στρες και φλεγμονή (Guo et al., 2011).

Παράλληλα σημαντικός είναι ο ρόλος της οξειδωτικής διαδικασίας στην εξέλιξη της νεφρικής νόσου, αλλά και σε επιπλοκές που επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των ίδιων των εφαρμοζόμενων μεθόδων κάθαρσης αλλά και κατ'έκταση τη νοσηρότητα και τη θνητότητα των ασθενών. Η ΧΝΑ αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα ΚΑ νοσηρότητας και θνητότητας, μετά από στάθμιση για άλλους, κλασσικούς και μη (Harper et al., 2008).

Παρά την πρόοδο των μεθόδων κάθαρσης, η αθηροσκλήρυνση και οι καρδιαγγειακές νόσοι παραμένουν η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνητότητας (Henrich et al., 2009).

Με όσα προαναφέρθηκαν, καταδεικνύεται η σημασία της επιχείρησης παρέμβασης στη διόρθωση της παρατηρούμενης επίτασης της οξειδωτικής διαδικασίας, ασθενών με ΧΝΑ, γεγονός που φαίνεται να έχει σημαντικές επωφελείς δράσεις (Annuk et al., 2003).

Ιδιαίτερα για την ομάδα των περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών, σημαντική συμβολή στη γένεση του οξειδωτικού στρες έχει η ανεπάρκεια αντιοξειδωτικών συστημάτων, που σε ένα βαθμό προκύπτει στα πλαίσια απωλειών κατά τη διαδικασία της υπερδιήθησης. Συνεπώς, ελκυστική φαίνεται να είναι η χορήγησή τους υπό μορφήν διαιτητικών ή φαρμακευτικών συμπληρωμάτων.

1.8 Αντιοξειδωτικά συστήματα- Δείκτες αυξημένης οξειδωτικής διαδικασίας: Από τη χρόνια νεφρική νόσο στην περιτοναϊκή κάθαρση

Τους χρόνιους νεφροπαθείς τελικού σταδίου, υπό νεφρική υποκατάσταση, χαρακτηρίζουν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης, που αποδίδονται από τη μια στην ελάττωση αντιοξειδωτικών συστημάτων (όπως αντικατοπτρίζονται από τα επίπεδα της βιταμίνης C,

του σεληνίου, της ενδοκυττάριας βιταμίνης E, της ενεργότητας της γλουταθειόνης) και από την άλλη σε μια αυξημένη προοξειδωτική δραστηριότητα, σύμφυτη με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ασθενών, όπως η προχωρημένη ηλικία, η υψηλή συχνότητα συνύπαρξης σακχαρώδους διαβήτη, η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση, το ουραιμικό σύνδρομο καθαυτό και η -άλλοτε άλλου βαθμού- βιοασυμβατότητα των χρησιμοποιούμενων μεμβρανών & διαλυμάτων (Locatelli et al., 2003; Sudhir et al., 2007). Ανάμεσα σε πλήθος μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής και της αντιοξειδωτικής κατάστασης, θα γίνει μια σύντομη αναφορά σε όσες επιλέχθηκαν στο πειραματικό στάδιο της μελέτης μας. Γενικά οι ουραιμικοί ασθενείς χαρακτηρίζονται από χαμηλότερα επίπεδα SOD, VitE και VitC, αλλά υψηλότερα επίπεδα CRP, MDA και καρβονυλίων έναντι των υγιών μαρτύρων. Σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς παρατηρείται ελάττωση της δραστηριότητας της γλουταθειόνης και της υπεροξειδάσης της (GSH και GSH-Px) (Ceballos-Picot et al., 1996). Τα επίπεδα της GSH στο ολικό αίμα βρέθηκαν ελαττωμένα στον ίδιο βαθμό σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και περιτοναϊκή κάθαρση, ενώ σε μια άλλη μελέτη η δραστηριότητα της GSH-Px και της GSSG-R (ρεδουκτάση της γλουταθειόνης) ήταν λιγότερο επηρεασμένες σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση (Schettler et al., 1998). Στην τοξικότητα της ουραιμίας σε ασθενείς υπό κάθαρση συμβάλλουν και τα AOPPs. Η άθροισή τους μπορεί επίσης να αντανάκλα την ελαττωμένη ικανότητα των ουραιμικών ασθενών για ανανέωση πρωτεϊνών που έχουν υποστεί βλάβη, γεγονός το οποίο θεωρείται ότι συντείνει στην πρόοδο της νεφρικής ανεπάρκειας, σε δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και σε πρόοδο της φλεγμονής (Vanholder et al., 2001).

Ειδικότερα οι ασθενείς υπό ΠΚ, χαρακτηρίζονται από αυξημένη λιπιδική υπεροξειδωση και ελαττωμένη αντιοξειδωτική προστασία σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, εμφανίζοντας χαμηλότερα επίπεδα MDA και καρβονυλίων, σε σχέση με τους αιμοκαθαιρόμενους (Li et al., 2006; Pietrzak et al., 1995; Göçmen et al., 2008) και παρουσιάζουν σημαντικές απώλειες ασκορβικού και φολικού οξέος, σχετικά υψηλές απώλειες βιταμινών B2 and B6, χαμηλές για βιταμίνη B1, ενώ δύσκολα ανευρίσκονται στο περιτοναϊκό έκπλυμα βιταμίνες B12, A, E και καροτενοειδή (Boeschoten et al., 1988).

Τα επίπεδα σεληνίου ορού είναι χαμηλά σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, κάτι που παρατηρείται πιο έντονα σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση. Πράγματι, οι αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς έχουν υψηλότερα επίπεδα

σεληνίου ορού από εκείνους που αντιμετωπίζονται με περιτοναϊκή κάθαρση (Kostakopoulos et al., 2007; Pakfetrat et al., 2009). Ακόμα, οι ουραιμικοί ασθενείς, συμπεριλαμβανομένων εκείνων υπό περιτοναϊκή κάθαρση, παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα ψευδαργύρου, παρόλο που δεν παρατηρείται απώλεια αυτού του ιχνοστοιχείου κατά την περιτοναϊκή κάθαρση (Sriram et al., 2000).

1.8.1 Βιταμίνη C

Συγκεκριμένα, σε μελέτη παιδιών με ΧΝΑ υπό περιτοναϊκή κάθαρση, παρατηρούνται ελαττωμένες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών βιταμινών Α, Ε και C σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, γεγονός που αποδίδεται σε σημαντικό βαθμό σε απώλειές τους στο υπερδιήθημα. Το ασκορβικό χάνεται στο περιτοναϊκό έκπλυμα λόγω του χαμηλού μοριακού του βάρους (176 g/mol), αλλά και λόγω ελαττωμένης σωληναριακής επαναρρόφησης στα πλαίσια της νεφρικής βλάβης καθαρής (Boeschoten et al., 1988; Zwolinska et al., 2009).

Παράλληλα με τις προαναφερθείσες απώλειες, σημαντική συνεισφορά στην ανεπάρκεια ασκορβικού έχει η κακή θρέψη που χαρακτηρίζει τους ασθενείς υπό ΠΚ. Σε μια μελέτη 45 ασθενών από την Αυστραλία η ανεπάρκεια αυτή ήταν παρούσα στο 1/3 των ασθενών (σε ποσοστό 44% όσων δεν έπαιρναν πολυβιταμινούχα σκευάσματα υποκατάστασης και σε 16% όσων έπαιρναν), παρότι κανείς δεν είχε κλινική εικόνα αβιταμίνωσης και παρότι υπήρχε ευρύτατη διακύμανση των επιπέδων του ασκορβικού στον ορό ανεξάρτητα με την προσλαμβανόμενη δόση. Συμπληρωματική χορήγηση από του στόματος με τη μορφή φθηνών πολυβιταμινούχων σκευασμάτων, αποκαθιστά τα επίπεδα στην πλειονότητα των ασθενών. Συνεπώς υπάρχουν συστάσεις για τη μέτρηση των επιπέδων της βιταμίνης και στόχος της υποκατάστασης είναι επίπεδα κοντά στα φυσιολογικά (4-14 mg/L) (Singer et al., 2008).

Σε μελέτη που αφορούσε 56 περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς από τις ΗΠΑ, ποσοστό 40% των ασθενών εμφάνιζε χαμηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα ασκορβικού οξέος στο πλάσμα (<30 μmol/L), ενώ μικρότερο ποσοστό τους (περίπου 9%), χαρακτηρίζονταν από επίπεδα πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά (>80 μmol/L). Μάλιστα, τα υψηλότερα επίπεδα της βιταμίνης σχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα

αιμοσφαιρίνης, πράγμα που καταδεικνύει το σημαντικό ρόλο της βιταμίνης C στην αποτελεσματική ερυθροποιΐα, αντικατοπτρίζοντας έτσι τη συνεισφορά της στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της αναιμίας της ΧΝΑ (Finkelstein et al., 2010).

Παρά ταύτα, παρατηρείται μια θετική συσχέτιση της χορήγησης συμπληρωμάτων ασκορβικού και της πεντοσιδίνης και αυτό αναμένονταν, μια και το ασκορβικό, το δεϋδροασκορβικό, αλλά και η γλυκόζη, μπορεί να είναι πρόδρομα μόρια των AGEs in vitro και in vivo (Grandhee et al., 1991; Slight et al., 1990; Ortwerth et al., 1988). Πάντως τα επίπεδα της πεντοσιδίνης δε διέφεραν σε νεφροπαθείς υπό ΠΚ με ή χωρίς σακχαρώδη διαβήτη (Ayala et al., 2003).

Η ανεπάρκεια του ασκορβικού, όπως φάνηκε σε πειραματικά πρότυπα, οδήγησε σε ελαττωμένη απόπτωση ουδετεροφίλων, λόγω της προς τα πάνω ρύθμισης του διεγερσιμου από την υποξία παράγοντα (HIF)-1 α . Η απόπτωση είναι μια ζωτική διαδικασία στην υποχώρηση της φλεγμονής, ενώ εμποδίζει την απελευθέρωση κυτταροτοξικών και υδρολυτικών ενζύμων των ουδετεροφίλων που μπορεί να προκαλέσουν ιστική βλάβη (Vissers et al., 2007). Παράλληλα φάνηκε ότι το ασκορβικό προφυλάσσει τα ενεργοποιημένα μακροφάγα του περιτοναίου από νέκρωση ή απόπτωση (May et al., 2005), ενώ παράλληλα αυξάνει τη φαγοκυτταρική τους ικανότητα (Agarwal et al., 2003).

Σε μια προσπάθεια να συσχετισθούν τα επίπεδα του ασκορβικού με την πρωτεϊνική/θερμιδική δυσθρεψία, σημαντική συσχέτιση ($p < 0.001$) βρέθηκε μόνο μεταξύ του ασκορβικού του ορού και της λευκωματίνης του ορού και μόνον όταν τα επίπεδα του ασκορβικού ήταν $< \text{ή} = 9 \text{ mg/L}$ (Lee et al., 2001).

Τα επίπεδα της βιταμίνης C ελέγχονται χαμηλά σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, ενώ δεν παρατηρείται παρόμοια τάση για τα επίπεδα της τοκοφερόλης. Κατά συνέπεια η ex vivo επιδεκτικότητα για οξείδωση της LDL σε αντίθεση με τη σύνθεσή της είναι φυσιολογική, λόγω της επαρκούς προστασίας των λιποφιλικών αντιοξειδωτικών (Roob et al., 2001). Για να διατηρηθούν τα επίπεδα του ασκορβικού εντός των φυσιολογικών ορίων οι ΠΚ νεφροπαθείς θα πρέπει να λαμβάνουν υποκατάσταση με ασκορβικό σε υψηλότερα από τα συνιστώμενα διαιτητικά επίπεδα των 80-140 mg (Lim et al., 2001), ή τουλάχιστον εντός αυτών (75-100 mg/ ημέρα) (Salusky et al 1990). Συμπερασματικά, δόσεις 100 – 200 mg/ ημέρα επαρκούν για τη διατήρηση του ασκορβικού σε επίπεδα παρόμοια εκείνων των υγιών μαρτύρων (Boeschoten et al., 1988; Blumberg et al., 1983).

Δεδομένης της σχέσης του ασκορβικού του πλάσματος και των επιπέδων του στο περιτοναϊκό έκπλυμα, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι σε μεγαλύτερη υποκατάσταση προκύπτουν και μεγαλύτερες απώλειες από τις υπολογιζόμενες σε συνήθη ημερήσια πρόσληψη, οι οποίες υπολογίζονται σε ποσοστό περίπου 15% του DRI. Ούτως ή άλλως, υψηλές δόσεις συμπληρωμάτων δε συνιστώνται, λόγω του κινδύνου υπεροξαλαιμίας σε χρόνιους νεφροπαθείς υπό Π (Shah et al., 1992; Mydlik et al., 1998).

1.8.2 Βιταμίνη E

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς τα επίπεδα της βιταμίνης E του πλάσματος ανευρίσκονται συνήθως εντός των φυσιολογικών ορίων (Bonfont-Rousselot et al., 1997; Handelman 2000), ή ακόμη και υψηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα που ανευρίσκονται σε υγιείς μάρτυρες. Πάντως, η ημερήσια πρόσληψη βιταμίνης E υπολείπεται του ορίου των 15 mg/ ημέρα κατά τις συστάσεις του DRI (Roob et al., 2001; Nikolakakis et al., 1999; Food and Nutrition Board).

Παρά τα αυξημένα επίπεδα των βιταμινών E αλλά και A, στο πλάσμα ενίοτε υπάρχουν στοιχεία υποβιταμίνωσης. Ίσως αυτό αντικατοπτρίζει -όπως προαναφέρθηκε- τη βιοδιαθεσιμότητα των βιταμινών και το λόγο βιταμίνης/ συμπλεγμάτων μεταφοράς. Μάλιστα κλινικές κλίμακες αθηροσκλήρωσης, χρησιμοποιούν αυτόν το λόγο σε σχέση με τα επίπεδα καθαρών των βιταμινών (Aguilera et al., 2002).

Η χορήγηση βιταμίνης E οδήγησε σε ελάττωση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε αιμοκαθαιρόμενους (Roob et al., 2002) αλλά, παρά τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, και σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους (Mydlik et al., 2002).

1.8.3 Ερυθροκυτταρικά αντιοξειδωτικά

Η γλουταθειόνη, όπως θα αναφερθεί και στη συνέχεια, προσφέρει υπόστρωμα για την υπεροξειδάση της (GPx), ένα ένζυμο που δρα απομακρύνοντας υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης (GSH) αντιδρά με την GPx, της οποίας ουσιώδες συστατικό είναι το Se, για το σχηματισμό της οξειδωμένης μορφής της (GSSG).

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, όπως και άλλα αντιοξειδωτικά ένζυμα (υπεροξειδική δισμουτάση, καταλάση), ελαττώνουν τη λιπιδική υπεροξειδωση (Clarkson et al., 2000). Καθαριόμενοι νεφροπαθείς εμφανίζουν ανεπάρκεια γλουταθειόνης στο ολικό αίμα και στα ερυθροκύτταρα (Ross et al., 1997; Ceballos-Picot et al., 1996). Τα επίπεδα της γλουταθειόνης και η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της είναι σημαντικά χαμηλότερες σε ασθενείς υπό κάθαρση σε σχέση με μάρτυρες, παράλληλα με υψηλότερη δραστικότητα της αναγωγάσης της και της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Μεταξύ των αντιοξειδωτικών ενζύμων σε ασθενείς υπό ΠΚ και ΑΚ δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές (Ahmadpoor et al., 2009).

Ειδικότερα σε ασθενείς υπό ΠΚ η ολική, η οξειδωμένη και η αναχθείσα γλουταθειόνη, καθώς και η υπεροξειδάση της, βρίσκονται σημαντικά ελαττωμένες σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Martin-Mateo et al., 1998; Bonnefont-Rousselot et al., 1997).

Σε περιτοναϊκά καθαριόμενα παιδιά οι συγκεντρώσεις της GSH των ερυθροκυττάρων και του πλάσματος ελέγχονται χαμηλότερες, η GSSG των ερυθροκυττάρων δεν εμφανίζει διαφοροποίηση, ενώ η GSSG του πλάσματος φαίνεται να είναι υψηλότερη σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Zwolinska et al., 2009). Σε περιτοναϊκά καθαριόμενους, αλλά και σε αιμοκαθαριόμενους νεφροπαθείς, παρατηρείται ελαττωμένη δραστηριότητα της GPx των ερυθροκυττάρων, η οποία σχετίζεται με αυξημένη συγκέντρωση MDA (Zima et al., 1996; Mekki et al., 2010). Μάλιστα η γένεση υπεροξειδίου είναι μεγαλύτερη, όταν χρησιμοποιούνται διαλύματα υψηλής γλυκόζης (Kashem et al 1998).

Η χορήγηση ενός πρόδρομου της γλουταθειόνης, του L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid [OTZ (“procysteine”)], έδειξε ευεργετικές δράσεις σε μακροσκοπικές (ενδοπεριτοναϊκές συγκολλήσεις) και μικροσκοπικές (μεσοθηλιακή-κυτταρική υπερπλασία, νεοαγγείωση) μεταβολές του περιτοναίου, που σχετίζονται με αύξηση της ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικής ικανότητας, ειδικά της δραστηριότητας της GPX (Styszynski et al., 2006).

Τα επίπεδα της Cu/ Zn υπεροξειδικής δισμουτάσης του πλάσματος είναι ένας απλός και ταυτόχρονα ευαίσθητος δείκτης της οξειδωτικής καταπόνησης σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου. Σχετίζονται θετικά με τα επίπεδα της MDA, της κρεατινίνης και των αντισωμάτων έναντι της οξειδωμένης LDL και μάλιστα ανεξάρτητα από την ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη ή φλεγμονής (Pawlak et al., 2005). Σε καθαριόμενους νεφροπαθείς

σχετίζονται ακόμη με τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης και με τα συμπλέγματα πλασμίνης- αντιπλασμίνης, άρα κατ' επέκταση με την ινωδολυτική ικανότητα σε (Pawlak et al., 2006), όπως και με δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης (αντιγόνο του παράγοντα von Willebrand, θρομβομοντουλίνη, αναστολέας του ιστικού παράγοντα) (Pawlak et al., 2005).

Τα επίπεδα της υπεροξειδικής δισμουτάσης υπολογίζονται σημαντικά χαμηλότερα σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και μάλιστα χαμηλότερα σε αιμοκαθαιρόμενους έναντι των περιτοναϊκά καθαιρόμενων (Kayabasi et al., 2010), ενώ η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης βρίσκεται ελαττωμένη και στις δύο ομάδες κάθαρσης ($P<0.005$). Ελάττωση της δραστηριότητας της καταλάσης παρατηρήθηκε μόνο σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων ($P<0.05$). Οι συγκεντρώσεις της λευκωματίνης ήταν υψηλότερες και στις δύο ομάδες κάθαρσης, ως προς τους μη καθαιρόμενους ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου, ενώ οι συγκεντρώσεις του ουρικού ήταν ελαττωμένες στους αιμοκαθαιρόμενους σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες ($P<0.001$) (Mekki et al., 2010).

1.8.4 TAC & MDA

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) του ορού, όπως προσδιορίστηκε με δύο μεθόδους (την ικανότητα αναγωγής του σιδήρου στο πλάσμα (FRAP) και τη μέθοδο της 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) είναι ήπια αυξημένη σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Rysz et al., 2010).

Μελέτη καθαιρόμενων νεφροπαθών από την Ελλάδα, έδειξε αυξημένα επίπεδα TAC, SOD και hs-CRP, ενός δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι έδειξαν αύξηση -όχι στατιστικά σημαντική- του παράγοντα νέκρωσης όγκου- α (TNF-alpha) και σημαντική αύξηση της ομοκυστεΐνης, σε σχέση με τους αιμοκαθαιρόμενους, παράγοντες που αμφοτέροι –και ιδιαίτερα η δεύτερη- σχετίζονται με αυξημένο αγγειακό κίνδυνο (Filiopoulos et al., 2009). Παράλληλα, υπήρχε ισχυρή θετική συσχέτιση των τιμών της TAC και των επιπέδων του ουρικού του ορού, ώστε οι τιμές του τελευταίου να επηρεάζουν σημαντικά την εκτίμηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων της (Ahmadpoor et al., 2009).

Σε πρόσφατη μελέτη φάνηκε ακόμη ότι, ενώ η οξειδωτική καταπόνηση αυξάνει παράλληλα με την πρόοδο της νεφρικής δυσλειτουργίας, η TAC και τα επίπεδα της βιταμίνης E παραμένουν σταθερά, επηρεαζόμενα μόνο σε XNA τελικού σταδίου (Karamouzis et al., 2008). Παρά ταύτα η μελέτη της TAC των ούρων σε νεφροπαθείς, όπως περιγράφεται με την ABTS μέθοδο για το αίμα, φαίνεται να αποτελεί εύχρηστο δείκτη για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής τους κατάστασης (Kirschbaum 2001). Μάλιστα τα επίπεδα της εμφανίζουν θετική συσχέτιση με εκείνα της 8- epiPGF_{2α} (Dounousi et al., 2006).

Η πιο διαδεδομένη μέθοδος εκτίμησης της λιπιδικής υπεροξειδωσης είναι ο προσδιορισμός των θειοβαρβιτουρικών που περιλαμβάνουν τη μαλονυλοδιαλδεύδη. Παρά ταύτα θεωρείται προβληματική, εξαιτίας σειράς παραγόντων: α) Άλλες αλδεύδες, εκτός της MDA, μπορούν να αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, παράγοντας ενώσεις με το ίδιο φάσμα απορρόφησης σε σχέση μ' αυτήν β) η αποδόμηση των λιπιδικών υπεροξειδίων, κατά τη διάρκεια των μετρήσεων, μπορεί να αποκρύψει την περιεχόμενη MDA γ) η παρουσία ή απουσία μεταλλικών ιόντων, όπως και άλλων αταυτοποίητων ριζών, μπορεί να επηρεάζει το ρυθμό της αποδόμησης αυτής, ενώ δ) σε ανθρώπινα υγρά, άλλοι χημικοί παράγοντες προκαλούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα (Frankel 1991; Esterbauer et al., 1989; Gutteridge et al., 1990).

Επίσης, τα επίπεδα της MDA μπορεί να επηρεάζονται δραματικά από την ουραιμική κατάσταση και τη διαδικασία της κάθαρσης, συνεπώς ο προσδιορισμός της δε θεωρείται αξιόπιστη μέθοδος στην εκτίμηση της οξειδωτικής διαδικασίας. Προτιμότερος είναι ο προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, των θειολών και της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Palleschi et al., 2007).

Οι ασθενείς υπό ΠΚ χαρακτηρίζονται από υψηλότερα επίπεδα TAC και προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης, σχεδόν παραπλήσια με εκείνα των αιμοκαθαιρόμενων πριν από τις συνεδρίες κάθαρσης, αλλά σημαντικά υψηλότερα αυτών, μετά από τη συνεδρία. Οι τιμές της CRP ήταν υψηλότερες σε αιμοκαθαιρόμενους, παρότι δε σχετιζόνταν με τα επίπεδα της TAC ή της MDA (Samouilidou et al., 2003a).

Τα επίπεδα της οξειδωτικής καταπόνησης ήταν παρόμοια σε αιμο- και περιτοναϊκά καθαιρόμενους, όπως φάνηκε μετά από τον προσδιορισμό TAC, MDA και 4-

hydroxyalkenal, και σχετίζονταν ισχυρά με τα επίπεδα της MDA του πλάσματος, ενώ οι τιμές αυτές σχετίζονταν θετικά και με την TAC (Samouilidou et al., 2003b).

Η συγκέντρωση της MDA σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους ήταν υψηλότερη κατά 1.7 φορές σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Roob et al., 2001). Σε πρόσφατη μελέτη από το De Vecchi και τους συνεργάτες του (De Vecchi et al., 2009) έγινε προσπάθεια επιβεβαίωσης της παρουσίας της λιπιδικής υπεροξειδωσής και του καθορισμού της επίδρασής της σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που δεν καθαίρονταν, σε αιμοκαθαιρόμενους και σε αυτούς υπό περιτοναϊκή κάθαρση. Προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις της ολικής (tMDA), της ελεύθερης (fMDA) και της συνδεδεμένης (bMDA) μαλονυλδιαλδεΐδης στις τρεις ομάδες ασθενών. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, που μετρούσαν μόνο την tMDA χρησιμοποιώντας την αντίδραση με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, η λιπιδική υπεροξειδωση υπολογιζόταν σε υψηλότερα επίπεδα στην τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια, ώστε να υποστηρίζεται η άποψη ότι είναι η ίδια η νεφρική ανεπάρκεια και όχι η διαδικασία της κάθαρσης που οδηγεί σε λιπιδική υπεροξειδωση. Παράλληλα φαίνεται ότι η περιτοναϊκή κάθαρση προστατεύει περισσότερο σε σχέση με την αιμοκάθαρση (Erdogan et al., 2002; Jackson et al., 1995; Samouilidou et al., 2003a).

Αντιθέτως, ο De Vecchi και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις της fMDA ήταν παρόμοιες σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια και στην ομάδα ελέγχου, αλλά ήταν σημαντικά υψηλότερες και στις δύο ομάδες ασθενών υπό αιμοκάθαρση και περιτοναϊκή κάθαρση. Σημειώνουν ότι στους ασθενείς πριν την ένταξη στη θεραπεία κάθαρσης, για τα υψηλά επίπεδα tMDA ευθύνεται κυρίως η bMDA, ενώ στους καθαιρόμενους η υψηλή tMDA οφείλεται και στην fMDA και στην bMDA. Τα επίπεδα fMDA πλάσματος εξαρτώνται από την ισορροπία μεταξύ σχηματισμού MDA και της αποβολής της ως bMDA με τα ούρα. Επομένως, η tMDA αντιπροσωπεύει το άθροισμα της bMDA (που δεν έχει αποβληθεί είτε από φυσιολογικούς νεφρούς είτε μέσω της διαδικασίας της κάθαρσης ή δεν έχει υποστεί ενζυματική μετατροπή) και της fMDA. Έτσι, η tMDA από μόνη της δεν αποκαλύπτει αν τα υψηλά επίπεδα MDA οφείλονται σε αυξημένη λιπιδική υπεροξειδωση και/ή υψηλά επίπεδα δέσμευσης της MDA με πρωτεΐνες και/ή ελαττωμένη νεφρική κάθαρση της bMDA. Συμπερασματικά, σε ασθενείς πριν την ένταξη στη θεραπεία κάθαρσης τα υψηλά επίπεδα tMDA οφείλονται μόνο σε ελαττωμένη κάθαρση της bMDA, ενώ σε ασθενείς υπό κάθαρση οφείλονται σε υψηλές συγκεντρώσεις και fMDA και bMDA. Η λιπιδική υπεροξειδωση σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση,

οφείλεται όχι μόνο στο ουραιμικό περιβάλλον, αλλά και στην ίδια τη διαδικασία της κάθαρσης.

Οι ασθενείς υπό ΠΚ είχαν χαμηλότερη λευκωματίνη και υψηλότερα επίπεδα MDA, TAC και ουρικού, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Η MDA έδειξε θετική συσχέτιση με την TAC. Το ουρικό σχετιζόταν μόνο με την TAC. Η Log CRP δε σχετιζόταν με τις MDA ή TAC, σε αντίθεση με την προ-αλβουμίνη. Όπως ήδη τονίστηκε, αυξημένη TAC κυρίως συναρτάται με υψηλότερα επίπεδα ουρικού. Ελαττωμένη MDA εμφάνιζαν οι υπολευκωματιναιμικοί ασθενείς. Η μη επίδραση της χορήγησης λευκωματίνης στα επίπεδά της, δείχνει ότι η ελαττωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα που προκύπτει από τη χαμηλή λευκωματίνη δεν είναι καθοριστικός παράγοντας στη συχνή εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Υπάρχει σχέση μεταξύ του βαθμού της λιπιδικής υπεροξειδωσης και της βαρύτητας της καρδιαγγειακής νόσου, αλλά μόνο σε αιμοκαθαιρόμενους (Kim et al., 2000).

Σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση ανευρίσκονται υψηλότερα επίπεδα θειοβαρβιτουρικών (TBARS), CRP, και καρβονυλίων, αυξημένη δραστηριότητα της SOD, χαμηλότερη για τη GPx και την καταλάση και ελαττωμένα επίπεδα Se, Zn και Fe έναντι των περιτοναϊκά καθαίρομενων. (Guo et al., 2010). Σε άλλη μελέτη, τα επίπεδα των ενεργών ενώσεων θειοβαρβιτουρικού ήταν αυξημένα σε AK και ελαττωμένα σε ΠΚ, σε σχέση με χρόνιους νεφροπαθείς που δεν καθαίρονταν. ($P < 0.05$). Τα επίπεδα των TBARS-VLDL και TBARS-HDL2 ήταν ελαττωμένα σε AK και ΠΚ ($p < 0.05$), ενώ τα καρβονύλια ήταν αυξημένα και στις δύο ομάδες [AK ($p < 0.05$) και ΠΚ ($p < 0.01$)] ως προς την ίδια ομάδα ελέγχου (Mekki et al., 2010).

1.8.5 Γλυκοσυλιωμένα παράγωγα

Στην επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση των ασθενών με ΧΝΑ, κομβική είναι η δράση της οξειδωτικής διαδικασίας και της γλυκοσυλίωσης πρωτεϊνών. Η ουραιμία, όπως αναφέρθηκε, είναι μια κατάσταση που σχετίζεται με οξειδωτικό και καρβονυλικό stress (Boulangier et al., 2006). Η σύνδεση των AGEs με τον κυτταρικό τους υποδοχέα (RAGE) in vitro επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, ιστικού παράγοντα και κυτοκινών, όπως της ιντερλευκίνης-6 και του χημειοεκλυτικού παράγοντα των μονοκυττάρων (monocyte

chemoattractant protein-1), όλων κομβικών, πρώιμων γεγονότων στην προαγωγή και την εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας (Boulangier et al., 2002).

Τα όψιμα προϊόντα τελικής γλυκοσυλίωσης (AGEs) σχηματίζονται από υδατάνθρακες μέσω μιας διαδικασίας μη ενζυματικής γλυκοσυλίωσης, όπως και από τη σύζευξη πρωτεϊνών- οξειδωμένων υδατανθράκων (Wautier et al., 2004). Στη χρόνια νεφρική νόσο, στη γήρανση και στο σακχαρώδη διαβήτη, παρατηρείται αύξηση των AGEs ως συνέπεια άθροισης ενεργών καρβονυλικών ενώσεων (van Ypersele 2003).

Ειδικότερα στην ομάδα των περιτοναϊκά καθαιρόμενων ασθενών παρατηρείται αύξηση των AGEs, που προκύπτει από την ελαττωμένη νεφρική λειτουργία και συνακόλουθα από ελαττωμένο μεταβολισμό και απέκκρισή τους, όπως και από την αυξημένη de novo σύνθεσή τους, χαρακτηριστικό ούτως ή άλλως της XNA (Miyata et al., 1998; Miyata et al., 2000; Qureshi et al., 2002; Zimmermann et al., 1999). Επιπρόσθετα, όμως, η γένεσή τους προκύπτει από ενεργά καρβονυλικά τελικά παράγωγα (π.χ. α-δικαρβονυλικά μόρια και αλδεΐδες), τα οποία αθροίζονται κατά τη διαδικασία της θερμικής αποστείρωσης των περιτοναϊκών διαλυμάτων. (Wieslander et al., 1996; Miyata et al., 2000).

Η αύξηση των AGEs δε βαίνει παράλληλα με την αύξηση της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, πράγμα που σημαίνει ότι η έκθεση σε διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης ή προϊόντων αποδομής της (GDPs) εντός αυτών είναι μια κυρίαρχη διαδικασία που οδηγεί σε σχηματισμό AGEs σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την υπεργλυκαιμία καθαυτή (Miyata et al., 2000).

Ο de novo σχηματισμός AGEs, σε ασθενείς με XNA, μπορεί να οδηγήσει στην επιτάχυνση της αγγειακής νόσου, στην πρόοδο της νεφρικής δυσλειτουργίας και στην εξαρτώμενη από την κάθαρση αμυλοείδωση. Η επιτάχυνση του σχηματισμού τους στην περιτοναϊκή κοιλότητα, ως επακόλουθο της χρήσης των διαλυμάτων της κάθαρσης συνεισφέρει στη διαταραχή της λειτουργικότητας της μεμβράνης, αλλά δε συντελεί σε περαιτέρω συστηματική αύξησή τους στη συστηματική κυκλοφορία (Dawnay et al., 1998).

Στην παθογένεση μακροχρόνιων επιπλοκών, όπως της σχετιζόμενης με την κάθαρση αμυλοείδωσης, σημαντικό ρόλο κατέχει το καρβονυλικό stress. Στην περιτοναϊκή κάθαρση, η περιτοναϊκή κοιλότητα εμφανίζεται σε μια κατάσταση σοβαρής υπερφόρτωσης καρβονυλικών ενώσεων, οι οποίες όχι μόνο θα μπορούσαν να τροποποιούν

τον πρωτεϊνικό σκελετό του περιτοναίου και να αλλάζουν τη δομή του, αλλά και να αντιδρούν με επιφανειακές κυτταρικές πρωτεΐνες μεσοθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων, εκκινώντας, σε ένα βαθμό, φλεγμονώδεις διαδικασίες και συντελώντας στην ανάπτυξη της σκλήρυνσης της περιτοναϊκής μεμβράνης, η οποία συνιστά σημαντική επιπλοκή της μεθόδου (Miyata et al., 1999).

Εκτός από αυτές τις τοπικές δράσεις, τα GDPs προκαλούν και συστηματική τοξικότητα. Σε πειραματικό μοντέλο με SNXαρουραίους, η χορήγησή τους αύξησε την καρδιαγγειακή βλάβη, ενώ αυξήθηκαν τα επίπεδα των AGEs, RAGE, του οξειδωτικού stress και της απόπτωσης. Απαιτείται βέβαια περαιτέρω έρευνα προκειμένου να φανεί εάν υπάρχει κλινική συσχέτιση (Müller-Krebs et al., 2010)

Τα νεώτερα διαλύματα (icodextrin ή διαλύματα αμινοξέων) περιέχουν λιγότερα GDPs (Garcia-Lopez et al., 2000; Krediet et al., 1997; Faller 1996). Παρά ταύτα προκύπτουν κάποιοι περιορισμοί στη χρησιμοποίησή τους. Το Icodextrin μπορεί για παράδειγμα να οδηγήσει σε χημική άσηπτη περιτονίτιδα, ενώ η χρήση διαλυμάτων αμινοξέων δεν μπορεί να ξεπερνά τη μια συνεδρία ανά ημέρα (Goffin et al., 2002; Goffin et al., 2003).

Τα προκεχωρημένα τελικά προϊόντα γλυκοσυλίωσης είναι σημαντικό πρόβλημα των ουραιμικών ασθενών. Η θεραπεία με περιτοναϊκή κάθαρση επιτείνει το σχηματισμό τους, ως αποτέλεσμα της βιοασυμβατότητας των συμβατικών περιτοναϊκών διαλυμάτων, τα οποία περιέχουν προϊόντα αποδομής γλυκόζης. Η χρήση καρνοσίνης, ενός ενδογενούς διπεπτιδίου, με σημαντικές αντιοξειδωτικές και αντιγλυκοσυλιωτικές δραστηριότητες οδηγεί σε αυξημένη επιβίωση των ανθρώπινων μεσοθηλιακών περιτοναϊκών κυττάρων, προστατεύοντας συν τοις άλλοις τις πρωτεΐνες από τροποποίηση (Alhamdani et al., 2007). Παρόμοια αποτελέσματα επιτυγχάνονται με πολύχωρους σάκους, όπου τα διαλύματα γλυκόζης διατηρούνται σε χαμηλό PH (Rippe et al., 2001; Topley 1997). Προς αυτή την κατεύθυνση χρησιμοποιούνται ακόμη ενώσεις- αναστολείς των AGEs, όπως η αμινογουανιδίνη, ή νεώτερες, όπως η πυριδοξαμίνη (Brownlee et al., 1986; Nakamura et al., 1997; Miyata et al., 2000; Khalifah et al., 1999).

Τα επίπεδα της καρβονυλιωμένης λευκωματίνης στο πλάσμα, σε μια ελληνική μελέτη 127 ασθενών με ΧΝΑ χωρίς ή υπό ΑΚ ή ΠΚ, αυξάνονταν παράλληλα με το βαθμό σοβαρότητας της ΧΝΑ, με περαιτέρω αύξηση στους αιμοκαθαιρόμενους. Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι δεν είχαν στατιστικά σημαντική αύξηση, σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες

(Mitrogianni et al., 2009). Τα επίπεδα των προκεχωρημένων (όψιμων) προϊόντων γλυκοσυλίσωσης πρωτεϊνών και της πεντοσιδίνης ήταν αυξημένα στους ασθενείς υπό ΠΚ, με υπολειπόμενη διούρηση μικρότερη από 300 ml/day. Υπολειπόμενη διούρηση > or =300 ml/day είχε σημαντική δράση στην ελάττωση του οξειδωτικού και καρβονυλικού stress (Furuya et al., 2009).

Στους περιτοναϊκά καθαιρόμενους η συγκέντρωση των AGEs εμφανίζεται σημαντικά αυξημένη σε σχέση με νεφροπαθείς που δεν καθαίρονται και σχετίζονται με τα επίπεδα της MDA και των καρβονυλικών ενώσεων (Rutkowski et al., 2006). Οι ασθενείς υπό ΠΚ είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα καρβονυλικών ενώσεων και MDA σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και μάλιστα περισσότερο σε ασθενείς με διαβήτη και δυσθρεψία (Rutkowski et al., 2006). Τα επίπεδα των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών εμφανίζονται υψηλότερα σε αιμοκαθαιρόμενους έναντι των ΠΚ νεφροπαθών, είτε διότι η αιμοκάθαρση σχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα οξείδωσης πρωτεϊνών ή λόγω του γεγονότος ότι οι ΠΚ είχαν σε μεγαλύτερο βαθμό υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία (Doñate et al., 2002). Οξείδωση πρωτεϊνών παρατηρήθηκε σε ΑΚ και ΠΚ ασθενείς και η χορήγηση βιταμίνης E οδήγησε σε ελάττωση της διαδικασίας αυτής, παράλληλα με αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης στον ορό (Domenici et al., 2005).

Συμπερασματικά : 1) Τα διαλύματα της περιτοναϊκής κάθαρσης περικλείουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το πλάσμα, μη οξειδωτικά ή οξειδωτικά τροποποιημένες πρωτεΐνες 2) Τα περιτοναϊκά διαλύματα, in vitro επάγουν οξειδωτικό stress, που μερικώς αναστέλλεται από την αμινογουανιδίνη 3) Οι ιδιότητες αυτές άμεσα σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις των GDPs 4) Τα περιτοναϊκά διαλύματα έχουν την ικανότητα να προάγουν in vitro γλυκοξειδωτικές και οξειδωτικές βλάβες σε πρωτεΐνες (Ruiz et al., 2003).

1.9 ΟΙ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ C ΚΑΙ E: Από τη θεωρία στην πράξη

1.9.1 Γενικά

Η βιταμίνη E είναι το κύριο λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό στις κυτταρικές μεμβράνες. Προστατεύει έναντι της λιπιδικής υπεροξειδωσης δρώντας άμεσα σε ποικιλία ριζών

οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένων του singlet οξυγόνου, των προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης και της ρίζας του υπεροξειδίου (Bieri 1990).

Η βιταμίνη C αλληλεπιδρά με τη ρίζα της τοκοφερόλης για την αναγέννηση της αναχθείσας τοκοφερόλης. Είναι υδατοδιαλυτή και μπορεί άμεσα να αντιδρά με το υπεροξειδίο, τις ρίζες υδροξυλίου και το οξυγόνο singlet (Sauberlich 1990; Olson 1990). Το ασκορβικό και η α- τοκοφερόλη προστατεύουν έναντι της αθηρογένεσης αναστέλλοντας την οξείδωση της LDL, ελαττώνοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών από τα αγγειακά κύτταρα και περιορίζοντας τις κυτταρικές αποκρίσεις στην οξειδωμένη LDL, ιδιαίτερα στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης και στη σύνθεση του ενδοθηλιοεξαρτώμενου NO (EDNO). Κάποιες από τις ευεργετικές δράσεις της τοκοφερόλης αίρονται από προοξειδωτικές δράσεις της στη λιπιδική υπεροξειδωση, ενώ οι τελευταίες αυτές περιορίζονται από την παρουσία του ασκορβικού στο πλάσμα και στο αρτηριακό τοίχωμα (Carr et al., 2000).

Τα κυτταρικά αντιοξειδωτικά αναστέλλουν την προσκόλληση των μονοκυττάρων, προστατεύουν έναντι των κυτταροτοξικών αποτελεσμάτων της οξειδωμένης LDL και αναστέλλουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (Diaz et al., 1997). Οι αντιοξειδωτικές δράσεις των βιταμινών C και E σχετίζονται με δράσεις σε ενζυμικά συστήματα. Συγκεκριμένα, ελαττώνουν την ενεργοποίηση της αγγειακής NADPH οξειδάσης και αυξάνουν την υπεροξειδική δισμουτάση (Chen et al., 2001).

Ο εμπλουτισμός των ανθρώπινων αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων με βιταμίνη C, ελάττωσε την ικανότητά τους να τροποποιούν οξειδωτικά την LDL (Martin et al., 1997).

1.9.2 Βιταμίνη C

Το ασκορβικό οξύ είναι η ενολική μορφή μιας α-κετολακτόνης. Ένας αριθμός ενώσεων που ασκούν βιολογικές δράσεις ασκορβικού αναφέρονται γενικά ως βιταμίνη C. Η συνήθης ημερήσια πρόσληψη ασκορβικού που προσεγγίζει τα 100 mg/ ημέρα απορροφάται πλήρως από το λεπτό έντερο, μέσω μιας διαδικασίας ενεργού απορρόφησης (Kallner et al., 1985). Όσο η διαιτητική πρόσληψη αυξάνεται, μικρότερο βαίνει και το ποσοστό απορρόφησης, ώστε για δόσεις >1.000 mg/day να φτάνει τελικά σε ποσοστό

μικρότερο του 50% (Glatthaar et al., 1986). Οι συγκεντρώσεις του στο πλάσμα ρυθμίζονται από τη νεφρική έκκριση και παλιρρόφησή του (Jacob 2000).

Το δεϋδροασκορβικό οξύ, προϊόν οξειδωτικού μεταβολισμού του, διαπερνά παθητικά τις κυτταρικές μεμβράνες και προτιμάται ως χρησιμοποιούμενη μορφή από τα ερυθροκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα (Bigley et al., 1974). Είναι αναστρέψιμο βιολογικό αναγωγικό μόριο, με βιοχημικές δράσεις που συμπεριλαμβάνουν σίδηρο και χαλκό, παρέχοντας ηλεκτρόνια, απαραίτητα για την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου. Οι αντιοξειδωτικές του δράσεις περιλαμβάνουν τη σταθεροποίηση άλλων μορίων, όπως της βιταμίνης E και του φολικού οξέος.

Το ασκορβικό συμμετέχει επίσης στη μεταφορά λιπαρών οξέων – ως συμπαραγών σύνθεσης της καρνιτίνης- (Rebouche 1995), στη σύνθεση του κολλαγόνου ως συμπαραγόντας του ενζύμου propyl-hydroxylase, στη νευροδιαβίβαση ως συμπαραγόντας της dopamine-beta-mono-oxygenase (Katsuki 1996) και στο μεταβολισμό των προσταγλανδινών (Horrobin 1996). Συμπτώματα αβιταμίνωσης γενικά παρατηρούνται, όταν οι συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος στο πλάσμα είναι μικρότερες από 0.2 mg/dL (11 micromol/L) (Food and Nutrition Board - Institute of Medicine. Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids, National Academy Press, Washington DC 2000).

Πρόσφατη λήψη βιταμίνης C μπορεί να ομαλοποιήσει τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα, παρότι τα επίπεδα στους ιστούς υπολείπονται. Η συμπληρωματική δόση για αβιταμίνωση ποικίλει ευρέως και για ενήλικες κυμαίνεται από 300 έως 1000 mg ημερησίως για ένα μήνα (Hirschmann et al., 1999; Weinstein et al., 2001).

