







**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**«Μελέτη του οξειδωτικού stress σε νεφροπαθείς πριν, κατά και  
μετά την αιμοκάθαρση»**

**Ζουριδάκης Ανδρέας  
Ιατρός - Νεφρολόγος**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2013**



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



**Ημερομηνία αίτησης του κ. Ζουριδάκη Ανδρέα:** 10-5-2002

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 484<sup>α</sup>/15-10-2002

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος Καθηγητής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Χαραλαμπόπουλος Κωνσταντίνος Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Κλινική –  
Λειτουργική Φυσιολογία της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Καρκαμπούνας Σπυρίδων Λέκτορας Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 18-12-2002

*«Μελέτη του οξειδωτικού stress σε νεφροπαθείς, πριν, κατά και μετά την αιμοκάθαρση»*

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ** : 740<sup>α</sup>/3-7-2012

<b>Ανωγειανάκης Γεώργιος</b>	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
<b>Ευαγγέλου Άγγελος</b>	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Χαραλαμπόπουλος Κωνσταντίνος</b>	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης
<b>Καλφακάκου Βασιλική</b>	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Κιόρτσης Δημήτριος –Νικηφόρος</b>	Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Καρκαμπούνας Σπυρίδων</b>	Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Πέσχος Δημήτριος</b>	Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Κυτταρική Φυσιολογία, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 10-7-2013

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Μαργαρίτα Τζαφλίδου**

Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής



Η Γραμματέας της Σχολής

**ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ**





## Αφιερώσεις

Στη μνήμη του πατέρα μου Κωνσταντίνου

Στη μητέρα μου Μαρία

Στη σύζυγο μου Λένα και στα παιδιά μου Μαρία και Ξανθή

Στις αδερφές μου Ευτυχία και Κική



*«Τα πάντα ρεί»*

*Ηράκλειτος*



## **ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΟΡΩΝ**

A-MEA= αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης

AMK ή AK= αιμοκάθαρση

AΦ= αρτηριοφλεβώδης

ΔΜΟ= δραστικές μορφές οξυγόνου

ΚΦΚ= κεντρικός φλεβικός καθετήρας

ΜΒ= μοριακό βάρος

ΜΟ= μεταβολική οξέωση

ΟΣ= οξειδωτικό stress

ΣΦΠΚ= συνεχής φορητή περιτοναϊκή κάθαρση

XNA= 5<sup>ο</sup> στάδιο XNN(χρόνιας νεφρικής νόσου)

XNN= χρόνια νεφρική νόσος

## **ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΩΝ ΟΡΩΝ**

AGE= προϊόντα τελικής γλυκοζυλίωσης

ANOVA= ( analysis of variance) ανάλυση της διακύμανσης

AOPP= τελικά προϊόντα πρωτεϊνικής (καρβονυλικής) οξείδωσης

APD= αυτοματοποιημένη περιτοναϊκή κάθαρση

ARB= (angiotensin receptor blocker) αναστολέας υποδοχέα αγγειοτενσίνης

ATP= τριφωσφορική αδενοσίνη

BCM= (body cellular mass) κυτταρική μάζα σώματος

BCMI= (body cellular mass index) δείκτης κυτταρικής μάζας σώματος

BIA= (bioelectrical impedance analysis) ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης

BMI= (body mass index) δείκτης μάζας σώματος

BUN= άζωτο ουρίας αίματος

CAPD= (continuous ambulatory peritoneal dialysis) συνεχής φορητή περιτοναϊκή κάθαρση

CAT= καταλάση

CMIT= πάχος του έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας

CML= καρβοξυλ-μεθυλ-λυσίνη

CRP= (C reactive protein) C αντιδρώσα πρωτεΐνη

dG= δεοξυγουανοσίνη

DNA= δεσοξυριβοζονουκλεϊνικό οξύ

DS= (disequilibrium syndrome) σύνδρομο ρήξης ωσμωτικής ισορροπίας

ECW= (extracellular water) εξωκυττάριο νερό

EVAL= (ethylene- co-vinyl alcohol) πολυμερές αιθυλενοβινυλαλκοόλης

FFM= (free fat mass) μάζα ελεύθερη λίπους

FRSE= (free radicals scavenger enzymes) ενζυμικοί εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών

GFR= (glomerular filtration rate) ρυθμός σπειραματικής διήθησης

GLUT 2= (glucose transporter type 2) μεταφορέας γλυκόζης τύπου 2

GPx= υπεροξειδάση της γλουταθειόνης

GSH= γλουταθειόνη

GSSG= οξειδωμένη μορφή γλουταθειόνης

Hb= αιμοσφαιρίνη

Hba1c= γλυκυζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

HD= (hemodialysis) αιμοκάθαρση

HDF= (hemodiafiltration) αιμοδιαδιήθηση

HF= (hemofiltration) αιμοδιήθηση

HNE= λιπιδική υπεροξειδωση

Ht= αιματοκρίτης

IL-6= ιντερλευκίνη 6

IL-8= ιντερλευκίνη 8

K/DOQI= (kidney disease outcome quality initiative) κατευθυντήριες οδηγίες κλινικής πρακτικής στη νεφρολογία

Kuf=συντελεστής υπερδιήθησης

LLC-PK1= (pig kidney epithelial cell) επιθηλιακό κύτταρο εγγύς εσπειραμένου ουροφόρου σωληναρίου νεφρού γουρουνιού

MDA= (malonyl-dialdehyde) μαλονική διαλδεϋδη

MIA syndrome= (malnutrition,inflammation,atherosclerosis syndrome) σύνδρομο δυσθρεψίας ,φλεγμονής,αθηροσκλήρυνσης

NHD= (nocturnal hemodialysis) νυκτερινή αιμοκάθαρση

NF-kB= πυρηνικός παράγοντας kB

NHANES = (National Health and Nutrition Examination Survey) Εθνική Έρευνα Ελέγχου Υγείας και Διατροφής

NKF= (National Kidney Foundation) Εθνικό Ίδρυμα Νεφρού

8-OHdG= 8-υδροξυ -2' - δεοξυγουανοσίνη

PAN= πολυακρυλονιτρίλη

P- CO<sub>2</sub>= μερική πίεση διοξειδίου

PhA= (phase angle) γωνία φάσης

pH = (power of hydrogen) δείκτης ενεργού οξύτητας

PTH= παραθορμόνη

PMMA= (polymethylmethacrylate) πολυμεθυλομεθακρυλικό

SDHD= (short daily hemodialysis) μικρή καθημερινή αιμοκάθαρση

SOD= δισμουτάση του σουπεροξειδίου

TAC= (total antioxidant capacity) ολική αντιοξειδωτική ικανότητα

TAC ουρίας= (time-averaged concentration ουρίας) μέση χρονική συγκέντρωση ουρίας

TBA= (thiobarbitouric acid) θειοβαρβιτουρικό οξύ

TBARS= (thiobabituric acid reactive substances) δραστικές ουσίες θειοβαρβιτουρικού οξέως

TMP= διαμεμβρανική πίεση

TNFa= (tumor necrosis factor a) παράγοντας νεκρωσης όγκων α

TBW= (total body water) ολικό νερό σώματος

VEGF= (vascular endothelial growth factor) αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου

Vit-D= βιταμίνη D



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη του οξειδωτικού stress (ΟΣ) κατά τη διαδικασία της αιμοκάθαρσης (ΑΜΚ) αποτελεί μια ιδιαίτερη πρόκληση για τους ερευνητές. Τόσο η ίδια η νεφρική νόσος, όσο και οι ραγδαίες μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στην ΑΜΚ, έχουν σαν αποτέλεσμα να επηρεάζονται οι δείκτες του οξειδωτικού stress (ΟΣ) προς διάφορες κατευθύνσεις με ποικίλα και ενδεχομένως αντιφατικά αποτελέσματα. Ο νεφρός, λόγω της μεγάλης αιμάτωσης που δέχεται, αλλά και της ανατομικής του ιδιαιτερότητας, εμπλέκεται στην οξειδωτική καταπόνηση είτε σαν στόχος είτε σαν όργανο διενέργειας οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων. Η χρόνια νεφρική νόσος, που χαρακτηρίζεται από αυξημένο οξειδωτικό stress, συνδυάζεται με μεγάλη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα. Σε αυτή συνεισφέρει η επιτάχυνση της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας σε συνδυασμό με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου των αγγείων. Στις παραπάνω καταστάσεις η οξειδωτική καταπόνηση -καθώς και άλλοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την νεφρική ανεπάρκεια καθαυτή- φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο. Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια παρατηρείται σημαντικό βαθμού επίταση της οξειδωτικής διαδικασίας, η οποία αυξάνει παράλληλα με την εξέλιξη της νεφρικής νόσου, και υπάρχουν αρκετοί λόγοι περαιτέρω επιδείνωσης με την έναρξη εξωνεφρικής κάθαρσης. Σ' αυτήν 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 επιμόλυνση διαλυμάτων και η παραγωγή ενδοτοξινών. Επίσης κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ασθενών, όπως για παράδειγμα η αυξημένη ηλικία, η πρωτοπαθής νόσος, αλλά και η ίδια η ουραιμία. Νεώτεροι τρόποι ΑΜΚ με συμβατότερα υλικά και μεγαλύτερη έμφαση στην αντιοξειδωτική προστασία τείνουν να ανατρέψουν αυτή τη θεώρηση.