1.9.2.1 Δράσεις της βιταμίνης C σε παθολογικές διαδικασίες

i) Νεοεξεργασίες:

Δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις που να υποστηρίζουν σημαντικό ρόλο της βιταμίνης C στην πρόληψη του καρκίνου (Coulter et al., 2006). Η Physicians' Health Study II, που αφορούσε άνδρες ηλικίας μεγαλύτερης των 50 ετών, αξιολόγησε τη χορήγηση 500 mg βιταμίνης ημερησίως, έναντι εικονικού φαρμάκου, (Gaziano et al., 2009) χωρίς να

διαπιστώσει διαφορές για μια περίοδο 8 ετών. Μελέτη γυναικών στα πλαίσια της Women's Antioxidant Cardiovascular Study έδειξε παρόμοια αποτελέσματα για μια περίοδο 9.4 ετών (Lin et al., 2009).

Ο ρόλος της βιταμίνης στην πρόληψη νεοεξεργασιών προκύπτει από επιδημιολογικά δεδομένα σε πληθυσμούς ανθρώπων ή πειραματοζώων που εμφανίζουν ανεπάρκεια της (Hathcock 1997; Glatthaar et al., 1986; Watson et al., 1986). Σε ελεγχόμενες μελέτες παρόμοια αποτελέσματα δεν έχουν τεκμηριωθεί επαρκώς.

ii) Καρδιαγγειακή νόσος:

Τυχαιοποιημένες μελέτες δεν έδειξαν θετικά αποτελέσματα από τη χορήγηση της βιταμίνης C, τόσο για την πρωτογενή, όσο και για τη δευτερογενή πρόληψη της ισχαιμικής νόσου του μυοκαρδίου. Σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, χορήγησή της βελτιώνει τη ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, ως αποτέλεσμα αυξημένης διαθεσιμότητας NO.

iii) AEE:

Η μελέτη παρατήρησης Health Professionals Follow-up δεν απέδειξε σχέση μεταξύ της συμπληρωματικής χορήγησης βιταμίνης C (700 mg ή περισσότερο ημερησίως) και αυξημένου κινδύνου AEE (Ascherio et al., 1999).

iv) Αθηροσκλήρυνση:

Τα στοιχεία που υποστηρίζουν τη χορήγηση αντιοξειδωτικών προκύπτουν από μελέτες δευτερογενούς πρόληψης, οι οποίες έδειξαν την ελάττωση κάποιων δευτερογενών καταληκτικών σημείων. Η American Heart Association προτείνει δίαιτα με έμφαση σε φρούτα και λαχανικά (Tribble 1999).

1.9.2.2 Τοξικότητα

Σε ό,τι αφορά την αυξημένη παραγωγή οξαλικών σε υψηλές δόσεις βιταμίνης τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Κάποιες μελέτες δείχνουν αυξημένο κίνδυνο νεφρολιθίασης από οξαλικό ασβέστιο, ενώ μια προοπτική επιδημιολογική μελέτη έδειξε

μικρότερο κίνδυνο για την κατανάλωση βιταμίνης C σε υψηλές δόσεις (1500 mg/day) σε σχέση με 250 mg ή λιγότερο (Urivetzky et al., 1991).

Μεγάλες δόσεις σε ασθενείς με υπερφόρτωση σιδήρου σχετίζονται με θανατηφόρες αρρυθμίες (McLaran et al., 1982).

Το ασκορβικό προλαμβάνει την αλληλεπίδραση του υπεροξειδίου και του NO, μόνον σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις και όχι στις συνήθεις φυσιολογικές εξωκυττάριας, μεταξύ 30 και 150 $\mu\text{mol/L}$ (Jackson et al., 1998).

1.9.3 Βιταμίνη E

Υπάρχει ένας αριθμός βιολογικά ενεργών ενώσεων βιταμίνης E στη φύση, αλλά επαρκής διατήρηση στο πλάσμα επιτυγχάνεται για τέσσερις ισομερείς μορφές της α - τοκοφερόλης, οι οποίες είναι οι πιο ενεργοί βιολογικά (Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine. DRI Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academies Press, Washington DC, 2000. p. 186-283). Παρά ταύτα, τα συνθετικά σκευάσματα περιέχουν και τα οκτώ ισομερή, τα οποία συνεισφέρουν στις δυνητικές ανεπιθύμητες δράσεις της χορήγησης συμπληρωμάτων της. Στις τελευταίες συντελεί το γεγονός ότι φαρμακολογικές δόσεις α - τοκοφερόλης ελαττώνουν τα επίπεδα της γ - τοκοφερόλης στο πλάσμα (Wolf 2006; Huang et al., 2003).

1.9.3.1 Δράσεις της βιταμίνης E

Η βιταμίνη E δρα σαν εκκαθαριστής ελευθέρων ριζών, προστατεύοντας από υπεροξειδωση τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, βασικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών (Burton et al., 1983). Ανεπάρκεια της βιταμίνης E σχετίστηκε με καρδιαγγειακά γεγονότα και κεντρικό ρόλο σ' αυτές τις διαδικασίες κατέχει η LDL, μέσω της υπόθεσης της οξειδωτικής της μετατροπής (Rimm et al., 1993; Jialal et al., 1995; Hodis et al., 1995). Σ' αυτά τα πλαίσια δοκιμάστηκε η χορήγηση αντιοξειδωτικών (Stampfer et al., 1995), αλλά η χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης E δεν έδειξε σε γενικές γραμμές αποτελέσματα στην πρόληψη της καρδιακής νόσου.

Μερικές δράσεις της βιταμίνης E είναι ανεξάρτητες από τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες, συμπεριλαμβάνοντας αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της προσκόλλησης των μονοκυττάρων (Zingg et al., 2004).

Οι καθημερινές απαιτήσεις για τη βιταμίνη E ποικίλουν. Δίαιτες δυτικού τύπου 2000 έως 3000 kcal/day περιέχουν 7 έως 10 mg ισοδυνάμων α- τοκοφερόλης. Σύμφωνα με τη United States National Academy of Sciences Food and Nutrition Board συνιστώνται 15 mg ημερησίως για έφηβους και ενήλικες, ισοδύναμο 22 IU vitamin E από φυσικές πηγές (RRR-alpha-tocopherol), ή 33 IUs συνθετικής (all-rac-alpha-tocopherol) (Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine. DRI Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academies Press, Washington DC, 2000. p. 186-283). Η διαιτητικά προσλαμβανόμενη βιταμίνη πλεονεκτεί, γιατί τμήμα της παρέχεται ως γ- τοκοφερόλη. Τα μακροχρόνια αποτελέσματα και η ασφάλεια της συμπληρωματικής χορήγησης δεν είναι ξεκάθαρα. Οι περισσότερες μελέτες υποδεικνύουν ότι δόσεις 100 έως 400 IU ημερησίως είναι ασφαλείς για την πλειονότητα των ασθενών (Stampfer et al., 1995), ενώ άλλες τοποθετούνται εναντίον υψηλότερων δόσεων που συνοδεύονται από υψηλότερη θνητότητα, για παράδειγμα από αιμορραγικά AEE (Rimm et al., 1993), υποδεικνύοντας τη λήψη ιδιαίτερων προφυλάξεων σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτικά από του στόματος, όπως η βαρφαρίνη. Μεγάλες δόσεις σε παιδιά ενέχουν τον κίνδυνο νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (Finer et al., 1984).

Σύμφωνα με μια μετα- ανάλυση 19 κλινικών μελετών, δόσεις ≥ 400 IU/d σχετίζονται με σημαντική αύξηση της ολικής θνητότητας, παρότι η εξαγωγή ενός ασφαλούς συμπεράσματος κρίνεται επισφαλής, μια και οι ασθενείς που έλαβαν τις δόσεις αυτές ήταν σοβαρά ή χρόνια πάσχοντες (Miller et al., 2005). Πάντως, λόγω του κινδύνου αιμορραγιών, το Ινστιτούτο Ιατρικής συνιστά ένα ανώτερο όριο ανοχής, που για ενήλικες, χωρίς δυσαπορρόφηση λίπους ή άλλο αίτιο δυσαπορρόφησης βιταμίνης E προσδιορίστηκε στα 1000 mg alpha-tocopherol ημερησίως (1,500 IU φυσικής ή 1,100 IU συνθετικής μορφής της). Δεν περιγράφεται σύνδρομο οξείας τοξικότητας από βιταμίνη E. Πάντως, ασθενείς χωρίς ειδικές ενδείξεις πρέπει να αποφεύγουν δόσεις > 400 IU (Grade 2B).

Η τυπική δόση εκφράζεται με όρους α- τοκοφερόλης. 15 mg α- τοκοφερόλης είναι ισοδύναμο 22 IU φυσικής βιταμίνης E ή 33 IU συνθετικής.

1.9.3.2 Δράσεις της βιταμίνης E σε παθολογικές διαδικασίες

i) Νεοεξεργασίες:

Μελέτες παρατήρησης δεικνύουν αντικρουόμενα αποτελέσματα για τις δράσεις της βιταμίνης σε συγκεκριμένες νεοεξεργασίες, ειδικά σε υποομάδες, όπως οι καπνιστές (Kushi et al., 1996; Hunter et al., 1993; Zhang et al., 1999; Chan et al., 1999; Kirsh et al., 2006; Woodson et al., 1999), αλλά τυχαιοποιημένες μελέτες δεν υποστηρίζουν προστατευτικό αποτέλεσμα.

ii) Καρδιαγγειακά νοσήματα:

Σχεδόν όλες οι τυχαιοποιημένες μελέτες δεν έδειξαν προστατευτικά αποτελέσματα για πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων (Vivekananthan et al., 2003) ή έδειξαν να αυξάνουν τον κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας (Lonn et al., 2005). Για την πρωτογενή πρόληψη της ισχαιμικής νόσου του μυοκαρδίου μελέτες παρατήρησης έδειξαν ότι χορήγηση 100 IU ημερησίως σχετίζονταν με ελαττωμένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, αλλά και ελαττωμένο σχετικό κίνδυνο καρδιαγγειακής θνητότητας, παρότι τυχαιοποιημένες μελέτες δεν τεκμηρίωσαν αυτές τις δράσεις.

iii) AEE:

Η μελέτη παρατήρησης Health Professionals Follow-up δεν έδειξε σχέση μεταξύ συμπληρωματικής δόσης vitamin E (250 IU ή περισσότερο/ ημέρα) και AEE (Ascherio et al., 1999). Στη μελέτη Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE), όπως και στην επέκτασή της HOPE-TOO, συμπληρωματική δόση 400 IU ημερησίως δεν είχε σημαντικό αποτέλεσμα στον κίνδυνο AEE (Lonn et al., 2005), γεγονός που επιβεβαιώθηκε και στην τυχαιοποιημένη μελέτη ATBC study, για δόση E 50 mg (75 IU) ημερησίως. Παρά ταύτα σε υποομάδες, ιδιαίτερα σε υπερτασικούς άνδρες, η χορήγησή της ελάττωσε τον κίνδυνο ισχαιμικού AEE, αύξησε όμως τον κίνδυνο υπαραχνοειδούς αιμορραγίας (Leppala et al., 2000).

Τυχαιοποιημένη μελέτη 6 ετών με συμπληρωματική συγχορήγηση vitamin E (136 IU/ Η) και vitamin C (250 mg/ Η) έδειξε στατιστικά σημαντική βελτίωση στην ετήσια αύξηση του IMT των καρωτίδων σε σχέση με εικονικό φάρμακο (Salonen et al., 2003), ενώ στη

μελέτη HOPE για ασθενείς υψηλού κινδύνου δεν παρατηρήθηκε μεταβολή του IMT για περίοδο παρακολούθησης 4.5 ετών (Lonn et al., 2001).

1.9.4 Η χορήγηση αντιοξειδωτικών σε «ειδικούς» πληθυσμούς

Η πρώτη διπλή, τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο σε υγιή άτομα, στα πλαίσια της μελέτης ASAP (Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention) έδειξε ότι η μακροχρόνια συμπληρωματική χορήγηση 182 mg βιταμίνης E, μόνης ή σε συνδυασμό με 500 mg βιταμίνης C, ελάττωσε τη λιπιδική υπεροξείδωση in vitro και in vivo, πράγμα που δεν κατόρθωσε η χορήγηση μόνης της βιταμίνης C, ακόμη και σε υψηλότερη δόση. Σε προηγούμενες μη ελεγχόμενες μελέτες χορήγηση 100 ή 800 μονάδων βιταμίνης E ημερησίως δεν πέτυχαν παρόμοια αποτελέσματα ή, στον αντίποδα, αρκούσε χορήγηση 100 mg α- τοκοφερόλης για μια ελάττωση 34% της 8-επιπροσταγλανδίνης F-2α σε 12ωρο δείγμα ούρων, μετά από περίοδο δύο εβδομάδων (Porkkala-Sarataho et al., 2000).

Η οξειδωμένη LDL επάγει τη συσσώρευση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων και την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Η χορήγηση βιταμίνης C σε πειραματόζωα, υπό μορφήν διαιτητικών συμπληρωμάτων ή και ενδοφλέβια, προλάμβανε αυτές τις δράσεις, πράγμα που δε συνέβαινε μετά από χορήγηση λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών, πράγμα που καταδεικνύει την ευεργετική επίδραση των αντιοξειδωτικών παραγόντων υδατικής φάσης (Lehr et al., 1995).

1.9.5 Συγχορήγηση συμπληρωμάτων βιταμινών C και E

Όπως ήδη τονίστηκε, επιδημιολογικές μελέτες απέδειξαν τη σχέση μεταξύ αυξημένης πρόσληψης αντιοξειδωτικών βιταμινών, όπως η βιταμίνη C και E, και ελαττωμένης νοσηρότητας και θνητότητας από ισχαιμική νόσο του μυοκαρδίου. (Diaz et al., 1997).

Ποσοστό 47% των ανδρών και 59% των γυναικών χρησιμοποιούν διαιτητικά συμπληρώματα, που περιέχουν συν τοις άλλοις συμπλέγματα αντιοξειδωτικών βιταμινών και σελήνιο και μάλιστα τα ποσοστά αυτά δείχνουν μια αυξητική τάση. Οι ευεργετικές

αγγειακές δράσεις των αντιοξειδωτικών παρατηρήθηκαν *in vitro*, αλλά και σε μελέτες με πειραματόζωα (Hsich et al., 2000; Chen et al., 2001; Wu et al., 2006).

Η χορήγηση αντιοξειδωτικών αύξησε την ελαστικότητα των μικρών και των μεγάλων αρτηριών σε ασθενείς με πολλαπλούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και μάλιστα βελτιώνοντας το μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, ενώ παράλληλα ελάττωσε την αρτηριακή πίεση (Shargorodsky et al., 2010).

Συνδυασμός χορήγησης συμπληρωμάτων βιταμινών C και E για περίοδο 3 ετών έδειξε επιβράδυνση στην εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας των καρωτίδων (Salonen et al., 2000), ενώ ευεργετικές δράσεις αποδείχτηκαν για την οξείδωση της LDL και για την ενδοθηλιακή ροή (Plotnick et al., 1997; Devaraj et al., 2000). Προοπτικές, τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, όπως οι Cambridge Heart Antioxidant Study, Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in End-stage Renal Disease study και Cholesterol Lowering Atherosclerosis Cambridge Heart Antioxidant Study, έδειξαν ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου (Stephens et al., 1996; Boaz et al., 2000; Brown et al., 2001). Άλλες μελέτες παρέμβασης δεν έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα (Yusuf et al., 2000; de Gaetano 2001). Σε μια σειρά δώδεκα μελετών, κάποιες έδειξαν θετικά αποτελέσματα (CHAOS, SPACE, ASAP, Nurse's health study), ενώ επτά έδωσαν αρνητικά ή αμφιλεγόμενα αποτελέσματα. Μια απόπειρα ερμηνείας αυτής της αντιδιαστολής είναι ότι υπάρχουν άτομα που απαντούν ή όχι (άρα πρέπει να διαχωριστούν οι responders), ενώ πρέπει να προσδιοριστεί η «ακριβής αντιοξειδωτική» δόση, μια και μεγαλύτερες μπορεί να δρουν προς την αντίθετη κατεύθυνση ασκώντας προ-οξειδωτικές δράσεις. Πάντως, σε γενικές γραμμές, 800 iu α-τοκοφερόλης και 500 mg ασκορβικού ανά ημέρα φαίνεται να ασκούν ευεργετικές δράσεις. Μεγάλες δόσεις βιταμίνης E έδειξαν μικρή, αλλά στατιστικά σημαντική, αύξηση της θνητότητας (Miller et al., 2005), ενώ συνδυασμός χορήγησης βιταμινών E και C έδειξε αναστολή της οξείδωσης του DNA από H₂O₂ στα ανθρώπινα λεμφοκύτταρα, αύξηση του αντιοξειδωτικού δυναμικού στο πλάσμα και στους ιστούς και αποκατάσταση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειακής δραστηριότητας (Plotnick et al., 1997; Brennan et al., 2000; Dusinská et al., 2003).

Χορήγηση συνδυασμού αντιοξειδωτικών [ασκορβικό οξύ (120 mg), βιταμίνη E (30 mg), β-καροτένιο (6 mg), σελήνιο (100 microg) και ψευδάργυρος (20 mg), ημερησίως] για μια μέση περίοδο 7.5 ετών, ελάττωσε τη συνολική επίπτωση καρκίνου και την ολική

θνητότητα για τους άνδρες, ενώ τα ευεργετικά αυτά αποτελέσματα αίρονταν μετά το πέρας της περιόδου υποκατάστασης (Herberg et al., 2010). Η συγχορήγηση βιταμινών σε συνδυασμό με β-καροτένιο δεν έδειξε σημαντική δράση στον κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔ2 σε γυναίκες υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου (Song et al., 2009; Kang et al., 2009).

Βέβαια, τα αποτελέσματα της επιμέρους χορήγησης των παραπάνω αντιοξειδωτικών δε διέφεραν από εκείνα της χρήσης εικονικού φαρμάκου σε ό,τι αφορά τα σημαντικά καρδιαγγειακά συμβάματα και την ολική θνητότητα (Shekelle 2009; Sesso et al., 2008).

1.9.6 Χορήγηση βιταμινών C και E σε χρόνιους νεφροπαθείς και σε ασθενείς υπό Περιτοναϊκή Κάθαρση

Σε μια διπλή τυφλή μελέτη για ασθενείς με ήπια έως μέτρια ΧΝΑ, 18 μήνες συνδυασμένης θεραπείας με την προσθήκη και αντιοξειδωτικών παραγόντων, ταυτόχρονα με καλό έλεγχο της αρτηριακής πίεσης, ελάττωσε το IMT των καρωτίδων και την απέκκριση λευκοματίνης στα ούρα και αύξησε τη ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (Nanayakkara et al., 2007).

Σε ασθενείς υπό ΑΚ έχουν χρησιμοποιηθεί συνδυασμοί βιταμινών, με σημαντικό αποτέλεσμα στα επίπεδα της οξειδωμένης- LDL (Castilla et al., 2008).

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς δεν επιχειρήθηκε άλλοτε η χορήγηση συνδυασμού συμπληρωμάτων βιταμινών C και E, παρότι σειρά μελετών επιχείρησαν την επιμέρους χορήγησή τους:

Μελέτη από τη Βραζιλία, η οποία αφορά παιδιά με υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας (23 υπό ΠΚ, 7 υπό ΑΚ) έδειξε ότι η λήψη υδατοδιαλυτών βιταμινών υπολείπονταν σε σχέση με τις διατροφικές οδηγίες (RDA) στην πλειοψηφία τους, και μάλιστα για το ασκορβικό σε ποσοστό 80% περίπου των ασθενών (Pereira et al., 2000). Οι δόσεις των χορηγούμενων συμπληρωμάτων ποικίλλουν: Σε μελέτη 37 περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών από την Αυστρία, φάνηκε ότι η χορήγηση μιας μέσης δόσης υψηλότερης από τη συνιστώμενη κατά DRI (90 mg/ ημέρα για άνδρες και 75 mg/ημέρα για γυναίκες) (Food and Nutrition Board. Vitamin C. In: Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and

Carotenoids. Washington, DC: National Academy Press;2000 : 95-185), στο επίπεδο των 100 mg/day (με όρια 20 – 300 mg/day), οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του ασκορβικού του πλάσματος, που προσέγγιζαν εκείνα των υγιών μαρτύρων σε ποσοστό 86% (Sundl et al., 2009).

Σε άλλες μελέτες χορηγούνταν 200 mg ημερησίως και η δόση αυτή, παρά τη σημαντική, όπως αναφέρθηκε, περιτοναϊκή μεταφορά και απώλεια στο περιτοναϊκό έκπλυμα, προλάμβανε την ανάπτυξη υποβιταμίνωσης C (Mydlík et al., 1985).

Μικρές δόσεις συμπληρωμάτων βιταμίνης C, σε συνδυασμό με δίαιτα πλούσια σε καροτενοειδή, συνιστώνται σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς, καθώς μπορούν να διατηρούν φυσιολογικό αντιοξειδωτικό δυναμικό και να επιδρούν στη φλεγμονώδη διαδικασία, ενώ υψηλές δόσεις μπορούν να δρουν ως πρόδρομα μόρια πεντοσιδίνης, όπως ήδη αναφέρθηκε (Sundl et al., 2009).

Το οξαλικό οξύ θεωρείται ουραιμική τοξίνη, η οποία συμμετέχει στην παθογένεση του ουραιμικού συνδρόμου και, συνεπώς, οι καθαιρόμενοι νεφροπαθείς ωφελούνται από τη μακροχρόνια διατήρηση χαμηλών των επιπέδων του στον ορό. Είναι γνωστό πως οι μέθοδοι υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας δεν είναι αποτελεσματικές για μια μόνιμη ελάττωση των αυξημένων επιπέδων των οξαλικών στο πλάσμα (Mydlík et al., 2008; Mydlík et al., 2010a; Mydlík et al., 2010b; Mydlík et al., 2001).

Η κάθαρση των οξαλικών ήταν σημαντικά χαμηλότερη της κάθαρσης της ουρίας σε ασθενείς με υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας (για την αιμοκάθαρση το ποσοστό ήταν 58.1%) και παρέμενε, παρότι η περιτοναϊκή τους μεταφορά σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους ήταν υψηλότερη και μάλιστα όταν χρησιμοποιούνταν υπέρτονα, έναντι ισότονων διαλυμάτων γλυκόζης (Mydlík et al., 2001). Συμπερασματικά, η περιτοναϊκή κάθαρση (αλλά και η αιμοκάθαρση) δε θεωρείται αρκετά αποτελεσματική μέθοδος απομάκρυνσης των οξαλικών, άρα μόνιμης ελάττωσης των επιπέδων των οξαλικών του πλάσματος (Mydlík et al., 1998).

Η χορήγηση συμπληρωμάτων ασκορβικού σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, λόγω του κινδύνου της αύξησης των οξαλικών του ορού, που σε παρατεταμένη δράση μπορεί να οδηγήσουν αιμοκαθαιρόμενους σε δευτεροπαθή οξάλωση, με συνοδό αυξημένο κίνδυνο καρδιακής, αγγειακής και οστικής νόσου, με την τελευταία

να θεωρείται η σημαντικότερη επιπλοκή (Streefland et al., 1989). Συνολικά, τα επίπεδα των οξαλικών δείχνουν σημαντική θετική συσχέτιση με τα επίπεδα του ασκορβικού, του γλυκολικού οξέος και της κρεατινίνης (Ogawa et al., 1998) και ποικίλουν ευρέως σε ασθενείς υπό ΠΚ. Συναρτώνται μάλιστα με την παρουσία καρδιακής ή αγγειακής νόσου (Tomson et al., 1988), ενώ οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κρυσταλλογενούς αρθρίτιδας (Rosenthal et al., 1988).

Σε χρόνιους νεφροπαθείς υπό συντηρητική θεραπεία και υπό ΑΚ, η χορήγηση 2 gr βιταμίνης C εντός 2 ωρών αύξησε την αρχικά ελαττωμένη ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD), μόνο στους αιμοκαθαιρόμενους (Ghiadoni et al., 2004).

Σε ασθενείς με ΧΝΑ υπό ΠΚ, η χορήγηση ασκορβικού, σε δόση 100 mg ανά ημέρα, έδειξε αύξηση των επιπέδων των οξαλικών του πλάσματος κατά 19%, ενώ το ασκορβικό του πλάσματος αυξήθηκε κατά 60%. Η περαιτέρω ταυτόχρονη χορήγηση υδροχλωρικής πυριδοξίνης 10 mg ημερησίως από του στόματος ελάττωσε τα επίπεδα των οξαλικών κατά 17%, τα οποία προσέγγιζαν τα αρχικά τους επίπεδα, ενώ δεν επηρέασε τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος (Shah et al., 1991; Shah et al., 1992).

Χορήγηση 500 mg ημερησίως, για μια περίοδο 3 εβδομάδων, αύξησε τα επίπεδα των οξαλικών του ορού κατά περίπου 50% (κατά ~20 $\mu\text{mol/l}$), ενώ τετραπλασίασε τα επίπεδα του ασκορβικού, χωρίς σημαντική επίδραση στα επίπεδα 2,3-DPG ή του γαλακτικού (Tomson et al., 1989; Tomson et al., 1990).

Η Β6 είναι υδροδιαλυτή βιταμίνη, σημαντική για τη φυσιολογική δράση πολλαπλών οργανικών συστημάτων και σημαντικό συνένζυμο στο μεταβολισμό του οξαλικού οξέος. Μεταβολίζεται στο ενεργό μόριο 5- φωσφορική πυριδοξάλη και η ανεπάρκειά της οδηγεί σε υπεροξαλουρία και υπεροξαιμία σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο, ιδιαίτερα σε στάδια 4-5 νεφρικής ανεπάρκειας (Mydlík et al., 2004). Πράγματι, ασθενείς με ΧΝΑ και νεφροπαθείς υπό ΑΚ συχνά αναπτύσσουν ανεπάρκειά της. Ασθενείς υπό ΠΚ με συνήθη δίαιτα που περιέχει 1.3 +/- 0.2 mg vitamin B6/ ημέρα (7.7 +/- 1.2 $\mu\text{mol/l}$ ημέρα), χωρίς συμπληρωματική χορήγηση, έχουν φυσιολογικά επίπεδα βιταμίνης Β6 πλάσματος, αλλά χαμηλά επίπεδα 5' φωσφορικής πυριδοξάλης. Οι απώλειες στο περιτοναϊκό έκπλυμα ήταν μικρές προκειμένου για τη βιταμίνη Β6, χωρίς περαιτέρω επιδείνωσή τους σε φάσεις περιτονίτιδας. Για την επανάκτηση φυσιολογικών επιπέδων της φωσφορικής πυριδοξάλης

οι ασθενείς απαιτούσαν τη συμπληρωματική χορήγηση 5- 10 mg υδροχλωρικής πυριδοξίνης ημερησίως από το στόμα (Ross et al., 1989).

Σε ασθενείς υπό ΠΚ με φυσιολογικά επίπεδα βιταμίνης C, τα επίπεδα του οξαλικού οξέος εμφανίζονται σημαντικά αυξημένα στο σύνολο των περιπτώσεων, ενώ η βιταμίνη B6 ελέγχεται εντός φυσιολογικών ορίων. Η περιτοναϊκή κάθαρση των οξαλικών οξέων ήταν σημαντικά χαμηλότερη και της B6 πολύ χαμηλή σε σχέση με την περιτοναϊκή κάθαρση της ουρίας. Παρά τη σχετικά υψηλή περιτοναϊκή μεταφορά του οξαλικού, μεγαλύτερη μάλιστα για διαλύματα που περιέχουν γλυκόζη 2.5%, η σημαντική υπεροξαλουρία παραμένει (Mydlík et al., 1998).

Σε χρόνια αιμοκαθαιρόμενους, με δευτεροπαθή υπεροξαιμία, η χορήγηση βιταμίνης B6 ελάττωσε σημαντικά τα επίπεδα των οξαλικών εντός διαστήματος δύο εβδομάδων (Ενδεικτικά σε μία μελέτη από 149.5 +/- 67.0 mmol/L σε 99.0 +/- 36.4 mmol/L) και λιγότερο στη συνέχεια. Η μεγαλύτερη μείωση αφορούσε όσους είχαν αρχικά υψηλότερες τιμές. Η ελάττωση που προκύπτει προφυλάσσει από την εναπόθεση οξαλικού ασβεστίου (Balcke et al., 1983).

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, στους οποίους χορηγήθηκαν συμπληρωματικά 100 mg βιταμίνης B6 ανά ημέρα για 4 μήνες, διαπιστώθηκε ότι, παρότι δεν αυξήθηκαν τα επίπεδα του οξαλικού, η δραστηριότητα της γλουταμικής οξαλοξικής τρανσαμινάσης, δείκτη του θρεπτικού status, σε σχέση με την πυριδοξίνη, ομαλοποιήθηκε στην πλειονότητα των ασθενών. Υπ' αυτήν τη θεώρηση η ανεπάρκεια πυριδοξίνης δε συνεισφέρει σημαντικά στην υπεροξαιμία και η δόση που προαναφέρθηκε δεν είναι επαρκής για τη μείωση των οξαλικών, με τη φαρμακολογική δράση στην τρανσαμίνωση της γλυκίνης (Tomson et al., 1989). Χορήγηση πυριδοξίνης σε δόση 800 mg/ ημέρα, σε νεφροπαθείς υπό ΑΚ και ΠΚ, οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της οξειδωτικής διαδικασίας (Morgan et al., 1988).

Τα επίπεδα της βιταμίνης E και των καροτενοειδών περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών ήταν συγκρίσιμα έναντι υγιών μαρτύρων (Sundl et al., 2009). Παρότι κάποιες μελέτες σε ασθενείς με ΧΝΑ έδειξαν ότι δεν απαιτείται συμπληρωματική χορήγηση βιταμινών B12, A και E (Stein et al., 1985), συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ (300 mg τρεις φορές εβδομαδιαία, για 4 εβδομάδες) οδήγησε σε ελάττωση της οξειδωτικής βλάβης του DNA, όπως αυτή προσδιορίστηκε με comet assay

και με την ανάλυση της 8-OHdG. Μετά το διάστημα της χορήγησης, η συγκέντρωση της βιταμίνης E αυξήθηκε κατά ένα ποσοστό περίπου 50%, ενώ η αρχική -αυξημένη και στις δύο ομάδες- οξείδωση των πρωτεϊνών ελαττώθηκε (Domenici et al., 2005).

Σε αιμοκαθαιρόμενους με καρδιαγγειακή νόσο, χορήγηση 800 iu βιταμίνης E ημερησίως, ελαττώνει τα καρδιαγγειακά καταληκτικά σημεία ή το ποσοστό εμφραγμάτων μυοκαρδίου (Boaz et al., 2000). Χορήγηση συμπληρωματικά 400 mg βιταμίνης E /ημέρα, σε μια μελέτη 14 περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών, με παράλληλη λήψη πυριδοξίνης (συγκεκριμένα, όσοι ήταν σε θεραπεία με ερυθροποιητίνη έλαβαν 20 mg πυριδοξίνης /ημέρα, ενώ όσοι όχι 5 mg/day), για περίοδο 6 εβδομάδων, οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης στον ορό και σε σημαντική ελάττωση της MDA, χωρίς παράλληλη μεταβολή των ερυθροκυτταρικών ενζύμων, καταδεικνύοντας τη σημαντική δράση της α- τοκοφερόλης ως αντιοξειδωτικού παράγοντα σε ασθενείς υπό ΠΚ (Mydlík et al., 2002; Palleschi et al., 2007).

Η χορήγηση της ίδιας δόσης, για το ίδιο χρονικό διάστημα, έδειξε παρόμοια αποτελέσματα σε αιμοκαθαιρόμενους. Διακοπή της χορήγησής της για διάστημα 6 εβδομάδων σε ασθενείς υπό ΠΚ οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της ερυθροκυτταρικής υπεροξειδικής δισμουτάσης και των επιπέδων της βιταμίνης E στο πλάσμα (Mydlík et al., 2006). Σε παιδιά με ΧΝΑ υπό κάθαρση, η συνδυασμένη χορήγηση βιταμίνης E και N-acetylcysteine οδήγησε σε ελάττωση του οξειδωτικού stress εντός των T- λεμφοκυττάρων, ρυθμίζοντας παράλληλα το προφίλ των κυτοκινών (Zaniew et al., 2005; Zaniew et al., 2006).

Σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ, σε θεραπεία με ατορβαστατίνη, η επιπλέον χορήγηση α-τοκοφερόλης (800 I.U. ημερησίως, για 12 εβδομάδες) είχε ευεργετικές δράσεις στην επιδεκτικότητα της LDL για οξείδωση, δείχνοντας μια σημαντική συμπληρωματική δράση, παρότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες, για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα (Diepeveen et al., 2005).

Σε ότι αφορά τον αποπτωτικό ρυθμό των περιφερικών μονοκυττάρων, η χορήγησή της έδειξε μια αύξηση, συναρτώμενη με την ελάττωση της ενδοκυττάριας δεξαμενής θειολών μόνο σε αιμοκαθαιρόμενους και όχι σε ασθενείς υπό ΠΚ (Galli et al., 2003), ενώ στους πρώτους η χορήγηση βιταμίνης E 300 mg/ ημέρα οδήγησε σε ελάττωση των επιπέδων της

οσμωτικής ευθραυστότητας των ερυθροκυττάρων, ελαττώνοντας παράλληλα τη λιπιδική υπεροξειδωση (Uzum et al., 2006).

Η υποκατάσταση των επιπέδων Zn σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους ήταν χαμηλότερη των συνιστώμενων τιμών σε ποσοστό 96% των ασθενών και πάντως ποσοστό περίπου 16% αυτών τη χρειάζονται. Τα επίπεδά του μεταλλικού αυτού ιχνοστοιχείου στον ορό σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα βιταμίνης E (Mariak et al., 2002).

Οι δράσεις της α - τοκοφερόλης σε ασθενείς με ΧΝΑ υπό ΠΚ φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντική. (Islam et al., 2000). Η χορήγηση της βιταμίνης E ενδοπεριτοναϊκά, σε in vitro μελέτη, φάνηκε να εμφανίζει μη αναστρέψιμη, κυτταροτοξική δράση σε ανθρώπινα μεσοθηλιακά κύτταρα και συνεπώς, παράλληλα με την αναντίρρητη αντιοξειδωτική της δράση, φαίνεται να προκαλεί αλλαγές στην περιτοναϊκή διαπερατότητα, επηρεάζοντας την αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Wieczorowska-Tobis et al., 1996). Συνεπώς η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση δε συνιστάται. Υπήρχε σχέση μεταξύ του αποπρωτικού ρυθμού και των ελαττωμένων επιπέδων θειολών σε ασθενείς υπό ΑΚ, αλλά όχι σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους, μια διαφορά που μπορεί να αιτιολογείται από διαφορές σε προαποπρωτικά γονίδια. Τα επίπεδα των θειολικών ενώσεων αποκαθίστανται εν μέρει από τη χορήγηση βιταμίνης E (70 micro M) ή N-acetyl-cysteine (NAC) (0.5 mM) (Galli et al., 2003).

Στο σχεδιασμό της μελέτης μας, αποφασίστηκε, σύμφωνα με τα παραπάνω, η χορήγηση συμπληρωματικής δόσης 250 mg ασκορβικού ημερησίως, από το στόμα, σε συνδυασμό με τη χορήγηση βιταμίνης 6. Η χορηγούμενη μορφή της βιταμίνης E είναι η dl-alpha-tocopherol acetate και δόση 1 mg αντιστοιχεί σε 1 iU.

1.10 ΑΛΛΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ

1.10.1 Πρόληψη

Απαραίτητη προϋπόθεση για την πρόληψη περαιτέρω επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας, μετά τη διάγνωση χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας, αποτελεί η τακτική παρακολούθηση των δεικτών του οξειδωτικού και του καρβονυλικού stress. Η διατήρηση της νεφρικής λειτουργίας σε σταθερό επίπεδο για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό

διάστημα και η αντιμετώπιση των φλεγμονών και της δυσλειτουργίας του ανοσιακού συστήματος που παρατηρούνται στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια αποτελούν τα ουσιαστικότερα προληπτικά μέτρα.

Επιπλέον, πιθανή προληπτική δράση κατά του οξειδωτικού stress ασκεί η διόρθωση της αναιμίας των ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν υψηλά επίπεδα αντι-οξειδωτικών ουσιών, κυρίως GSH (Locateli et al., 2003). Επομένως, μια αύξηση της μάζας των ερυθροκυττάρων μπορεί να αυξήσει την αντι-οξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Επίσης, οι αναιμικοί ασθενείς χαρακτηρίζονται από μια σειρά διαταραχών που συμβάλλουν στη δημιουργία και διατήρηση του οξειδωτικού stress, όπως: α) αύξηση των κατεχολαμινών, λόγω της υποξαιμίας και του αντιδραστικού υπεραερισμού, β) διέγερση των ουδετεροφίλων, γ) αποσύνθεση των πουρινών μέσω της ξανθινο-οξειδάσης των υποξικών ιστών, και δ) μερική αποσύνδεση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Sommerburg et al., 1998).

Η διόρθωση της αναιμίας και, κατά συνέπεια, η βελτίωση των παραπάνω διαταραχών οδηγεί σε προφύλαξη ή περιορισμό του οξειδωτικού stress των ιστών. Σημειώνεται ότι στους ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση η αναιμία φαίνεται να ελέγχεται καλύτερα σε σχέση με τους αιμοκαθαίρομενους. Οι πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την καλύτερη διατήρηση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας, τη μικρότερη αιμοαραιώση και φλεγμονή, τη μικρότερη απώλεια σιδήρου και τις διαφορετικές μεθόδους απομάκρυνσης των ουραιμικών τοξινών, ενώ κατά την αιμοκάθαρση παρατηρείται πιθανώς κάποιος βαθμός απώλειας αίματος (Li et al., 2004).

1.10.2 Θεραπεία

Η χορήγηση N-ακετυλκυστεΐνης σε πειραματόζωα (2 g/L NAC) ήταν πιο αποτελεσματική στην ανακοπή της προόδου της σκλήρυνσης της περιτοναϊκής μεμβράνης, έναντι της διακοπής της περιτοναϊκής κάθαρσης για ένα διάστημα ανάπαυσης. Η ελάττωση της φλεγμονής και της αγγείωσης, που επάγει, είναι δυνητικές ωφέλιμες δράσεις για την προστασία της μεμβράνης (Bozkurt et al., 2009).

Η χορήγηση N- ακετυλκυστεΐνης σε κυτταροκαλλιέργειες ανθρώπινων, περιτοναϊκών, μεσοθηλιακών κυττάρων, ασκούσε προστασία από την PDF- επαγόμενη βλάβη, διατηρώντας τη δράση της ανηγμένης γλουταθειόνης (Kuo et al., 2009). Η χορήγηση NAC μπορεί να καταστέλλει τη γένεση καρβοξυ-μεθυλ- λυσίνης, ενός σημαντικού προϊόντος γλυκοσυλίσωσης και οξειδωσης (Nakayama et al., 1999).

Σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ, η χορήγηση TMZ 60 mg/day, για περίοδο 6 μηνών, μπορεί να προλαμβάνει τα αποτελέσματα της αυξημένης οξειδωτικής διαδικασίας, μέσω των συστηματικών αντιοξειδωτικών δράσεών της, ενώ παράλληλα δρα επωφελώς στις καρδιαγγειακές επιπλοκές, τη μέγιστη αιτία θνητότητας των ασθενών με ΧΝΑ τελικού σταδίου. Τα επίπεδα της μαλονυλοδιαλδεύδης του πλάσματος μετά τη θεραπεία μειώθηκαν σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ (Aygen et al., 2008).

Σημαντική είναι η δράση των αναστολέων του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης II, στην ελάττωση του οξειδωτικού stress των ασθενών με ΧΝΑ (Aslam et al., 2006; Agarwal 2003) και των περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών (Furuya et al., 2006).

Σε in vitro μοντέλα ΠΚ η χορήγηση κυτταροπροστατευτικών παραγόντων, όπως η κερκετίνη, παριστά μια εναλλακτική μέθοδο προστασίας των μεσοθηλιακών κυττάρων από τη συχνή εφαρμογή περιτοναϊκών διαλυμάτων, σχεδόν ισοδύναμη με την εφαρμογή νεώτερων πιο βιοσυμβατών διαλυμάτων (Riesenhuber et al., 2007).

Αναφέρθηκε ήδη ο ρόλος της αμινογουανιδίνης στην απομάκρυνση των GDPs, συνεπώς και στην πρόληψη του σχηματισμού των AGEs. Συνεισφέρει όμως παράλληλα και στην ανενεργοποίηση της διεγέρσιμης συνθετάσης του NO (inducible NO synthase: iNOS) προλαμβάνοντας την έκφραση αυξητικών παραγόντων και οδηγώντας σε μείωση του αγγειακού πολλαπλασιασμού (Giri et al., 2002) και σε ελάττωση των ιστοπαθολογικών μεταβολών που παρατηρούνται σε διαβητικούς ασθενείς, αφού ο διαβήτης σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή και άθροιση AGEs (Thornalley 2003). Στους ασθενείς που υποβάλλονται σε περιτοναϊκή κάθαρση η αμινογουανιδίνη -μόνη της ή σαν σύμπλοκο- μπορεί να προστεθεί στο διάλυμα κάθαρσης και έτσι να χορηγηθεί τοπικά και σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές που οδηγούν σε τοξικότητα. Το OPB-9195 [2-isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide] αποτελεί ένα νέο αναστολέα της προκεχωρημένης γλυκοσυλίσωσης και ανήκει σε μια ομάδα παραγώγων θειαζολιδίνης. Αναστέλλει το σχηματισμό AGEs και ALEs, πιθανώς μέσω της ικανότητάς του να

δεσμεύει ενεργά καρβονυλικά προϊόντα, ενώ η αποτελεσματικότητά του είναι παρόμοια με αυτήν της αμινογουανιδίνης (Miyata et al., 2000; Yamamoto et al., 2001). Η πυριδοξαμίνη είναι ένας αναστολέας σχηματισμού AGEs, που δρα μετά την αντίδραση Amadori, και μπορεί να παγιδεύει τα δικαρβονυλικά ενδιάμεσα παράγωγα κατά τη διαδικασία σχηματισμού των AGEs. Μπορεί ακόμα να αναστείλει το σχηματισμό των ALEs. Η πυριδοξαμίνη χρησιμοποιείται κυρίως πειραματικά για την πρόληψη της προόδου της διαβητικής νεφροπάθειας, αλλά μπορεί να είναι χρήσιμη σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση και άθροιση τελικών προϊόντων προκεχωρημένης γλυκοσυλίωσης και λιποξείδωσης (Waanders et al., 2008; Bohlender et al., 2005; Alderson et al., 2003).

Το θειώδες νάτριο μπορεί επίσης να δρα αντιοξειδωτικά, καταστέλλοντας τις δράσεις συγκεκριμένων GDPs στο αγγειακό τοίχωμα και παρεμποδίζοντας τη νεοαγγειογένεση αλλά και τις μακροσκοπικές μεταβολές που προκαλούνται από δραστικά καρβονυλικά προϊόντα, όπως το methylglyoxal (Nakayama et al., 2003). Ο ανταγωνισμός της δράσης των AGEs μπορεί να επιτευχθεί και με τον αποκλεισμό των υποδοχέων τους (RAGE). Σε πειραματικό μοντέλο πειραματόζωων αποδείχθηκε ότι η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση αντι-RAGE αντισώματος προλαμβάνει την παραγωγή TGF- β και την επιθηλιακή -προς μεσεγχυματική- μετατροπή των μεσοθηλιακών κυττάρων του περιτοναίου με τη συνεπακόλουθη ίνωσή του (De Vriese et al., 2006).

Για τις δράσεις των νεώτερων διαλυμάτων (ικοδεξτρίνης ή αμινοξέων) ήδη έγινε ειδική αναφορά. Μια άλλη υποσχόμενη μέθοδος είναι η σύνδεση παραγόντων που δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σε συνθετικά σφαιρίδια των οποίων το μέγεθος επιτρέπει την απομάκρυνσή τους πριν την έγχυση του διαλύματος περιτοναϊκής κάθαρσης στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Έτσι, μπορεί να αποφευχθεί η πιθανή συστηματική τοξικότητα των παραπάνω παραγόντων, μετά τη διάχυση από την περιτοναϊκή κοιλότητα, ενώ ταυτόχρονα μπορούν να ασκήσουν τις δράσεις τους στην απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών και των AGEs. Ακόμα, αυτά τα συνδεδεμένα μόρια μπορούν να βελτιώσουν τη βιοσυμβατότητα των διαλυμάτων που βασίζονται σε γλυκόζη και πιστεύεται ότι συμβάλλουν στη διατήρηση της διαβατότητας της περιτοναϊκής μεμβράνης σε ασθενείς υπό μακροχρόνια περιτοναϊκή κάθαρση (Yamamoto et al., 2007).

Όπως και στην αιμοκάθαρση, η βελτίωση της «ποιότητας» της διαδικασίας περιτοναϊκής κάθαρσης και η καλύτερη βιοσυμβατότητα βαίνουν παράλληλα με την ποιότητα των

χρησιμοποιούμενων διαλυμάτων. Προς αυτή την κατεύθυνση χρησιμοποιούνται νεότερα διαλύματα, τα οποία περιέχουν γλυκόζη σε μικρότερη συγκέντρωση, όπως το Physioneal, που περιέχει διττανθρακικά και γαλακτικό οξύ -διατηρώντας ένα ουδέτερο pH 7,4- μέσα σε διάλυμα γλυκόζης, με μικρότερη συγκέντρωση GDPs (Mortier et al., 2004; Fischbach et al., 2004). Τα διαλύματα διττανθρακικών / γαλακτικού οξέος επιδρούν ευνοϊκά στη διατροφική κατάσταση των ασθενών, μέσω της αύξησης της όρεξης και της ελάττωσης της φλεγμονώδους κατάστασής (Bilgic et al., 2007).

Διαλύματα με ουδέτερο pH, όπως το Balance®, φαίνεται να ασκούν σημαντικές δράσεις ακόμη και στον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων περιτοναϊκών μεσοθηλιακών κυττάρων (προστατεύοντας έτσι από την «απογύμνωση» του μεσοθηλίου) και στη διατήρηση της βιωσιμότητάς τους σε σύγκριση με τα κοινά διαλύματα. Το συγκεκριμένο διάλυμα σχηματίζεται σε ένα σύστημα διπλών θαλάμων, στο οποίο η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης σε τιμές pH 2,8-3,2 διαχωρίζεται από ένα αλκαλικό διάλυμα, με συνέπεια τη σημαντική ελάττωση της παραγωγής GDPs. Στη συνέχεια, αμέσως πριν από τη χρήση, τα διαλύματα και από τους δύο θαλάμους αναμιγνύονται και προκύπτει ένα διάλυμα με ουδέτερο pH και ελαττωμένη συγκέντρωση GDPs (Witowski et al., 2004).

Η περιτοναϊκή κάθαρση συνεχούς ροής (continuous flow peritoneal dialysis, CFPD), η οποία δημιουργήθηκε -στην αρχική της μορφή- πριν αρκετά έτη ως «περιτοναϊκή κάθαρση επανακυκλοφορίας», αλλά δεν τέθηκε σε εφαρμογή καθώς ήταν περίπλοκη και δύσκολη, συνδυάζει την περιτοναϊκή κάθαρση με την τεχνική της αιμοκάθαρσης. Η λογική της μεθόδου είναι ότι η συνεχής πλύση της περιτοναϊκής κοιλότητας σε σχετικά υψηλές ροές με φρέσκο ή αναγεννημένο υγρό κάθαρσης μπορεί να διατηρήσει τη μέγιστη αποτελεσματική ωσμωτική και διαχυτική κλίση που είναι απαραίτητη για την καλύτερη κάθαρση ουσιών και την υπερδιήθηση. Η υπερδιήθηση στην CFPD μπορεί να επιτευχθεί με διάλυμα χαμηλής συγκέντρωσης σε γλυκόζη (και επομένως χαμηλής ωσμωτικής πίεσης), αφού η πίεση διήθησης διατηρείται από τη μεγαλύτερη ροή διαλύματος. Έτσι, προκαλούνται λιγότερες μεταβολικές επιπλοκές, μικρότερη παραγωγή GDPs και οξειδωτικού stress, και βελτιώνεται η βιοσυμβατότητα (Passlick-Deetjen et al., 2001), με μικρότερα ποσοστά περιτονίτιδας και μείωση των απωλειών πρωτεϊνών και αμινοξέων. Δυστυχώς, η CFPD δε χρησιμοποιείται ευρέως, λόγω των ιδιαίτερων τεχνικών χαρακτηριστικών της, του υψηλού κόστους, του απρόβλεπτου ρυθμού υπερδιήθησης, αλλά

και των άγνωστων μακροπρόθεσμων δράσεων στη δομή της περιτοναϊκής μεμβράνης και στους αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού (Diaz-Buxo 2004; Diaz-Buxo 2005).

Η χορήγηση σιδήρου είναι συνήθης στη θεραπευτική των περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών. Η ενδοφλέβια χορήγησή του (κυρίως υπό μορφή συμπλόκου δεξτράνης) συνήθως επιτείνει τη φλεγμονή και την οξειδωτική κατάσταση, ενώ οι μορφές του γλυκονικού σιδήρου (62,5 mg) ή συμπλόκου σιδήρου-σουκρόζης (100 mg) φαίνεται να υπερτερούν (De Vecchi et al., 2007; Saglam et al., 2007). Ο ρυθμός χορήγησής του δε φαίνεται να επηρεάζει τις παραπάνω παραμέτρους, άρα μπορεί να χορηγηθεί ταχέως -σε αντίθεση με την αιμοκάθαρση.

Όπως έχει αναφερθεί το χρόνιο οξειδωτικό stress αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή και συνολική θνητότητα, αλλά και προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Οι ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση χαρακτηρίζονται από διαταραχές των λιπιδίων, και κυρίως από υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων. Η χορήγηση στατινών, πέρα από το υπολιπιδαιμικό αποτέλεσμα, μπορεί να οδηγεί σε μείωση των δεικτών της φλεγμονής ή του οξειδωτικού stress (όπως η CRP και η MDA), να συμβάλλει στη διατήρηση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας, καθυστερώντας παράλληλα την πρόοδο της νεφρικής ανεπάρκειας (Πιθανώς, μέσω της μεταβολής της απάντησης των νεφρών στη δυσλιπιδαιμία) και στη μείωση της καρδιαγγειακής και συνολικής θνητότητας (Ignace et al., 2009; Paraskevas 2008; Goldfarb-Rumyantzev et al., 2007).

Αναφέρθηκε επίσης ο ρόλος των αναστολέων μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης (AMEA) και των αναστολέων των AT₁ υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II, παράγοντες που ελαττώνουν την παραγωγή ιόντος υπεροξειδίου και το αγγειακό οξειδωτικό stress και περιορίζουν την παραγωγή H₂O₂ και επομένως το σχηματισμό των οξειδωτικών παραγώγων του (Wanner et al., 2002; Münzel et al., 2001; Furuya et al., 2006; Sugiyama et al., 2005). Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα σε ζώα και ανθρώπους οι AMEA και οι AT₁ ασκούν προστατευτικές δράσεις στην περιτοναϊκή μεμβράνη, επιβραδύνοντας τις μορφολογικές και λειτουργικές μεταβολές που προκαλεί η μακροχρόνια περιτοναϊκή κάθαρση (Kolesnyk et al., 2007; Kolesnyk et al., 2009).

Η από του στόματος χορήγηση φυλλικού ή 5-μεθυλτετραϋδρο-φυλλικού (5-MTHF), ελαττώνει τις συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης του πλάσματος των ασθενών με χρόνια

νεφρική ανεπάρκεια. Ως γνωστόν, η ομοκυστεΐνη (ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αθηροσκλήρυνση), προκαλεί ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μέσω ανενεργοποίησης του NO και μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό stress (Baragetti et al., 20047; Tyagi et al., 2005). Σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια, η ομαλοποίηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης του πλάσματος μπορεί να ελαττώσει την πάχυνση του μέσου χιτώνα των καρωτίδων (Vianna et al., 2007), χωρίς όμως να επιδρά θετικά στη μείωση της θνησιμότητας των χρονίως νεφροπαθών ασθενών (Zoungas et al., 2006; Jamison et al., 2007), ενώ σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους, βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία και μάλιστα ανεξάρτητα από την πτώση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης (Vlassara et al., 1988).

2. Στόχος

Ο στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη δεικτών οξειδωτικού (και καρβονυλικού) stress σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, υπό συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (ΣΦΠΚ), σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, και εν συνεχεία η επίδραση της χορήγησης αντιοξειδωτικών και συγκεκριμένα 250 mg/ημέρα βιταμίνης C μόνης, ή σε συνδυασμό με 200 mg/ ημέρα βιταμίνης E, στους δείκτες αυτούς. Η εκτίμηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης έγινε με τον προσδιορισμό της δραστηριότητας αντιοξειδωτικών ερυθροκυτταρικών ενζύμων, και συγκεκριμένα της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και της μαλονυλοδιαλδεύδης (ή ακριβέστερα των TBARS, ως προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης) στο πλάσμα, στα ερυθροκύτταρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στα ούρα (σε όσους βέβαια ασθενείς διατηρούν κάποιου βαθμού υπολειματική νεφρική λειτουργία), καθώς και των καρβονυλιωμένων παραγώγων πρωτεϊνών στο πλάσμα, σε τρία στιγμιότυπα και συγκεκριμένα πριν από τη χορήγηση αντιοξειδωτικών, μετά τη χορήγηση βιταμίνης C και τελικά μετά από τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C και E.

3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή υπάρχουν δύο ομάδες, η ομάδα μελέτης (Ομάδα Α) και η ομάδα ελέγχου (Ομάδα Β). Τόσο οι ασθενείς όσο και τα υγιή άτομα συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη μετά από ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους.

3.1.1 Ομάδα Μελέτης (Ομάδα Α)

Η ομάδα μελέτης αποτελείται από 20 ασθενείς με Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια (ΧΝΑ) τελικού σταδίου, υπό συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (ΣΦΠΚ), με μέσο όρο ηλικίας τα 58 έτη (51 έως 70 έτη).

Κριτήρια ένταξης (inclusion criteria) στην ομάδα Α:

1. Ηλικία > 50 ετών.
2. Φύλο: Άρρενες και θήλεις.
3. Πρωτοπαθές νόσημα: Χωρίς εξαίρεση.
4. Διάρκεια εφαρμογής ΣΦΠΚ > 6 μήνες.
5. Σταθερό σχήμα κάθαρσης, για > 2 μήνες από την έναρξη και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης.

Κριτήρια αποκλεισμού (exclusion criteria) στην ομάδα Α:

1. Επεισόδιο περιτονίτιδας κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου διάρκειας 4 εβδομάδων πριν από την έναρξη, όπως και κατά τη διάρκεια της μελέτης
2. Οξύ λοιμώδες νόσημα κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου 4 εβδομάδων πριν από την έναρξη, όπως και κατά τη διάρκεια της μελέτης.
3. Παρόξυνση (οξεία φάση) άλλου φλεγμονώδους νοσήματος (π.χ. κρίση ουρικής αρθρίτιδας, οξεία παγκρεατίτιδα κ.α.) κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου 4 εβδομάδων πριν από την έναρξη, όπως και κατά τη διάρκεια της μελέτης.

4. Χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα (π.χ. Χρόνιες ηπατικές νόσοι, χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου κ.τ.λ.).

5. Χρόνια νοσήματα του συνδετικού ιστού σε έξαρση.

6. Λήψη Μη Στεροειδών Αντιφλεγμονωδών παραγόντων (ΜΣΑΦ), αλλοπουρινόλης, αντιοξειδωτικών παραγόντων (εξαιρουμένων όσων εμφανίζουν παράπλευρες αντιοξειδωτικές δράσεις, όπως στατίνες, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, αποκλειστές διαύλων ασβεστίου, αναστολείς των υποδοχέων AT1 της αγγειοτενσίνης II κ.α.).

7. Μη επαρκής ρύθμιση σακχαρώδους διαβήτη (HbA1c > 7.5%), εφ' όσον κατά την αρχική εκτίμηση, πριν από τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών παραγόντων, παρατηρηθούν αποκλίσεις στο επίπεδο της οξειδοαναγωγικής τους κατάστασης, σε σχέση με τους υπόλοιπους ασθενείς της ομάδας μελέτης.

3.1.2 Ομάδα Ελέγχου (Ομάδα Β)

Η ομάδα ελέγχου αποτελείται από 10 «υγιή» άτομα, που χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες, με μέσο όρο ηλικίας τα 55 έτη (52 έως 68 έτη).

Κριτήρια ένταξης (inclusion criteria) στην ομάδα Β:

1. Ηλικία > 50 ετών.
2. Φύλο: Άρρενες και θήλεις.
3. Φυσιολογική νεφρική λειτουργία, όπως προκύπτει από τον προσδιορισμό των τιμών της ουρίας και της κρεατινίνης του ορού.

Κριτήρια αποκλεισμού (exclusion criteria) στην ομάδα Β:

1. Παρόξυνση (οξεία φάση) φλεγμονώδους νοσήματος (όπως περιγράφηκε για την ομάδα Α).
2. Χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα.

3. Χρόνια νοσήματα του συνδετικού ιστού σε έξαρση.
4. Λήψη μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών παραγόντων (ΜΣΑΦ), αλλοπουρινόλης και αντιοξειδωτικών παραγόντων (όπως περιγράφηκε για την ομάδα Α).
5. Μη επαρκής ρύθμιση σακχαρώδους διαβήτη (HbA1c > 7.5%).
6. Μεταβολικά νοσήματα (π.χ. δυσλιπιδαιμία, υπερουριχαιμία κ.α.).
7. Έκδηλη διαταραχή του επιπέδου θρέψης.

3.2 Χορήγηση Αντιοξειδωτικών Παραγόντων

Επιλέχθηκε η χορήγηση ασκορβικού οξέος (Βιταμίνη C, ως κρυσταλλική, μη απολύτως κεκαθαυμένη μορφή του εμπορίου), σε δόση 250 mg ημερησίως από του στόματος και στη συνέχεια η συγχορήγηση α- τοκοφερόλης (βιταμίνη E), σε συνολική δόση 200 mg ημερησίως από του στόματος, σε δύο διαιρεμένες δόσεις, (ως capsules vitamin E- acetate 100 mg). Η χορηγούμενη δόση, στη μορφή που επιλέχθηκε ισοδυναμεί με 200 i.u. της βιταμίνης E. Εξ αρχής και καθ' όλην τη διάρκεια της μελέτης χορηγήθηκε επίσης υδροχλωρική πυριδοξίνη (βιταμίνη B6), ως δισκία Besix, 250 mg ημερησίως, από του στόματος.

3.3 Μετρήσεις της οξειδοαναγωγικής κατάστασης

Η εκτίμηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης θα γίνει με τον προσδιορισμό:

- 1) Των αντιοξειδωτικών ενζύμων υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx).
- 2) Της ολικής αντιοξειδωτικής κατάστασης- ικανότητας (TAC) του ορού, των ερυθροκυττάρων, των ούρων (σε όσους βέβαια από τους ασθενείς διατηρείται κάποιου βαθμού υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία) και του περιτοναϊκού εκπλύματος.

3) Της μαλονυλοδιαλδεύδης (MDA), ή ακριβέστερα των θειοβαρβιτουρικών (TBARS), ως προϊόντων- δεικτών λιπιδικής υπεροξειδωσης

4) Των καρβονυλιωμένων παραγώγων πρωτεϊνών

Οι μετρήσεις θα γίνουν στα εξής στιγμιότυπα:

Χρονική στιγμή 0: Κλινική και εργαστηριακή εκτίμηση των ασθενών και των υγιών μαρτύρων, για τυχόν ύπαρξη κριτηρίων αποκλεισμού και διαμόρφωση των δύο υπό μελέτη ομάδων (Α και Β).

I) Πρώτο δείγμα αίματος και ούρων για τον προσδιορισμό όλων των υπό μελέτη παραμέτρων στις ομάδες Α και Β

II) Πρώτο δείγμα περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό της TAC, TBARS στα άτομα της ομάδας Α.

Χρονική στιγμή 1 (μετά από 4 εβδομάδες):

I) Δεύτερο δείγμα αίματος, ούρων και περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη παραγόντων της ομάδας Α.

II) Δεύτερο δείγμα περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό της TAC, TBARS στα άτομα της ομάδας Α.

III) Μετά τη λήψη των δειγμάτων, έναρξη χορήγησης 250 mg ασκορβικού οξέος (vitamin C) σε συνδυασμό με 250 mg βιταμίνης Β6 ημερησίως, από του στόματος.

Χρονική στιγμή 2 (μετά από 8 εβδομάδες):

I) Τρίτο δείγμα αίματος, ούρων και περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη παραγόντων της ομάδας Α.

II) Τρίτο δείγμα περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό της TAC, TBARS στα άτομα της ομάδας Α.

III) Μετά τη λήψη των δειγμάτων έναρξη συγχορήγησης 200 i.u. βιταμίνης Ε ημερησίως, από του στόματος.

Χρονική στιγμή 3 (μετά από 12 εβδομάδες):

I) Τέταρτο δείγμα αίματος, ούρων και περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη παραγόντων της ομάδας A.

II) Τέταρτο δείγμα περιτοναϊκού εκπλύματος για τον προσδιορισμό της TAC, TBARS στα άτομα της ομάδας A.

Δεν κρίθηκε απαραίτητο να μεσολαβήσει ενδιάμεσο διάστημα, χωρίς τη λήψη αντιοξειδωτικού παράγοντα μεταξύ των φάσεων 3 και 4 (wash-out period), εφόσον η μεταβολή της οξειδωτικής κατάστασης θα αποδοθεί κυρίως στην προσθήκη της βιταμίνης E, μιας και η βιταμίνη C, ασκεί το μέγιστο της αντιοξειδωτικής δράσης της ήδη μεταξύ των φάσεων 1 και 2 της αρχικής χορήγησής της.

3.4. Μέθοδοι

3.4.1 Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)

Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, το οποίο καταλύει την αυτο-οξείδωση του ανιόντος υπεροξειδίου (O_2^-) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και μοριακό οξυγόνο. Για τον προσδιορισμό της δραστηρότητάς της έχουν αναπτυχθεί πολλές άμεσες και έμμεσες μέθοδοι.

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο της Sigma-Biochemica με κωδικό αριθμό «19160». Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της οξειδάσης της ξανθίνης και ένα καινοτόμο χρωματικό παράγοντα. Συγκεκριμένα, η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα ιδιαίτερα υδατοδιαλυτό τετραζολικό άλας [2-(4-Iodophenyl)- 3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)- 2H-tetrazolium, monosodium salt], το οποίο παράγει μια υδατοδιαλυτή χρώση, καθώς ανάγεται από ένα ανιόν υπεροξειδίου. Ο ρυθμός μείωσης του οξειδίου μεταβάλλεται γραμμικά σε σχέση τη δραστηρότητα της οξειδάσης της ξανθίνης, η οποία αναστέλλεται από τη SOD. Συνεπώς, η δραστηρότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης μπορεί να μετρηθεί μέσω χρωματομετρικής μεθόδου (Vaculin et al., 2010; Katsoulis et al., 2010; Otitoloju et al., 2011).

3.4.2 Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx, EC 1.11.1.9) παρέχει ένα μηχανισμό για την εκκαθάριση των υπεροξειδίων στα ζώντα κύτταρα. Αυτή η αντίδραση παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυττάρων έναντι των βλαπτικών δράσεων των ελευθέρων ριζών. Τα λιπιδικά συστατικά του κυττάρου είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις δράσεις των τελευταίων, σχηματίζοντας προϊόντα υπεροξειδωσίας.

Τα GPx ένζυμα ανάγουν τα υπεροξειδία σε αλκοόλες χρησιμοποιώντας τη γλουταθειόνη, επομένως προστατεύουν από το σχηματισμό των ελευθέρων ριζών. Τα GPx ένζυμα θα καταλύσουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και μια μεγάλη ποικιλία οργανικών υπεροξειδίων (R-OOH) στις αντίστοιχες σταθερές αλκοόλες (R-OH) και σε νερό, χρησιμοποιώντας την κυτταρική γλουταθειόνη ως το αναγωγικό στοιχείο. Οι περισσότερες υπεροξειδάσες της κυτταρικής γλουταθειόνης είναι τετραμερή ένζυμα που αποτελούνται από 4 μονομερή 22 kDa, το καθένα από τα οποία περιέχει μια ρίζα σεληνοκυστεΐνης στην ενεργό περιοχή του μορίου [Βέβαια υπάρχουν επίσης GPx ένζυμα που δεν περιέχουν σελήνιο (non-Se)].

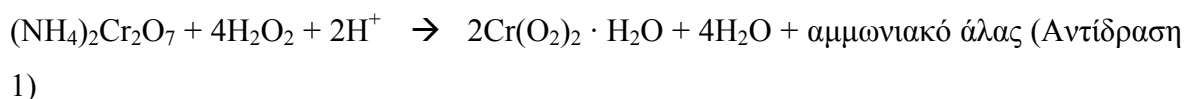
Η σεληνοκυστεΐνη παίρνει άμεσα μέρος στην απόδοση του ηλεκτρονίου στο υπόστρωμα του υπεροξειδίου και οξειδώνεται μέσω αυτής της διαδικασίας. Το ένζυμο στη συνέχεια χρησιμοποιεί την αναχθείσα γλουταθειόνη ως δότη υδρογόνου για την αναγέννηση της σεληνοκυστεΐνης. Η κυτταρική GPx είναι παρούσα σε όλους τους ιστούς, ωστόσο διάφορες παθολογικές καταστάσεις επηρεάζουν –πιθανώς- τα επίπεδά της. Για παράδειγμα, αύξηση στο επίπεδο της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης έχει παρατηρηθεί σε δικτυοερυθροκύτταρα διαβητικών ποντικών. Τα παθολογικά αυτά επίπεδα αποκαθίστανται έπειτα από θεραπεία με ινσουλίνη.

Για την μέτρηση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο της Sigma με κωδικό «CGP1». Η μέθοδος βασίζεται στη οξείδωση της γλουταθειόνης σε οξειδωμένη γλουταθειόνη, αντίδραση η οποία καταλύεται από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Η οξειδωμένη γλουταθειόνη ανάγεται πάλι σε γλουταθειόνη μέσω της αναγωγάσης της γλουταθειόνης και τη χρήση NADPH. Η μείωση του NADPH σε $NADP^+$ είναι ενδεικτική της δράσης της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης αφού το ένζυμο ορίζει

το ρυθμό των αντιδράσεων και μετράται φωτομετρικά στα 340 nm (Vaculin et al., 2010; Bao et al., 1997; Tan et al., 2010).

3.4.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)

A. Για την μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στον ορό, στα ερυθροκύτταρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στα ούρα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυανού του CrO₅ (Charalampidis et al., 2009). Η παρούσα μέθοδος βασίζεται στη χρήση ενός ισχυρού οξειδωτικού, του υπεροξειδίου του χρωμίου [Cr(O₂)₂ · H₂O ή εν συντομία CrO₅]. Η ουσία αυτή είναι προϊόν της αντίδρασης :



Το υπεροξείδιο του χρωμίου είναι ένα βαθυκύανο προϊόν, σχετικά σταθερό σε πολικούς οργανικούς διαλύτες, με μέγιστο φωτομετρικής απορρόφησης σε μήκος κύματος $\lambda = 569$ nm σε ισοαμυλική αλκοόλη, και $\lambda = 566$ nm σε ανθρακικό προπυλεστέρα. Για το όξινο περιβάλλον της αντίδρασης χρησιμοποιήθηκαν οξέα όπως H₂SO₄ και HClO₄. Όταν τα προϊόντα της αντίδρασης (1) αναμιχθούν με οργανικό διαλύτη, π.χ ισοαμυλική αλκοόλη, το σχηματιζόμενο CrO₅ μεταφέρεται στην οργανική φάση του διφασικού διαλύματος (διάλυμα 1). Τα αντιοξειδωτικά μόρια οποιασδήποτε ουσίας ή βιολογικού δείγματος, εάν προστεθούν στο ως άνω διάλυμα, καταστέλλουν το βαθυκύανο χρώμα του CrO₅. Ο βαθμός καταστολής του χρώματος του διαλύματος (1), ελεγχόμενος φωτομετρικά, αντιστοιχεί στην αντιοξειδωτική ικανότητα (ή την οξειδωτική κατάσταση) (TAC) του υπό εξέταση δείγματος. Με βάση τα παραπάνω, η μέθοδος βαθμονομήθηκε όσον αφορά την TAC (διάλυμα 1) σε αντιστοιχία με συγκέντρωση α-τοκοφερόλης (βιταμίνη-E), ως πρότυπου αντιοξειδωτικού σώματος.

Αναλυτικά, 240μL οργανικού διαλύτη (3-methylbutanol), 80μL δ/τος διχρωμικού αμμωνίου 0.02M, 80μL δ/τος σουλφουρικού οξέος 0.025M και 4μL δείγματος προστίθενται σε πλαστική κυβέτα του 1ml. Η κυβέτα επωάζεται στο φασματοφωτόμετρο για 3 λεπτά και η ένδειξη μηδενίζεται. Η κυβέτα αφαιρείται από το μηχάνημα και προστίθενται 4μL

δ/τος υπεροξειδίου του υδρογόνου 1.6M. Ακολουθεί ελαφρά ανάδευση της κυβέτας και τοποθέτηση της στο φασφατοφωτόμετρο για επώαση 3 λεπτών. Μετά την πάροδο των 3 λεπτών καταγράφεται η ένδειξη της απορρόφησης. Για κάθε δείγμα γίνεται τριπλή επαλήθευση. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και για το blank και το standard δ/μα με τη διαφορά ότι προστίθενται 4μL οργανικού διαλύτη και 4μL δ/τος α-τοκοφερόλης 0.1M αντίστοιχα αντί για δείγμα. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται στους 37°C και το μήκος κύματος έχει οριστεί στα 569nm. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος συγκρίνεται με την αντιοξειδωτική ικανότητα του δ/τος 0.1M α-τοκοφερόλης, και εκφράζεται σε ισοδύναμα moles/lit α-τοκοφερόλης, σύμφωνα με τον τύπο:

$$TAC_{\text{sample}} = [\alpha\text{-tocopherol}] \times [(\Delta A_{\text{blank}} - \Delta A_{\text{sample}}) / (\Delta A_{\text{blank}} - \Delta A_{\text{standard}})]$$

B. Εναλλακτικά χρησιμοποιήθηκε φωτομετρική μέθοδος, η οποία σε μήκος κύματος 600 nm και σε θερμοκρασία του διαλύματος 37⁰ C, προσδιορίζει το χρόνο αντίδρασης της δράσης αντιοξειδωτικών έναντι της επαγόμενης από μυσφαιρίνη οξείδωσης της 2,2'-azino-di[3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS), χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο της Randox, με κωδικό NX 2332. Το αποτέλεσμα τελικά εκφράζεται ως ισοδύναμα Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethoxylchroman-2-carboxylic acid), ενός υδατοδιαλυτού αναλόγου της βιταμίνης E.

Συγκεκριμένα, η ABTS (610 μmol/lit) αναμιγνύεται με υπεροξειδάση [στην περίπτωση μας μεθ-μυσφαιρίνη (6.1 μmol/lit) και H₂O₂ προς σχηματισμό της ελεύθερης ρίζας της ABTS(*+), η οποία έχει σχετικά σταθερό κυανοπράσινο χρώμα, μετρούμενο σε μήκος κύματος 600 nm. Τα αντιοξειδωτικά του προστιθέμενου μίγματος προκαλούν καταστολή της χρωματικής παραγωγής, σε ένα βαθμό ανάλογο της συγκέντρωσής τους:

Η μεθμυσφαιρίνη (HX-Feⁱⁱⁱ) αντιδρά με νερό, προς σχηματισμό φερρουλ-μυσφαιρίνης (X-[Fe^{iv}=O]). Αυτή με τη σειρά της αντιδρά με την ABTS, προς σχηματισμό της ρίζας της και μεθ-μυσφαιρίνης.

Ο προσδιορισμός γίνεται -όπως τονίστηκε- σε ισοδύναμα Trolox, ως mmol/lit, όπως προσδιορίζονται από το γινόμενο: Factor X (ΔA blank - ΔA sample), όπου Factor= conc of

standard/ (ΔA blank – ΔA standard) και όπου standard θεωρείται το Trolox (Koracevic et al., 2001; Cao & Prior 1998; Malliaraki et al., 2003).

3.4.4 Φθορισμομετρικός προσδιορισμός παραπροϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης (TBARS)

Εισαγωγή:

Η οξειδωση διαφόρων βασικών κυτταρικών συστατικών από δραστικές μορφές οξυγόνου (ΔMO) είναι ένας μηχανισμός που συχνά σχετίζεται με την παθογένεια διαφόρων ασθενειών, όπως είναι η αθηροσκλήρωση, ο διαβήτης, οι καρδιοαγγειακές παθήσεις, ηπατικά νοσήματα κ.α.

Ένας από τους βιολογικούς δείκτες του οξειδωτικού stress είναι η μαλονυλοδιαλδεύδη [MDA ($O=HC-CH_2-CH=O$)], παράγωγο τόσο της λιπιδικής υπεροξειδωσης όσο και της ενεργοποίησης του κύκλου του αραχιδονικού οξέος. Οι διαθέσιμες αναλυτικές τεχνικές προσδιορισμού της βασίζονται στην αντίδραση της με το θειοβαρβουτιρικό οξύ (TBA), η οποία συνεπάγεται την δημιουργία προϊόντος προσθήκης MDA-TBA. Το τελευταίο μπορεί να προσδιοριστεί φασματοφωτομετρικά, φθορισμομετρικά, HPLC ή LC-MS.

Παρόλ' αυτά το TBA μπορεί επίσης να αντιδράσει και με μία σειρά άλλων ουσιών, όπως διάφορα άλλα παράγωγα λιπιδικής υπεροξειδωσης, χολερυθρίνη, χολοχρωστικές, υδατάνθρακες και πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη, με συνέπεια την παραγωγή ουσιών οι οποίες παρεμβάλλονται και παρεμποδίζουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου.

Παρά το γεγονός ότι η MDA είναι πιο δραστική ως προς το TBA, η εξειδίκευση της αντίδρασης είναι αμφισβητήσιμη και έτσι γίνεται χρήση του όρου TBARS (thiobarbituric-reactive substances).

Συλλογή βιολογικών δειγμάτων

Το αίμα συλλέγεται μετά από φλεβική διάτρηση, σε σωλήνες πολυπροπυλενίου που είτε δεν περιέχουν αντιθρομβωτικά (για την συλλογή ορού), είτε EDTA ή ηπαρίνη ως αντιπηκτικά (για την συλλογή πλάσματος). Μετά από φυγοκέντρηση ($1500 \times g$ στους 4°C για 10 λεπτά), ο ορός ή το πλάσμα αφαιρείται προσεκτικά και γίνεται προσθήκη EDTA και GSH, σε τελικές συγκεντρώσεις 1,35 και 0,65 mmol/L αντίστοιχα. Η προσθήκη αυτή προστατεύει το δείγμα από αυτοοξειδωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του.

Συντήρηση δειγμάτων

Είναι προτιμότερο ο προσδιορισμός των TBARS να γίνεται αμέσως μετά τη λήψη των δειγμάτων. Παρόλα αυτά έχει δειχθεί ότι ο ορός ή το πλάσμα μπορούν να αποθηκευτούν, αφού πρώτα χωριστούν σε μικρότερου όγκου δείγματα στους -20°C , όπου είναι ανθεκτικά έως και 7 ημέρες. Για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα η αποθήκευση πρέπει να γίνεται στους -80°C , όπως στην παρούσα μελέτη.

Διαδικασία αναλυτικού προσδιορισμού των TBARS

Η φθορισμομετρική μέθοδος προσδιορισμού των TBARS χωρίζεται σε δύο στάδια: α) Το στάδιο της αντίδρασης (όπου πραγματοποιείται η αντίδραση του TBA με το MDA) και β) το στάδιο της εκχύλισης του διαλύματος που προκύπτει με βουτανόλη spectra. Ακολουθεί φθορισμομετρικός προσδιορισμός των παραγόμενων TBARS (TBA-reactive substances).

1^ο στάδιο: Αντίδραση

Σε ειδικούς σωλήνες τοποθετούνται 950 μl ds H_2O , 50 μl βιολογικού δείγματος και 1 ml TBA (29 mM). Στο σημείο αυτό πρέπει να γίνεται έλεγχος του pH, ώστε να βρίσκεται πάντα σε τιμές μεταξύ 2.4 - 2.6. Η ρύθμισή του επιτυγχάνεται με προσθήκη οξικού οξέος. Ακολουθεί σύντομη ανάδευση και στη συνέχεια θέρμανση σε υδατόλουτρο στους $95-100^{\circ}\text{C}$ για 1 ώρα.

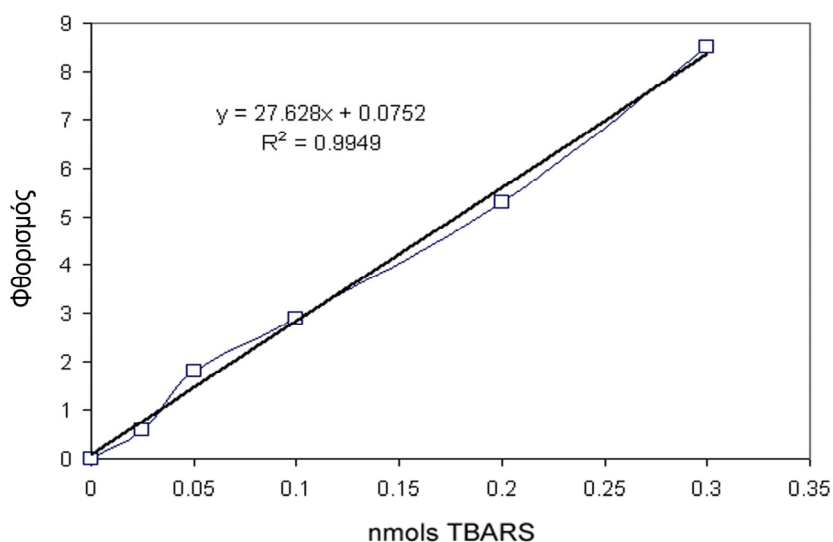
2^ο στάδιο: Εκχύλιση

Όταν τα δείγματα επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου και πριν την εκχύλιση με βουτανόλη, γίνεται προσθήκη 25 μl HCl 5M ώστε το pH να μειωθεί σε τιμή μεταξύ 1,6 – 1,7. Ακολουθεί σύντομη ανάδευση και προσθήκη 3,5 ml βουτανόλης. Στη συνέχεια

πραγματοποιείται ανάδευση για 15 λεπτά και ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 4000 x g για 10 λεπτά προκειμένου να διαχωριστούν οι δυο φάσεις. Απομονώνεται από το οργανικό εκχύλισμα 1 ml και μετράται ο φθορισμός του με διέγερση στα 525 nm και εκπομπή στα 547 nm. Η αναγωγή της έντασης του φθορισμού σε ποσότητες nmol TBARS γίνεται με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Για να κατασκευαστεί η καμπύλη αναφοράς, αντί για δείγμα τοποθετούνται αυξανόμενες συγκεντρώσεις MDA, σε 1 ml TBA και συμπληρώνεται με ds H₂O, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 2 ml. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Με βάση την πρότυπη καμπύλη υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις των TBARS σε κάθε δείγμα.



Διαλύματα

MDA: Διαλύονται 480 μl 1,1,3,3-τετρααίθοξυ-προπάνιο σε 100ml αιθανόλης. Το διάλυμα αυτό μπορεί να φυλάσσεται στους 4⁰ C έως και 20 ημέρες. Για την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιούμε συγκέντρωση 10 μmol/L πρότυπου διαλύματος MDA..

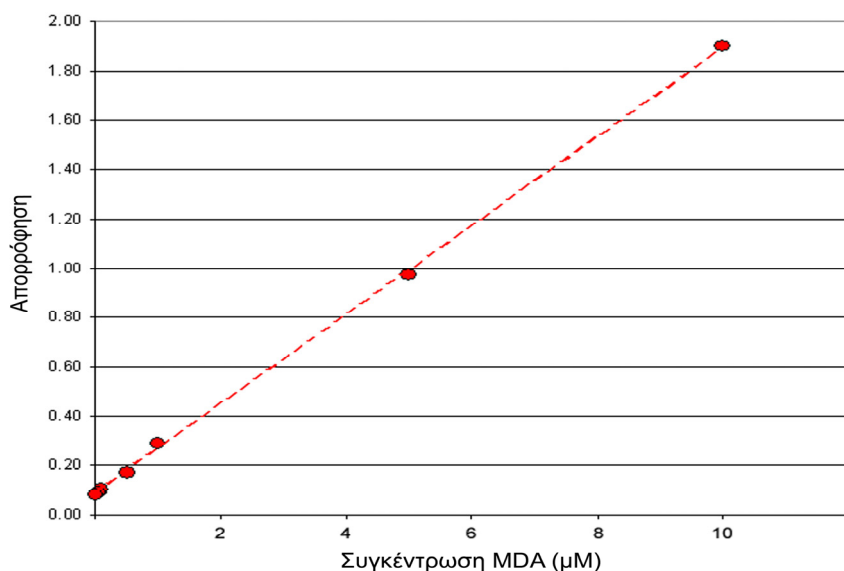
TBA: Διαλύεται η επιθυμητή ποσότητα σκόνης TBA σε ds H₂O. Η συγκέντρωση του διαλύματος πρέπει να είναι 29 mM. Κατά την πειραματική διαδικασία, το διάλυμα θα πρέπει να μην εκτίθεται στον ατμοσφαιρικό αέρα.

3.4.5.1 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονυλοδιαλδεΐδης (MDA)

Η παραγωγή των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA, thiobarbituric acid). Η βαθμονόμηση της οξείδωσης έγινε με τη χρήση μαλονυλοδιαλδεΐδης (malondialdehyde, MDA). 100μl δείγματος αραιώθηκαν με δις-αποσταγμένο νερό σε αναλογία 1:1 (50μL δείγμα και 50μL ddH₂O) και ύστερα προστέθηκαν σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με 900μl διαλύματος TBA. Το διάλυμα TBA παρασκευάστηκε με τη διάλυση 0.375gr TBA και 15gr τριχλωροξικού οξέος (TCA) σε 100ml διαλύματος HCl 0.25N. Τα δείγματα επώαστηκαν στους 95°C για μια ώρα. Η αντίδραση διακόπηκε αμέσως με την τοποθέτηση των δειγμάτων σε πάγο και τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 στροφές για 5 λεπτά. Η απορρόφηση του υπερκείμενου μετρήθηκε στα 532nm με τη χρήση φασματοφωτόμετρου (Huang et al., 2008; Liu et al., 2010).

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Για να κατασκευαστεί η καμπύλη αναφοράς, αντί για δείγμα τοποθετούνται σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις 50μL MDA, στα 0.9 ml TBA και συμπληρώνονται με 50μL ddH₂O, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 ml. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Το παρακάτω γράφημα (Γράφημα 1) αποτελεί την πρότυπη καμπύλη, βάση της οποίας γίνεται ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της μαλονυλοδιαλδεΐδης σε κάθε δείγμα.



Γράφημα 1. Πρότυπη καμπύλη MDA.

3.4.5.2 Προσδιορισμός της MDA με τη χρήση μεθόδου υγρής χρωματογραφίας – φασματοφωτομετρίας Μάζας (LC-MS)

Τα επίπεδα της μαλονυλοδιαλδεΐδης προσδιορίστηκαν στα ούρα, στο περιτοναϊκό υγρό και στον ορό με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας- φασματοφωτομετρίας μάζας (LC-MS) βασισμένη στη μεθοδολογία που προτείνει ο Hong και οι συνεργάτες του (Hong et al., 2002), με ορισμένες τροποποιήσεις. Εν συντομία, η συγκέντρωση της MDA μετρήθηκε ως σύμπλοκο που παράγεται με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA, Sigma-Aldrich T5500, δ/μα 23 mmol/l σε νερό) με τη χρήση LC-MS. Παρασκευάστηκε ένα stock δ/μα 10mmol/l MDA με τη διάλυση 247μL 1,1,3,3-tetraethoxypropane σε 100ml υδατικής αιθανόλης (40% αιθανόλη κατ' όγκο). Το σύμπλοκο TBA-MDA παρασκευάστηκε σε γυάλινους σωλήνες με πολυεστερικό πάμα. Σε κάθε σωλήνα προστέθηκαν 300μL φωσφορικού οξέος (0.5M) και αναμίχθηκαν με 50μL ούρων και 150μL TBA. Οι σωλήνες θερμάνθηκαν στους 95°C για μία ώρα. Αμέσως μετά τοποθετήθηκαν σε πάγο για 5 λεπτά. Προστέθηκαν 500μL μεθανόλης και οι σωλήνες φυγοκεντρήθηκαν στις 5000×g για 5 λεπτά. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε ειδικά γυάλινα φιαλίδια και 20μL αναλύθηκαν σε τη χρήση LC-MS.

3.4.6 Προσδιορισμός καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών με χρήση ELISA

Εισαγωγή

Σε κάθε κύτταρο ή οργανισμό υπάρχει μια ισορροπία ανάμεσα σε προοξειδωτικούς και αντιοξειδωτικούς παράγοντες και οξειδωτικό stress προκύπτει σε διαταραχή υπέρ των πρώτων. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται Δραστικές Μορφές Οξυγόνου και Αζώτου (Δ.Μ.Ο. και Δ.Μ.Α. αντίστοιχα), κάποιες από τις οποίες είναι ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες έχουν την ικανότητα να αντιδρούν με διάφορα βιολογικά μακρομόρια, προκαλώντας βλάβες στα κυτταρικά συστατικά. Δεν είναι τυχαίο άλλωστε το γεγονός ότι σχεδόν κάθε γνωστή ασθένεια έχει συσχετιστεί με την αύξηση του οξειδωτικού στρες, καθιστώντας έτσι αναγκαία την αξιολόγηση του σε βιολογικά δείγματα. Στην προσπάθεια να προσδιοριστεί το οξειδωτικό στρες σε βιολογικά δείγματα αναπτύχθηκαν διαφορετικές μεθοδολογίες, οι οποίες στην πλειοψηφία τους δεν προσδιορίζουν την ποσότητα των ελευθέρων ριζών, αλλά αξιολογούν την προκαλούμενη από αυτές βλάβη στα κυτταρικά συστατικά. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι πιο δραστικές ελεύθερες ρίζες αντιδρούν τη στιγμή της δημιουργίας τους με ό,τι βρεθεί στο κοντινό τους περιβάλλον, καθιστώντας σχεδόν αδύνατη την ανίχνευση τους. Προκειμένου λοιπόν να προσδιοριστεί το οξειδωτικό στρες σε κάποιο βιολογικό δείγμα, αξιολογούνται οι βλάβες στο DNA, στα λιπίδια, καθώς και στις πρωτεΐνες του δείγματος.

Οι πρωτεΐνες αποτελούν πολύ σημαντικό στόχο των ελευθέρων ριζών, αφού η καταστροφή τους δεν επιφέρει απλώς δομικές ανωμαλίες στο κύτταρο, αλλά μπορεί να επηρεάσει και σημαντικές λειτουργίες του. Έτσι, καταστροφή μίας πρωτεΐνης θα μπορούσε κατ' επέκταση να σημαίνει καταστροφή μιας ολόκληρης λειτουργικής διαδικασίας, στην οποία αυτή συμμετέχει. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου μπορούν να τροποποιήσουν πρωτεΐνες με διαφορετικούς μηχανισμούς. Έτσι έχουν αναφερθεί η νιτροσυλίωση, η χλωρίωση, καθώς και η καρβονυλίωση τους. Στην τελευταία περίπτωση οι ελεύθερες ρίζες μετατρέπουν τις πλάγιες αλυσίδες των ευαίσθητων καταλοίπων, κυρίως λυσίνης, αργινίνης, προλίνης και ιστιδίνης, σε ελεύθερα καρβονύλια, τα οποία μπορούν να ανιχνευτούν με ευκολία.