Συμπερασματικά, οι νεφροπαθείς τελικού σταδίου σε ΑΜΚ, όπως και οι ασθενείς σε περιτοναϊκή κάθαρση βρίσκονται σε μια κατάσταση αυξημένου οξειδωτικού stress σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Η χρήση αντιοξειδωτικών παραγόντων θα μπορούσε να ασκεί ευεργετική δράση και δοκιμάζεται σε διάφορες ομάδες ασθενών, με σκοπό τον περιορισμό της φλεγμονής και του επιπλέον καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι ασθενείς υπό αιμοκάθαρση χαρακτηρίζονται από ελαττωμένα επίπεδα ασκορβικού οξέος στον ορό του αίματος. Στους ασθενείς αυτούς και σε μια σειρά μελετών έχουν χορηγηθεί αντιοξειδωτικές βιταμίνες, κυρίως βιταμίνη C+E από του στόματος, όσο και σε σύνδεση με την επιφάνεια μεμβράνης

ΑΜΚ (βιταμίνη Ε) με ποικίλα αποτελέσματα. Συζητείται η προσθήκη αντιοξειδωτικών στο διάλυμα ΑΜΚ, καθώς και η ευεργετική επίδραση στο ΟΣ διαλύματος κιτρικών.

Παράλληλα, μελετάται η αντιοξειδωτική προσφορά αντιλιπιδαιμικών (στατινών, ιχθυελαίων) και αντιυπερτασικών φαρμάκων (Α-ΜΕΑ, αναστολείς ΑΤ1, υποδοχέων της αγγεοτενσίνης 2), που οι νεφροπαθείς συχνά λαμβάνουν για υπερλιπιδαιμία και υπέρταση.

Στη μελέτη που ακολουθεί θα δοθεί εικόνα της οξειδωτικής κατάστασης σε διαφορετικές φάσεις της ΑΜΚ (αρχή, μέση και τέλος), όπως αντικατοπτρίζεται σε μια σειρά παραμέτρων που μετρήθηκαν στο πλάσμα, στα ερυθροκύτταρα, στα ούρα (για όσους έχουν υπολειπόμενη διούρηση) και στο έκπλυμα φίλτρου ΑΜΚ. Διερευνάται η συσχέτιση παραμέτρων της ανάλυσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης, και ιδιαίτερα η γωνία φάσης (που είναι συνυφασμένη με τη λειτουργικότητα των κυτταρικών μεμβρανών) με τις μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικής καταπόνησης των νεφροπαθών στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της ΑΜΚ.

Θα ήθελα ολόψυχα να δώσω τις ευχαριστίες μου:

Στον καθηγητή Φυσιολογίας κ. Άγγελο Ευαγγέλου, που συνέλαβε το θέμα και έκανε το σχεδιασμό της μελέτης. Ως επιβλέπων καθηγητής με καθοδήγησε με την επιστημονική του δεινότητα, τη διορατικότητά του και τον ανθρωπισμό του σε όλα τα στάδια της ερευνητικής διαδικασίας, ώστε να ολοκληρωθεί η εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Στους κ. Κώστα Χαραλαμπόπουλο, καθηγητή Φυσιολογίας και κ. Σπύρο Καρκαμπούνα, επίκουρο καθηγητή Φυσιολογίας για τη συνδρομή τους, ως μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, καθώς και για την υλικοτεχνική υποδομή που μου παρείχαν.

Στους διδάκτορες της Ιατρικής Σχολής κ. Ιωάννη Βεργινάδη και κ. Ιωάννη Σίμο, καθώς και τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Αντώνη Αυδίκο για την ουσιαστική συνδρομή τους με την εμπειρία τους, και την τεχνική υποστήριξη που παρείχαν στην εκπόνηση αυτής της μελέτης.

Στους ιατρούς και τους νοσηλευτές της Μονάδας Τεχνητού Νεφρού του Γ.Ν. Φιλιατών για τη βοήθεια τους και την υπομονή τους, και ιδιαίτερα στον Κυριάκο Κούφαλη, τ. υπεύθυνο της Μ.Τ.Ν. Φιλιατών, που δυστυχώς μας άφησε πρόωρα.