Η χρήση των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών, ως βιολογικού δείκτη του οξειδωτικού stress, πλεονεκτεί έναντι του προσδιορισμού άλλων προϊόντων οξείδωσης, εξαιτίας του γρήγορου

σηματισμού και της σταθερότητας τους. Στις περισσότερες περιπτώσεις η ανίχνευση τους περιλαμβάνει την τροποποίηση των καρβονυλίων με την 2,4-δινιτρο-φαινυλδραζίνη, που οδηγεί στο σχηματισμό ενός σταθερού προϊόντος. Στη συνέχεια το προϊόν αυτό μπορεί να ανιχνευτεί φωτομετρικά, με την χρήση HPLC, καθώς και με μέθοδο ELISA.

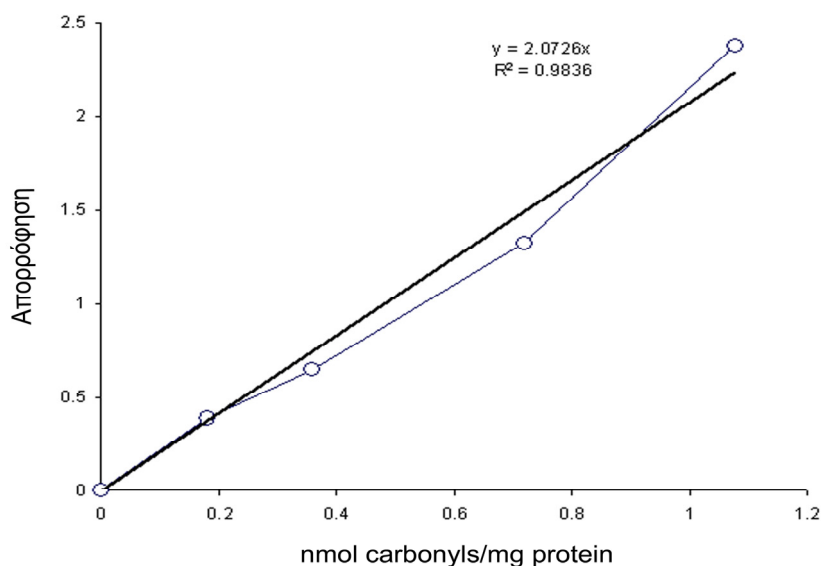
Η αξιολόγηση των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών με τη χρήση της ELISA, πλεονεκτεί έναντι των άλλων μεθοδολογιών, λόγω της μεγαλύτερης της ευαισθησίας, της υψηλής της εξειδίκευσης, καθώς και ευκολίας στην εφαρμογή της. Πιο συγκεκριμένα οι πρωτεΐνες των βιολογικών δειγμάτων, αφού τροποποιηθούν με τη χρήση της δι-νιτροφαινυλδραζίνης (DNPH), προσροφώνται μη ειδικά στα πηγαδάκια του ELISA-plate, ενώ στην συνέχεια όσες έχουν υποστεί την τροποποίηση, δηλαδή όσες ήταν καρβονυλιωμένες, σημαίνονται με ειδικό αντίσωμα. Το αρχικό αντίσωμα, που είναι συνδεδεμένο με βιοτίνη, αλληλεπιδρά με το δεύτερο αντίσωμα στρεπταβιδίνης που φέρει και την horseradish υπεροξειδάση, η οποία επιτρέπει την ποσοτικοποίηση με τη χρήση κατάλληλου υποστρώματος. Η μέθοδος προσδιορίζει την ποσότητα των καρβονυλίων σε nmol ανά mg πρωτεΐνης. Σε μελέτες ορού ή πλάσματος φυσιολογικών ατόμων οι τιμές κυμαίνονται από 0,01 έως 0,1 nmol carbonyls/mg πρωτεΐνης, ενώ για τους ασθενείς οι τιμές είναι μεγαλύτερες του 0,1 carbonyls/mg πρωτεΐνης.

Περιγραφή της μεθόδου

Προετοιμασία διαλυμάτων πρότυπης καμπύλης

Για τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης προετοιμάστηκαν η πλήρως ανηγμένη και η οξειδωμένη BSA (bovine serum albumin). Για την παρασκευή της πλήρως ανηγμένης BSA αντέδρασαν 1g BSA με 2 g NaBH₄ σε 100 ml PBS για 30 λεπτά, ενώ στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε ουδετεροποίηση με HCl. Ακολούθησε διαπίδυση σε διάλυμα PBS για όλη τη νύχτα και στη συνέχεια, αφού προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της πρωτεΐνης, το διάλυμα αραιώθηκε σε 2 mg/ml για την πρότυπη καμπύλη και σε 0,1% για το blocking διάλυμα της ELISA. Η οξειδωμένη BSA παρασκευάστηκε μετά από διάλυση 50 mg BSA σε 1 ml PBS, στο οποίο προστέθηκαν 20 μl EDTA (100 mM), 57 μl ασκορβικού οξέως (833 mM) και 2 μl θειικού αμμωνιακού σιδήρου(100 mM), ενώ στη συνέχεια αφήθηκαν να αντιδράσουν για 1,5 ώρα στους 37° C. Ακολούθησε, όπως

προηγούμενα, διαπίδυση σε διάλυμα PBS για όλη τη νύχτα και αραιώση της οξειδωμένης BSA σε 2 mg/ml για την πρότυπη καμπύλη. Τα δείγματα της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν μετά από ανάμιξη των διαλυμάτων ανηγμένης BSA και οξειδωμένης BSA, έτσι ώστε να σχηματιστούν διαλύματα που περιείχαν από 0% έως 100% οξειδωμένη πρωτεΐνη. Ακολουθεί η πρότυπη καμπύλη για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των καρβονυλίων σε κάθε δείγμα.



Φωτομετρικός προσδιορισμός καρβονυλίων

Προκειμένου να εκφραστεί η ποσότητα των καρβονυλίων που περιέχονται στα δείγματα της πρότυπης καμπύλης, αλλά και για να ελεγχθεί εάν η αντίδραση οξείδωσης της BSA πραγματοποιήθηκε με επιτυχία, ακολούθησε φωτομετρικός προσδιορισμός των καρβονυλίων. Σε 250 μl από κάθε δείγμα της πρότυπης καμπύλης (0%-100% οξειδωμένης BSA) προστέθηκε 1ml από 10 mM DNPΗ και ακολούθησε επώαση για 45 λεπτά στο σκοτάδι, με περιστασιακή ανάμιξη. Στη συνέχεια έγινε προσθήκη 1,2 ml 20% TCA, και το μίγμα αφέθηκε στον πάγο για 10 λεπτά.. Μετά από φυγοκέντρηση στις 3000 rpm, πραγματοποιήθηκαν 3 εκπλύσεις με 2,5 ml ethanol: ethyl acetate (1:1). Ακολούθησε διάλυση με υπέρηχους σε 1.0 ml διαλύματος guanidine hydrochloride 0,5 M, potassium phosphate 0,5 M, ενώ στη συνέχεια τα δείγματα αφέθηκαν για 10 λεπτά στους 37° C. Παράλληλα με τα δείγματα γινόταν η ίδια επεξεργασία στα «τυφλά» τους με την απουσία του βήματος της τροποποίησης

με DNPΗ. Ακολούθησε καταμέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 375 nm, και αφού αφαιρέθηκε το αντίστοιχο τυφλό από το νόμο του Lambert-Beer και με γνωστό το μοριακό συντελεστή απορρόφησης ($E = 45,45 \text{ nmol/ml}$) υπολογίστηκε η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε καρβονύλια. Επειδή κατά την παραπάνω διαδικασία υπάρχει σημαντική απώλεια πρωτεΐνης, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της με τη χρήση του αντιδραστηρίου Bradford. Έτσι η περιεκτικότητα σε καρβονύλια για κάθε δείγμα εκφράστηκε σε nmol καρβονυλίων/ mg πρωτεΐνης.

Elisa Assay

Αρχικά τα δείγματα αραιώθηκαν σε συγκέντρωση 4 mg/ml. 15 μl από το κάθε δείγμα ορού (4 mg/ml) και 15 μl από τα δείγματα της πρότυπης καμπύλης (2 mg/ml από 0%, 5%, 10%, 20% και 30% οξειδωμένης BSA), αναμείχθηκαν με 45 μl DNPΗ 10 mM. Τα δείγματα επώστηκαν για 45 λεπτά στο σκοτάδι με περιστασιακή ανάδευση. Στη συνέχεια 5 μl από κάθε δείγμα προστέθηκαν σε 1 ml coating buffer και μετά από ισχυρή ανάδευση, 200 μl από κάθε δείγμα αφέθηκαν να προσροφηθούν από τα ELISA plates στους 4° C για όλη τη νύχτα (πραγματοποιήθηκε διπλή καταμέτρηση του κάθε δείγματος).

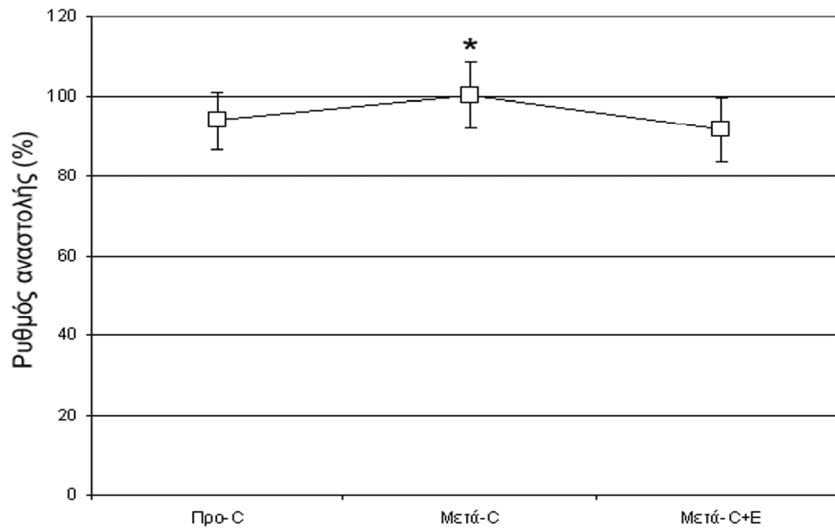
Μετά από αφαίρεση του υπερκείμενου τα δείγματα ξεπλύθηκαν δύο φορές με PBS (200 μl) και στη συνέχεια προστέθηκε 250 μl διάλυμα blocking (reduced BSA 0,1%, σε PBS), για 1,5 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε το διάλυμα blocking και προστέθηκαν 200 μl από το διάλυμα του 1^{ου} αντισώματος (1:1000 biotinylated anti-DNP σε 0,1 % reduced BSA, 0,1% PBS-T). Μετά από 1 ώρα επώαση στους 37° C, πραγματοποιήθηκαν 3 ξεπλύματα με 0,1% PBS-T και προστέθηκαν 200 μl από το διάλυμα του 2^{ου} αντισώματος (1:3000 streptavidin-biotinylated horseradish peroxidase σε 0,1 % reduced BSA, 0,1% PBS-T), το οποίο αφέθηκε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησαν 3 ξεπλύματα με 0,1% PBS-T και προσθήκη 200 μl από το υπόστρωμα της αντίδρασης (o-phenylenediamine 0,6 mg/ml, H₂O₂ 1:2500, citric acid 24 mM, Na₂HPO₄ 50 mM). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε για 15 λεπτά και διακόπηκε με την προσθήκη 100 μl sulfuric acid 2,5 M. Οι απορροφήσεις των δειγμάτων καταγράφηκαν στα 492 nm χρησιμοποιώντας ένα Dynatech microplate reader (Buss et al., 1997; Alamdari et al., 2005).

3.5 Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm σταθερή απόκλιση. Για το προσδιορισμό στατιστικής σημαντικότητας μεταξύ των μέσων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test και η ανάλυση two-way analysis of variance (ANOVA) για τη ανίχνευση στατιστικών σημαντικά διαφορών ανάμεσα στις ομάδες στα διαφορετικά χρονικά σημεία. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο SPSS 16.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Τιμές $p < 0.05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Υπεροξειδάση της δισμουτάσης (SOD)

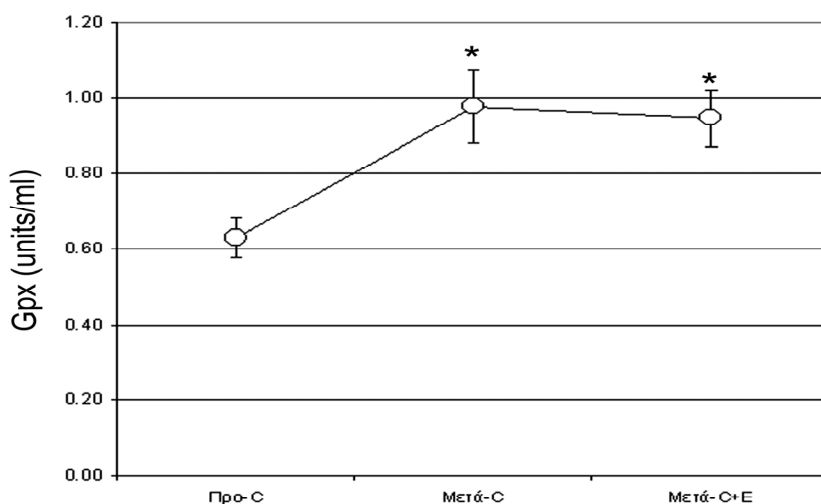


Το παραπάνω γράφημα (Γράφημα 2) απεικονίζει τη δραστικότητα της υπεροξειδάσης της δισμουτάσης (SOD) στους ασθενείς της ομάδας μελέτης, όπως προσδιορίστηκε σε τρία στιγμιότυπα (πριν και μετά τη λήψη βιταμίνης C, καθώς και μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E). Η δραστικότητα της SOD αυξάνεται σημαντικά στην ομάδα των ασθενών μετά τη λήψη της βιταμίνης C (μεταβολή κατά 6.57%, σε σχέση με την αρχική τιμή: $p < 0.05$), ενώ στο στιγμιότυπο μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E δεν παρατηρείται αύξηση σε σχέση με την αρχική τιμή. Το ποσοστό των ασθενών που ακολουθούν την αύξηση της δραστικότητας της SOD μετά τη χορήγηση της βιταμίνης C προσεγγίζει το 45%. Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται το επί τοις εκατό ποσοστό της μείωσης ως προς την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C).

Πίνακας 2.

SOD				
	ΜΟ Ομάδας	STDEV	% ως προς την ομάδα ελέγχου	P value
Προ-C	94,077	7,062	0,00	
Μετά-C	100,261	8,183	6,57	0,035
Μετά-C+E	91,693	2,282	-2,53	0,132

4.2 Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)



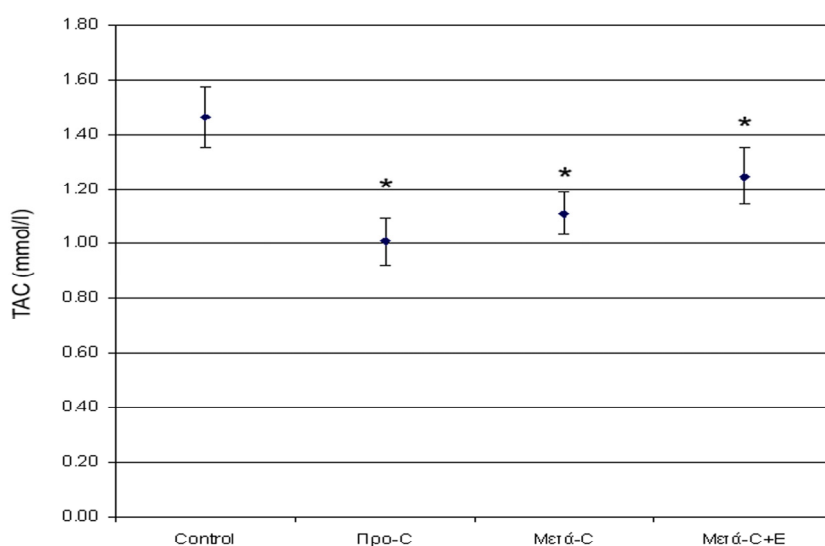
Το παραπάνω γράφημα (Γράφημα 3) απεικονίζει τη δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) στους ασθενείς της ομάδας μελέτης, όπως προσδιορίστηκε σε τρία στιγμιότυπα (πριν και μετά τη λήψη βιταμίνης C, καθώς και μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E). Παρατηρούμε ότι η δραστικότητα της GPx είναι σημαντικά αυξημένη ($p < 0.001$) στα δύο τελευταία στιγμιότυπα, σε σχέση με την αρχική τιμή. Αυτό σημαίνει ότι οι ασθενείς μετά τη λήψη τόσο της βιταμίνης C, όσο και του συνδυασμού των βιταμινών C & E παρουσιάζουν αυξημένη προστασία έναντι της δράσης ελευθέρων ριζών και συνεπώς, υπόκεινται σε χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης. Πρέπει να σημειωθεί ότι όλοι οι ασθενείς της ομάδας μελέτης (ποσοστό 100%) ακολούθησαν αυτή την τάση (αύξηση) και στα δύο στιγμιότυπα μετά τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών (τόσο μετά-C, όσο και μετά-C & E). Η σημαντική αυτή αύξηση

φαίνεται καλύτερα στον παρακάτω πίνακα, όπου παρατηρείται αύξηση στα στιγματότυπα μετά τη χορήγηση της βιταμίνης C και μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E κατά 54.86% και 50.39% αντίστοιχα ($p < 0.001$), σε σύγκριση με την αρχική τιμή (Προ- C).

Πίνακας 3.

GPx				
	ΜΟ Ομάδας	STDEV	% ως προς την ομάδα ελέγχου	P value
Προ-C	0,630	0,052	0,00	
Μετά-C	0,975	0,097	54,86	<0,001
Μετά-C+E	0,947	0,079	50,39	<0,001

4.3 Μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας



Το παραπάνω γράφημα (Γράφημα 4) απεικονίζει την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) τόσο των φυσιολογικών ατόμων (ομάδα ελέγχου), όσο και των ασθενών της μελέτης στα τρία στιγματότυπα ως προς τη λήψη αντιοξειδωτικών (πριν και μετά τη λήψη βιταμίνης C και μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E), όπως προσδιορίστηκε με τη φωτομετρική μέθοδο Randox. Τα αποτελέσματα αυτά συγκλίνουν

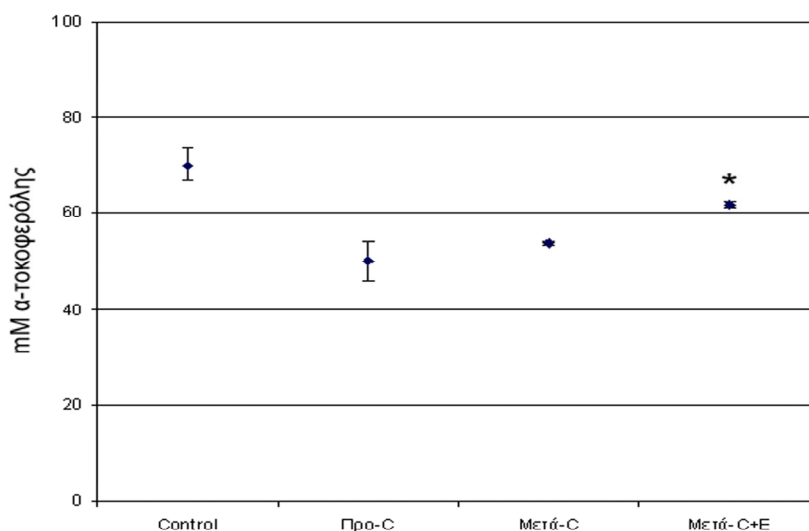
με αυτά της μέτρησης της TAC στον ορό, όπως προσδιορίστηκαν με τη φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στη χρήση υπεροξειδίου του χρωμίου και θα αναλυθούν στη συνέχεια. Παρατηρούμε μια στατιστικά σημαντική αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού των ασθενών μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E, κατά 24% περίπου σε σύγκριση με το στιγμιότυπο Προ-C ($p < 0.001$). Η τάση αυτή ακολουθήθηκε από το σύνολο (ποσοστό 100%) των ασθενών. Στο στιγμιότυπο μετά τη λήψη μόνης της βιταμίνης C (μετά- C) όλοι οι ασθενείς της μελέτης (ποσοστό 100%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κατά 10% σε σύγκριση με το στιγμιότυπο προ- C ($p < 0.001$). Η TAC στους τελευταίους (προ- C) προσδιορίστηκε χαμηλότερη κατά περίπου 31% σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η διαφορά αυτή μειώνεται μετά τη λήψη των αντιοξειδωτικών βιταμινών, ώσπου στο στιγμιότυπο μετά τη χορήγηση του συνδυασμού C & E να προκύπτει τελικά διαφορά περίπου 15% ως προς την ομάδα ελέγχου.

Πίνακας 4.

Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Ορού							
	ΤΙΜΗ	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ- C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)	
Control	1,464	0,114	0,00				
Προ-C	1,009	0,085	-31,07	0,00	<0,001		
Μετά-C	1,110	0,080	-24,14	10,06	<0,001	<0,001	
Μετά-C+E	1,247	0,104	-14,82	23,58	<0,001	<0,001	

B) Τα παρακάτω γραφήματα και οι πίνακες που τα συνοδεύουν αναπαριστούν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς της ομάδας μελέτης σε τρία στιγμιότυπα (πριν και μετά από τη λήψη της βιταμίνης C και μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E), όπως προσδιορίζεται από τη φωτομετρική μέθοδο με τη χρήση υπεροξειδίου του χρωμίου. Η διαφορά στο τρίτο γράφημα και στον

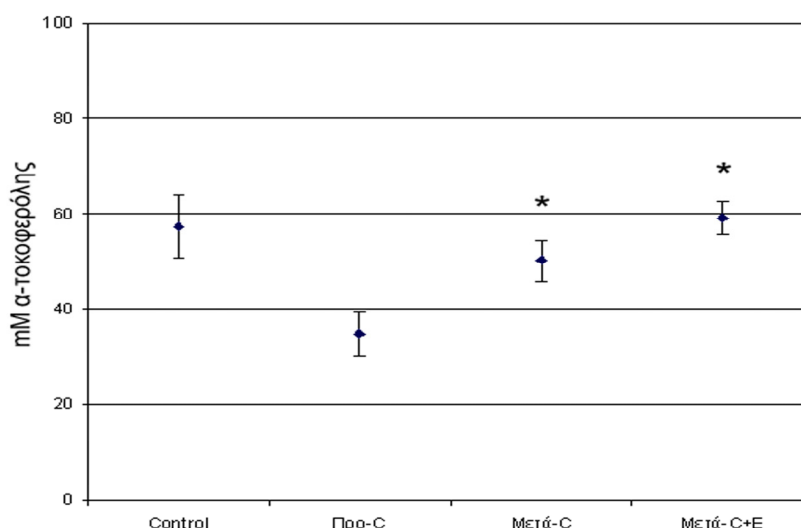
αντίστοιχο πίνακα είναι ότι δεν υπάρχει ομάδα ελέγχου (control) μιας και το περιτοναϊκό έκπλυμα έχει ληφθεί μετά από τη διαδικασία της ΠΚ στους ασθενείς και όχι σε φυσιολογικά άτομα.



Στο παραπάνω γράφημα (Γράφημα 5) απεικονίζονται οι μετρήσεις της TAC στα αιμολυμένα ερυθρά τόσο των φυσιολογικών ατόμων (ομάδα ελέγχου), όσο και των ασθενών της μελέτης στα τρία στιγμιότυπα ως προς τη λήψη αντιοξειδωτικών (όπως ήδη έχουν περιγραφεί παραπάνω). Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ασθενών είναι χαμηλότερη κατά περίπου 30%, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Μετά τη λήψη της βιταμίνης C και του συνδυασμού των βιταμινών C & E παρατηρείται αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ερυθρών των ασθενών κατά 7% και 23% αντίστοιχα, σε σύγκριση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο Προ-C). Η αύξηση που παρατηρήθηκε στο στιγμιότυπο μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0.001$), σε σύγκριση με την αρχική τιμή (Προ-C). Παρατηρούμε μάλιστα, ότι μετά τη λήψη του συνδυασμού, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα προσεγγίζει τα επίπεδα της TAC των φυσιολογικών ατόμων (Η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων είναι μόλις 11.8%). Η αυξητική τάση της TAC, μετά τη χορήγηση τόσο μόνης της βιταμίνης C, όσο και του συνδυασμού C & E παρατηρείται στο σύνολο των ασθενών (ποσοστό 100%).

Πίνακας 5.

Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Αιμολυμένων ερυθρών							
	TIMH	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ-C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)	
Control	70,179	3,330	0,00				
Προ-C	50,225	4,080	-28,43	0,00	<0,001		
Μετά-C	53,827	0,430	-23,30	7,17	<0,001	0,255	
Μετά-C+E	61,875	0,630	-11,83	23,20	<0,001	<0,001	

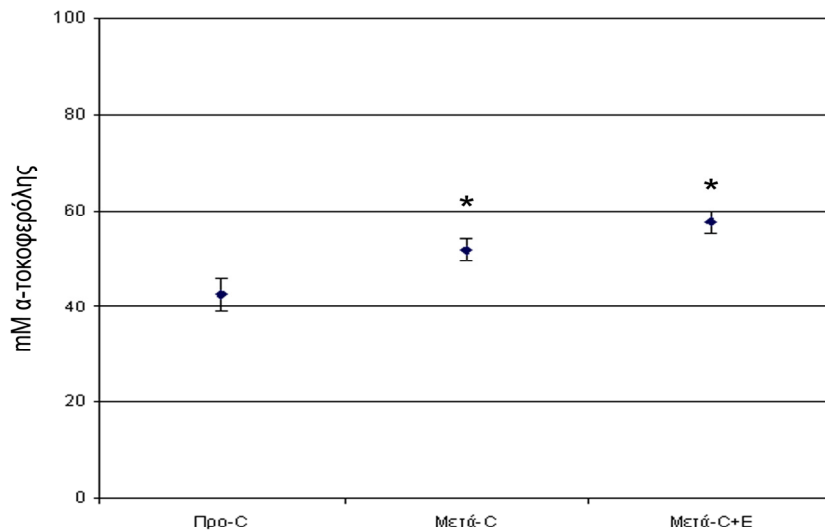


Στο παραπάνω γράφημα (Γράφημα 6) απεικονίζονται οι τιμές της TAC των ούρων τόσο των φυσιολογικών ατόμων (ομάδα ελέγχου), όσο και των ασθενών της ομάδας μελέτης στα τρία στιγμιότυπα σε σχέση με τη χορήγηση αντιοξειδωτικών (πριν τη χορήγηση αντιοξειδωτικών, μετά τη χορήγηση μόνης βιταμίνης C και μετά το συνδυασμό C & E). Όπως και στα αιμολυμένα ερυθρά, έτσι και στα ούρα παρατηρούμε ότι οι ασθενείς πριν από τη λήψη αντιοξειδωτικών (στιγμιότυπο προ- C) έχουν πολύ χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα, χαμηλότερη κατά 39% περίπου, σε σύγκριση με την ομάδα των φυσιολογικών ατόμων. Μετά τη λήψη τόσο μόνης της βιταμίνης C όσο του συνδυασμού C & E παρατηρείται μια αύξηση της TAC κατά 43% και 69% αντίστοιχα, σε σύγκριση με την

αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ- C). Η μεταβολή είναι στατιστικά σημαντική και στα δύο στιγμιότυπα, σε σύγκριση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C) ($p < 0.001$). Όπως και για τα συμπτωκνωμένα ερυθρά, έτσι και για τα ούρα, η αυξητική τάση της TAC μετά τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών ακολουθείται από το σύνολο των ασθενών (ποσοστό 100%). Επίσης αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι, στο στιγμιότυπο μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E, η TAC των ούρων, όχι μόνο προσέγγισε την TAC των φυσιολογικών ατόμων, όπως συνέβη στο προηγούμενο γράφημα, αλλά την ξεπέρασε κατά 2.88%

Πίνακας 6.

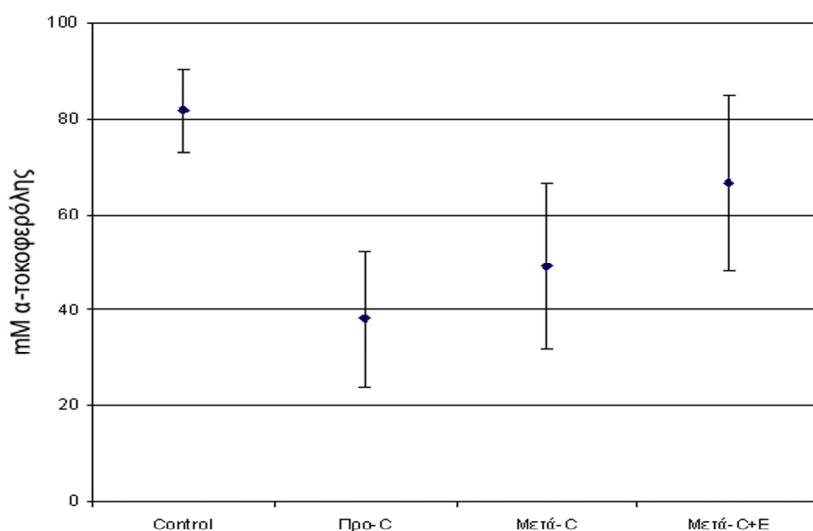
Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Ούρων						
	TIMH	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ-C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)
Control	57,474	6,510	0,00			
Προ-C	35,080	4,670	-38,96	0,00	<0,001	
Μετά-C	50,176	4,180	-12,70	43,03	0,016	<0,001
Μετά-C+E	59,132	3,420	2,88	68,56	0,485	<0,001



Το παραπάνω γράφημα (Γράφημα 7) αναπαριστά τις μετρήσεις της TAC των ασθενών στο περιτοναϊκό έκπλυμα στα τρία στιγμιότυπα που ήδη περιγράφηκαν. Όπως και στα προηγούμενα δύο γραφήματα, έτσι και εδώ, παρατηρούμε την ίδια τάση, δηλαδή μια στατιστικά σημαντική αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα στιγμιότυπα μετά τη λήψη βιταμίνης C (κατά 21.5%) και του συνδυασμού των βιταμινών C & E (κατά 36%), σε σύγκριση με το στιγμιότυπο πριν τη λήψη της βιταμίνης C ($p < 0.001$). Οι μεταβολές αυτές φαίνονται με ακρίβεια στον Πίνακα... Η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στο περιτοναϊκό έκπλυμα παρατηρήθηκε στο σύνολο των ασθενών (ποσοστό 100%).

Πίνακας 7.

Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Περιτοναϊκού εκπλύματος				
	ΤΙΜΗ	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	42,542	3,330	0,00	
Μετά-C	51,672	2,370	21,46	<0,001
Μετά-C+E	57,715	2,290	35,67	<0,001



Το παραπάνω γράφημα (Γράφημα 8) αναπαριστά τον υπολογισμό της TAC στον ορό. Οι αρχικές τιμές της στους περιτοναϊκά καθαιρόμενους ασθενείς της ομάδας μελέτης βρίσκονται ελαττωμένες κατά 53%, σε σχέση με τις τιμές των υγιών ατόμων της ομάδας ελέγχου. Στο στιγμιότυπο μετά τη λήψη της βιταμίνης C, οι ασθενείς παρουσίασαν αύξηση της TAC κατά 28.5%, σε σχέση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C). Όπως και στα τρία προηγούμενα γραφήματα, έτσι και για την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού παρατηρείται η ίδια τάση της στατιστικά σημαντικής αύξησης των τιμών της μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E (κατά 74%), σε σύγκριση με το στιγμιότυπο πριν από τη λήψη των αντιοξειδωτικών [Προ-C] ($p < 0.001$). Η αύξηση αυτή αφορά ποσοστό 83% των ασθενών. Ως προς τις τιμές της ομάδας ελέγχου, οι τιμές της TAC των ασθενών στο στιγμιότυπο μετά τη συγχορήγηση των βιταμινών C & E υπολογίζονται ελαττωμένες μόλις κατά 18.5%.

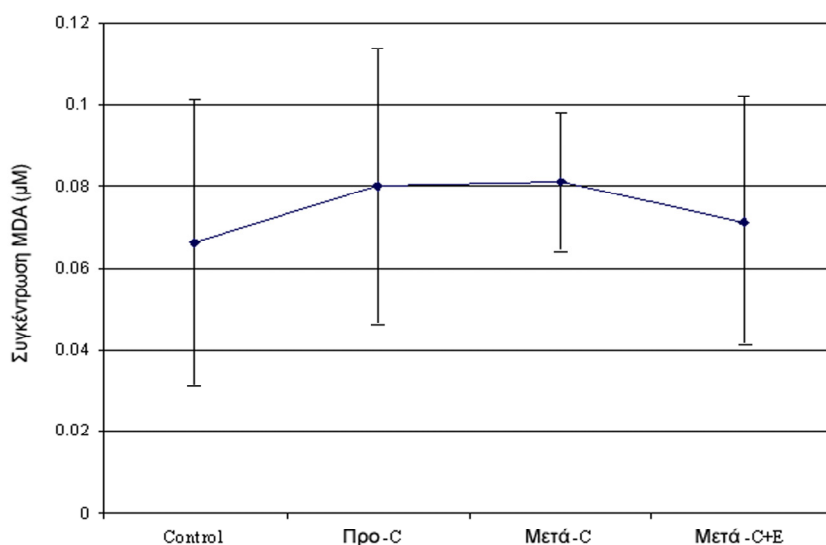
Πίνακας 8

Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Ορού							
	TIMH	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ-C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)	
Control	81,638	8,596	0,00				
Προ-C	38,335	14,109	-53,04	0,00	<0,001		
Μετά-C	49,260	17,071	-39,66	28,50	<0,001	0,43	
Μετά-C+E	66,525	18,162	-18,51	73,54	0,062	0,008	

Η μέτρηση και ανάλυση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε με τη χρήση δύο φωτομετρικών μεθόδων (της κλασσικής μεθόδου Randox και εκείνης που έχει αναπτυχθεί στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με τη χρήση υπεροξειδίου του χρωμίου) (Charalampidis et al., 2009). Σύμφωνα και με τις δύο μεθόδους όπως εφαρμόστηκαν στα δείγματα του ορού και σύμφωνα με τη δεύτερη, τη μοναδική που εφαρμόστηκε στα ούρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στα αιμολυμένα ερυθρά, όλοι οι ασθενείς βελτίωσαν την ολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα μετά τη λήψη της βιταμίνης C. Όταν οι ασθενείς έλαβαν το συνδυασμό των βιταμινών C & E η αύξηση αυτή ήταν μάλιστα στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$). Και στις δύο μεθόδους, το σύνολο σχεδόν των ασθενών (ποσοστά 85- 100%) ακολούθησε την αυξητική τάση του μέσου ορού (αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας). Τα παραπάνω αποδεικνύουν ότι η μέθοδος που χρησιμοποιεί το υπεροξείδιο του χρωμίου είναι εξίσου αξιόπιστη, σε σύγκριση με την κλασσική μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας κατά Randox. Σημαντική είναι επίσης η παρατήρηση ότι οι μεταβολές της TAC στον ορό ακολουθούνται από παράλληλες μεταβολές της στα ερυθροκύτταρα, όπως και στα υπόλοιπα διαμερίσματα (περιτοναϊκό έκπλυμα, ούρα).

4.4 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονυλο-διαλδεΐδης (MDA)

Τα επόμενα τρία γραφήματα απεικονίζουν το φωτομετρικό προσδιορισμό της μαλονυλο-διαλδεΐδης στα ούρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στον ορό των ασθενών στα τρία στιγμιότυπα, όπως ήδη έχουν περιγραφεί (Προ- C, Μετά- C και Μετά- C+E), σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

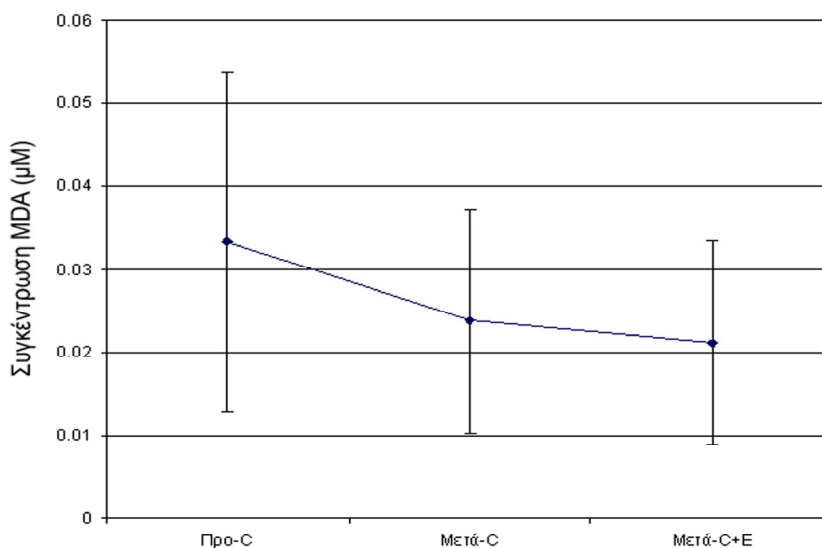


Στο παραπάνω γράφημα (Γράφημα 9) δεν παρατηρείται αξιόλογη μεταβολή στη λιπιδική υπεροξείδωση των ούρων των ασθενών, πριν και μετά από τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στις τιμές της MDA. Φαίνεται ότι σε ποσοστό 29% των ασθενών, μετά τη χορήγηση μόνης της βιταμίνης C παρατηρείται αύξηση κατά 4.1% των τιμών της MDA των ούρων, σε σχέση με τις αρχικές τιμές (στιγμιότυπο προ-C). Μετά τη συγχορήγηση των βιταμινών C & E, σε ποσοστό 35% των ασθενών υπάρχει μια σχετικά μικρή μείωση κατά μέσο όρο περίπου 8%, σε σχέση με τις αρχικές τιμές.

Πίνακας 9.

MDA-Ούρων				
	TIMH	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	0,078	0,034	0,00	
Μετά-C	0,081	0,017	4,07	0,406
Μετά-C+E	0,071	0,031	-8,28	0,311

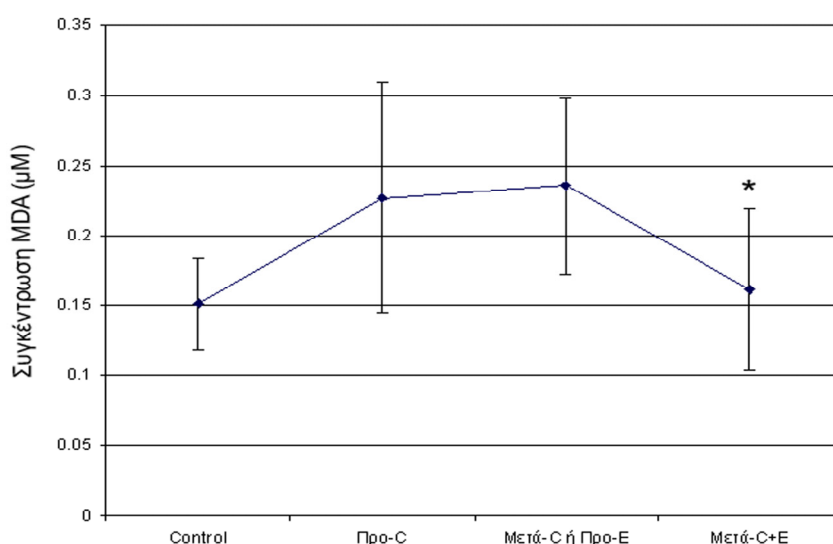
Αντίθετα, στο παρακάτω γράφημα (Γράφημα 10), όπου απεικονίζεται η λιπιδική υπεροξείδωση στο περιτοναϊκό έκπλυμα, παρατηρείται αντίστοιχα μείωση κατά 28% και 36% μετά τη χορήγηση μόνης της βιταμίνης C [την τάση μείωσης ακολουθεί το σύνολο των ασθενών (ποσοστό 100%)] και του συνδυασμού των βιταμινών C & E (η μείωση παρατηρήθηκε στο 85% των ασθενών), σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές (στιγμιότυπο προ-C). Η απεικόνιση φανερώνει ότι σε ασθενείς που έλαβαν αντιοξειδωτικά, η οξείδωση των λιπιδίων μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με το αρχικό στιγμιότυπο (προ-C).



Πίνακας 10.

MDA-περιτοναϊκού εκπλύματος				
	ΤΙΜΗ	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	0,033	0,020	0,00	
Μετά-C	0,024	0,014	-28,46	0,087
Μετά-C+E	0,021	0,012	-36,27	0,069

Στο παρακάτω γράφημα (Γράφημα 11) απεικονίζεται η οξειδωση στον ορό του αίματος στις δύο ομάδες (ασθενών και υγιών μαρτύρων) και στα στιγμιότυπα που μελετώνται. Οι ασθενείς πριν τη λήψη αντιοξειδωτικών (στιγμιότυπο προ-C) εμφανίζουν αύξηση της MDA κατά 50.3%, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Δεν παρατηρείται βελτίωση μετά τη χορήγηση της βιταμίνης C, αφού οι τιμές της MDA παραμένουν αυξημένες κατά 56%, σε σχέση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C). Αντιθέτως, υπάρχει μια σημαντική μείωση της MDA στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό των βιταμινών C & E, κατά 29% περίπου, σε σύγκριση με το αρχικό (προ-C) στιγμιότυπο. Μάλιστα, η μείωση αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0.001$).



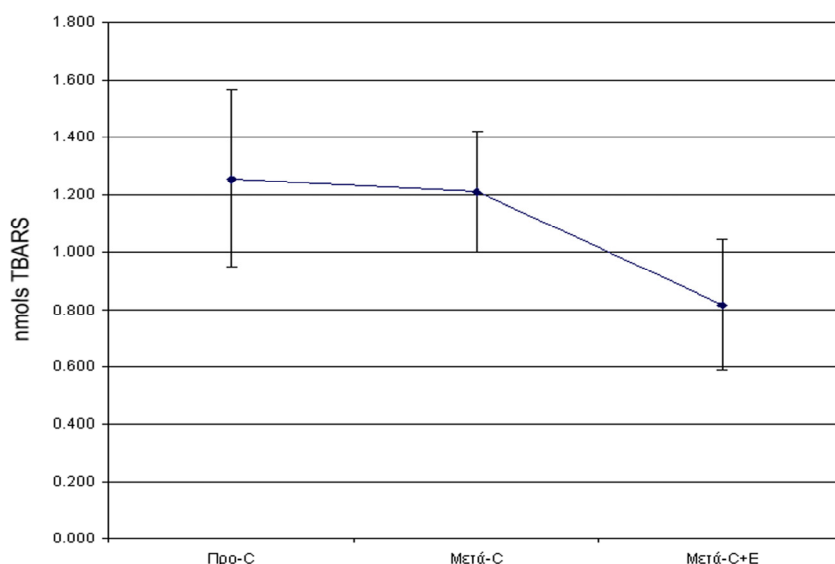
Επίσης πρέπει να αναφερθεί ότι ποσοστό 80% των ασθενών, σ' αυτό το στιγμιότυπο εμφανίζουν επίπεδα οξειδωσης τόσο χαμηλά, όσο σχεδόν οι υγιείς μάρτυρες (Η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων είναι μόλις 7.05%). Η οξειδωση των λιπιδίων σε ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό των βιταμινών C & E μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με το στιγμιότυπο Προ-C (Μη λήψη αντιοξειδωτικών) ($p < 0.001$). (Πίνακας 11).

Πίνακας 11.

MDA-ορού							
	TIMH	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ-C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)	
Control	0,151	0,033	0,00				
Προ-C	0,227	0,083	50,33	0,00	<0,001		
Μετά-C	0,235	0,063	55,90	3,70	<0,001	0,476	
Μετά-C+E	0,162	0,058	7,05	-28,79	0,35	0,003	

4.5 Αποτελέσματα φθορισμομετρικού προσδιορισμού TBARS ορού

Το παρακάτω γράφημα (Γράφημα 12) αναπαριστά τον προσδιορισμό των θειοβαρβιτουρικών (παραπροϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης), με τη χρήση φθορισμομετρικής μεθόδου, σε δείγματα ορού αίματος των ατόμων της ομάδας μελέτης (περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς) σε τρία στιγμιότυπα, όπως περιγράφηκαν ήδη, σε σχέση με τη λήψη των βιταμινών C & E.



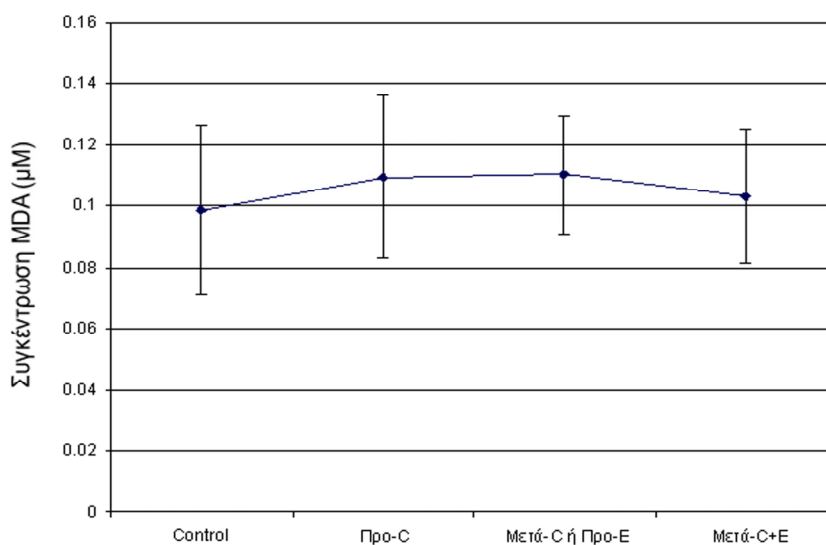
Μετά τη λήψη μόνης της βιταμίνης C παρατηρείται μείωση της υπεροξειδωσις των λιπιδίων των περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών της μελέτης, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στον έλεγχο των επιπέδων των TBARS στον ορό κατά 3.8%, σε σχέση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C). Μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E αυτή η μείωση ήταν πολύ μεγαλύτερη, σε ποσοστό περίπου 35%, σε σχέση με το στιγμιότυπο προ-C (Μη λήψη αντιοξειδωτικών) και μάλιστα στατιστικά σημαντική ($p < 0.001$). Τη μείωση των τιμών των TBARS ακολούθησε ποσοστό 72% των ασθενών. Τα ποσοστά και οι μεταβολές αυτές απεικονίζονται με ακρίβεια στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 12.

TBARS				
	ΤΙΜΗ	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	1,258	0,311	0,00	
Μετά-C	1,210	0,207	-3,8	0,071
Μετά-C+E	0,818	0,227	-34,97	<0,001

4.6 Προσδιορισμός της μαλονυλοδιαλδεΐδης (MDA) με υγρή χρωματογραφία-φασματοφωτομετρία μάζας (LC-MS)

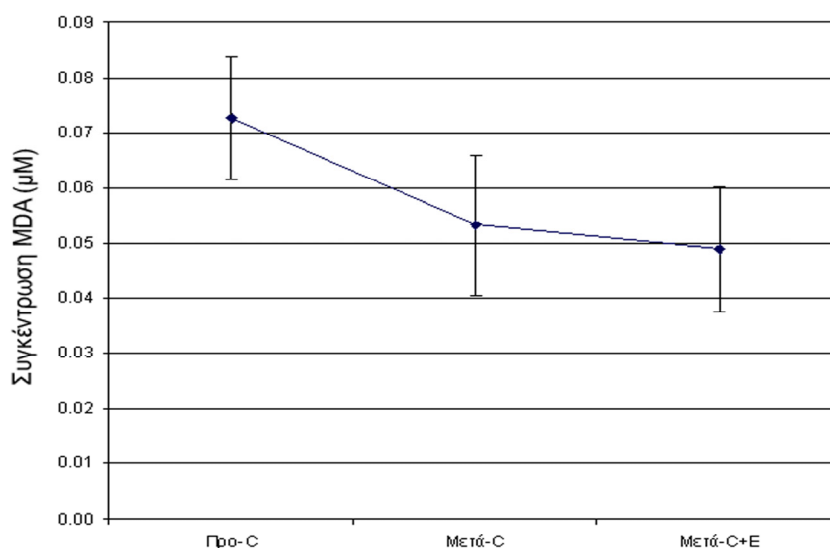
Τα τρία γραφήματα που ακολουθούν παρουσιάζουν τον ακριβή προσδιορισμό της μαλονυλοδιαλδεΐδης στα ούρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στον ορό των ασθενών στα τρία στιγμιότυπα (προ-C, μετά-C και μετά-C & E) με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας-φασματοφωτομετρίας μάζας.



Παρατηρούμε ότι οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς πριν από τη λήψη των αντιοξειδωτικών (στιγμιότυπο προ-C), εμφανίζουν αυξημένες τιμές MDA ούρων κατά 11.16%, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (Γράφημα 13). Μετα τη λήψη της βιταμίνης C δεν παρατηρήθηκε κάποια μεταβολή στη λιπιδική υπεροξείδωση των ούρων σύμφωνα με τη μέθοδο προσδιορισμού της MDA με LC-MS. Οι τιμές της MDA παραμένουν αυξημένες κατά ένα ποσοστό 10.65% σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Στο στιγμιότυπο μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών C & E φαίνεται ότι υπάρχει ελάττωση των τιμών της MDA των ούρων κατά 5.8%, σε σχέση με το προηγούμενο στιγμιότυπο, ώστε τελικά να προσεγγίζει τιμές αυξημένες κατά 4.21%, σε σύγκριση με τις αρχικές (στιγμιότυπο προ-C). Ελάττωση των τιμών της MDA των ούρων μετά τη λήψη του συνδυασμού εμφανίζει ποσοστό 40% των ασθενών.

Πίνακας 13.

LC-MS- MDA ούρων					
	TIMH	SD	% ως προς το Control	P value (control)	P value (Προ-C)
Control	0,098611	0,027675			
Προ-C	0,10962	0,02651	11,16	0,181289491	
Μετά-C	0,11029	0,01927	10,65	0,17038805	0,474830762
Μετά-C+E	0,10325	0,02181	4,21	0,385864205	0,279608884

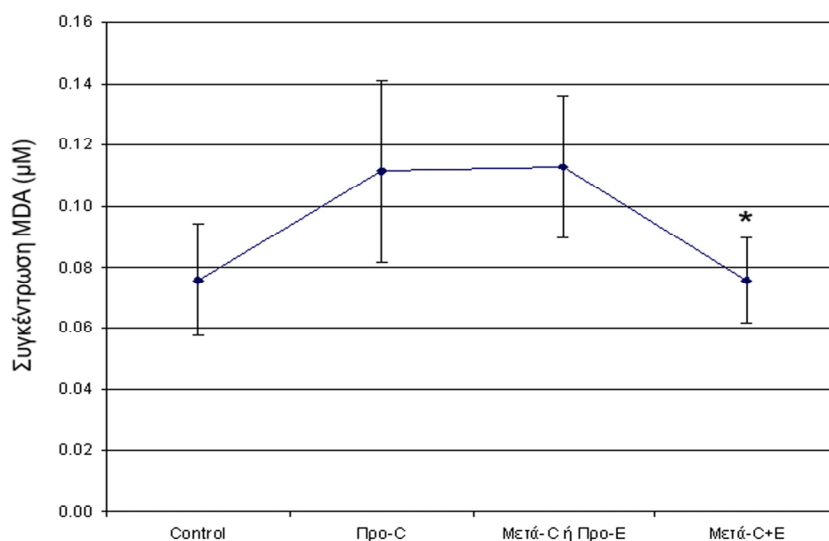


Στο παραπάνω γράφημα (Γράφημα 14) απεικονίζεται η οξείδωση των λιπιδίων στο περιτοναϊκό έκπλυμα των ασθενών της ομάδας μελέτης. Παρατηρούμε μια σημαντική μείωση κατά περίπου 27% και 33% στα στιγμιότυπα μετά τη χορήγηση μόνης της βιταμίνης C και μετά τη χορήγηση του συνδυασμού C & E αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές (στιγμιότυπο προ-C). Η μείωση της οξείδωσης των λιπιδίων μετά τη χορήγηση της βιταμίνης C παρατηρήθηκε στο σύνολο των ασθενών (ποσοστό 100%), ενώ

αντίστοιχα το ποσοστό αυτό ανήλθε στο 88% για το στιγμιότυπο μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E.

Πίνακας 14.

LC-MS- MDA περιτοναϊκού εκπλύματος				
	ΤΙΜΗ	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	0,07266	0,00911	0,00	
Μετά-C	0,05319	0,00965	-26,80	0,077
Μετά-C+E	0,04895	0,00939	-32,63	0,059



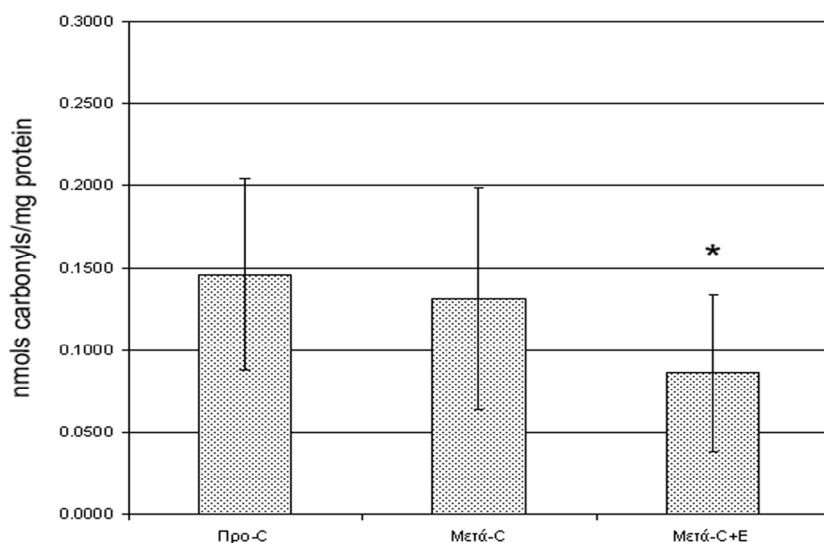
Στο παραπάνω γράφημα (Γράφημα 15) απεικονίζεται η οξείδωση των λιπιδίων στον ορό του αίματος στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα μελέτης στα τρία στιγμιότυπα, ως προς τη λήψη αντιοξειδωτικών. Παρατηρούμε ότι οι ασθενείς της μελέτης πριν από τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών εμφανίζουν μια αύξηση της MDA κατά 47% σε σύγκριση

με την ομάδα ελέγχου. Στα ίδια επίπεδα προσδιορίζεται η MDA του ορού μετά τη χορήγηση της βιταμίνης C (παρόμοια αύξηση κατά περίπου 49%). Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική μείωση στο στιγμιότυπο μετά τη λήψη του συνδυασμού C & E, κατά 32% περίπου σε σύγκριση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C). Επίσης πρέπει να αναφερθεί ότι μετά τη λήψη του συνδυασμού οι ασθενείς προσεγγίζουν σχεδόν τα επίπεδα οξείδωσης της ομάδας ελέγχου των φυσιολογικών ατόμων (Η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων υπολογίζεται σε μόλις 1.32%) και μάλιστα το ποσοστό των ασθενών που ακολουθεί αυτή την τάση ανέρχεται στο 85%. Απεικονίζεται λοιπόν με σαφήνεια ότι η οξείδωση των λιπιδίων μετά τη λήψη του συνδυασμού C & E μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με το στιγμιότυπο Προ-C (Μη λήψη αντιοξειδωτικών) ($p < 0.001$).

Πίνακας 15.

LC-MS- MDA ορού						
	TIMH	SD	% ως προς το control	% ως προς το Προ-C	P value (vs control)	P value (vs Προ-C)
Control	0,07583	0,01802	0,00			
Προ-C	0,11150	0,02984	47,04	0,00	<0,001	
Μετά-C	0,11263	0,02294	48,53	1,02	<0,001	0,356
Μετά-C+E	0,07483	0,01402	-1,32	-32,89	0,285	<0,001

4.7 Προσδιορισμός καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών



Η ίδια τάση μείωσης εμφανίζεται και στον προσδιορισμό των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών, όπως ανάγλυφα αποτυπώνεται στο παραπάνω γράφημα. Οι ασθενείς που έλαβαν βιταμίνη C παρουσίασαν μείωση της τιμής των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών σε σύγκριση με το στιγμιότυπο Προ-C (μη λήψη αντιοξειδωτικών), μια παρατήρηση που αφορά ποσοστό 75% των ασθενών. Επίσης, οι ασθενείς μετά τη λήψη του συνδυασμού C & E παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση στην τιμή των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών κατά 41% σε σύγκριση με την αρχική τιμή (στιγμιότυπο προ-C, $p < 0.05$), κάτι που αφορά ποσοστό 80% των ασθενών.

Πίνακας 16.

Προσδιορισμός Καρβονυλιωμένων Πρωτεϊνών ορού				
	TIMH	SD	% ως προς το Προ-C	P value
Προ-C	0,146	0,058	0,00	
Μετά-C	0,131	0,068	-10,59	0,227
Μετά-C+E	0,086	0,048	-41,33	0,0024

Πίνακας 17.

ΟΜΑΔΕΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	% ποσοστό ασθενών που ακολουθούν την τάση αύξησης ή μείωσης στην ομάδα Μετά-C	% ποσοστό ασθενών που ακολουθούν την τάση αύξησης ή μείωσης στην ομάδα Μετά-C+E
GPx	100	100
SOD	45	-
TAC ορού	50	83
TAC περιτοναϊκού υγρού	100	100
TAC ούρων	100	100
TAC αιμολυμένων ερυθρών	100	100
Αντιοξειδωτική ικανότητα ορού	100	100
MDA ούρων	29	35
MDA περιτοναϊκού υγρού	100	85
MDA ορού	25	80
LC-MS ούρων	33	40
LC-MS περιτοναϊκού υγρού	100	88
LC-MS ορού	28	85
Προσδιορισμός καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών	75	80
TBARS	-	72

Ο παραπάνω πίνακας απεικονίζει το ποσοστό των ασθενών (σύμφωνα με το μέσο όρο των τιμών των υπό μελέτη παραμέτρων) που ακολουθεί την τάση (αύξηση ή μείωση ανάλογα με την ομάδα γραφήματος), στα στιγμιότυπα μετά τη χορήγηση βιταμίνης C και του

συνδυασμού C & E, σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές (πριν τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών: στιγμιότυπο προ-C) ή την ομάδα ελέγχου (control). Παρατηρούμε ότι το μικρότερο ποσοστό εμφανίζεται στην μέτρηση της MDA στον ορό και στα ούρα με τη χρήση της φωτομετρικής και της LC-MS μεθόδου, μετά τη λήψη βιταμίνης C. Μετά τη λήψη του συνδυασμού των βιταμινών τα ποσοστά των ασθενών που ακολουθούν τη μεταβολή με τις συγκεκριμένες μεθόδους αυξάνονται για την MDA του ορού (ποσοστά 80- 85%), ενώ αυξάνονται ελάχιστα σε ό,τι αφορά την MDA των ούρων (ποσοστά 35-40%). Το μεγαλύτερο ποσοστό παρατηρείται στη μέτρηση της TAC των ούρων, του ορού και του περιτοναϊκού εκπλύματος, καθώς και στη μέτρηση της GPx. Γενικότερα όμως το ποσοστό αυτό των ασθενών είναι αυξημένο σε κάθε ομάδα γραφημάτων, και για τις περισσότερες παραμέτρους κυμαίνεται μεταξύ 80- 100%, ειδικότερα μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E.

Πίνακας 18.

ΟΜΑΔΑ 1	ΟΜΑΔΑ 2	* = $p < 0.05$ ** = $p < 0.01$	Correlation
TAC-URINE	MDA-ΠΕΡ. ΥΓΡΟ	0.075	-0.993
TAC-URINE	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟ	0.053	0.997
TAC-RBC	AC-ΟΡΟΥ	0.077	0.993
TBARS	AC-ΟΡΟΥ	0.090	-0.990
CARBONYLS	AC-ΟΡΟΥ	0.060	-0.996
CARBONYLS	TAC-RBC	*(0.017)	-1.000
CARBONYLS	TBARS	*(0.030)	0.999
TAC-RBC	TBARS	*(0.013)	-1.000
TBARS-ΠΠΟ-C	TAC-ΟΡΟΥ-ΠΠΟ-C	*	-0.631
MDA META-C	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟΥ-META-C	**	-0.900
TAC-ΟΥΡΑ-META-C	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟΥ-META-C	*	0.650
TAC-ΟΥΡΑ-META-C	MDA-META -C	**	-0.900
CARBONYLS-META-C	ΟΡΟΣ-META-C	*	0.505
TAC-ΟΡΟΣ-META-C	TBARS-META-C	*	-0.755
CARBONYLS-META-C	TAC-ΟΡΟΥ-META-C	*	-0.822
ΠΕΡ. ΥΓΡΟ-META-C+E	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟ-META-C+E	*	0.760
ΠΕΡ. ΥΓΡΟ-META-C+E	TAC-RBC-META-C+E	*	-0.824
MDA-META-C+E	SOD-META-C+E	*	-0.769
SOD-META-C+E	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟ-META-C+E	*	0.604
CARBONYLS-META-C+E	TAC-ΠΕΡ. ΥΓΡΟ-META-C+E	**	-0.924

SOD-META-C+E	GPx-META-C+E	**	0.794
TBARS	TAC_ΠΕ	0.954	0.006
TAC_RBC	TAC_ΠΕ	0.928	0.036

Ο πίνακας αυτός ελέγχει τη συσχέτιση των τιμών των διαφόρων υπό μελέτη παραμέτρων μεταξύ όλων των μεθόδων που έχουν χρησιμοποιηθεί στα διάφορα βιολογικά υλικά (ούρα, περιτοναϊκό έκπλυμα, ορός κλπ.) καθώς επίσης και τη στατιστική σημαντικότητα αυτής. Από τα αποτελέσματα αυτά δεν κατανοούνται μόνον οι συσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων μεθόδων, αλλά επιβεβαιώνεται συνολικά και το αποτέλεσμα της βελτίωσης της οξειδωτικής καταπόνησης των ασθενών. Για παράδειγμα, παρατηρούμε ότι η TAC στα ούρα σχετίζεται θετικά (0.997) με την TAC στο περιτοναϊκό έκπλυμα, αλλά αρνητικά (-0.993) με την MDA στο ίδιο διαμέρισμα. Ένα άλλο παράδειγμα είναι τα καρβονύλια, που σχετίζονται αρνητικά με την TAC του ορού και με την TAC των αιμολυμένων ερυθρών και θετικά με τα TBARS. Επίσης θετικά σχετίζονται η TAC του περιτοναϊκού εκπλύματος με τα TBARS (0.954) και με την TAC των ερυθρών (0.928). Υπάρχουν πολλές άλλες συσχετίσεις με μεγαλύτερη και μικρότερη σημαντικότητα συσχέτισης όπως η θετική (0.794) συσχέτιση της SOD μετά τη χορήγηση του συνδυασμού C & E με τη GPx στο ίδιο στιγμιότυπο. Η MDA στο περιτοναϊκό έκπλυμα μετά τη χορήγηση του συνδυασμού C & E εμφανίζει θετική συσχέτιση (0.760) με την TAC στο ίδιο στιγμιότυπο και στο ίδιο διαμέρισμα και αρνητική (-.824) με την TAC των αιμολυμένων ερυθρών (μετά-C+E).

Αξίζει να αναφερθεί ότι οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς που διατηρούν υπολειπόμενη διούρηση, η οποία αντικατοπτρίζει αδρά κάποιου βαθμού υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία, παρουσιάζουν καλύτερη εικόνα οξειδωτικής καταπόνησης, σε σχέση με τους ανουρικούς ασθενείς. Συγκεκριμένα εμφανίζουν υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας και χαμηλότερες τιμές στην οξείδωση των λιπιδίων (χαμηλότερη MDA και TBARS). Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με υπολειπόμενη διούρηση χαρακτηρίζονται από αύξηση της TAC του ορού κατά 12% και μείωση της MDA του ορού κατά 60%, σε σύγκριση με τους υπόλοιπους ασθενείς. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει τη σημαντική προστατευτική δράση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας έναντι του οξειδωτικού stress.

4.8 Συσχετίσεις του βαθμού της οξειδωτικής καταπόνησης με την υπολειπομένη νεφρική λειτουργία και βιοχημικές παραμέτρους

Πίνακας 19. Συσχέτιση (Pearson Correlation) μεταξύ των βιοχημικών εξετάσεων και των ομάδων με διάφορες μεθόδους με ταυτόχρονη στατιστική σημαντικότητα.

		Pearson correlation	p
ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ	MDA_ΠΕ	0.619	0.038
ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ	MDA_ΟΥΡΑ	-0.812	0.013
CRP	TAC_RBC	-0.695	0.028
TAC_ΟΡΟΥ	HbA ₁ _C	0.948	0.007
ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ	ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ	0.937	0.003
ΟΥΡΙΚΟ	TAC ορού	-0.152	0.676
ΟΥΡΙΚΟ	TAC ΠΕ	-0.607	0.063
ΟΥΡΙΚΟ	TAC ούρων	0.532	0.113
ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ	HbA ₁ _C	-0.769	0.0037

Ο Πίνακας αυτός, όπως και ο προηγούμενος, δείχνει τις συσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων μεθοδολογιών στα βιολογικά δείγματα και επιλεγμένων βιοχημικών δεικτών. Τα καρβονύλια έχουν –όπως αναμένονταν- θετική συσχέτιση (0.937) με τη λευκωματίνη (αλβουμίνη) του ορού και αρνητική (-0.769) με τη γλυκοσυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA₁ C), αντίθετα με ό,τι κανείς θα ανέμενε αν η γλυκοσυλιωμένη αιμοσφαιρίνη αποτελούσε γενικά δείκτη γλυκοσυλίωσης πρωτεϊνών, πράγμα που για περιτοναϊκά καθαιρόμενους δεν ισχύει. Η λευκωματίνη έχει επίσης θετική συσχέτιση με την MDA του περιτοναϊκού εκπλύματος (0.619) και αρνητική με την MDA στα ούρα (-0.812).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη -σ' ένα πρώτο επίπεδο- διερευνά την οξειδωτική κατάσταση ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) τελικού σταδίου, υπό ΣΦΠΚ, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και στη συνέχεια την επίδραση της χορήγησης αντιοξειδωτικών βιταμινών.

Όπως είναι γνωστό, τα προϊόντα της υπεροξειδωσης επηρεάζονται από τη χημική σύσταση των υπό μελέτη ιστών, καθώς και από την παρουσία ή την απουσία μεταλλικών ιόντων, συνεπώς δεν μπορεί να υπάρξει ένας βιολογικός δείκτης που να αποτελεί τη «Λυδία λίθο» ("gold standard") για την εκτίμηση της οξείδωσης λιπιδίων ή πρωτεϊνών. (Yu et al., 1992; Clarkson et al., 2000).

Με το ίδιο σκεπτικό, στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί κλασικών αλλά και νεότερων μεθόδων, όπως ο προσδιορισμός των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών με μέθοδο ELISA, ή η καινοτόμος μελέτη προσδιορισμού της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού, του περιτοναϊκού εκπλύματος και των ούρων με φωτομετρική μέθοδο και τη χρήση υπεροξειδίου του χρωμίου. Επίσης, σημειώνεται ότι, για τη συγκεκριμένη ομάδα ασθενών, η φθορισμομετρική μέθοδος προσδιορισμού των TBARS χρησιμοποιείται για πρώτη φορά.

Ο προσδιορισμός των επιπέδων των θειοβαρβιτουρικών, περιλαμβανομένης της μαλονυλοδιαλδεϋδης (MDA), αποτελεί σημαντικό δείκτη λιπιδικής υπεροξειδωσης, παρά τα μεθοδολογικά προβλήματα που εμπεριέχει, στα οποία περιλαμβάνονται φαινόμενα παρεμβολής με άλλες αλδεϋδες -εκτός της MDA-, συνοδός αποδόμηση λιπιδικών υπεροξειδίων κατά τη διάρκεια των μετρήσεων, η παρουσία ή απουσία μεταλλικών ιόντων, όπως και άλλων αταυτοποίητων ριζών, η σχέση με καθαυτή την ουραιμική κατάσταση, αλλά και με τη διαδικασία της κάθαρσης κ.α. Οι προβληματισμοί αυτοί αναλύθηκαν λεπτομερέστερα στο γενικό μέρος (Frankel 1991; Esterbauer et al., 1989; Gutteridge et al., 1990; Pallechi et al., 2007).

Σε προηγούμενες μελέτες, όπου προσδιορίζονταν οι συγκεντρώσεις της ολικής MDA (tMDA) με τη χρήση της μεθόδου αντίδρασης με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, η λιπιδική υπεροξειδωση υπολογιζόταν σε υψηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου χωρίς κάθαρση, σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους ή περιτοναϊκά καθαιρόμενους, γεγονός που υποστηρίζει ότι, κυρίαρχο φαινόμενο είναι η ίδια η νεφρική ανεπάρκεια και όχι η

διαδικασία της κάθαρσης, ενώ παράλληλα τονιζόταν ότι η ΠΚ -σε σχέση με την ΑΚ- χαρακτηρίζεται από μικρότερου βαθμού λιπιδική υπεροξειδωση. (Erdogan et al., 2002; Jackson et al., 1995; Samouilidou et al., 2003a). Ο προσδιορισμός των επιπέδων της fMDA έδειξε παρόμοιες τιμές σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια και σε υγιείς μάρτυρες, αλλά σημαντικά υψηλότερες και στις δύο ομάδες ασθενών υπό κάθαρση (ΑΚ & ΠΚ). Σε ασθενείς με ΧΝΑ που δεν καθαίρονται, τα υψηλά επίπεδα fMDA οφείλονται σε ελαττωμένη κάθαρση της συζευγμένης MDA (bMDA) από τους νεφρούς, ενώ σε ασθενείς υπό ΑΚ ή ΠΚ σε υψηλές συγκεντρώσεις τόσο fMDA, όσο και bMDA. (De Vecchi et al., 2009) Συμπερασματικά, σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση, η λιπιδική υπεροξειδωση οφείλεται, όχι μόνο στο ουραιμικό περιβάλλον, αλλά και στην ίδια τη διαδικασία της κάθαρσης. Κάποια προϊόντα των οξειδωτικών διαδικασιών θα μπορούσαν να καθαίρονται σε σημαντικότερο βαθμό από τους νεφρούς, παρά διαμέσου του περιτοναίου (Kabanda et al., 1995).

Έτσι μπορεί να εξηγηθεί η μη συσχέτιση της ολικής MDA (που περιλαμβάνει και το συνδεδεμένο με πρωτεΐνη κλάσμα της) με τη διαδικασία της περιτοναϊκής κάθαρσης, εν αντιθέσει προς το ελεύθερο κλάσμα της, το οποίο μπορεί να καθαίρεται και δια της περιτοναϊκής μεμβράνης, λόγω του χαμηλού του μοριακού βάρους (MB = 72 Da).

Στην παρούσα μελέτη τα TBARS προσδιορίστηκαν στον ορό, με τρεις διακριτές μεθόδους: Φωτομετρική, φθορισμομετρική και αέριας χρωματογραφίας-φασματοφωτομετρίας μάζας (LC-MS, με χαρακτηριστικά αυξημένης ευαισθησίας και ακρίβειας). Η LC-MS θα μπορούσε μάλιστα να προσδιορίζει και την f- MDA, με μεθοδολογία που χρησιμοποιεί 3-hydroxy[1,3-²H₂]-2-propenal [dideuterated MDA ή (d₂-MDA)] σαν αρχικό προστιθέμενο standard στα βιολογικά δείγματα, πριν τους αναλυτικούς χειρισμούς. Τα επίπεδα της MDA στα ούρα και στο περιτοναϊκό έκπλυμα προσδιορίστηκαν με τη φωτομετρική και την LC-MS μέθοδο (Cighetti et al., 1999).

Ούτως ή άλλως και οι τρεις χρησιμοποιούμενες μέθοδοι μπορούν να απεικονίζουν με ακρίβεια τις μεταβολές της λιπιδικής υπεροξειδωσης μετά τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών παραγόντων, ανεξάρτητα από την αξιοπιστία του αρχικού προσδιορισμού των TBARS.

Σε ό,τι αφορά την TAC, σημειώνεται ισχυρή θετική συσχέτιση των τιμών της και των επιπέδων του ουρικού του ορού, ώστε οι τιμές του τελευταίου να επηρεάζουν σημαντικά

την εκτίμηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων (Ahmadpour et al., 2009). Παρά ταύτα η μελέτη της TAC των ούρων σε νεφροπαθείς φαίνεται να αποτελεί εύχρηστο δείκτη για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής τους κατάστασης (Kirschbaum 2001), και μάλιστα, τα επίπεδα της εμφανίζουν θετική συσχέτιση με εκείνα της 8- epiPGF_{2α}, ενός ιδιαίτερα αξιόπιστου δείκτη οξειδωτικής καταπόνησης (Dounousi et al., 2006). Στην παρούσα μελέτη, ο προσδιορισμός της TAC έγινε στον ορό, στα ούρα και στο περιτοναϊκό έκπλυμα με φωτομετρικές μεθόδους και με τη χρήση ABTS ή υπεροξειδίου του χρωμίου, όπως περιγράφεται στην ανάλυση της μεθοδολογίας.

Συγκεκριμένα, εκτιμάται η οξειδωτική κατάσταση 20 περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών ηλικίας μεγαλύτερης των 50 ετών, που βρίσκονται σε υποκατάσταση της νεφρικής τους λειτουργίας για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών, σε σχέση με 10 υγιείς μάρτυρες της ίδιας ηλικίας. Το διάστημα αυτό αποτελεί αναγκαία συνθήκη και αποτελεί συγχρόνως κριτήριο ένταξης στη μελέτη, μια και 6 μήνες μετά την έναρξη της εφαρμογής της περιτοναϊκής κάθαρσης (αντίθετα με ότι παρατηρείται σε αιμοκάθαρση) δεν παρατηρείται περαιτέρω επιδείνωση του οξειδωτικού stress που να αποδίδεται στη μέθοδο καθαυτή (Diepeveen et al., 2005).

Δε θεωρήθηκε αναγκαία η διάκριση των ασθενών ανάλογα με την ταχύτητα διακίνησης δια μέσου της περιτοναϊκής μεμβράνης. Σύμφωνα με τη δοκιμασία περιτοναϊκής εξισορρόπησης (peritoneal equilibration test), οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς χαρακτηρίζονται, από τη μια ως χαμηλοί ή χαμηλοί ενδιάμεσοι και από την άλλη ως υψηλοί ή υψηλοί ενδιάμεσοι μεταφορείς. Παρότι η κατάσταση υψηλής διακίνησης-μεταφοράς σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα, δεν παρατηρούνται διαφορές στις επιμέρους ομάδες, σε ό,τι αφορά την οξειδωτική κατάσταση, όπως φαίνεται από τον προσδιορισμό των όψιμων (προκεχωρημένων) οξειδωτικών προϊόντων πρωτεϊνών (AOPP) ή των ενεργών καρβονυλικών ενώσεων (Cruz et al., 2010).

Σημαντικό στοιχείο της μελέτης αποτελεί επίσης το γεγονός ότι, όπως προκύπτει από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, ο συνδυασμός της χορήγησης των βιταμινών C και E εξετάζεται για πρώτη φορά σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς.

Όπως ήδη τονίστηκε, επιδημιολογικές μελέτες στο γενικό πληθυσμό απέδειξαν τη σχέση μεταξύ της πρόσληψης αυτών των αντιοξειδωτικών βιταμινών και ελαττωμένης νοσηρότητας και θνητότητας από ισχαιμική νόσο του μυοκαρδίου. (Diaz et al., 1997). Η

μακροχρόνια συμπληρωματική χορήγησή τους ελάττωσε τη λιπιδική υπεροξειδωση (in vitro και in vivo), πράγμα που δεν κατόρθωσε η χορήγηση μόνης της βιταμίνης C, ακόμη και σε υψηλότερες δόσεις. Χορήγηση του συνδυασμού έδειξε επίσης αναστολή της οξειδωσης του DNA από H₂O₂ στα ανθρώπινα λεμφοκύτταρα, αύξηση του αντιοξειδωτικού δυναμικού στο πλάσμα και στους ιστούς και αποκατάσταση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειακής αντιδραστικότητας (Plotnick et al., 1997; Brennan et al., 2000; Dusinská et al., 2003). Και βέβαια, ο συνδυασμός φαίνεται να υπερτερεί, αφού τα αποτελέσματα της επιμέρους χορήγησης των παραπάνω αντιοξειδωτικών δε διέφεραν από εκείνα της χρήσης εικονικού φαρμάκου, σε ό,τι αφορά τα σημαντικά καρδιαγγειακά συμβάματα και την ολική θνητότητα (Shekelle 2009; Sesso et al., 2008).

Όπως αναφέρθηκε διεξοδικά στο γενικό μέρος, τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος των περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών στον ορό ελέγχονται χαμηλότερα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, κυρίως λόγω σημαντικών απωλειών του στο περιτοναϊκό έκπλυμα, αλλά και στα πλαίσια της συνολικά «κακής» θρέψης, ενώ δεν παρατηρείται παρόμοια τάση για τα επίπεδα της τοκοφερόλης (Tarnig et al., 2002). Για να διατηρηθούν τα επίπεδα του ασκορβικού εντός των φυσιολογικών ορίων, οι ασθενείς υπό ΠΚ θα πρέπει να λαμβάνουν υποκατάσταση με συμπληρώματα σε δόσεις τουλάχιστον εντός των συνιστώμενων διαιτητικών ορίων (75-100 mg/ ημέρα) (Salusky et al 1990) ή και υψηλότερων (Lim et al., 2001). Συμπερασματικά, επαρκούν δόσεις 100 – 200 mg/ ημέρα (Boeschoten et al., 1988; Blumberg et al., 1983) και μάλιστα χορήγηση 100 mg/ ημέρα οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του ασκορβικού του πλάσματος, που προσεγγίζουν εκείνα υγιών μαρτύρων σε ποσοστό 86% (Sundl et al., 2009). Δόση 200 mg/ ημέρα, παρά τη σημαντική, όπως αναφέρθηκε, περιτοναϊκή μεταφορά και απώλεια στο περιτοναϊκό έκπλυμα, προλάμβανε την ανάπτυξη υποβιταμίνωσης C (Mydlík et al., 1985).

Περιορισμός για τη χορήγηση μεγαλύτερων δόσεων ασκορβικού είναι ο κίνδυνος ανάπτυξης υπεροξαλαιμίας, μια και οι μέθοδοι κάθαρσης δεν επαρκούν για την απέκκριση της περίσσειας των παραγόμενων οξαλικών. Χορήγηση ασκορβικού, σε δόση 100 mg ανά ημέρα έδειξε αύξηση των επιπέδων των οξαλικών του πλάσματος κατά 19%, ενώ η περαιτέρω ταυτόχρονη χορήγηση HCl-πυριδοξίνης από του στόματος, ελάττωσε την τιμή τους και μάλιστα προσεγγίζοντας τα αρχικά –πριν τη χορήγηση της βιταμίνης- επίπεδα. (Shah et al., 1991; Shah et al., 1992). Χορήγηση ασκορβικού σε δόση 500 mg ημερησίως, για μια περίοδο 3 εβδομάδων, αύξησε τα επίπεδα των οξαλικών του ορού κατά περίπου

50% (κατά ~20 $\mu\text{mol/l}$), ενώ τετραπλασίασε τα επίπεδα του ασκορβικού, χωρίς σημαντική επίδραση στα επίπεδα του 2,3 διφωσφορογλυκερικού (2,3,DPG) ή του γαλακτικού (Tomson et al., 1989; Tomson et al., 1990).

Η ανεπάρκειά της βιταμίνης B6, συχνή σε ασθενείς με ΧΝΑ, οδηγεί σε υπεροξαλουρία και υπεροξαιμία, ιδιαίτερα στα στάδια 4 & 5 της ΧΝΑ (Mydlík et al., 2004). Παρότι οι ασθενείς υπό ΠΚ με συνήθη δίαιτα έχουν, χωρίς συμπληρωματική χορήγηση, φυσιολογικά επίπεδα βιταμίνης B6 πλάσματος, εν τούτοις παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα 5'φωσφορικής πυριδοξάλης. Οι απώλειες στο περιτοναϊκό έκπλυμα ήταν μικρές προκειμένου για τη βιταμίνη B6, χωρίς περαιτέρω επιδείνωσή τους σε φάσεις περιτονίτιδας. Για την επανάκτηση φυσιολογικών επιπέδων της φωσφορικής πυριδοξάλης οι ασθενείς απαιτούσαν τη συμπληρωματική χορήγηση 5- 10 mg υδροχλωρικής πυριδοξίνης ημερησίως από το στόμα (Ross et al., 1989).

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, στους οποίους χορηγήθηκαν συμπληρωματικά 100 mg βιταμίνης B6 ανά ημέρα για 4 μήνες, διαπιστώθηκε ότι, παρότι δεν αυξήθηκαν τα επίπεδα του οξαλικού, η δραστηριότητα της γλουταμικής οξαλοξικής τρανσαμινάσης, ενός δείκτη της θρεπτικής κατάστασης ομαλοποιήθηκε στην πλειονότητα των ασθενών σε αντίθεση με την πυριδοξίνη. Υπ' αυτήν τη θεώρηση η ανεπάρκεια πυριδοξίνης δε συνεισφέρει σημαντικά στην υπεροξαιμία και η δόση που προαναφέρθηκε δεν είναι επαρκής για τη μείωση των οξαλικών, με φαρμακολογική δράση στην τρανσαμίνωση της γλυκίνης (Tomson et al., 1989). Ούτως ή άλλως, χορήγηση πυριδοξίνης σε δόση 800 mg/ ημέρα, σε νεφροπαθείς υπό ΑΚ και ΠΚ, οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της οξειδωτικής διαδικασίας (Morgan et al., 1988).

Στην παρούσα μελέτη χορηγήθηκαν σε πρώτη φάση 250 mg/ ημέρα ασκορβικού σε συνδυασμό με 250 mg/ ημέρα βιταμίνης B6 από του στόματος.

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς τα επίπεδα της βιταμίνης E του πλάσματος ανευρίσκονται συνήθως εντός των φυσιολογικών ορίων (Bonfont-Rousselot et al., 1997; Handelman 2000) ή ακόμη και υψηλότερα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Θα λέγαμε λοιπόν ότι η ex- vivo επιδεκτικότητα της LDL για οξείδωση παραμένει φυσιολογική, λόγω της επαρκούς προστασίας των λιπόφιλων αντιοξειδωτικών (Roob et al., 2001). Πάντως η ημερήσια πρόσληψη βιταμίνης E υπολείπεται του ορίου των 15 mg/ ημέρα κατά τις

συστάσεις του DRI (Roob et al., 2001; Nikolakakis et al., 1999; Food and Nutrition Board, 2000).

Παρά τα αυξημένα επίπεδα των βιταμινών E αλλά και A, στο πλάσμα ενίοτε υπάρχουν στοιχεία υποβιταμίνωσης. Ίσως αυτό αντικατοπτρίζει -όπως προαναφέρθηκε- τη βιοδιαθεσιμότητα των βιταμινών και το λόγο βιταμίνης/ συμπλεγμάτων μεταφοράς. Μάλιστα, κλινικές κλίμακες αθηροσκλήρωσης χρησιμοποιούν αυτόν το λόγο, σε σχέση με τα επίπεδα καθαρών των βιταμινών (Aguilera et al., 2002). Σε μια μελέτη ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των βιταμινών A και E και των φορέων τους (προ-αλβουμίνη & πρωτεΐνη που δεσμεύει τη ρετινόλη για τη βιταμίνη A, και χοληστερόλη & τριγλυκερίδια για τη βιταμίνη E) και παρατηρήθηκε διαταραχή της σχέσης βιταμίνης/ φορέα, η οποία αποδόθηκε σε αυξημένη κινητοποίηση των βιταμινών (Aguilera et al., 2002).

Παρότι κάποιες μελέτες σε ασθενείς με XNA έδειξαν ότι δεν απαιτείται συμπληρωματική χορήγηση βιταμινών B12, A και E (Stein et al., 1985), συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E σε ασθενείς υπό ΑΚ και ΠΚ για 4 εβδομάδες οδήγησε σε ελάττωση της οξειδωτικής βλάβης του DNA, όπως αυτή προσδιορίστηκε με comet assay και με την ανάλυση της 8-OH-dG. (Domenici et al., 2005). Χορήγηση της, με παράλληλη λήψη πυριδοξίνης, για περίοδο 6 εβδομάδων, οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης στον ορό και σε σημαντική ελάττωση της MDA, χωρίς παράλληλη μεταβολή των ερυθροκυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων. (Mydlik et al., 2002; Palleschi et al., 2007).

Η χορήγηση βιταμίνης E οδήγησε σε ελάττωση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε αιμοκαθαιρόμενους (Roob et al., 2002), αλλά και σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους (Mydlik et al., 2002), καθώς και σε ελάττωση της οξείδωσης πρωτεϊνών και στις δύο ομάδες. (Domenici et al., 2005).

Σε κάποιες μελέτες ασθενών υπό ΠΚ βρέθηκαν εν τούτοις ελαττωμένα επίπεδα βιταμίνης E στα ερυθροκύτταρα, αλλά και στο πλάσμα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, με παράλληλη αρνητική συσχέτισή τους με τα επίπεδα της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG). Αυτή η ελάττωση θα μπορούσε αντικατοπτρίζει το αποτέλεσμα της επίδρασης της βιταμίνης σε διαδικασίες γένεσης EPO ή να αφορά απώλειές της στο διήθημα. Σε μελέτη παιδιατρικών ασθενών φαίνεται ότι η χρήση της βιταμίνης μόνης ή σε συνδυασμό με άλλους

αντιοξειδωτικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα N- ακετυλκυστεΐνη, αποτελεί μια δυνητικά ωφέλιμη επιλογή, μιας και εξάμηνη χορήγηση (τόσο σε ΑΚ όσο και σε ΠΚ) ελάττωσε το ενδοκυττάριο οξειδωτικό stress, όπως μετρήθηκε σε περιφερικά λεμφοκύτταρα του αίματος (Ece et al., 2006).

Στην τελευταία φάση της παρούσας μελέτης χορηγήθηκε (σε συνδυασμό με τις βιταμίνες C και B6) βιταμίνη E, σε συνολική δόση 200 mg ημερησίως από του στόματος, σε δύο διαιρεμένες δόσεις (ως capsules vitamin E acetate 100 mg), που ισοδυναμούν με 200 i.u. βιταμίνης E.

Τους χρόνιους νεφροπαθείς τελικού σταδίου, υπό νεφρική υποκατάσταση, χαρακτηρίζουν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικής καταπόνησης, που αποδίδονται από τη μια στην ελάττωση αντιοξειδωτικών συστημάτων (όπως αντικατοπτρίζονται από τα επίπεδα της βιταμίνης C, του σεληνίου, της ενδοκυττάριας βιταμίνης E, της ενεργότητας της γλουταθειόνης κ.α.) και από την άλλη, σε μια αυξημένη προ-οξειδωτική δραστηριότητα, σύμφυτη με κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ασθενών, όπως η προχωρημένη ηλικία, η υψηλή συχνότητα συνύπαρξης σακχαρώδους διαβήτη, η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση, το ουραιμικό σύνδρομο καθαυτό και η -άλλοτε άλλου βαθμού- βιοασυμβατότητα των χρησιμοποιούμενων μεμβρανών & διαλυμάτων (Locatelli et al., 2003; Sudhir et al., 2007). Ειδικότερα οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς, λόγω των χρησιμοποιούμενων διαλυμάτων γλυκόζης, αλλά και διεργασιών που προκύπτουν κατά τη θερμική αποστείρωση και αποθήκευσή των διαλυμάτων αυτών, χαρακτηρίζονται από άθροιση προϊόντων αποδομής γλυκόζης και συνακόλουθα AGEs και καρβονυλίων, ώστε να υπόκεινται στους κινδύνους ανάπτυξης -πέραν του οξειδωτικού- και καρβονυλικού stress.

Από το σύνολο σχεδόν των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν, φαίνεται ότι οι ασθενείς υπό ΠΚ εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερη οξειδωτική καταπόνηση σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.

Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε το σύνολο σχεδόν των προηγούμενων μελετών, υποδεικνύοντας επίσης τη σχέση του αυξημένου οξειδωτικού stress με τον αριθμό των αντιγράφων του mtDNA στα περιφερικά λευκοκύτταρα (Chen et al., 2008).

Ο προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) της ομάδας μελέτης στον ορό, στα αιμολυμένα ερυθρά και στα ούρα, με τη χρήση και των δύο μεθόδων, όπως

περιγράφηκε προηγουμένως, υπολείπεται σημαντικά, σε σχέση με τους μάρτυρες και βελτιώνεται μετά τη λήψη ασκορβικού, αλλά κυρίως μετά τη λήψη του συνδυασμού με α-τοκοφερόλη, προσεγγίζοντας τις τιμές των φυσιολογικών ατόμων ή και ξεπερνώντας τις σε ό,τι αφορά τα δείγματα των ούρων. Μετά τη λήψη των αντιοξειδωτικών, οι τιμές της TAC στο περιτοναϊκό έκπλυμα δείχνουν επίσης σημαντική αύξηση.

Παρόμοια αποτελέσματα έδωσε ο φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονυλοδιαλδεΐδης (αυξημένα επίπεδα της στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου) για τα ούρα και τον ορό, όπου βέβαια φάνηκε η υπεροχή του συνδυασμού των αντιοξειδωτικών, έναντι μόνου του ασκορβικού, γεγονός που τονίζει τη σημαίνουσα δράση της α-τοκοφερόλης στη λιπιδική υπεροξείδωση. Στο περιτοναϊκό έκπλυμα οι τιμές της MDA ελαττώθηκαν επίσης σημαντικά μετά τη λήψη των αντιοξειδωτικών, ακόμη και με μόνη τη χορήγηση του ασκορβικού, απηχώντας ίσως διαφορές που σχετίζονται με σημαντικές απώλειες, άρα και με αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα μιας υδατοδιαλυτής αντιοξειδωτικής ουσίας, όπως η βιταμίνη C στο περιτοναϊκό διαμέρισμα. Αυξημένη λιπιδική υπεροξείδωση έδειξε ο προσδιορισμός της MDA με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας-φασματοφωτομετρίας μάζας για τον ορό, τα ούρα και το περιτοναϊκό έκπλυμα, καθώς και ο φθορισμομετρικός προσδιορισμός των TBARS στον ορό.

Σημαντική μείωση στα επίπεδα της MDA παρουσιάστηκε στον ορό των ασθενών μετά από τη συγχορήγηση των βιταμινών C+E. Τονίζεται επίσης ότι ο φωτομετρικός προσδιορισμός της MDA συμβαδίζει απόλυτα με τον ακριβέστερο προσδιορισμό μέσω της υγρής χρωματογραφίας-φασματοφωτομετρίας μάζας (LC-MS).

Παρόμοια βέβαια αποτελέσματα έδειξαν και άλλες προηγούμενες μελέτες. Η συγκέντρωση της MDA σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς ήταν υψηλότερη κατά 1.7 φορές (Roob et al., 2001) ή κυμαίνεται σε ένα εύρος μεταξύ 1.5 έως 1.8 φορές σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, πάντως ακόμη εντός φυσιολογικών ορίων. Αυτή η αύξηση δεν εξηγείται μόνο στα πλαίσια αυξημένης λιπιδικής υπεροξείδωσης, αλλά και ελαττωμένης νεφρικής της κάθαρσης. Τέλος, δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ των τιμών της MDA του πλάσματος και του περιτοναϊκού εκπλύματος, πράγμα που υποστηρίζεται και από άλλους ερευνητές (αντίθετα με ό,τι παρατηρείται για παράδειγμα με τα επίπεδα της TAC στην παρούσα ή τις τιμές της πεντοσιδίνης σε προηγούμενη μελέτη) (Sundl et al., 2009).

Η μελέτη των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών με μεθοδολογία ELISA έδειξε σημαντική μείωση της τιμής τους μετά από τη χορήγηση αντιοξειδωτικών, η οποία είναι στατιστικά σημαντική μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E.

Σε παλαιότερη ελληνική μελέτη, τα επίπεδα της καρβονυλιωμένης λευκοματίνης στο πλάσμα έδειξαν να αυξάνονται παράλληλα με το βαθμό της βαρύτητας της ΧΝΑ, με περαιτέρω αύξηση στους αιμοκαθαιρόμενους. Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι δεν είχαν στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Η τελευταία αυτή επισήμανση είχε να κάνει με το γεγονός της χρήσης διαφορετικής μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό της, και συγκεκριμένα Western- blot ανάλυσης (Mitrogianni et al., 2009). Σε άλλη μελέτη, με χρήση της ίδιας μεθοδολογίας, για μικρό πάντως δείγμα ασθενών με ΧΝΑ τελικού σταδίου που δεν καθαιρόνταν, δεν παρατηρήθηκε επίσης αύξηση στην καρβονυλίωση των πρωτεϊνών του πλάσματος σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Himmelfarb & McMonagle, 2001).

Αντίθετα, με τη χρήση μεθοδολογίας ELISA, όπως στην περίπτωση μας, οι ασθενείς με ΧΝΑ σταδίων 3-5 είχαν σημαντική αύξηση των καρβονυλίων σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Oberge et al., 2004) και οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι έδειξαν περαιτέρω αύξηση, παρότι είχαν χαμηλότερες τιμές σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους, τόσο για τα καρβονύλια, όσο και για την MDA (Doñate et al., 2002; Li et al., 2006; Pietrzak et al., 1995; Göçmen et al., 2008).

Τα μικρότερα ποσοστά πρωτεϊνικής καρβονυλίωσης των ασθενών υπό ΠΚ, σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους, ερμηνεύονται στα πλαίσια μικρότερης βιοασυμβατότητας της μεθόδου, σημαντικότερης απώλειας λευκοματίνης στο περιτοναϊκό έκπλυμα, μιας ουσίας που αποτελεί τον κύριο στόχο των οξειδωτικών πρωτεϊνικών τροποποιήσεων ή/ και της διατήρησης, σε μεγαλύτερο ποσοστό έναντι των αιμοκαθαιρόμενων, κάποιου βαθμού υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας.

Τα επίπεδα των προκεχωρημένων προϊόντων γλυκοσυλίωσης των πρωτεϊνών και της πεντοσιδίνης, ενός βιολογικού δείκτη των AGEs βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση που διατηρούν υπολειπόμενη απέκκριση ούρων, σε ποσότητα μικρότερη από 300 ml ανά ημέρα, σε σχέση με την παρουσία υπολειπόμενης διούρησης μεγαλύτερης ή ίσης με 300 ml ημερησίως. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει τη σημαντική

προστατευτική δράση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας έναντι του οξειδωτικού και του καρβονυλικού stress (Furuya et al., 2009).

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, όπως διαπιστώνεται και στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρείται συσχέτιση του επιπέδου γλυκαιμίας, όπως αυτό εκτιμάται με τον προσδιορισμό της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και του επιπέδου των καρβονυλιωμένων παραγώγων(σημειώνεται ότι υψηλές τιμές της τελευταίας αποτελούσαν για την ομάδα ελέγχου κριτήριο αποκλεισμού). Το στοιχείο αυτό έρχεται σε αντίθεση προς ό,τι συμβαίνει σε διαβητικούς στο γενικό πληθυσμό, αλλά και σε αιμοκαθαιρόμενους, όπου παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων πεντοσιδίνης και καρβοξυμεθυλ-λυσίνης μεταξύ διαβητικών και μη (Miyata et al., 1996; Miyata et al., 1998).

Αυτή η μη συσχέτιση παρατηρείται επίσης σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου που δεν καθαίρονται. Τα επίπεδα των AGEs κινούνται ανεξάρτητα με τις τιμές της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, γεγονός που υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός της υπέρμετρης παραγωγής τους στην ουραιμία δε σχετίζεται πρωτίστως με τα υψηλά επίπεδα γλυκαιμίας (Boulangier et al., 2006). Σε ασθενείς υπό ΠΚ η αύξηση των AGEs δε βαίνει επίσης παράλληλα με την αύξηση της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, πράγμα που σημαίνει ότι η έκθεση σε διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης ή προϊόντων αποδομής της (GDPs) εντός αυτών είναι μια κυρίαρχη διαδικασία που οδηγεί σε σχηματισμό AGEs σε μεγαλύτερο βαθμό, σε σχέση με την υπεργλυκαιμία καθαυτή (Miyata et al., 2000; Suliman et al., 2003; Sundl et al., 2009).

Η επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη νοσηρότητα και θνητότητα τόσο των ασθενών με χρόνια νεφρική νόσο που αντιμετωπίζονται συντηρητικά, όσο και ιδιαίτερα εκείνων που αντιμετωπίζονται με εξωνεφρική κάθαρση. Συγκεκριμένα, το αυξημένο οξειδωτικό stress αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, ευθύνεται για τις συνολικές οξειδωτικές δράσεις στον οργανισμό και τις συνακόλουθες δυνητικές βλάβες στα βιολογικά συστήματα, συντελεί στις επιπλοκές τόσο της ΧΝΑ, όσο και των ίδιων των μεθόδων κάθαρσης, ελαττώνει τη διαχρονικότητα εφαρμογής της μεθόδου της περιτοναϊκής κάθαρσης (επιτείνοντας για παράδειγμα τη βλάβη ή την ίνωση της περιτοναϊκής μεμβράνης), αλλά και συμμετέχει δυνητικά στην εξέλιξη της ίδιας της νεφρικής νόσου.

Οι ασθενείς που ακολουθούν πρόγραμμα εξωνεφρικής κάθαρσης υπόκεινται σε αυξημένο επιπολασμό καρδιαγγειακών νοσημάτων, από τη μια εξ' αιτίας της αυξημένης συχνότητας συνύπαρξης κλασσικών παραγόντων κινδύνου, και από την άλλη λόγω καταστάσεων που σχετίζονται με την ίδια τη ΧΝΑ (αναιμία, αγγειακές επασβεστώσεις, ουραιμικές τοξίνες, υπερφόρτωση της κυκλοφορίας, τροποποίηση του μεταβολισμού του ασβεστίου και του φωσφόρου, υπερπαραθυρεοειδισμός, υπερομοκυστεϊναιμία κ.α.), ή και νεώτερων παραγόντων κινδύνου, κάποιοι από τους οποίους αποτελούν συνιστώσες του συνδρόμου ΜΙΑ, όπως ήδη έχουν περιγραφεί, ενώ άλλοι, όπως το μεταβολικό σύνδρομο και η αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση συνιστούν ισχυρούς καθοριστές του αναφερόμενου πια ως υπολειπόμενου καρδιαγγειακού κινδύνου. Λόγω των παραπάνω, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας.

Σε ηλικιωμένους ασθενείς με ΧΝΑ, που χαρακτηρίζονται κυρίως από την παρουσία κλασσικών παραγόντων κινδύνου, η καρδιαγγειακή θνητότητα αυξάνεται έως 5 φορές, ενώ σε νεώτερους ασθενείς, ηλικίας 25-35 ετών η αύξηση είναι κατά πολύ σημαντικότερη (αύξηση του σχετικού κινδύνου έως 375 φορές). Η ίδια διάσταση σε ό,τι αφορά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο παρατηρείται και για τους ασθενείς υπό εξωνεφρική κάθαρση. Αυτό αντικατοπτρίζει το γεγονός ότι νεώτεροι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου διαδραματίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο και αναδύονται πια στο προσκήνιο.

Η συγχορήγηση των βιταμινών C και E, παρότι χρησιμοποιήθηκε σε ασθενείς με ΧΝΑ, υπό αιμοκάθαρση, χρησιμοποιείται- όπως ήδη τονίστηκε- για πρώτη φορά σε ασθενείς υπό ΣΦΠΚ, οι οποίοι σε προηγούμενες μελέτες είχαν λάβει μεμονωμένα βιταμίνη C ή E. Σ' αυτό συνετέλεσε η ανεύρεση φυσιολογικών (ή και αυξημένων) επιπέδων της βιταμίνης E στον ορό των ασθενών υπό ΠΚ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Παρά ταύτα, όπως περιγράφηκε εκτενέστερα στο γενικό μέρος, οι ασθενείς αυτοί χαρακτηρίζονται από ενδοκυττάρια ένδεια της βιταμίνης, και χορήγησή της ασκεί σημαντικές επωφελείς δράσεις (ελάττωση της λιπιδικής υπεροξειδωσης ή της οξειδωτικής βλάβης του DNA).

Στο κεφάλαιο της θεραπείας τονίζονται σημαντικές επωφελείς δράσεις μιας σειράς αμιγών αντιοξειδωτικών παραγόντων (N-ακετυλκυστεΐνη, τριμεταζιδίνη κ.α.) ή άλλων με παράπλευρη αντιοξειδωτική δράση (αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου, ανταγωνιστές των υποδοχέων AT1 της αγγειοτενσίνης II κλπ.). Παράλληλα δοκιμάζονται

πολυπλοκότερες μέθοδοι (π.χ. δεσμευτικά σφαιρίδια ελευθέρων ριζών, νεότερα διαλύματα, σάκοι πολλαπλών διαμερισμάτων κ.α.). Η χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C και E και μάλιστα per os, θα μπορούσε να αποτελεί έναν απλό, πρωταρχικό χειρισμό, με σημαντικό αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα, χωρίς να αποκλείονται περαιτέρω συνδυασμοί με χορήγηση πρόσθετων παραγόντων, ή και εφαρμογή άλλων μεθόδων, πράγμα που ίσως αποτελέσει αντικείμενο μελλοντικών μελετών.

Τα διαλύματα της περιτοναϊκής κάθαρσης περιέχουν γλυκόζη σε υψηλές συγκεντρώσεις, γεγονός που εκκινά την αντίδραση Maillard και οδηγεί σε αύξηση καρβονυλικών ενώσεων, μια διαδικασία που -όπως ήδη περιγράφηκε- επιτείνεται κατά τη διαδικασία θερμικής αποστείρωσής τους. Καρβονυλικές ενώσεις αθροίζονται επίσης και στην περιτοναϊκή κοιλότητα σε συνθήκες αυξημένης οξειδωτικής καταπόνησης αλλά και από την ουραιμική κυκλοφορία. Σε νορμογλυκαιμικούς περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, τα επίπεδα των AGEs αυξάνουν σε πολύ υψηλότερο επίπεδο σε σχέση με τους διαβητικούς. Άρα η αύξηση των καρβονυλικών ενώσεων δεν μπορεί να αποδοθεί στα αυξημένα επίπεδα της γλυκόζης ούτε στην ελαττωμένη GFR.

Συμπερασματικά, στη χρόνια νεφρική νόσο η αύξηση αυτή προκύπτει κυρίως ως αποτέλεσμα γλυκοοξειδωσης, αλλά και λιποξειδωσης (καρβονυλικό stress) (Miyata et al., 1999). Βέβαια, υπάρχει και ο αντίλογος, που υποστηρίζει ότι οι ασθενείς υπό ΠΚ είχαν όπως αναμενόταν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα καρβονυλικών ενώσεων και MDA σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, αλλά η αύξηση αυτή ήταν σημαντικότερη σε όσους είχαν σακχαρώδη διαβήτη ή/και δυσθρεψία (Rutkowski et al., 2006). Αυτή η παρατήρηση αφορά ακραίες διακυμάνσεις τιμών μεταξύ διαβητικών και μη ασθενών και όχι μικρές επιμέρους μεταβολές των τιμών της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Συνεπώς, οι τιμές αυτής δεν μπορεί να αποτελούν ασφαλή έμμεσο δείκτη γλυκοσυλίωσης.

Σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς παρατηρείται ελάττωση της δραστηριότητας της γλουταθειόνης και της υπεροξειδάσης της (GSH και GSH-Px) (Ceballos-Picot et al., 1996). (Zwolinska et al., 2009). Τα επίπεδα της GSH στο ολικό αίμα βρέθηκαν ελαττωμένα στον ίδιο βαθμό σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και περιτοναϊκή κάθαρση, ενώ, σε μια άλλη μελέτη, η δραστηριότητα τόσο της υπεροξειδάσης της (GSH-Px), όσο και της ρεδοκτάσης της (GSSG-R) ήταν λιγότερο επηρεασμένες σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση (Schettler et al., 1998).

Καθαιρόμενοι νεφροπαθείς εμφανίζουν ανεπάρκεια γλουταθειόνης τόσο στο ολικό αίμα όσο και στα ερυθροκύτταρα (Ross et al., 1997; Ceballos-Picot et al., 1996). Τα επίπεδά της –καθώς και η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της- είναι σημαντικά χαμηλότερα σε ασθενείς υπό κάθαρση σε σχέση με μάρτυρες, παράλληλα με υψηλότερη δραστικότητα της αναγωγάσης της και σχετίζονταν με τα επίπεδα της TAC. Μεταξύ αιμοκαθαιρόμενων και περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές των ερυθροκυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (Ahmadpoor et al., 2009).

Συνοψίζοντας, σε ασθενείς υπό ΠΚ η ολική, η οξειδωμένη και η αναχθείσα γλουταθειόνη, καθώς και η υπεροξειδάση της, βρίσκονται σημαντικά ελαττωμένες σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Martin-Mateo et al., 1998; Bonnefont-Rousselot et al., 1997).

Τα επίπεδα της Cu/ Zn υπεροξειδικής δισμουτάσης του πλάσματος είναι ένας απλός και ταυτόχρονα ευαίσθητος δείκτης της οξειδωτικής καταπόνησης σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου. Σχετίζονται θετικά με τα επίπεδα της MDA, της κρεατινίνης και των αντισωμάτων έναντι της οξειδωμένης LDL και μάλιστα ανεξάρτητα από την ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη ή φλεγμονής (Pawlak et al., 2005).

Τα επίπεδα της υπεροξειδικής δισμουτάσης υπολογίζονται σημαντικά χαμηλότερα σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και μάλιστα περισσότερο σε αιμοκαθαιρόμενους έναντι των περιτοναϊκά καθαιρόμενων (Kayabasi et al., 2010)

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της υπεροξειδικής δισμουτάσης μετά τη χορήγηση του ασκορβικού, ενώ η συγχορήγηση βιταμίνης E δεν έδειξε περαιτέρω βελτίωση. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν για την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες, όπου χορήγηση τοκοφερόλης οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της MDA, χωρίς παράλληλη μεταβολή των ερυθροκυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (Mydlík et al., 2002; Palleschi et al., 2007).

Βέβαια, σε ό,τι αφορά την επίδραση της χορήγησης βιταμίνης C στα επίπεδα της SOD, υπάρχουν και μελέτες – ιδιαίτερα σε αιμοκαθαιρόμενους νεφροπαθείς- που δε διαπιστώνουν την ευεργετική δράση που υποστηρίξαμε προηγούμενα, τονίζοντας ότι το ασκορβικό δεν μπορεί να καταστέλλει επαρκώς την αύξηση της έκφρασης της Cu/Zn-SOD (Washio et al., 2008).

Συμπερασματικά, οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι νεφροπαθείς της παρούσας μελέτης εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερο επίπεδο οξειδωτικής καταπόνησης σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων, όπως αποτυπώνεται στο σύνολο των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών (έως και 100%) ακολουθεί τη γενικότερη (μέση) τάση αύξησης ή μείωσης (ανάλογα με τη μέθοδο) των δεικτών που ελέγχουν τη βελτίωση του οξειδωτικού stress μετά τη χορήγηση των αντιοξειδωτικών και μάλιστα το ποσοστό αυτό αυξάνει περαιτέρω μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C & E. Με άλλα λόγια, οι ασθενείς μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών (C & E) είχαν πολύ καλύτερη οξειδωτική εικόνα, σε σύγκριση με τη λήψη μόνης βιταμίνης C, και μάλιστα περισσότερο σε σχέση με την εικόνα τους πριν από τη λήψη των αντιοξειδωτικών. Τα αποτελέσματα ορισμένων μεθοδολογιών υποδεικνύουν ότι οι ασθενείς μετά τη λήψη του συνδυασμού (C & E) πλησιάζουν τα επίπεδα των υπό μελέτη παραγόντων των ατόμων της ομάδας ελέγχου (όπως ήδη αναφέρθηκε για παράδειγμα στον προσδιορισμό της TAC). Παράλληλα, παρατηρείται ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των εφαρμοζόμενων μεθοδολογιών στα διάφορα βιολογικά δείγματα (ούρα, ορός κλπ.).

Σε ηλικιωμένους ασθενείς υπό ΠΚ, με μέσο όρο ηλικιών 78 ± 2 έτη, η μέθοδος της ΠΚ καθαυτή δε φαίνεται να επιδεινώνει περαιτέρω την οξειδωτική καταπόνηση από ό,τι μεμονωμένα η ηλικία ως ανεξάρτητος παράγοντας οξειδωτικού κινδύνου, όπως φάνηκε σε μελέτη ασθενών, σε σχέση με υγιείς ηλικιωμένους μάρτυρες, όπου παρόμοια ελέγχονται τα επίπεδα του σεληνίου, της GSH-Px και των TBARS του πλάσματος. (Bonfont-Rousselot et al., 1997). Αντίθετα, για το φάσμα των ηλικιών της παρούσας μελέτης, φαίνεται ότι η ΠΚ επισωρεύει σημαντική περαιτέρω οξειδωτική καταπόνηση.

Σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς, η υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία [Residual renal function (RRF)], όπως ήδη αναφέρθηκε, σχετίζεται θετικά με την επιβίωση και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την ίδια την κάθαρση. Θεωρείται μάλιστα ισχυρός προγνωστικός παράγοντας καρδιαγγειακής και συνολικής θνητότητας, ώστε και σε μικρή ακόμη αύξησή της μόλις κατά $1 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$, να παρατηρείται ελάττωση αμφοτέρων αυτών κατά 50% (Λεπτομέρειες παρατίθενται στο γενικό μέρος).

Παράλληλα παρατηρείται σημαντική ανάστροφη συσχέτιση μεταξύ της RRF και των επιπέδων των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης του ορού, καθώς και των AGEs (van de Kerkhof et al., 2004; Ignace et al., 2009).

Η σχέση αυτή θα μπορούσε βέβαια να εξηγείται σε κάποιο βαθμό στα πλαίσια συννοσηρότητας. Καταστάσεις που συνεισφέρουν στην αύξηση της οξειδωτικής καταπόνησης, όπως ο διαβήτης, η δυσθρεψία, η φλεγμονή κ.α., σχετίζονται με ελαττωμένη RRF. Εν τούτοις, έπειτα από πολυπαραγοντική ανάλυση, αυτή η υπόθεση δεν αποδείχτηκε.

Η ΠΚ χαρακτηρίζεται, όπως αναφέρθηκε, από επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας, εν μέρει από την αύξηση των επιπέδων των AGEs και της αλληλεπίδρασής τους με τον κυτταρικό τους υποδοχέα (Yan et al., 1994).

Η απώλεια RRF, για ασθενείς υπό ΠΚ, σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων των AOPP και της πεντοσιδίνης στο πλάσμα, καταδεικνύοντας το θετικό ρόλο της στον έλεγχο της αύξησης του οξειδωτικού και του καρβονυλικού στρες (Furuya et al., 2009), αλλά και στην παραγωγή φλεγμονογόνων κυτοκινών και στην ιστική βλάβη που προκύπτει στα πλαίσια της οξειδωτικής τροποποίησης πρωτεϊνών (Li & Cheng, 2007).

Από την άλλη, το οξειδωτικό stress δεν τοποθετείται μόνο στην πλευρά του αποτελέσματος, αλλά και του αιτίου περαιτέρω επιδείνωσης- απώλειας της RRF, γεγονός που οδηγεί και σε θεραπευτικούς χειρισμούς (για παράδειγμα η χορήγηση N-ακετυλκυστεΐνης σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση της RRF) (Feldman et al., 2010).

Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι οι ασθενείς που διατηρούν υπολειπόμενη ούρηση, συνεπώς και κάποιου βαθμού RRF, εμφανίζουν μικρότερου βαθμού οξειδωτική καταπόνηση.

Σε μελέτη παιδιατρικών ασθενών με ΧΝΑ, φάνηκε η θετική συσχέτιση δεικτών οξειδωτικής καταπόνησης όπως οι SOD, CAT, GSH και MDA με τα επίπεδα δεικτών φλεγμονής (CRP, IL-6, TNF-α) αλλά και δεικτών όπως ο IMT και η μάζα της αριστερής κοιλίας (Ece et al., 2006). Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε παρόμοια θετική συσχέτιση μεταξύ του βαθμού της φλεγμονής, όπως αντανακλάται στα επίπεδα της CRP και του

βαθμού της οξειδωτικής καταπόνησης, όπως αποτυπώνεται στα επίπεδα της TAC και της MDA.

Τα επίπεδα των 8-iso-PGF(2alpha) του πλάσματος συσχετίζονταν γραμμικά, θετικά με τη συγκέντρωση της CRP και την MDA του πλάσματος ($r = 0.29$, $p < 0.05$ και $r = 0.38$, $p < 0.05$ αντίστοιχα). Από την άλλη συσχετίζονταν αντίστροφα με τα επίπεδα της λευκωματίνης του ορού ($r = -0.31$, $p < 0.05$) (Lim et al., 2002).

Σε *in vitro* μελέτες φάνηκε πως η λευκωματίνη είναι σημαντικό αντιοξειδωτικό του πλάσματος και μάλιστα η λιπιδική υπεροξείδωση ελαττώνεται με την προσθήκη της (Badwey et al., 1984; Dobrian et al., 1993).

Ειδικότερα, ποσοστό μεγαλύτερο από το 70% της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος οφείλεται στη λευκωματίνη και το ουρικό (Miller et al., 1993).

Οι υπολευκωματιναιμικοί ασθενείς υπό ΠΚ χαρακτηρίζονται από ελαττωμένη μάλλον, παρά αυξημένη, MDA και χορήγηση λευκωματίνης δεν επηρέασε τη λιπιδική υπεροξείδωση. Υπήρχαν επίσης θετικές συσχετίσεις μεταξύ λευκωματίνης και TAC ή ουρικού (Kim et al., 2000).

Σε ασθενείς με ΧΝΑ, παρατηρείται επίσης αρνητική αλληλεπίδραση μεταξύ της οξείας, επαγόμενης από σίδηρο οξειδωτικής καταπόνησης (όπως φαίνεται από τον προσδιορισμό των επιπέδων της IsoPG-F2 alpha) και της λευκωματίνης του ορού (Sezer et al., 2007).

Σε άλλες μελέτες, φαίνεται μια αρνητική συσχέτιση λευκωματίνης από τη μια και AGEs και TBARS από την άλλη, γεγονός που επισημαίνει ότι η ελάττωση της λευκωματίνης μπορεί να συνεισφέρει στην αυξημένη όψιμη γλυκοσυλίωση και στη λιπιδική υπεροξείδωση (Sahin et al., 2008). Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της λευκωματίνης του ορού και του βαθμού της οξειδωτικής καταπόνησης. Υποστηρίζεται ότι δεν είναι τόσο το ποσό της λευκωματίνης που συναρτάται με την οξειδωτική καταπόνηση, αλλά μεταβολές της, που μπορούν να αποτελούν και χρήσιμους δείκτες του οξειδωτικού stress. Ως τέτοιος δείκτης οξείδωσης χρησιμοποιείται για παράδειγμα η οξειδοαναγωγική κατάσταση της λευκωματίνης του ορού (HSA-redox), η οποία προσδιορίζεται με HPLC μεθοδολογία, και στους περιτοναϊκά καθαυόμενους αποτελεί ποσοστό 35–55% της ολικής, σε σχέση με 20–25% στον υγιή πληθυσμό (Terawaki et al., 2007).

Τέλος, στην παρούσα μελέτη οι τιμές του ουρικού του ορού σχετίζονται θετικά μόνο με την TAC, εύρημα που υποστηρίζεται και από τα αποτελέσματα παλαιότερων μελετών, στις οποίες ήδη έχουμε αναφερθεί.

6. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

Περίληψη στην Ελληνική

Η οξειδωτική καταπόνηση παριστά μια δυνητικά επιβλαβή κατάσταση, η οποία προκύπτει από διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής οξειδωτικών ενώσεων από τη μια, και από την άλλη της προστασίας που παρέχεται από αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, υπέρ των πρώτων. Υπάρχουν σημαντικά στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η χρόνια νεφρική νόσος σχετίζεται με αύξηση του οξειδωτικού stress, το οποίο μάλιστα επιδεινώνεται με την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης και μεγιστοποιείται μετά την εφαρμογή των μεθόδων εξωνεφρικής κάθαρσης. Παρά τις προόδους στη θεραπεία, οι ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) υπό κάθαρση, παραμένουν σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων, γεγονός που δεν εξηγείται επαρκώς στα πλαίσια μόνο των «παραδοσιακών (κλασσικών)» παραγόντων κινδύνου. Ειδικότερα, στους ασθενείς αυτούς, η οξειδωτική βλάβη φαίνεται να διαδραματίζει πρωτεύοντα ρόλο στην επιταχυνόμενη αθηρωμάτωση και στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Από την άλλη, η οξειδωτική καταπόνηση συνεισφέρει στην ανάπτυξη των επιπλοκών της χρόνιας νεφρικής νόσου, και ιδιαίτερα στη μακροχρόνια περιτοναϊκή κάθαρση προτείνεται ως σημαντικός μηχανισμός δομικών και λειτουργικών βλαβών. Τα περιτοναϊκά διαλύματα περιέχουν προϊόντα αποδομής της γλυκόζης (GDPs), που δημιουργούνται κατά τη θερμική αποστείρωση και την παρατεταμένη αποθήκευσή τους, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες. Τα GDPs επιταχύνουν την παραγωγή όψιμων (προκεχωρημένων) προϊόντων τελικής γλυκοσυλίωσης (AGEs) στην περιτοναϊκή κοιλότητα, ασκώντας ανεπιθύμητες δράσεις στην περιτοναϊκή μεμβράνη. Η γένεση των AGEs επιταχύνεται σε μια τέτοια προ-οξειδωτική κατάσταση αλλά επάγει επίσης περαιτέρω οξειδωτικές απαντήσεις, συμπεριλαμβανομένης της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Στους περιτοναϊκά καθαίρομενους ασθενείς, η οξειδωτική καταπόνηση επιτείνεται ακόμη λόγω της συνύπαρξης μιας χρόνιας φλεγμονώδους κατάστασης, σακχαρώδους διαβήτη, προκεχωρημένης ηλικίας αλλά και απωλειών μικρομοριακών αντιοξειδωτικών ουσιών εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας, όπως του ασκορβικού οξέος. Οι ασθενείς αυτοί χρειάζονται διαιτητική υποκατάσταση της βιταμίνης C, όχι μόνο λόγω των απωλειών, αλλά και λόγω ελαττωμένης πρόσληψης συνεπεία συχνών εμέτων ή ελαττωμένης όρεξης, ή και λόγω της δράσης του ίδιου του οξειδωτικού stress, στα πλαίσια κατανάλωσης αντιοξειδωτικών. Για τη διατήρηση φυσιολογικών

επιπέδων ασκορβικού, η συνιστώμενη ημερήσια διαιτητική πρόσληψη ξεπερνά τις συνήθεις τιμές, όπως προτείνονται για υγιείς ενήλικες (80-140 mg/ ημέρα).

Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι η σύγκριση δεικτών οξειδωτικού και καρβονυλικού stress μεταξύ ασθενών υπό συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (ΣΦΠΚ) και υγιών μαρτύρων, και εν συνεχεία η εκτίμηση της επίδρασης της χορήγησης 250 mg/ημέρα βιταμίνης C μόνης, ή σε συνδυασμό με 200 mg/ ημέρα βιταμίνης E , στους δείκτες αυτούς.

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν είκοσι ασθενείς υπό ΣΦΠΚ (ηλικίας 51-70 ετών) και 10 υγιείς μάρτυρες σταθμισμένοι ως προς την ηλικία. Προσδιορίστηκαν δείκτες οξειδωτικού και καρβονυλικού stress, και συγκεκριμένα η δραστηριότητα ερυθροκυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (επιλέχθηκαν η υπεροξειδική δισμουτάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης), η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) και η μαλονυλοδιαλδεύδη, αμφότερες οι τελευταίες στον ορό του αίματος, στα ερυθροκύτταρα, στο περιτοναϊκό έκπλυμα και στα ούρα, οι ενεργές ενώσεις του θειοβαρβιτουρικού οξέος και τα καρβονυλιωμένα παράγωγα πρωτεϊνών του ορού. Ο προσδιορισμός των παραπάνω δεικτών έγινε σε τρία διαφορετικά στιγμιότυπα, και συγκεκριμένα πριν τη χορήγηση αντιοξειδωτικών, μετά τη χορήγηση μόνης της βιταμίνης C και μετά τη χορήγηση του συνδυασμού των βιταμινών C και E.

Οι ασθενείς υπό ΣΦΠΚ χαρακτηρίζονται από ελαττωμένη TAC, υψηλότερα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης (όπως αυτή υποδεικνύεται από την αύξηση των επιπέδων της MDA και των TBARS του ορού) καθώς και από υψηλότερα επίπεδα καρβονυλιωμένων ενώσεων του ορού, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Η χορήγηση της βιταμίνης C αύξησε τη δραστηριότητα αμφοτέρων των υπό μελέτη ερυθροκυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η βιταμίνη C μόνη, αλλά και ιδιαίτερα σε συνδυασμό με τη χορήγηση βιταμίνης E, οδήγησαν σε σημαντική ελάττωση της MDA, καθώς και σε αύξηση της TAC του ορού, των ερυθροκυττάρων του περιτοναϊκού εκπλύματος και των ούρων, σε ελάττωση των TBARS, καθώς και των καρβονυλίων του ορού. Για μερικές μάλιστα παραμέτρους, η παρατηρούμενη μεταβολή υπήρξε στατιστικά σημαντική.

Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση σε περιτοναϊκά καθαιρόμενους νεφροπαθείς. Θεραπεία διαιτητικής υποκατάστασης με βιταμίνη C, σε συνδυασμό με πυριδοξίνη, μόνων ή σε συνδυασμό με βιταμίνη E, οδήγησε σε βελτίωση της οξειδωτικής κατάστασης.

Η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε ακόμη τη σημαντική επωφελή δράση της χορήγησης των αντιοξειδωτικών βιταμινών, παρότι τα επίπεδα της βιταμίνης E του ορού των ασθενών είναι συνήθως εντός των φυσιολογικών ορίων, υποσημαίνοντας το ρόλο πιθανής ενδοκυττάριας ένδειάς της. Σε ό,τι αφορά τη βιταμίνη C, αρκούν χαμηλές δόσεις, εφ' όσον στην αντίθετη περίπτωση μπορεί να αποτελούν πρόδρομα μόρια πεντοσιδίνης ή μπορεί να οδηγούν σε αύξηση του οξαλικού οξέος του ορού.

Περίληψη στην Αγγλική

Oxidative stress defines a potential harmful condition, due to an imbalance between the formation of oxidative compounds and the protection of antioxidant defence mechanisms. There is strong evidence indicating that uraemia and end-stage renal disease are associated with excessive oxidative stress, which progresses along with the deterioration of kidney function, and exacerbates during dialysis procedures. In spite of many therapeutic advances, patients with end-stage renal disease (ESRD) receiving renal replacement therapy are at increased risk of developing cardiovascular disease, only partially explained by the “traditional” risk factors. Specifically, oxidative damage has been suggested to play a key role in accelerated atherosclerosis and endothelial dysfunction of dialyzed patients. On the other hand, this condition of increased oxidative stress is considered to play a major role in the development of ESRD complications and has been implicated as one possible mechanism of structural and functional damage of the peritoneal membrane in long-term PD patients.

Peritoneal dialysis fluids also contain glucose degradation products (GDPs), which are generated during heat sterilization or prolonged storage, particularly at high temperature. GDPs accelerate the production of AGEs in the peritoneal cavity and consequently exert adverse effects on the peritoneal membrane. Generation of AGEs is accelerated in such a pro-oxidant state but also induce a further oxidative stress response, including lipid peroxidation. In PD patients, oxidative damage is aggravated by chronic inflammation, diabetes, advanced age, and losses of small molecules, into the peritoneal cavity, such as the antioxidant ascorbate. Consequently, these patients need ascorbic acid supplementation, not only because of increased loss through dialysate, but also due to reduced intake owing to nausea and loss of appetite, and increased oxidative stress. To maintain ascorbic acid in the normal range for healthy adults, daily oral intake needs to be increased above the U.S. recommended dietary allowance to 80-140 mg.

The aim of this study was to compare oxidative and carbonyl stress markers between patients under continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD), and healthy individuals and, furthermore to investigate the influence of vitamin C (250 mg/day orally) supplementation, alone or in combination with vitamin E (200 mg/day), on the same oxidant/ antioxidant defense parameters in CAPD patients.

Twenty CAPD patients (age, 51-70 years) and 10 age-matched healthy subjects were enrolled. Oxidative/ carbonyl stress markers, such as erythrocyte antioxidant enzyme activity [superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px)], total antioxidant capacity (TAC) and malondialdehyde (MDA), both of them in serum, erythrocytes, peritoneal effluent and urine, serum thiobarbituric-acid-reactive substances (TBARS) and carbonyl compounds, were evaluated in three different 8 week periods: Before the administration of antioxidants, after the oral administration of vitamin C and after the combination of vitamins C and E.

CAPD patients showed lower TAC, higher lipid peroxidation (as indicated by MDA and TBARS levels) and higher carbonyl compound levels than control subjects. The administration of vitamin C increased both erythrocyte enzyme activity. Vitamin C alone and especially in combination with vitamin E led to the significant decrease of malondialdehyde and the increase of TAC in serum, erythrocyte, urine and peritoneal effluent and the decrease of serum TBARS and carbonyl compounds level (for some parameters statistically significant).

These findings indicate exacerbated oxidative stress in patients with chronic renal failure under CAPD, as evidenced by decreased TAC, increased lipid peroxidation, enhanced carbonyl compound and low antioxidant levels. Eight-week treatment with oral vitamin C plus pyridoxine alone or in combination with vitamin E (for the same period) in CAPD patients, led to the significant decrease of oxidative stress. Our study confirmed the beneficial effect of both antioxidant vitamins and especially their combination, although the vitamin E serum levels are in normal range for the majority of CAPD patients, indicating possibly a type of intracellular vitamin defect. Orally administered vitamin E is a very important antioxidant agent for CAPD patients. Low-dose vitamin C supplements should be recommended for PD patients to maintain normal antioxidant status, given that higher doses could serve as precursors of pentosidine, or might increase serum oxalic acid levels.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Acchiardo SR, Moore LW, La Tour PA. Malnutrition as the main factor in the morbidity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1983; 24(Suppl 16):199–203
2. Agalou S, Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Dawnay A, Thornalley PJ. Profound mishandling of protein glycation degradation products in uremia and dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1471–85.
3. Agarwal R, Tripathi AK, Chakrabarty AK. Effect of ascorbic acid on stimulatory status of activated mouse peritoneal phagocytes. *Indian J Exp Biol.* 2003 Apr;41(4):290-5
4. Agarwal R. Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003; 284: 863-869.
5. Aguilera A, Bajo MA, del Peso G, Diez JJ, Codoceo R, Rebollo F, Mariano M, Selgas R. True deficiency of antioxidant vitamins E and A in dialysis patients. Relationship with clinical patterns of atherosclerosis. *Adv Perit Dial.* 2002;18:206-11.
6. Ahmadpoor P, Eftekhar E, Nourooz-Zadeh J, Servat H, Makhdoomi K, Ghafari A. Glutathione, glutathione-related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis. *Iran J Kidney Dis.* 2009 Jan;3(1):22-7.
7. Alamdari, D.H.; Kostidou, E.; Paletas, K.; Sarigianni, M.; Konstas, A.G.P.; Karapiperidou, A.; Koliakos, G. High sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for measuring protein carbonyl in samples with low amounts of protein. *Free Radic. Biol. Medic.* 39: 1362-1367; 2005.
8. Alderson NL, Chachich ME, Youssef NN, Beattie RJ, Nachtigal M, Thorpe SR, et al. The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits lipemia and development of renal and vascular disease in Zucker obese rats. *Kidney Int.* 2003; 63: 2123-2133.
9. Alhamdani MS, Al-Kassir AH, Abbas FK, Jaleel NA, Al-Taei MF. Antiglycation and antioxidant effect of carnosine against glucose degradation products in peritoneal mesothelial cells. *Nephron Clin Pract.* 2007;107(1):c26-34
10. Ando M, Shibuya A, Yasuda M et al. Impairment of innate cellular response to in vitro stimuli in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2497–2503
11. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol* 1991; 5(6): 733-742.

12. Annuk M, Lind L, Linde T, Fellstöm B: Impaired endothelium-dependent vasodilatation in renal failure in humans. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16: 302-306.
13. Annuk M, Zilmer M, Fellstro B. Endothelium-dependent vasodilation and oxidativestress in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease. *Kidney International*. 2003;63:S50–S53
14. Annuk M, Zilmer M, Lind L, Linde T, Fellström B. Oxidative Stress and Endothelial Function in Chronic Renal Failure. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12: 2747-1252
15. Arima H, Nakamoto H, Okada S, Inoue T, Kobayashi K, Shoda J, et al. Risk Factors for Vascular Complications in Patients on Peritoneal Dialysis. *Adv Perit Dial*. 2006; 22: 192-197.
16. Ascherio, A, Rimm, EB, Hernan, MA, et al. Relation of consumption of vitamin E, vitamin C, and carotenoids to risk for stroke among men in the United States. *Ann Intern Med* 1999; 130:963
17. Aslam S, Santha T, Leone A, Wilcox C. Effects of amlodipine and valsartan on oxidative stress and plasma methylarginines in end-stage renal disease patients on hemodialysis. *Kidney Int*. 2006 Dec;70(12):2109-15
18. Asoyama K, Shiki Y, Ito H, Hasegowa O, Miyao A, Hayashibe H, et al. Antioxidant enzymes and lipoperoxide in blood in uremic children and adolescents. *Free Radic Biol Med* 1990;9 : 105-
19. Ates K, Nergizoglu G, Keven K, Sen A, Kutlay S, Erturk S, et al. Effect of fluid and sodium removal on mortality in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int*. 2001; 60: 767-776.
20. Aydin M, Ozkok E, Ozturk O, Agachan B, Yilmaz H, Yaylim I, et al. Relationship Between Interleukin-8 and the Oxidant-Antioxidant System in End-Stage Renal Failure Patients. *Experim and Clin Transplant*. 2007; 5: 610-613.
21. Aygen B, Celiker H, Dogukan A, Ilhan N. The effects of trimetazidine on lipid peroxidation in patients with end-stage renal disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2008 Dec;30(10):757-60.
22. Badwey JA, Carnet JT, Robinson JM, Bred CB, Karnovsky MJ, Karnovsky ML. Effects of free fatty acids on release of superoxide and on change of shape by human neutrophils: reversibility by albumin. *J Biol Chem* 1984; 259:7870–7.
23. Balcke P, Schmidt P, Zazgornik J, Kopsa H. Reduction of elevated plasma oxalic acid by pyridoxine therapy in patients on RDT. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*. 1983;19:308-12.

24. Bao Y, Jemth P, Mannervik B et al. Reduction of thymine hydroperoxide by PHGPx and GST. *FEBS Lett* 1997; 410: 210-212.
25. Baragetti I, Raselli S, Stucchi A, Terraneo V, Furiani S, Buzzi L, et al. Improvement of endothelial function in uraemic patients on peritoneal dialysis: a possible role for 5-MTHF administration. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 3292-3297.
26. Bargman JM, Thorpe KE, Churchill DN; CANUSA Peritoneal Dialysis Study Group. Relative contribution of residual renal function and peritoneal clearance to adequacy of dialysis: a reanalysis of the CANUSA study. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Oct;12(10):2158-62.
27. Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull* 1993; 49(3): 621-629
28. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251(5 Pt 2): F765-F776
29. Bayés B, Pastor MC, Bonal J, Foraster A, Romero R. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis-role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years follow-up. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21: 984-990.
30. Becker BN, Himmelfarb J, Henrich WL et al. Reassessing the cardiac risk profile in chronic hemodialysis patients: a hypothesis on the role of oxidant stress and other non-traditional cardiac risk factors. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 475–486
31. Beddhu S, Kimmel PL, Ramkumar N, Cheung AK. Associations of metabolic syndrome with inflammation in CKD: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am. J. Kidney Dis*. 2005; 46: 577–86
32. Bierhaus A, Hofmann MA, Ziegler R, Nawroth PP. AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovasc Res* 1998;37 : 586-600
33. Bieri JG. Vitamin E. In: Brown ML, ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1990: 117–21.
34. Bigley, RH, Stankova, L. Uptake and reduction of oxidized and reduced ascorbate by human leukocytes. *J Exp Med* 1974; 139:1084.
35. Bilgic A, Sezer S, Ibis A, Huddam B, Arat Z, Ozdemir FN. The influence of Bicarbonate/Lactate peritoneal dialysis solution on nutritional status. *Peritoneal Dialysis I. Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: vi 296.
36. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999;99(18):2434–2439

37. Blackburn R, Giral P, Bruckert E, André JM, Gonbert S, Bernard M, et al. Elevated C-Reactive Protein Constitutes an Independent Predictor of Advanced Carotid Plaques in Dyslipidemic Subjects. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2001; 21: 1962-1968.
38. Blumberg A, Hanck A, Sander G. Vitamin nutrition in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Clin Nephrol* 1983; 20:244 -50
39. Blumenkrantz MJ, Gahl GM, Kopple JD, Kamdar AV, Jones MR, Kessel M, et al. Protein losses during peritoneal dialysis [Abstract]. *Kidney Int*. 1981; 19: 593-602.
40. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafer U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, Green MS. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2000;356:1213–1218.
41. Boeschoten EW, Schrijver J, Krediet RT, Schreurs WH, Arisz L. Deficiencies of vitamins in CAPD patients: the effect of supplementation. *Nephrol Dial Transplant*. 1988;3(2):187-93
42. Bohlender JM, Franke S, Stein G, Wolf G. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 289: F645-659.
43. Bonnefont-Rousselot D, Jaudon MC, Issad B, Cacoub P, Congy F, Jardel C, et al. Antioxidant status of elderly chronic renal failure patients treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 1997; 12: 1399-1405.
44. Boulanger E, Moranne O, Wautier MP, Witko-Sarsat V, Descamps-Latscha B, Kandoussi A, Grossin N, Wautier JL. Changes in glycation and oxidation markers in patients starting peritoneal dialysis: a pilot study. *Perit Dial Int*. 2006 Mar-Apr;26(2):207-12.
45. Boulanger E, Wautier M, Wautier J, Boval B, Panis Y, Wernert N, et al. AGEs bind to mesothelial cells via RAGE and stimulate VCAM-1 expression. *Kidney Int* 2002; 61:148–56.
46. Bozkurt D, Hur E, Ulkuden B, Sezak M, Nar H, Purclutepe O, Sen S, Duman S. Can N-acetylcysteine preserve peritoneal function and morphology in encapsulating peritoneal sclerosis? *Perit Dial Int*. 2009 Feb;29 Suppl 2:S202-5.
47. Breborowicz A, Witowski J, Wieczorowska K, Martis L, Serkes KD, Oreopoulos DG. Toxicity of free radicals to mesothelial cells and peritoneal membrane. *Nephron*. 1993; 65: 62-66.

48. Bręborowicz A, Pawlaczyk K, Połubinska A, Górna K, Wieslander A, Carlsson O, et al. Effect of peritoneal dialysis on renal morphology and function. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21: 3539-3544.
49. Brennan LA, Morris GM, Wasson GR, Hannigan BM, Barnett YA. The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H₂O₂-induced DNA damage in human lymphocytes. *Br J Nutr*. 2000;84:195–202.
50. Brown BG, Zhao XQ, Chait A, Fisher LD, Cheung MC, Morse JS, Dowdy AA, Marino EK, Bolson EL, Alaupovic P, Frohlich J, Albers JJ. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med*. 2001;345:1583–1592.
51. Brown JH, Hunt LP, Vites NP, Short CD, Gokal R, Mallick NP. Comparative mortality from cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1994; 9: 1136-1142.
52. Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, Ulrich P, Cerami A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* 1986; 232:1629–32.
53. Brunner FP, Selwood NH on behalf of the EDTA Registry Committee. Profile of patients on RRT in Europe and death rates due to major causes of death groups. *Kidney Int*. 1992; 42(Suppl 38): 4-15.
54. Burton, GW, Joyce, A, Ingold, KU. Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membranes?. *Arch Biochem Biophys* 1983; 221:281.
55. Buss, H.; Chan, T.P.; Sluis, K.B.; Domigan, N.M.; Winterbourn, C.C. Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method. *Free Radic. Biol. Medic.* 23: 361-366; 1997.
56. Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6, 391–397.
57. Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group: Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis associated with clinical outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 1996; 7: 198-207
58. Canaud B, Cristol JP, Morena M, Leray-Moragues H, Bosc JY, Vaussenat F. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif*. 1999; 17: 99-106.

59. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem*. 1998 44(6 Pt 1):1309-15.
60. Carbonyl stress reduction in peritoneal dialysis fluid: development of a novel high-affinity adsorption bead. *Perit Dial Int*. 2007 May-Jun;27(3):300-8.
61. Carr AC, Zhu BZ, Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res*. 2000 Sep 1;87(5):349-54.
62. Castilla Patricia, Alberto Dávalos, José Luis Teruel, Francisca Cerrato, Milagros Fernández-Lucas, José Luis Merino, Carolina C. Sánchez-Martín, Joaquín Ortuño and Miguel A Lasunción Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients¹ *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 87, No. 4, 1053-1061, April 2008
63. Castoldi G, Antolini L, Bombardi C, Perego L, Mariani P, Vigano MR, Torti G, Casati M, Corti A, Zerbini G, Valsecchi MG, Stella A. Oxidative stress biomarkers and chromogranin a in uremic patients: Effects of dialytic treatment. *Clin Biochem*. 2010 Sep 9.
64. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thévenin M, Jaudon MC, Zingraff J, Verger C, Jungers P, Descamps-Latscha B. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med*. 1996;21(6):845-53.
65. Chan, JM, Stampfer, MJ, Ma, J, et al. Supplemental Vitamin E intake and prostate cancer risk in a large cohort of men in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8:893.
66. Charalampidis, P.S., Veltsistas, P., Karkabounas, S., Evangelou, A., Blue CrO₅ assay: A novel spectrophotometric method for the evaluation of the antioxidant and oxidant capacity of various biological substances. *Eur. J. Med. Chem*. 2009, 44, 4162-4168.
67. Ruiz MC, Portero-Otín M, Pamplona R, Requena JR, Prat J, Lafarga MA, Borràs M, Bellmunt MJ. Chemical and immunological characterization of oxidative nonenzymatic protein modifications in dialysis fluids. *Perit Dial Int*. 2003 Jan-Feb;23(1):23-32.
68. Chen JB, Lin TK, Liou CW, Liao SC, Lee LC, Wang PW, Tiao MM Correlation of oxidative stress biomarkers and peritoneal urea clearance with mitochondrial DNA copy

number in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients *Am J Nephrol*. 2008;28(5):853-9

69. Chen X, Touyz RM, Bae Park J, Schiffrin EL. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension*. 2001;38:606–611

70. Chung AW, Yang HH, Kim JM, Sigrist MK, Brin G, Chum E, Gourlay WA, Levin A. Arterial stiffness and functional properties in chronic kidney disease patients on different dialysis modalities: an exploratory study. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Apr 29

71. Chung SH, Heimbürger O, Stenvinkel P, et al. Association between residual renal function, inflammation and patient survival in new peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:590-597.

72. Chung SH, Lindholm B, Lee HB. Influence of initial nutritional status on continuous peritoneal dialysis patients survival. *Perit Dial Int* 2000; 20:19–26

73. Chung SH, Lindholm B, Lee HB. Is malnutrition an independent predictor of mortality in peritoneal dialysis patients? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:2134–40

74. Churchill DN, Taylor DW, Keshaviah PR, and the CANUSA Peritoneal Dialysis Study Group. Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis: association with clinical outcomes. 196 Hypoalbuminemia and CVD *J Am Soc Nephrol* 1996; 7:198–207

75. Cighetti G, Debiassi S, Paroni R, et al. Free and total malondialdehyde assessment in biological matrices by gas chromatography-mass spectrometry: what is needed for an accurate detection. *Anal Biochem* 1999;266:222-229.

76. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*. 2000 Aug;72(2 Suppl):637S-46S.

77. Cofan F, Zambon D, Rodriguez C, Laguna JC, Vazquez M, Casals E, Torregrosa J, Ros E, Oppenheimer F. Oxidation of low-density lipoproteins in renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings*. 1999;31(6):2333–2334.

78. Coggins CH, Lewis JB, Caggiula AW, Castaldo LS, Klahr S, Wang S. Differences between women and men with chronic renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 1430-1437.

79. Coimbra T, Janssen U, Grone H, Ostendorf T, Kunter U, Schmidt H, Brabant G, Floege J: Early events leading to renal injury in obese Zucker (fatty) rats with type II diabetes. *Kidney Int* 57:167–182, 2000

80. Cooper BA, Med M, Penne EL, Bartlett LH, Pollock CA. Protein malnutrition and hypoalbuminemia as a predictors of vascular events and mortality in ESRD. *Am J Kidney Dis* 2003; 43:61–6.
81. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis.* 2003; 41: 1-12.
82. Coresh J, Wei GL, MCQuillan G, et al: Prevalence of high blood pressure and elevated serum creatinine level in the United States: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988–1994). *Arch Int Med* 2001 161: 1207–1216
83. Cottone S, Lorito MC, Riccobene R, Nardi E, Mulè G, Buscemi S, Geraci C, Guarneri M, Arsena R, Cerasola GOxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic renal failure. *J Nephrol.* 2008 Mar-Apr;21(2):175-9
84. Coulter, ID, Hardy, ML, Morton, SC, et al. Antioxidants vitamin C and vitamin e for the prevention and treatment of cancer. *J Gen Intern Med* 2006; 21:735
85. Cruz DN, Soni SS, Polanco N, Bobek I, Corradi V, de Cal M, Ronco C. Markers of inflammation and oxidative stress in peritoneal dialysis: a comparison between high and low peritoneal transporters. *J Nephrol.* 2010 Jul-Aug;23(4):453-8.
86. Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., & Milzani, A. (2003). Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol. Med.*, 9, 169–176.
87. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52, 601–623.
88. Dalle-Donne, I., Scaloni, A., Giustarini, D., Cavarra, E., Tell, G., Lungarella, G., et al. (2005). Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: The contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom. Rev.*, 24, 55–99
89. Danielski M, Ikizler TA, McMonagle E, Kane JC, Pupim L, Morrow J, Himmelfarb J: Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Kidney Int* 42 : 286 –294, 2003
90. Davies SJ, Bryan J, Phillips L, Russell GI. Longitudinal changes in peritoneal kinetics: the effect of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11:498–506.

91. Davies SJ, Phillips L, Naish PF, Russell GI. Peritoneal glucose exposure and changes in membrane solute transport with time on peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12: 1046-1051.
92. Dawnay A, Millar DJ. The pathogenesis and consequences of AGE formation in uraemia and its treatment. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 1998 Nov;44(7):1081-94.
93. Deicher R, Horl WH. Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res*2003; 26:100 -6.
94. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int* 2001; 59(Suppl 78):108-113.
95. Devaraj S, Jialal I. Low-density lipoprotein postsecretory modification, monocyte function, and circulating adhesion molecules in type 2 diabetic patients with and without macrovascular complications: the effect of α -tocopherol supplementation. *Circulation.* 2000;102:191–196.
96. Dhalla, N. S.,Temsah, R. M.,&Netticadan,T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens.*, 18, 655–673.
97. Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med.* 1997 Aug 7;337(6):408-16.
98. Diaz-Buxo JA, Lowrie EG, Lew NL, Zhang SM, Zhu X, Lazarus JM. Associates of mortality among peritoneal dialysis patients with special reference to peritoneal transport rates and solute clearance. *Am J Kidney Dis.* 1999; 33: 523-534.
99. Diaz-Buxo JA. Continuous-Flow Peritoneal Dialysis: Update. *Adv Perit Dial.* 2004; 20: 18-22.
100. Diaz-Buxo JA. Review: Access and Continuous Flow Peritoneal Dialysis. *Perit Dial Int.* 2005; 25(Suppl 3): 102-104.
101. Diepeveen S.H.A., G.H.W.E. Verhoeven, J. van der Palen, B.L.D. Dikkeshei, L.J. van Tits and G. Kolsters et al., Oxidative stress in patients with end-stage renal disease prior to the renal replacement therapy, *Nephron Clin Pract* 98 (2004), pp. c3–c7
102. Diepeveen SH, Verhoeven GH, van der Palen J, Dikkeshei BL, van Tits BL, Kolsters G, Offerman JJ, Bilo HJ, Stalenhoef AF. The effect of the initiation of renal replacement therapy on lipid profile and oxidative stress during the first 6 months of treatment. *Clin Chim Acta.* 2005 Nov;361(1-2):112-8.
103. Diepeveen SH, Verhoeven GW, Van Der Palen J, Dikkeshei LD, Van Tits LJ, Kolsters G, Offerman JJ, Bilo HJ, Stalenhoef AF. Effects of atorvastatin and vitamin E on

lipoproteins and oxidative stress in dialysis patients: a randomised-controlled trial. *J Intern Med.* 2005 May;257(5):438-45

104. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defences. *Mol Cell Biochem.* 2000; 205: 1-11.

105. Dobbie JW. Pathogenesis of peritoneal fibrosing syndromes (sclerosing peritonitis) in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 1992; 12: 14-27.

106. Dobbie JW, Anderson JD, Hind C. Long-term effects of peritoneal dialysis on peritoneal morphology. *Perit Dial Int* 1994; 14(Suppl 3):S16–20.

107. Dobrian A, Mora R, Simionescu M, Simionescu N. In vitro formation of oxidatively-modified and reassembled human low-density lipoproteins: antioxidant effect of albumin. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1169: 12–24

108. Domenici FA, Vannucchi MT, Jordão AA Jr, Meirelles MS, Vannucchi H. DNA oxidative damage in patients with dialysis treatment. *Ren Fail.* 2005;27(6):689-94.

109. Doñate T, Herreros A, Martinez E, Martinez J, Andrés E, Cabezas A, Ortiz A, de Prado A, Pou JM, Pamplona R, Portero Otin M, Bellmunt MJ. Protein oxidative stress in dialysis patients. *Adv Perit Dial.* 2002;18:15-7.

110. Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, Ioannou K, Katopodis KP, Tselepis A, Siamopoulos KC, Tsakiris D Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD *Am J Kidney Dis.* 2006 Nov;48(5):752-60

111. Dries, DL, Exner, DV, Domanski, MJ, et al: The prognostic implications of renal insufficiency in asymptomatic and symptomatic patients with left ventricular systolic dysfunction [abstract]. *J Am Coll Cardiol* 2002 35: 681–689,

112. Drüeke Tilman, MD; Véronique Witko-Sarsat, PhD; Ziad Massy, MD; Béatrice Descamps-Latscha, MD, PhD; Alain P. Guerin, MD; Sylvain J. Marchais, MD; Valérie Gausson, MS; Gérard M. London, MD Iron Therapy, Advanced Oxidation Protein Products, and Carotid Artery Intima-Media Thickness in End-Stage Renal Disease *Circulation.* 2002;106:2212-2217

113. Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G. Effect of hemodialysis on the oxidative stress and antioxidants. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:1009 -13.

114. Dusinská M, Kazimírová A, Barancoková M, Beno M, Smolková B, Horská A, Raslová K, Wsóllová L, Collins AR. Nutritional supplementation with antioxidants decreases chromosomal damage in humans. *Mutagenesis.* 2003;18:371–376.

115. Ece A, Gürkan F, Kervancıoğlu M, Kocamaz H, Güneş A, Atamer Y, Selek S. Oxidative stress, inflammation and early cardiovascular damage in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol.* 2006 Apr;21(4):545-52
116. Efstratiadis G. Hypothesis on progression of renal disease. In: Georgios Efstratiadis. *Lipids, Atherosclerosis, Dyslipidemias.* Thessaloniki: G. Efstratiadis; 1998.
117. Eiselt J, Racek J, Opatrný K Jr: Free radicals and extracorporeal renal replacement therapy. *Vnitr Lek* 45: 319-324, 1999.
118. Erdogan C, Unlucerci Y, Turkmen A, Kuru A, Cetin O, Bekpinar S. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta.* 2002; 322: 157-161.
119. Erixon M, Wieslander A, Lindén T, Carlsson O, Forsbäck G, Svensson E, Jönsson JA, Kjellstrand P. Take care in how you store your PD fluids: actual temperature determines the balance between reactive and non-reactive GDPs. *Perit Dial Int.* 2005 Nov-Dec;25(6):583-90
120. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989;6:67–75
121. Faict S, D, Schalkwijk CG, Lameire NH, De Vriese AS. Long-term exposure to new peritoneal dialysis solution: effects on the peritoneal membrane. *Kidney Int* 2004; 66:1257–65.
122. Faller B. Amino acid-based peritoneal dialysis solutions. *Kidney Int Suppl* 1996; 56:S81–5.
123. Feldman L, Shani M, Efrati S, Beberashvili I, Yakov-Hai I, Abramov E, Sinuani I, Rosenberg R, Weissgarten J. n-Acetylcysteine Improves Residual Renal Function In Peritoneal Dialysis Patients: A Pilot Study. *Perit Dial Int.* 2010 Aug 12
124. Filiopoulos V, Hadjiyannakos D, Takouli L, Metaxaki P, Sideris V, Vlassopoulos D. Inflammation and oxidative stress in end-stage renal disease patients treated with hemodialysis or peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs.* 2009 Dec;32(12):872-82.
125. Finer, NN, Peters, KL, Hayek, Z, Merkel, CL. Vitamin E and necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 1984; 73:387.
126. Finkelstein FO, Juergenson P, Wang S, Santacroce S, Levine M, Kotanko P, Levin NW, Handelman GJ. Hemoglobin and plasma vitamin c levels in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2010 Jun 17

127. Fischbach M, Terzic J, Chauvé S, Laugel V, Muller A, Haraldsson B. Effect of peritoneal dialysis fluid composition on peritoneal area available for exchange in children. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19: 925-932.
128. Foley RN, Parfrey PS. Risk factors for cardiac morbidity and mortality in dialysis patient. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 3:608–14.
129. Foley R.N., P. Parfrey and M.J. Samak, Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure, *Am J Kidney Dis* 32 (1998)
130. Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine. DRI Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academies Press, Washington DC, 2000. p. 186-283.
131. Food and Nutrition Board. Vitamin C. In: Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Washington, DC: National Academy Press;2000 : 95-185
132. Fortes PC, Versari PH, Stinghen AE, Pecoits-Filho R. Controlling inflammation in peritoneal dialysis: the role of pd-related factors as potential intervention targets. *Perit Dial Int*. 2007 Jun;27 Suppl 2:S76-81.
133. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric* 1991;54:495–511.
134. Furuya R, Kumagai H, Odamaki M, Takahashi M, Miyaki A, Hishida A. Impact of residual renal function on plasma levels of advanced oxidation protein products and pentosidine in peritoneal dialysis patients. *Nephron Clin Pract*. 2009;112(4):255-61.
135. Furuya R, Odamaki M, Kumagai H, Hishida A. Impact of angiotensin II receptor blocker on plasma levels of adiponectin and advanced oxidation protein products in peritoneal dialysis patients. *Blood Purif*. 2006;24(5-6):445-50.
136. Gaetano G; Collaborative Group of the Primary Prevention Project. Low-dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomized trial in general practice. *Lancet*. 2001;357:89–95.
137. Galii F. Vitamin E-Modified Dialysers. In: Ronco C, La Greca G, eds. Hemodialysis Technology. Contrib Nephrol Basel: Karger; 2002; 137:95 -105.
138. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16: 2135-2137.
139. Galli F, Ghibelli L, Buoncristiani U, Bordoni V, D'Intini V, Benedetti S, Canestrari F, Ronco C, Floridi A. Mononuclear leukocyte apoptosis in haemodialysis patients: the role of cell thiols and vitamin E. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Aug;18(8):1592-600.

140. Galli F. Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22(Suppl 5): 20-36.
141. Garcia-Lopez E, Lindholm B, Tranaeus A. Biocompatibility of new peritoneal dialysis solutions: clinical experience. *Perit Dial Int* 2000; 20(Suppl 5):S48–56.
142. García-Lopez E, Carrero JJ, Suliman ME, Lindholm B, Stenvinkel P. Risk factors for cardiovascular disease in patients undergoing peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2007 Jun;27 Suppl 2:S205-9
143. Gaziano, JM, Glynn, RJ, Christen, WG, et al. Vitamins E and C in the Prevention of Prostate and Total Cancer in Men: The Physicians' Health Study II Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2009; 301:52.
144. Gealekman Olga, Sergey V. Brodsky, Saban Elitok, Akihiro Tojo, Mark Crabtree, Steven S. Gross and Michael S. Goligorsky Nephropathy in Zucker Diabetic Fat Rat Is Associated with Oxidative and Nitrosative Stress: Prevention by Chronic Therapy with a Peroxynitrite Scavenger Ebselen PRAVEEN N. CHANDERJ *Am Soc Nephrol* 15: 2391–2403, 2004
145. Ghanem H, Dorpel MA van den, Weimar W, Man in 'T Veld AJ, El-Kannishy MH, Jansen H. Increased low density lipoprotein oxidation in stable kidney transplant recipients. *Kidney International*. 1996;49(2):488–493.
146. Ghiadoni L, Cupisti A, Huang Y, Mattei P, Cardinal H, Favilla S, Rindi P, Barsotti G, Taddei S, Salvetti A. Endothelial dysfunction and oxidative stress in chronic renal failure. *J Nephrol*. 2004 Jul-Aug;17(4):512-9.
147. Gillerot G, Devuyst O. Molecular mechanisms modifying the peritoneal membrane exposed to peritoneal dialysis. *Clin Nephrol*. 2003 Jul;60(1):1-6
148. Giri SN, Biring I, Nguyen T, Wang Q, Hyde DM. Abrogation of bleomycin-induced lung fibrosis by nitric oxide synthase inhibitor, aminoguanidine in mice. *Nitric Oxide*. 2002; 7: 109-118.
149. Glatthaar, BE, Hornig, DH, Moser, U. The role of ascorbic acid in carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol* 1986; 206:357
150. Linden T, Musi B, Järkelid L, Forsbäck G, Kjellstrand P, Deppisch R, Wieslander A. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids may have both local and systemic effects: a study of residual fluid and mesothelial cells. *Perit Dial Int*. 2001 Nov-Dec;21(6):607-10.

151. Göçmen AY, Sahin E, Koçak H, Tuncer M, Gümürlü S. Levels of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide and lipid peroxidation markers in patients with end-stage renal disease having peritoneal dialysis treatment. *Clin Biochem.* 2008 Jul;41(10-11):836-40
152. Goffin E, Cosyns JP, Pirson F, Devuyst O. Icodextrin-associated peritonitis: what conclusions thus far? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:2482–5.
153. Goffin E, Tintillier M, Cosyns JP, Devuyst O. Sterile chemical peritonitis secondary to icodextrin: immuno-histopathological description. *Perit Dial Int* 2002; 22:723–6.
154. Gokal R, Mallick NP. Peritoneal dialysis. *Lancet* 1999; 353:823 -8.
155. Goldfarb-Rumyantzev AS, Habib AN, Baird BC, Barenbaum LL, Cheung AK. The association of lipid-modifying medications with mortality in patients on long-term peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* 2007; 50: 791-802.
156. González Díez B. Progression of chronic renal failure and oxidative stress. *Electron J Biomed.* 2003; 1: 5-11.
157. Gotloib L, Bar-Sella P, Shostak A. Reduplicated basal lamina of small venules and mesothelium of human parietal peritoneum: Ultrastructural changes of reduplicated peritoneal basal membrane [Abstract]. *Perit Dial Bull.* 1985; 5: 212-215.
158. Gotloib L. Mechanisms of cell death during peritoneal dialysis. A role for osmotic and oxidative stress. *Contrib Nephrol.* 2009;163:35-44
159. Grandhee SK, Monnier VM. Mechanism of formation of the Maillard protein cross-link pentosidine. Glucose, fructose, and ascorbate as pentosidine precursors. *J Biol Chem* 1991;266 : 11649-53.
160. Grune T. Oxidative stress, aging and the proteasomal system. *Biogerontology.* 2004; 1: 31-40.
161. Guldener C, Janssen MJFM, Lambert J, Steyn M, Donker AJM, Stehouwer CDA: Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 1782-1786.
162. Guo CH, Chen PC, Yeh MS, Hsiung DY, Wang CL Cu/Zn ratios are associated with nutritional status, oxidative stress, inflammation, and immune abnormalities in patients on peritoneal dialysis. *Clin Biochem.* 2011 Mar;44(4):275-80.
163. Guo CH, Wang CL, Chen PC, Yang TC. linkage of some trace elements, peripheral blood lymphocytes, inflammation, and oxidative stress in patients undergoing either hemodialysis or peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2010 Jun 30.

164. Gusbeth-Tatomir P, Covic A. Causes and consequences of increased arterial stiffness in chronic kidney disease patients. *Kidney Blood Press Res.* 2007;30(2):97–107.
165. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990;15:129–35
166. Halliwell B, Gutteridge JC. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995;18:125–6.
167. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis.* 1993; 23(Suppl 1): 118-126.
168. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). Oxford University Press.
169. Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000;18 : 343-9
170. Harnett JD, Foley RN, Kent GM, Barre PE, Murray D, Parfrey PS. Congestive heart failure in dialysis patients: prevalence, incidence, prognosis and risk factors. *Kidney Int.* 1995; 47: 884-890.
171. Harper CR, Jacobson TA. Managing Dyslipidemia in Chronic Kidney Disease. *Journal of the American College of Cardiology.* 2008;51:2375–2384
172. Hathcock, JN. Vitamins and minerals: Efficacy and safety. *Am J Clin Nutr* 1997; 66:427.
173. Haugen E, Nath KA. The involvement of Oxidative Stress in the Progression of Renal Injury. *Blood Purif.* 1999; 17: 58-65.
174. Held P, Levin N, Port F: Cardiac disease in chronic uremia: An overview. In *Cardiac Dysfunction in Chronic Uremia*, edited by Parfrey PS, Harnett JD, Boston, Kluwer Academic Publishers, 1992, pp 3-17
175. Henrich WL. Optimal cardiovascular therapy for patients with ESRD over the next several years. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(suppl 1):S106–9
176. Hercberg S, Kesse-Guyot E, Druesne-Pecollo N, Touvier M, Favier A, Latino-Martel P, Briançon S, Galan P. Incidence of cancers, ischemic cardiovascular diseases and mortality during 5-year follow-up after stopping antioxidant vitamins and minerals supplements: a postintervention follow-up in the SU.VI.MAX Study. *Int J Cancer.* 2010 Oct 15;127(8):1875-81

177. Himmelfarb J, Hakim RM. Oxidative stress in uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12(6):593–598
- Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease: the hidden enemy. *Nephrology (Carlton)* 2006;11(1):36–41
178. Himmelfarb J, McMonagle E: Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney Int* 2001; 60: 358–363.
179. Hiroshi Arima, Hidetomo Nakamoto, Saiko Okada, Tsutomu Inoue, Kazuhiko Kobayashi, Junko Shoda, Naofumi Ikeda, Yoshihiko Kanno, Soichi Sugahara, Hirokazu Okada, Hiromichi Suzuki. Risk Factors for Vascular Complications in Patients on Peritoneal Dialysis. *Advances in Peritoneal Dialysis, Vol. 22, 2006*
180. Hirschmann, JV, Raugi, GJ. Adult scurvy. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41:895.
181. Hodis, HN, Mack, WJ, LaBree, L, et al. Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA* 1995; 273:1849.
182. Hogan M, Cerami A, Bucala R. Advanced glycosylation endproducts block the antiproliferative effect of nitric oxide; Role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1992; 90: 1110-1115.
183. Honda K, Nitta K, Horita S, Yumura W, Hiroshi N, Nagai R, et al. Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultra-filtration. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14: 1541-1549.
184. Hong YC, Lee KH, Yi CH, Ha EH, Christiani DC. Genetic susceptibility of term pregnant women to oxidative damage. *Toxicol. Lett* 2002; 129: 255–262.
185. Horrobin, DF. Ascorbic acid and prostaglandin synthesis. In: *Ascorbic acid and connective tissue.* In: *Subcellular biochemistry Ascorbic acid: biochemistry and biomedical cell biology.* Harris, JR, (Ed), Plenum Press, New York 1996. p.109
186. Hsich E, Segal BH, Pagano PJ, Rey FE, Paigen B, Deleonardis J, Hoyt RF, Holland SM, Finkel T. Vascular effects following homozygous disruption of p47(phox): An essential component of NADPH oxidase. *Circulation.* 2000;101:1234–1236.
187. Huang, HY, Appel, LJ. Supplementation of diets with alpha-tocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans. *J Nutr* 2003; 133:3137.
188. Hunter, DJ, Manson, JE, Colditz, GA, et al. A prospective study of intake of vitamins C, E, and A and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1993; 329:234.

189. Young I S, Woodside J V. Antioxidants in health and disease *J Clin Pathol* 2001;54:176–
190. Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal antioxidant enzymes: their regulation and function. *Kidney Int.* 1994; 45: 1-9.
191. Ignace S, Fouque D, Arkouche W, Steghens JP, Guebre-Egziabher F. Preserved residual renal function is associated with lower oxidative stress in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 May;24(5):1685-9.
192. Ishikawa N, Miyata T, Ueda Y, Inagi R, Izuhara Y, Yuzawa H, Onogi H, Nishina M, Nangaku M, Van Ypersele De Strihou C, Kurokawa K. Affinity adsorption of glucose degradation products improves the biocompatibility of conventional peritoneal dialysis fluid. *Kidney Int.* 2003 Jan;63(1):331-9.
193. Islam KN, O'Byrne D, Devaraj S, Palmer B, Grundy SM, Jialal I. Alpha-tocopherol supplementation decreases the oxidative susceptibility of LDL in renal failure patients on dialysis therapy. *Atherosclerosis.* 2000 May;150(1):217-24
194. Iuchi Y, Okada F, Onuma K, Onoda T, Asao H, Kobayashi M, et al. Elevated oxidative stress in erythrocytes due to a SOD1 deficiency causes anaemia and triggers autoantibody production. *Biochem J.* 2007; 402: 219-227.
195. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem.* 1995; 41: 1135-1138.
196. Jackson TS, Xu A, Vita JA, Keaney JF Jr Ascorbate prevents the interaction of superoxide and nitric oxide only at very high physiological concentrations. *Circ Res.* 1998 Nov 2;83(9):916-22.
197. Jacob, R. Vitamin C. In: *Modern nutrition in health and disease*, Shils, M, Olson, J, Shike, M, Ross, AC (Eds), Lippincott, Philadelphia 2000. p.467.
198. Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, et al. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007; 298: 1163-1170.
199. Jenner, P. (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 53, S26–S36
200. Jialal, I, Fuller, CJ, Huet, BA. The effect of alpha-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:190.

201. Johnson David W, Kirsten Armstrong, Scott B Campbell, David W Mudge, Carmel M Hawley, Jeff S Coombes, Johannes B Prins and Nicole M Isbel. Metabolic syndrome in severe chronic kidney disease: Prevalence, predictors, prognostic significance and effects of risk factor modification *NEPHROLOGY* 2007; 12, 391–398
202. Jones CA, McQuillan GM, Kusek JW, Eberhardt MS, Herman WH, Coresh J, Salive M, Jones CP, Agodoa LY: Serum creatinine levels in the US population: third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 1998, 32(6):992-999
203. Kabanda A, Goffin E, Bernard A, Lauwerys R, van Ypersele de Strihou C. Factors influencing serum levels and peritoneal clearances of low molecular weight proteins in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int.* 1995 Dec;48(6):1946-52.
204. Kallner, A, Hornig, D, Pellikka, R. Formation of carbon dioxide from ascorbate in man. *Am J Clin Nutr* 1985; 41:609.
205. Kaneko K, Hamada C, Tomino Y. Inflammation and Fibrosis. Peritoneal fibrosis intervention. *Perit Dial Int.* 2007; 27(Suppl 2): 82-86.
206. Kang D-H, Yu ES, Yoon K-I, Johnson R. The Impact of Gender on Progression of Renal Disease-Potential Role of Estrogen-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Regulation and Vascular Protection. *Am J Pathol.* 2004; 164: 679-688.
207. Kang JH, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Albert CM, Grodstein F Vitamin E, vitamin C, beta carotene, and cognitive function among women with or at risk of cardiovascular disease: The Women's Antioxidant and Cardiovascular Study. *Circulation.* 2009 Jun 2;119(21):2772-80.
208. Karamouzis I, Sarafidis PA, Karamouzis M, Iliadis S, Haidich AB, Sioulis A, Triantos A, Vavatsi-Christaki N, Grekas DM. Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2008;28(3):397-404.
209. Kashem A, Nomoto Y, Tanabe R, et al. The effect of dialysate glucose on phagocyte superoxide generation in CAPD patients. *Perit Dial Int* 1998; 18:52–9.
210. Katsoulis K, Kontakiotis T, Gerou S, Kougioulis M, Lithoxopoulou H, Papakosta D. Alterations of erythrocyte superoxide dismutase activity in patients suffering from asthma attacks. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2010; 73:99-104.
211. Katsuki, H. Vitamin C and nervous tissue In: Ascorbic acid and connective tissue. In: *Subcellular biochemistry Ascorbic acid: biochemistry and biomedical cell biology.* Harris, JR (Ed), Plenum Press, New York 1996. p.293.

212. Kausz AT, Khan SS, Abichandani R, et al: Management of patients with chronic renal insufficiency in the northeastern United States. *J Am Soc Nephrol* 2001 12: 1501–1507
213. Kayabasi H, Sit D, Atay AE, Yilmaz Z, Kadiroglu AK, Yilmaz ME. Parameters of oxidative stress and echocardiographic indexes in patients on dialysis therapy. *Ren Fail.* 2010 Jan;32(3):328-34.
214. Khalifah RG, Baynes JW, Hudson BG. Amadorins: novel post-amadori inhibitors of advanced glycation reactions. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:251–8.
215. Kim SB, Yang WS, Min WK, Lee SK, Park JS. Reduced oxidative stress in hypoalbuminemic CAPD patients. *Perit Dial Int.* 2000 May-Jun;20(3):290-4.
216. Kirschbaum B. Total urine antioxidant capacity. *Clin Chim Acta.* 2001 Mar;305(1-2):167-73.
217. Kirsh, VA, Hayes, RB, Mayne, ST, et al. Supplemental and dietary vitamin E, beta-carotene, and vitamin C intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:245.
218. Kirstein M, Brett J, Radoff S, Ogawa S, Stern D, Vlassara H. Advanced protein glycosylation induces transendothelial human monocyte chemotaxis and secretion of platelet-derived growth factor: Role in vascular disease of diabetes and aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87: 9010-9014.
219. Klahr S. Oxygen radicals and renal diseases. *Miner Electrolyte Metab.* 1997; 23: 140-143.
220. Kocak H, Gumuslu S, Sahin E, Ceken K, Gocmen YA, Yakupoglu G, Ersoy FF, Tuncer M. Advanced oxidative protein products are independently associated with endothelial function in peritoneal dialysis patients. *Nephrology (Carlton).* 2009 Apr;14(3):273-80
221. Kolesnyk I, Dekker FW, Noordzij M, le Cessie S, Struijk DG, Krediet RT. Impact of ACE inhibitors and AII receptor blockers on peritoneal membrane transport characteristics in long-term peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.* 2007; 27: 446-453.
222. Kolesnyk I, Noordzij M, Dekker FW, Boeschoten EW, Krediet RT. A positive effect of AII inhibitors on peritoneal membrane function in long-term PD patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24: 272-277.
223. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 2001 54(5):356-61.

224. Kostakopoulos A, Kotsalos A, Alexopoulos J, Sofras F, Deliveliotis Ch, Kallistratos G. Serum selenium levels in healthy adults and its changes in chronic renal failure. *Int Urol Nephrol*. 2007; 22: 397-401.
225. Krediet RT, Ho-dac-Pannekeet MM, Imholz AL, Struijk DG. Icodextrin's effects on peritoneal transport. *Perit Dial Int* 1997; 17:35–41.
226. Krediet RT. The peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1995;55:341-56
227. Ksiazek K, Breborowicz A, Jörres A, Witowski J. Oxidative stress contributes to accelerated development of the senescent phenotype in human peritoneal mesothelial cells exposed to high glucose. *Free Radic Biol Med*. 2007 Mar 1;42(5):636-41.
228. Kuo HT, Lee JJ, Hsiao HH, Chen HW, Chen HC. N-acetylcysteine prevents mitochondria from oxidative injury induced by conventional peritoneal dialysate in human peritoneal mesothelial cells. *Am J Nephrol*. 2009;30(3):179-85
229. Kushi, LH, Fee, RM, Sellers, TA, et al. Intake of vitamins A, C, and E and postmenopausal breast cancer. *Am J Epidemiol* 1996; 144:165.
230. Leavey SF, Strawderman RL, Jones CA, Port FK, Held PJ. Simple nutritional indicators as independent predictors of mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31:997–1006.
231. Lee EJ, Myint CC, Tay ME, Yusuf N, Ong CN. Serum ascorbic acid and protein calorie malnutrition in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial*. 2001;17:219-22.
232. Lehr HA, Frei B, Olofsson AM, Carew TE, Arfors KE. Protection from oxidized LDL-induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not by vitamin E. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1525-32.
233. Lemström B., R. Krebs, A.J. Nykänen, J.M. Tikkanen, R.K. Sihvola and E.M. Aaltola et al., Vascular endothelial growth factor enhances cardiac allograft atherosclerosis, *Circulation* 105 (2000), pp. 2524–2530
234. Leppala, JM, Virtamo, J, Fogelholm, R, et al. Vitamin E and beta carotene supplementaion in high risk for stroke. *Arch Neurol* 2000; 57:1503.
235. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? *Am J Kidney Dis*. 1998; 32: 853-906.

236. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G: Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 67: 2089-2100, 2005
237. Li FK, Davenport A, Robson RL, Loetscher P, Rothlein R, Williams JD, et al. Leukocyte migration across human peritoneal mesothelial cells is dependent on directed chemokine secretion and ICAM-1 expression. *Kidney Int* 1998;54 : 2170-83.
238. Li PK, Cheng YL. Therapeutic options for preservation of residual renal function in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2007; 27(Suppl 2):S158 -63.
239. Li S, Foley RN, Collins AJ. Anemia, hospitalization, and mortality in patients receiving peritoneal dialysis in the United States. *Kidney Int.* 2004; 65: 1864-1869.
240. Li Z, Su BH, Mi XH, Liu XR, Fan JM. [Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. Inflammation, oxidative stress and carbonyl stress in uremic patients] 2006 Jan;37(1):123-5
241. Liberek T, Topley N, Jørres A, Coles GA, Gahl GM, Williams JD. Peritoneal dialysis fluid inhibition of phagocyte function: effects of osmolality and glucose concentration. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3:1508–15.
242. Lim PS, Chang YM, Thien LM, Wang NP, Yang CC, Chen TT, Hsu WM. 8-iso-prostaglandin F2alpha as a useful clinical biomarker of oxidative stress in ESRD patients. *Blood Purif.* 2002;20(6):537-42.
243. Lim SL, Lee EJ, Myint CC, Ong KT, Tay ME, Yusuf N, Ong CN. Oral intake and serum levels of ascorbic acid in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial.* 2001;17:215-8..
244. Lin, J, Cook, NR, Albert, C, et al. Vitamins C and E and beta carotene supplementation and cancer risk: a randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:14.
245. Linden T, Musi B, Järkelid L, Forsbäck G, Kjellstrand P, Deppisch R, Wieslander A. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids may have both local and systemic effects: a study of residual fluid and mesothelial cells. *Perit Dial Int.* 2001 Nov-Dec;21(6):607-10
246. Liochev, S. I., & Fridovich, I. (1994). The role of O₂ in the production of HO: In vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 29–33.

247. Lobo J, Santos F, Grosso D, Lima R, Barreira AL, Leite M Jr, et al. Electronegative LDL and lipid abnormalities in patients undergoing hemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephron Clin Pract.* 2008; 108: c298-304.
248. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18: 1272-1280.
249. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU et al. Oxidative stress in end stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1272-80
250. Locatelli F, Fouque D, Heimbürger O, Drüeke TB, Cannata-Andía JB, Hörl WH, et al. Nutritional status in dialysis patients: a European consensus. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17: 563-572.
251. Lonn, E, Bosch, J, Yusuf, S, et al. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005; 293:1338
252. Lonn, EM, Yusuf, S, Dzavik, V, et al, for the SECURE Investigators. Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis. The Study to Evaluate Carotid and Ultrasound Changes in patients treated with Ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation* 2001; 103:919.
253. Małgorzewicz S, Lichodziejewska-Niemierko M, Aleksandrowicz-Wrona E, Swietlik D, Rutkowski B, Lysiak-Szydłowska W. Adipokines, endothelial dysfunction and nutritional status in peritoneal dialysis patients. *Scand J Urol Nephrol.* 2010 Jul 13
254. Malgorzewicz S, Lichodziejewska-Niemierko M, Rutkowski B, Lysiak- Szydłowska W. Nutritional status and oxidative processes in diabetic and nondiabetic peritoneal dialysis patients. *J Ren Nutr* 2004; 14:242–247.
255. Malindretos P, Sarafidis PA, Rudenco I, Raptis V, Makedou K, Makedou A, et al. Slow Intravenous Iron Administration Does Not Aggravate Oxidative Stress and Inflammatory Biomarkers during Hemodialysis: A Comparative Study between Iron Sucrose and Iron Dextran. *Am J Nephrol.* 2007; 27: 572-579.
256. Malliaraki N, Mpliamplias D, Kampa M, Perakis K, Margioris AN, Castanas E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. *BMC Nephrology.* 2007;4:4. doi: 10.1186/1471-2369-4-4.
257. Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. Comparison of hemostasis between CAPD and HD patients. *Perit Dial Int* 2001; 21:158–165.

258. Manjunath, G, Tighiouart, H, Coresh, J, et al: Level of kidney function as a risk factor for cardiovascular outcomes in the elderly. *Kidney Int* 2003 63: 1121–1129,
259. Mann, JF, Gerstein, HC, Pogue, J, et al: Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: The HOPE randomized trial. *Ann Int Med* 2001 134: 629–636,
260. Marckmann P. Nutritional status and mortality of patients in regular dialysis therapy. *J Intern Med* 1989; 226:429–32
261. Margetts PJ, Bonniaud P, Liu L, Hoff CM, Holmes CJ, West-Mays JA, et al. Transient overexpression of TGF- β 1 induces epithelial mesenchymal transition in the rodent peritoneum. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16: 425-436.
262. Mariak I, Grzegorzewska AE. Serum zinc concentration with reference to other markers of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients status] *Pol Merkur Lekarski*. 2002 Apr;12(70):282-7
263. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2003;17:24–38.
264. Martin A, Frei B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Aug;17(8):1583-90. Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells.
265. Martin Ott et al: Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*(2007) 12: 913-922
266. Martin-Mateo MC, del Canto-Jafiez E, Barrero-Martinez MJ. Oxidative stress and enzyme activity in ambulatory renal patients undergoing continuous peritoneal dialysis. *Ren Fail*. 1998 Jan;20(1):117-24.
267. Massy ZA, Maziere C, Kamel S, Brazier M, Choukroun G, Tribouilloy C, Slama M, Andrejak M, Maziere JC. Impact of inflammation and oxidative stress on vascular calcifications in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(3):380–382.
268. Massy ZA, Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. *J Nephrol*2002; 15:336 -41.
269. Matts, JP, Karnegis, JN, Campos, CT, et al: Serum creatinine as an independent predictor of coronary heart disease mortality in normotensive survivors of myocardial infarction [abstract]. *J Fam Practice* 1993 36: 497–503,
270. May JM, Li L, Qu ZC, Huang J. Ascorbate uptake and antioxidant function in peritoneal macrophages. *Arch Biochem Biophys*. 2005 Aug 15;440(2):165-72

271. Mc Clellan WM, Knight DF, Karp H, Brown WW: Early detection and treatment of renal disease in hospitalized diabetic and hypertensive patients: Important differences between practice and published guidelines. *Am J Kidney Dis* 1997 29: 368–375
272. Mccullough, PA, Soman, SS, Shah, SS, et al: Risks associated with renal dysfunction in patients in the coronary care unit [abstract]. *J Am Coll Cardiol* 2000 36: 679–684,
273. McGregor SJ, Topley N, Jorres A, Speekenbrink AB, Gordon A, Gahl GM, et al. Longitudinal evaluation of peritoneal macrophage function and activation during CAPD: maturity, cytokine synthesis and arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 1996;49 : 525-33.
274. McLaran, CJ, Bett, JH, Nye, JA, Halliday, JW. Congestive cardiomyopathy and haemochromatosis--rapid progression possibly accelerated by excessive ingestion of ascorbic acid. *Aust N Z J Med* 1982; 12:187.
275. Mekki K, Taleb W, Bouzidi N, Kaddous A, Bouchenak M. Effect of hemodialysis and peritoneal dialysis on redox status in chronic renal failure patients: a comparative study. *Lipids Health Dis.* 2010 Sep 3;9:93.
276. Menon, A. Gul and M.J. Sarnak, Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease, *Kidney Int* 68 (2005), pp. 1413–1418.
277. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med.* 2005;142:37–46.
278. Miller NJ, Rice–Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84:407–12.
279. Mircescu G. Oxidative stress: an accomplice to uremic toxicity? *J Ren Nutr.* 2006 Jul;16(3):194-8.
280. Mitrogianni Z, Barbouti A, Galaris D, Siamopoulos KC. Oxidative modification of albumin in predialysis, hemodialysis, and peritoneal dialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2009;113(3):c234-40.
281. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Toward better dialysis compatibility: advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. *Kidney Int* 2002; 61:375 -86.
282. Miyata T, Fu MX, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C, Thorpe SR, Baynes JW. Products of autoxidation of both carbohydrates and lipids are increased in uremic plasma.

Evidence for a generalized increase in oxidative stress in uremia? *Kidney Int.* 1998; 54:1290-5.

283. Miyata T, Horie K, Ueda Y, Fujita Y, Izuhara Y, Hirano H, Uchida K, Saito A, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K. Advanced glycation and lipidoxidation of the peritoneal membrane: respective roles of serum and peritoneal fluid reactive carbonyl compounds. *Kidney Int.* 2000 Jul;58(1):425-35.

284. Miyata T, Izuhara Y, Sakai H, Kurokawa K. Carbonyl stress: increased carbonyl modification of tissue and cellular proteins in uremia. *Perit Dial Int.* 1999; 19(Suppl 2): 58-61.

285. Miyata T, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Relevance of oxidative and carbonyl stress to long-term uremic complications. *Kidney Int Suppl* 2000; 58:120–5.

286. Miyata T, Ueda Y, Asahi K, Izuhara Y, Inagi R, Saito A, et al. Mechanism of the inhibitory effect of OPB-9195 [(±)-2- isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide] on advanced lipoxidation end product formation. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1719–25.

287. Miyata T, Ueda Y, Horie K, Nangaku M, Tanaka S, van Ypersele de Strihou C, et al. Renal catabolism of advanced glycation end products: the fate of pentosidine. *Kidney Int* 1998; 53:416 -22.

288. Miyata T, Ueda Y, Shinzato T, Iida Y, Tanaka S, Kurokawa K, et al. Accumulation of albumin-linked and free-form pentosidine in the circulation of uremic patients with end-stage renal failure: Renal implications in the pathophysiology of pentosidine. *J Am Soc Nephrol.* 1996; 7:1198-1206.

289. Moist LM, Port FK, Orzol SM, Young EW, Ostbye T, Wolfe RA, Hulbert-Shearon T, Jones CA, Bloembergen WE. Predictors of loss of residual renal function among new dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11(3):556-564.

290. Morgan SH, Maher ER, Purkiss P, Watts RW, Curtis JR. Oxalate metabolism in end-stage renal disease: the effect of ascorbic acid and pyridoxine. *Nephrol Dial Transplant.* 1988; 3(1):28-32

291. Mortier S, De Vriese AS, Lameire N. Recent concepts in the molecular biology of the peritoneal membrane - implications for more biocompatible dialysis solutions. *Blood Purif.* 2003; 21(1):14-23.

292. Mortier S, Faict D, Schalkwijk CG, Lameire NH, De Vriese AS. Long-term exposure to new peritoneal dialysis solutions: effects on the peritoneal membrane. *Kidney Int.* 2004; 66: 1257-1265.
293. Müller–Krebs Sandra, Lars P. Kihm, Benjamin Zeier, Marie-Luise Gross, Anders Wieslander, Ulrike Haug, Martin Zeier and Vedat Schwenger. glucose degradation products result in cardiovascular toxicity in a rat model of renal failure *Perit Dial Int* 2010 30(1): 35-40
294. Muntner, P, Jiang, H, Hamm, L, et al: Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2002 13: 745–753
295. Münzel T, Keaney JF Jr. Are ACE inhibitors a 'magic bullet' against oxidative stress? *Circulation.* 2001; 104: 1571-1574.
296. Mydlík M, Derzsiová K Renal replacement therapy and secondary hyperoxalemia in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl.* 2001 Feb;78:S304-7.
297. Mydlík M, Derzsiová K, Rácz O, Sipulová A, Boldizsár J, Lovássová E, Hříbiková M Vitamin E as an antioxidant agent in CAPD patients *Int J Artif Organs.* 2002 May;25(5):373-8
298. Mydlík M, Derzsiová K, Rácz O, Sipulová A, Lovássová E. Antioxidant therapy by oral vitamin E and vitamin E-coated dialyzer in CAPD and haemodialysis patients. *Prague Med Rep.* 2006;107(3):354-64.
299. Mydlík M, Derzsiová K, Svác J, Dlhopolcek P, Zemberová E. Peritoneal clearance and peritoneal transfer of oxalic acid, vitamin C, and vitamin B6 during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Artif Organs.* 1998 Sep;22(9):784-8.
300. Mydlík M, Derzsiová K, Válek A, Szabó T, Dandár V, Takác M. Vitamins and continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Int Urol Nephrol.* 1985;17(3):281-6
301. Mydlík M, Derzsiová K. [Oxalic acid--important uremic toxin]. *Vnitr Lek.* 2010b Jul;56(7):695-701.
302. Mydlík M, Derzsiová K. Vitamin B6 and oxalic acid in clinical nephrology. *Front Biosci.* 2004 Sep 1;9:2901-8.
303. Nakamoto H, Imai H, Kawanishi H, et al. Effect of diabetes on peritoneal function assessed by personal dialysis capacity test in patients undergoing CAPD. *Am J Kidney Dis* 2002; 40:1045–54.

304. Nakamura S, Makita Z, Ishikawa S, Yasumura K, Fujii W, Yanagisawa K, et al. Progression of nephropathy in spontaneous diabetic rats is prevented by OPB-9195, a novel inhibitor of advanced glycation. *Diabetes* 1997; 46:895–9.
305. Nakayama M, Izumi G, Nemoto Y, Shibata K, Hasegawa T, Numata M, Wang K, Kawaguchi Y, Hosoya T. Suppression of N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine generation by the antioxidant N-acetylcysteine. *Perit Dial Int.* 1999 May-Jun;19(3):207-10.
306. Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end-products in the peritoneum and its possible pathophysiological role in CAPD. *Kidney INT* 1997;51:182-6
307. Nakayama M, Sakai A, Numata M, Hosoya T. Hyper-vascular change and formation of advanced glycation end-products in the peritoneum caused by methylglyoxal and the effect of an anti-oxidant, sodium sulfite. *Am J Nephrol.* 2003; 23: 390-394.
308. Nanayakkara PW, van Guldener C, ter Wee PM, Scheffer PG, van Ittersum FJ, Twisk JW, Teerlink T, van Dorp W, Stehouwer CDEffect of a treatment strategy consisting of pravastatin, vitamin E, and homocysteine lowering on carotid intima-media thickness, endothelial function, and renal function in patients with mild to moderate chronic kidney disease: results from the Anti-Oxidant Therapy in Chronic Renal Insufficiency (ATIC) Study.*Arch Intern Med.* 2007 Jun 25;167(12):1262-70
309. Nanayakkara PWB, Gaillard CAJM: Vascular disease and chronic renal failure: new insights. *The Netherlands journal of Medicine* 2010, 68(1): 5-14
310. Nath KA, Salahudeen AK. Induction of renal growth and injury in the intact rat kidney by dietary deficiency of antioxidants. *J Clin Invest* 1990; 86(4): 1179-1192
311. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, et al. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 335-340.
312. Nikolakakis N, Kounali D, Tornaritis M, Anastassou A, Papadakis E, Kassotakis G, et al. Adipose tissue fatty acid composition, serum lipids, and serum α -tocopherol in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients living on the island of Crete. *Perit Dial Int* 1999; 19:154 -9.
313. Niwa T, Tsukushi S. 3-deoxyglucosone and AGEs in uremic complications: inactivation of glutathione peroxidase by 3-deoxyglucosone. *Kidney Int.* 2001; 59(Suppl)78: 37-41.

314. Noh H, Kim JS, Han KH, Lee GT, Song JS, Chung SH, Jeon JS, Ha H, Lee HB. Oxidative stress during peritoneal dialysis: implications in functional and structural changes in the membrane. *Kidney Int.* 2006 Jun;69(11):2022-8.
315. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, Mc-Monagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J: Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004; 65: 1009–1016.
316. Ogawa Y, Machida N, Jahana M, Gakiya M, Chinen Y, Oda M, Morozumi M, Sugaya K Major factors modulating the serum oxalic acid level in hemodialysis patients. *Artif Organs.* 1998 Sep;22(9):784-8.
317. Olson JA. Vitamin A. In: Brown ML, ed. Present knowledge in nutrition. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1990:96–107.
318. Ono K. The effect of vitamin C supplementation and withdrawal on the mortality and morbidity of regular hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1989; 31:31 -4.
319. Ortwerth BJ, Olesen PR. Glutathione inhibits the glycation and crosslinking of lens proteins by ascorbic acid. *Exp Eye Res* 1988; 47:737 -50
320. Otitolaju A, Olagoke O. Lipid peroxidation and antioxidant defense enzymes in *Clarias gariepinus* as useful biomarkers for monitoring exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Monit Assess.* 2011 [Epub ahead of print].
321. Owen W, Lowrie E. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998; 54: 627-636.
322. Ozdemir FN, Guz G, Sezer S, Arat Z, Turan M, Haberal M. Atherosclerosis risk is higher in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients than in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2001; 25:448–452
323. Ozden M, Maral H, Akaydin D, Cetinalp P, Kalender B. Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clin Biochem* 2002; 35:269 -73.
324. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007). "Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease". *Physiol. Rev.* 87 (1): 315–424.
325. Pakfetrat M, Malekmakan L, Hasheminasab M. Diminished Selenium Levels in Hemodialysis and Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients. *Biol Trace Elem Res.* 2009

326. Palleschi S, De Angelis S, Diana L, Rossi B, Papa V, Severini G, Splendiani G. Reliability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients: a comparative study. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(9):1211-8
327. Paniagua R, Amato D, Vonesh E, Correa-Rotter R, Ramos A, Moran J, Mujais S; Mexican Nephrology Collaborative Study Group. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol*. 2002 May;13(5):1307-20.
328. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, et al. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19: 1154-1160.
329. Panichi V., M. Migliori, S. De Pietro, D. Taccola, A.M. Bianchi and M. Norpoth et al., C reactive protein in patients with chronic renal diseases, *Ren Fail* 23 (2001), pp. 551–562
330. Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Locsey L, Karpati I, Matyus J, Katona E, Harangi M, Kakuk G. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron*. 1999;83(2):126–131.
331. Paraskevas KI. Statin therapy in peritoneal dialysis patients: effects beyond lipid lowering. *Int Urol Nephrol*. 2008; 40: 165-170.
332. Passlick-Deetjen J, Quellhorst E. Continuous flow peritoneal dialysis (CFPD): a glimpse into the future. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16: 2296-2299.
333. Patient Registration Committee, Japanese Society for Dialysis Therapy. An overview of regular dialysis treatment in Japan (as of Dec. 31, 2003) .Tokyo: Japanese Society for Dialysis Therapy; 2004.
334. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Blood Coagul Fibrinolysis. Association between tissue factor, its pathway inhibitor and oxidative stress in peritoneal dialysis patients. 2007 Jul;18(5):467-71.
335. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Cu/Zn superoxide dismutase plasma levels as a new useful clinical biomarker of oxidative stress in patients with end-stage renal disease. *Clin Biochem*. 2005 Aug;38(8):700-5.
336. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Impaired renal function and duration of dialysis therapy are associated with oxidative stress and proatherogenic cytokine levels in patients with end-stage renal disease. *Clin Biochem*. 2007 Jan;40(1-2):81-5

337. Pawlak K, Pawlak D, Myśliwiec M. Method of dialysis therapy and selected markers of oxidative stress and endothelial injury in patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med Wewn.* 2005 Jan;113(1):21-6.
338. Pawlak K, Pawlak D, Myśliwiec M. Oxidative stress effects fibrinolytic system in dialysis uraemic patients. *Thromb Res.* 2006;117(5):517-22.
339. Pawlak Krystyna, Michal Myśliwiec and Dariusz Pawlak. Oxidative stress, phosphate and creatinine levels are independently associated with vascular endothelial growth factor levels in patients with chronic renal failure *Cytokine* Volume 43, Issue 1, July 2008, Pages 98-101
340. Pawlaka Krystyna, Dariusz Pawlakb and Michal Myśliwieca. Association between tissue factor, its pathway inhibitor and oxidative stress in peritoneal dialysis patients *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2007, 18:467–471
341. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO III, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice. A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003; 107: 499-511.
342. Pecoits-Filho R, Bárány P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1684–8.
343. Pecoits-Filho R., O. Heimbürger, P. Barany, M. Suliman, I. Fehrman-Ekholm and B. Lindholm et al., Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients, *Am J Kidney Dis* 41 (2003), pp. 1212–1218
344. Pereira AM, Hamani N, Nogueira PC, Carvalhaes JT. Oral vitamin intake in children receiving long-term dialysis. *J Ren Nutr.* 2000 Jan;10(1):24-9.
345. Pietrzak I. Vitamin disturbances in chronic renal insufficiency. I. Water soluble vitamins *Przegl Lek.*1995;52(10):522-5.
346. Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA.* 1997;278:1682–1686
347. Porkkala-Sarataho E, Salonen JT, Nyssönen K, Kaikkonen J, Salonen R, Ristonmaa U, Diczfalusy U, Brigelius-Flohe R, Loft S, Poulsen HE. Long-term effects of vitamin E, vitamin C, and combined supplementation on urinary 7-hydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine,

serum cholesterol oxidation products, and oxidation resistance of lipids in nondepleted men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Sep;20(9):2087-93

348. Pupim LB, Himmelfarb J, McMonagle E, Shyr Y, Ikizler TA. Influence of initiation of maintenance hemodialysis on biomarkers of inflammation and oxidative stress. *Kidney Int* 2004;65 : 2371-9.

349. Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimbürger O, Lindholm B, et al. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(Suppl 1):S28 -36

350. Rao M, Guo D, Perianayagam MC, Tighiouart H, Jaber BL, Pereira BJ, et al. Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45:324–33.

351. Rebouche, CJ. Renal handling of carnitine in experimental vitamin C deficiency. *Metabolism* 1995; 44:1639.

352. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *N Engl J Med.* 2000; 342: 836-843.

353. Riesenhuber A, Kasper DC, Vargha R, Endemann M, Aufricht C. Quercetin protects human mesothelial cells against exposure to peritoneal dialysis fluid. *Pediatr Nephrol.* 2007 Aug;22(8):1205-8.

354. Rimm, EB, Stampfer, MJ, Ascherio, A, et al. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328:1450.

355. Rippe B, Simonsen O, Heimbürger O, Christensson A, Haraldsson B, Stelin G, et al. Long-term clinical effects of a peritoneal dialysis fluid with less glucose degradation products. *Kidney Int* 2001; 59:348–57.

356. Roob JM, Khoschsorur G, Tiran A, Horina JH, Holzer H, Winklhofer-Roob BM. Vitamin E attenuates oxidative stress induced by intravenous iron in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:539 -49.

357. Roob JM, Rabold T, Hayn M, Khoschsorur G, Resch U, Holzer H, et al. Ex vivo low-density lipoprotein oxidizability and in vivo lipid peroxidation in patients on CAPD. *Kidney Int Suppl* 2001; 78:S128 -36

358. Rosenthal A, Ryan LM, McCarty DJ. Arthritis associated with calcium oxalate crystals in an anephric patient treated with peritoneal dialysis. *JAMA.* 1988 Sep 2;260(9):1280-2.

359. Ross EA, Koo LC, Moberly JB. Low whole blood and erythrocyte levels of glutathione in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997 Oct;30(4):489-94.
360. Ross EA, Shah GM, Reynolds RD, Sabo A, Pichon M. Vitamin B6 requirements of patients on chronic peritoneal dialysis. *Kidney Int.* 1989 Oct;36(4):702-6.
361. Roxanne Poole, Abdullah Hamad. Nutrition Supplements in Dialysis Patients: Use in Peritoneal Dialysis Patients and Diabetic Patients *Advances in Peritoneal Dialysis*, Vol. 24, 2008.
362. Ruiz MC, Portero-Otin M, Pamplona R, Requena JR, Prat J, Lafarga MA, Borràs M, Bellmunt MJ. Chemical and immunological characterization of oxidative nonenzymatic protein modifications in dialysis fluids. *Perit Dial Int* 2003; 23:23–32.
363. Rutkowski P, Malgorzewicz S, Slominska E, Renke M, Lysiak-Szydlowska W, Swierczynski J, Rutkowski Interrelationship between uremic toxicity and oxidative stress. *B.J Ren Nutr.* 2006 Jul;16(3):190-3
364. Rutkowski Przemysław MD, PhD, Sylwia Malgorzewicz MD, PhD, Ewa Slominska PhD, Marcin Renke MD, PhD, Wiesława Lysiak-Szydlowska PhD, Julian Swierczynski MD, PhD and Bolesław Rutkowski MD, PhD. Interrelationship Between Uremic Toxicity and Oxidative Stress *Journal of Renal Nutrition* Volume 16, Issue 3, July 2006, Pages 190-193
365. Rysz J, Stolarek RA, Pedzik A, Nowicki M, Nowak D. Serum antioxidant capacity is preserved in peritoneal dialysis contrary to its robust depletion after hemodialysis and hemodiafiltration sessions. *Ther Apher Dial.* 2010; 14: 209-217.
366. Saglam F, Cavdar C, Uysal S, Cavdar Z, Camsari T. Effect of intravenous iron sucrose on oxidative stress in peritoneal dialysis patients. *Ren Fail.* 2007; 29: 849-854.
367. Sahin E, Göçmen AY, Koçak H, Tuncer M, Gümüslü S The association of advanced glycation end-products with glutathione status *Ann Clin Biochem.* 2008 Jul;45(Pt 4):369-74
368. Salonen JT, Nyssönen K, Salonen R, Lakka HM, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Lakka TA, Rissanen T, Leskinen L, Tuomainen TP, Valkonen VP, Ristonmaa U, Poulsen HE. Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention Study (ASAP): a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J Intern Med.* 2000;248:377–386. doi: 10.1046/j.1365-2796.
369. Salusky IB. The nutritional approach for pediatric patients undergoing CAPD/CCPD. *Adv Perit Dial.* 1990;6:245-51

370. Samouilidou E, Grapsa E (2003) Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure *Blood Purif* 21: 209-12
371. Samouilidou EC, Grapsa EJ, Kakavas I, Lagouranis A, Agrogiannis B. Oxidative stress markers and C-reactive protein in end-stage renal failure patients on dialysis. *Int Urol Nephrol*. 2003a;35(3):393-397.
372. Sarafidis PA, Ruilope LM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and renal injury: Mechanisms and implications. *Am. J. Nephrol*. 2006; 26: 232–44.
373. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton BF, Hamm LL, McCullough PA, Kaskike BL: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 108 : 2154 –2169, 2003
374. Sauberlich HE. Ascorbic acid. In: Brown ML, ed. Present knowledge in nutrition. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1990:132–41.
375. Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr. Med. Chem.*, 8, 721–738.
376. Schafer, F. Q., & Buettner, G. R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/ glutathione couple. *Free Radic. Biol. Med.*, 30, 1191–1212.
377. Schettler V, Wieland E, Methe H, Schuff-Werner P, Muller GA. Oxidative stress during dialysis: effect on free radical scavenging enzyme (FRSE) activities and glutathione (GSH) concentration in granulocytes. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 2588-2593.
378. Schiffrin L. Ernesto, MD, PhD, FRSC, FRCPC; Mark L. Lipman, MD, FRCPC; Johannes F.E. Mann, MD. Chronic Kidney Disease Effects on the Cardiovascular System (*Circulation*. 2007;116:85-97.
379. Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res*1999; 84:489 -97.
380. Schwedler S, Schinzel R, Vaith P, Wanner C. Inflammation and advanced glycation end products in uremia: simple coexistence, potentiation or causal relationship? *Kidney Int*. 2001; 59 (Suppl 78): 32-36.

381. Segall L, Covic A. Cardiovascular disease in haemodialysis and peritoneal dialysis: arguments pro haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22(1):59–63.
382. Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, Bubes V, Manson JE, Glynn RJ, Gaziano JM. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*. 2008 Nov 12;300(18):2123-33
383. Sezer MT, Akin H, Demir M, Erturk J, Aydin ZD, Savik E, Tunc N. The effect of serum albumin level on iron-induced oxidative stress in chronic renal failure patients. *J Nephrol*. 2007 Mar-Apr;20(2):196-203.
384. Shah GM, Ross EA, Sabo A, Pichon M, Bhagavan H, Reynolds RD. Ascorbic acid supplements in patients receiving chronic peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis*. 1991 Jul;18(1):84-90.
385. Shah GM, Ross EA, Sabo A, Pichon M, Reynolds RD, Bhagavan H. Effects of ascorbic acid and pyridoxine supplementation on oxalate metabolism in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 1992 Jul;20(1):42-9.
386. Shargorodsky M, Debby O, Matas Z, Zimlichman R. Effect of long-term treatment with antioxidants (vitamin C, vitamin E, coenzyme Q10 and selenium) on arterial compliance, humoral factors and inflammatory markers in patients with multiple cardiovascular risk factors. *Nutr Metab (Lond)*. 2010 Jul 6;7:55.
387. Shekelle PG. ACP Journal Club. Supplementation with vitamin E or vitamin C did not differ from placebo for major cardiovascular events and mortality. *Ann Intern Med*. 2009 Apr 21;150(8):JC4-12
388. Shlipak MG, Heidenreich PA, Noguchi H, Chertow GM, Browner WS, McClellan MB. Association of renal insufficiency with treatment and outcomes after myocardial infarction in elderly patients. *Ann Intern Med*. 2002; 137: 555–562
389. Shlipak, MG, Simon, JA, Grady, D, et al: Renal insufficiency and cardiovascular events in post-menopausal women with coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2001 38: 705–711,
390. Shoskes DA, Shahed AR, Kim S, Gritsch HA, Danovitch G, Wilkinson A. Oxidant stress and antioxidant capacity in urine of renal transplant recipients predict early graft function. *Transplant Proc*. 2001;33(1–2):984.

391. Singer R, Rhodes HC, Chin G, Kulkarni H, Ferrari P. High prevalence of ascorbate deficiency in an Australian peritoneal dialysis population. *Nephrology (Carlton)*. 2008 Feb;13(1):17-22
392. Slight SH, Feather MS, Ortwerth BJ. Glycation of lens proteins by the oxidative products of ascorbic acid. *Biochem Biophys Acta* 1990; 1038:367 -74
393. Snyder S, Pendergraph B: Detection and evaluation of chronic kidney disease. *Am Fam Physician* 2005, 72: 1723-1732
394. Sommerburg O, Grune T, Hampl H, Riedel E, van Kuijk FJMG, Ehrich JHH, et al. Does long-term treatment of renal anaemia with recombinant erythropoietin influence oxidative stress in haemodialysed patients? *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 2583-2587.
395. Song Y, Cook NR, Albert CM, Van Denburgh M, Manson JE. Effects of vitamins C and E and beta-carotene on the risk of type 2 diabetes in women at high risk of cardiovascular disease: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2009 Aug;90(2):429-37
396. Soon Bae Kim, Won Seok Yang, Won Ki Min, Sang Koo Lee, and Jung Sik Park. Reduced oxidative stress in hypoalbuminemic capd patients. *Peritoneal Dialysis International*, Vol. 20, 2000, pp. 290–294
397. Sosa MA, Balk EM, Lau J, Liangos O, Balakrishnan VS, Madias NE, Pereira BJ, Jaber BL. A systematic review of the effect of the Excebrane dialyser on biomarkers of lipid peroxidation. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:2825–2833.
398. Sriram K, Abraham G. Loss of zinc and selenium does not occur through peritoneal dialysis. *Nutrition*. 2000; 16: 1047-1051.
399. Stadtman, E. R. (2004). Role of oxidant species in aging. *Curr. Med. Chem.*, 11, 1105–1112.
400. Stampfer, MJ, Rimm, EB. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:1365S
401. Stein G, Sperschneider H, Koppe S. Vitamin levels in chronic renal failure and need for supplementation. *Blood Purif*. 1985;3(1-3):52-62.
402. Stenvinkel P, Barany P, Chung SH, Lindholm B, Heimbörger O. A comparative analysis of nutritional parameters as predictors of outcome in male and female ESRD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1266–74.
403. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between

malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA-syndrome). *Nephrol Dial Transplant.* 2000; 15: 953-960.

404. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T: Strong association between malnutrition, inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 55 : 1899–1911, 1999

405. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T. Strong associations between malnutrition, inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1999; 55: 1899-1911.

406. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T. Strong associations between malnutrition, inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1999; 55: 1899-1911.

407. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17(Suppl 8): 33-38.

408. Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif.* 2001; 19: 53-61.

409. Stenvinkel P., O. Heimbürger, F. Paultre, U. Diczfalusy, T. Wang and L. Berglund et al., Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure, *Kidney Int* 55 (1999), pp. 1899–1911

410. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) *Lancet.* 1996;347:781–786.

411. Streefland M, Donckerwolcke RA Vitamin B6 resistant primary hyperoxaluria type I. Report of 5 cases. *Helv Paediatr Acta.* 1989 Feb;43(4):313-24.

412. Styszynski Arkadiusz, Katarzyna Wieczorowska–Tobis, Renata Podkowka, Andrzej Breborowicz, Dimitrios G. Oreopoulos Effects of Glutathione Supplementation During Peritoneal Dialysis *Advances in Peritoneal Dialysis, Vol. 22, 2006.*

413. Sudhir V. Shah, Radhakrishna Baliga, Mohan Rajapurkar and Vivian A. Fonseca Oxidants in Chronic Kidney Disease *J Am Soc Nephrol* 18: 16-28, 2007

414. Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, Oppenheim JJ, O' Grady NP. New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol.* 1999; 19: 203-214.

415. Sugiyama H, Kobayashi M, Wang DH, Sunami R, Maeshima Y, Yamasaki Y, et al. Telmisartan inhibits both oxidative stress and renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction in acatalasemic mice. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 2670-2680.

416. Suliman ME, Heimbürger O, Barany P, Anderstam B, Pecoits-Filho R, Rodriguez Ayala E, et al. Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14 : 1614-22
417. Suliman ME, Stenvinkel P, Heimbürger O, Barany P, Lindholm B, Bergström J. Plasma sulfur amino acids in relation to cardiovascular disease, nutritional status, and diabetes mellitus in patients with chronic renal failure at start of dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2002; 40:480–8.
418. Sundl I, Roob JM, Meinitzer A, Tiran B, Khoschsorur G, Haditsch B, Holzer H, Winklhofer-Roob BM. Antioxidant status of patients on peritoneal dialysis: associations with inflammation and glycoxidative stress. *Perit Dial Int.* 2009 Jan-Feb;29(1):89-101
419. Sutherland WH, Walker RJ, Ball MJ, Stapley SA, Robertson MC. Oxidation of low density lipoproteins from patients with renal failure or renal transplants. *Kidney Int.* 1995;48(1):227–236.
420. Szczech LA, Lazar IL: Projecting the United States ESRD population: Issues regarding treatment of patients with ESRD. *Kidney Int Suppl* 66 : S3 –S7, 2004
421. Tan RH, Thatcher CD, Buechner-Maxwell V, Christmann U, Crisman MV, Werre SR. Measurement of ascorbic acid concentration and glutathione peroxidase activity in biological samples collected from horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res.* 2010; 71:1500-1507.
422. Tarng DC, Chen TW, Huang TP, Chen CL, Liu TY, Wei YH. Increased oxidative damage to peripheral blood leukocyte DNA in chronic peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13 : 1321-30.
423. Tarng DC, Huang TP, Wei YH, Liu TY, Chen HW, Wen Chen T, et al. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2000; 36: 934-944.
424. Tarng DC, Wen CT, Huang TP et al. Increased oxidative damage to peripheral blood leukocyte DNA in chronic peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1321–1330
425. Tauer A, Knerr T, Niwa T, Schaub TP, Lage C, Passlick-Deetjen J, et al. In vitro formation of N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine and imidazolones under conditions similar to continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 280: 1408-1414.

426. Terawaki H, Matsuyama Y, Era S, Matsuo N, Ikeda M, Ogura M, Yokoyama K, Yamamoto H, Hosoya T, Nakayama M. Elevated oxidative stress measured as albumin redox state in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients correlates with small uraemic solutes. *Nephrol Dial Transplant*. 2007 Mar;22(3):968
427. Thornalley PJ. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation end products. *Arch Biochem Biophys*. 2003; 419: 31-40.
428. Tomson CR, Channon SM, Parkinson IS, McArdle P, Qureshi M, Ward MK, Laker MF. Correction of subclinical ascorbate deficiency in patients receiving dialysis: effects on plasma oxalate, serum cholesterol, and capillary fragility. *Clin Chim Acta*. 1989 Apr 14;180(3):255-64.
429. Tomson CR, Channon SM, Parkinson IS, Owen JP, Ward MK, Simpson JM, Laker MF. Plasma oxalate in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 1988;3(3):295-9.
430. Tomson CR, Channon SM, Parkinson IS, Sheldon WS, Ward MK, Laker MK. Effect of pyridoxine supplementation on plasma oxalate concentrations in patients receiving dialysis. *Eur J Clin Invest*. 1989 Apr;19(2):201-5.
431. Tomson CR, Channon SM, Ward MK, Laker MF. Ascorbate-induced hyperoxalaemia has no significant effect on lactate generation or erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate in dialysis patients. *Eur J Clin Invest*. 1990 Aug;20(4):411-5.
432. Topley N. In vitro biocompatibility of bicarbonate-based peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 1997; 17:42-7
433. Topley N. Membrane longevity in peritoneal dialysis: impact of infection and bio-incompatible solutions. *Adv Ren Replace Ther* 1998; 5:179 -84
434. Touyz RM, Yao G, Quinn MT, Pagano PJ, Schiffrin EL. p47phox associates with the cytoskeleton through cortactin in human vascular smooth muscle cells: role in NAD(P)H oxidase regulation by angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 512-518
435. Tribble, D. AHA Science Advisory. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and beta-carotene: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999; 99:591.
436. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(Suppl 1):S83-8

437. Tyagi N, Sedoris KC, Steed MM, Ovechkin AV, Moshal KS, Tyagi SC. Mechanisms of Homocysteine-Induced Oxidative Stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 289: 2649-2656.
438. Urivetzky, et al. Ascorbic acid overdosing: A risk factor for calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1992; 147:1215. Block, G. Vitamin C and cancer prevention: the epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:270S
439. Usberti M, Gerardi GM, Gazzotti RM, Benedini S, Archetti S, Sugherini L, et al. Oxidative stress and cardiovascular disease in dialyzed patients. *Nephron* 2002;91 : 25-33.
440. USRDS: Excepts from United State Renal Data System 1999. Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:S1–176.
441. Uzum A, Toprak O, Gumustas MK, Ciftci S, Sen S. Effect of vitamin E therapy on oxidative stress and erythrocyte osmotic fragility in patients on peritoneal dialysis and hemodialysis. *J Nephrol.* 2006 Nov-Dec;19(6):739-45.
442. Vaculin S, Franek M, Vejrazka M. Role of oxidative stress in animal model of visceral pain. *Neurosci Lett.* 2010; 477:82-85.
443. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
444. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160, 1–40.
445. Van Biesen W, Verbeke F, Vanholder R. Cardiovascular disease in haemodialysis and peritoneal dialysis: arguments pro peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(1):53–58.
446. van de Kerkhof J, Schalkwijk CG, Konings CJ, Cheriex EC, van der Sande FM, Scheffer PG, ter Wee PM, Leunissen KM, Kooman JP. Nepsilon (carboxymethyl)lysine, Nepsilon-(carboxyethyl)lysine and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in relation to peritoneal glucose prescription and residual renal function; a study in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Apr;19(4):910-6.
447. van Ypersele de Strihou C. Advanced glycation in uraemic toxicity. *EDTNA ERCA J.* 2003 Jul-Sep;29(3):148-50
448. Vanholder R, Argiles A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, et al. Uremic toxicity: present state of the art. *Int J Artif Organs.* 2001; 24: 695-725.

449. Vanholder R, Schepers E, Meert N, Lameire N. What is uremia? Retention vs oxidation. *Blood Purif.* 2006; 24: 33-38.
450. Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int* 2003;63 : 179-85
451. Vecchi AF, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Guerra L, Lonati S, et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24: 2524-2529.
452. Vecchi AF, Novembrino C, Lonati S, Ippolito S, Bamonti F. Two different modalities of iron gluconate i.v. administration: effects on iron, oxidative and inflammatory status in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22: 1709-1713.
453. Vianna AC, Mocelin AJ, Matsuo T, Porais-Filho D, Largura A, Delfino VA, et al. Uremic hyperhomocysteinemia: a randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular disease. *Hemodial Int.* 2007; 11: 210-216.
454. Vissers MC, Wilkie RP. Ascorbate deficiency results in impaired neutrophil apoptosis and clearance and is associated with up-regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *J Leukoc Biol.* 2007 May;81(5):1236-44.
455. Vivekananthan, DP, Penn, MS, Sapp, SK, et al. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2003; 361:2017
456. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectine/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science.* 1988; 240: 1546-1548.
457. Vriese AS, Tilton RG, Mortier S, Lameire NH. Myofibroblast transdifferentiation of mesothelial cells is mediated by RAGE and contributes to peritoneal fibrosis in uraemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21: 2549-2555.
458. Waanders F, van den Berg E, Nagai R, van Veen I, Navis G, van Goor H. Renoprotective effects of the AGE-inhibitor pyridoxamine in experimental chronic allograft nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 518-524.
459. Walls J. Relationship between proteinuria and progressive renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2001; 37: 13-16.
460. Wang AY, Lai KN. The importance of residual renal function in dialysis patients. *Kidney Int.* 2006 May;69(10):1726-32.

461. Wang AY, Lam CW, Wang M, Woo J, Chan IH, Lui SF, et al. Circulating soluble vascular cell adhesion molecule 1: relationships with residual renal function, cardiac hypertrophy, and outcome of peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45:715–29.
462. Wang AY, Wang M, Woo J, et al. A novel association between residual renal function and left ventricular hypertrophy in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62:639–47
463. Wang AY, Wang M, Woo J, Lam CW, Lui SF, Li PK, et al. Inflammation, residual kidney function, and cardiac hypertrophy are interrelated and combine adversely to enhance mortality and cardiovascular death risk of peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2186–94.
464. Wang AYM. Cardiovascular risk factors in peritoneal dialysis patients revisited. *Perit Dial Int.* 2007; 27(Suppl2): 223-227.
465. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int.* 2002; 61: S99-102.
466. Washio K, Inagaki M, Tsuji M, Morio Y, Akiyama S, Gotoh H, Gotoh T, Gotoh Y, Oguchi K Oral vitamin C supplementation in hemodialysis patients and its effect on the plasma level of oxidized ascorbic acid and Cu/Zn superoxide dismutase, an oxidative stress marker. *Nephron Clin Pract.* 2008;109(2):c49-54.
467. Watson, RR, Leonard, TK. Selenium and vitamins A, E, and C: nutrients with cancer prevention properties. *J Am Diet Assoc* 1986; 86:505.
468. Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced Glycation End Products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab (Paris).* 2001; 27: 535-542.
469. Wautier JL, Schmidt AM. Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res* 2004; 95:233–8.
470. Weinstein, M, Babyn, P, Zlotkin, S. An orange a day keeps the doctor away: scurvy in the year 2000. *Pediatrics* 2001; 108:E55.
471. Wheeler DC, Townsend JN, Landray MJ. Cardiovascular risk factors in patients: baseline data from the Chronic Renal Impairment in Birmingham (CRIB) study. *Kidney Int* 2003; 63(Suppl 84):S201–3.
472. Wieczorowska-Tobis K, Breborowicz A, Witowski J, Martis L, Oreopoulos DG. Effect of vitamin E on peroxidation and permeability of the peritoneum. *J Physiol Pharmacol.* 1996 Sep;47(3):535-43.

473. Wieslander A, Forsback G, Svensson E, Linden T. Cytotoxicity, pH, and glucose degradation products in four different brands of PD fluid. *Adv Perit Dial* 1996; 12:57–60.
474. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, et al. Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13: 470-479.
475. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*. 1996; 49: 1304-1313.
476. Witowski J, Jorres A, Korybalska K, Ksiazek K, Wisniewska-Elnur J, Bender TO, et al. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: do they harm? *Kidney Int Suppl* 2003; 84:S148 -51.
477. Witowski J, Korybalska K, Ksiazek K, Wisniewska-Elnur J, Jörres A, Lage C, et al. Peritoneal dialysis with solutions low in glucose degradation products is associated with improved biocompatibility profile towards peritoneal mesothelial cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19: 917-924.
478. Wolf, G. How an increased intake of alpha-tocopherol can suppress the bioavailability of gamma-tocopherol. *Nutr Rev* 2006; 64:295.
479. Woodson, K, Tangrea, JA, Barrett, MJ, et al. Serum alpha-tocopherol and subsequent risk of lung cancer among male smokers. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1738.
480. Wu BJ, Kathir K, Witting PK, Beck K, Choy K, Li C, Croft KD, Mori TA, Tanous D, Adams MR, Lau AK, Stocker R. Antioxidants protect from atherosclerosis by a heme oxygenase-1 pathway that is independent of free radical scavenging. *J Exp Med*. 2006;203:1117–1127
481. Wulf Droge. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev*. 82: 47-95(2002)
482. Wulf Droge. Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome. *Phil. Trans.R. Soc.*(2005)
483. Xue JL, Ma JZ, Louis TA, Collins AJ: Forecast of the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2010. *J Am Soc Nephrol* 12 : 2753 – 2758, 2001
484. Yamamoto M, Izuhara Y, Kakuta T, Takizawa S, Fujita A, Higaki T, van Ypersele de Strihou C, Miyata T.

485. Yamamoto M, Izuhara Y, Kakuta T, Takizawa S, Fujita A, Higaki T, van Ypersele de Strihou C, Miyata T. Carbonyl stress reduction in peritoneal dialysis fluid: development of a novel high-affinity adsorption bead. *Perit Dial Int.* 2007; 27: 300-308.
486. Yamamoto Y, Kato I, Doi T, Yonekura H, Ohashi S, Takeuchi M, et al. Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J Clin Invest.* 2001; 108: 261-268.
487. Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994;269:9889-9897
488. Yanez-Mo M, Lara-Pezzi E, Selgas R, Huesca MR, Domínguez-Jiménez C, Jiménez-Heffernan JA, et al. Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *N Engl J Med.* 2003; 348: 403-413.
489. Yoshioka T, Bills T, Moore-Jarrett T, Greene HL, Burr IM, Ichikawa I. Role of intrinsic antioxidant enzymes in renal oxidant injury. *Kidney Int* 1990; 38(2): 282-288
490. Yu BP, Suescun EA, Yang SY. Effect of age-related lipid peroxidation on membrane fluidity and phospholipase A₂: modulation by dietary restriction. *Mech Ageing Dev* 1992;65:17-33.
491. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 2000;342:154-160.
492. Zaniew M, Zachwieja J, Lewandowska-Stachowiak M, Sobczyk D, Siwińska A [The antioxidant therapy modulates intracellular lymphokine expression in children on dialysis] *Przegl Lek.* 2006;63 Suppl 3:63-7
493. Zaniew M, Zachwieja J, Warzywoda A, Stefaniak E, Runowski D, Lewandowska-Stachowiak M. Influence of vitamin E and N-acetylcysteine on intracellular oxidative stress in T lymphocytes in children treated with dialysis] *Wiad Lek.* 2005;58 Suppl 1:58-65. Polish.
494. Zareie M, Hekking LHP, Welten AGA, Driesprong BAG, Schadee-Eestermans IL, Faict D, et al. Contribution of lactate buffer, glucose and glucose degradation end products to peritoneal injury in vivo. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18: 2629-2637.
495. Zareie M, Tangelder G-J, ter Wee PM, Hekking LHP, van Lambalgen AA, Keuning ED, et al. Beneficial effects of aminoguanidine on peritoneal microcirculation and tissue remodelling in a rat model of PD. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 2783-2792.

496. Zaza G, Pontrelli P, Pertosa G, Granata S, Rossini M, Porreca S, et al. Dialysis-related systemic microinflammation is associated with specific genomic patterns. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23: 1673-1681
497. Zemanova P, Opatrny K Jr, Opatrna S, Vit L, Sefrna F, Racek J. Tissue factor, its pathway inhibitor, and metabolic disturbances in long-term peritoneal dialysis. *Kidney Blood Press Res* 2003; 26:368–375.
498. Zhang, S, Hunter, DJ, Forman, MR, et al. Dietary carotenoids and vitamins A,C, and E and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:547.
499. Zima T, Stipek S, Crkovska J, et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in CAPD patients. *Ren Fail* 1996; 18:113–19.
500. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1999; 55: 648-658.
501. Zingg, JM, Azzi, A. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem* 2004; 11:1113.
502. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Focà A, et al. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. *J Hypertens*. 2000; 18: 1207-1213.
503. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Giaccone G, Stancanelli B, et al. Left ventricular mass monitoring in the follow-up of dialysis patients: prognostic value of left ventricular hypertrophy progression. *Kidney Int*. 2004; 65: 1492-1498.
504. Zoccali C, Enia G, Tripepi G, Panuccio V, Mallamaci F. Clinical epidemiology of major nontraditional risk factors in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2005; 25(Suppl 3):S84–7..
505. Zoungas S, McGrath BP, Branley P, Kerr PG, Muske C, Wolfe R, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Atherosclerosis and Folic Acid Supplementation Trial (ASFAST) in chronic renal failure: a multicenter, randomized, controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 47: 1108-1116.
506. Zwolinska D, Grzeszczak W, Kilis-Pstrusinska K, Szprynger K, Szczepanska M. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol* 2004; 19:888 -93.
507. Zwolinska D, Grzeszczak W, Szczepanska M, Makulska I, Kilis-Pstrusinska K, Szprynger K. Oxidative stress in children on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2009 Mar-Apr;29(2):171-7.

508. Zwolinska D, Grzeszczak W, Szczepanska M, Makulska I, Kilis-Pstrusinska K, Szprynger K. Oxidative stress in children on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2009 Mar-Apr;29(2):171-7.
509. Zwolinska D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in patients with chronic renal failure. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 1998; 7:87 -92.