Στον διατροφολόγο κ. Ιωάννη Σουπιό και στη σύζυγο του διαιτολόγο του Γ.Ν. Φιλιατών κα Σπυριδούλα Νταφλάκη για την πολύτιμη συμβολή τους, ιδιαίτερα στο θέμα

της ανάλυσης βιοηλεκτρικής (BIA), καθώς και στην υλικοτεχνική υποδομή που μου παρείχαν.

Στον συνάδελφο κ. Γιώργο Μπουντούρη διδάκτορα της Ιατρικής Σχολής για τη συνεργασία μας και την πολύτιμη βοήθεια του.

Στον Ηπειρώτη πρωτοπόρο Δάσκαλο της νεφρολογίας κ. Αντώνη Μπίλλη, τ.Δ/ντή Νεφρολογίας του Ευαγγελισμού, γιατί πίστεψε στις δυνατότητες μου να βοηθήσω τον τόπο του, ο οποίος δυστυχώς μάς έφυγε πρόσφατα.

Στους εκπαιδευτές μου στην Παθ/κή κλινική του ΓΝ Ρεθύμνου και κυρίως στον Δ/ντή της κ. Κων/νο Μαλλά, καθώς και στους εκπαιδευτές μου στη Νεφρολογική κλινική του ΓΝ Αθηνών ΚΡΑΤΙΚΟ-Γ.ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ και ιδίως στον Δ/ντή της τον κ. Νίκο Αφεντάκη, που με έφερε σε επαφή με το Εργαστήριο Φυσιολογίας του Παν/μίου Ιωαννίνων.

Και ιδιαίτερα στον Δάσκαλο μου και φίλο, τον κ. Χρήστο Ιατρού, Δ/ντή Νεφρολογικού Κέντρου του Γ.Ν. Νικαίας, που μου στάθηκε σε κάθε βήμα της επιστημονικής μου πορείας.

Τέλος στη σύζυγο μου Λένα Πάντου, δικηγόρο, για την επεξεργασία του κειμένου από γραμματικής και συντακτικής άποψης.



## Περιεχόμενα

Εισαγωγή.....	25
1. Βιβλιογραφική επισκόπηση .....	25
1.1 Αιμοκάθαρση.....	25
1.1.1 Αρχή της μεθόδου.....	27
1.1.2 Επιπλοκές κατά την αιμοκάθαρση.....	30
1.1.3 Προσπέλαση.....	30
1.2 Τύποι αιμοκάθαρσης .....	33
1.2.1 Συμβατική .....	33
1.2.3 Νυχτερινή.....	33
1.2.2 Καθημερινή.....	34
1.2.4 Αιμοδιήθηση-Αιμοδιαδιήθηση .....	34
1.2.5 Άλλες μέθοδοι.....	36
1.3 Περιτοναϊκή κάθαρση.....	36
1.4 Επάρκεια κάθαρσης kt/v σε AMK και CAPD.....	37
1.5 Οξειδωτικό stress, οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, οξειδωτικές διαδικασίες και αντιοξειδωτικά συστήματα .....	38
1.6 Ο ρόλος των ΔΜΟ στη νόσο .....	46
1.7 Χρόνια νεφρική νόσος και οξειδωτική καταπόνηση.....	47
1.8 Αιμοκάθαρση και οξειδωτικό stress.....	50
1.9 Μεταβολική οξέωση και αιμοκάθαρση .....	51
1.10 Το σύνδρομο δυσθρεψίας, φλεγμονής και αθηρωμάτωσης [malnutrition, inflammation, atherosclerosis (MIA)].....	53
1.10.1 Δυσθρεψία.....	53
1.10.2 Φλεγμονή .....	55
1.10.3 Αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσος.....	56
1.10.4 Ερυθροκυτταρικά αντιοξειδωτικά .....	58
1.11 Η κλινική σημασία της ανάλυσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης.....	58
2. Σκοπός.....	63
3. Μεθοδολογία.....	65
3.1 Επιλογή ασθενών.....	65

3.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού στο δείγμα της έρευνας (inclusion-exclusion criteria).....	66
3.2.1 Κριτήρια ένταξης (inclusion criteria) στις ομάδες.....	66
3.2.2 Κριτήρια αποκλεισμού (exclusion criteria) από τις ομάδες.....	67
3.3 Λήψη δειγμάτων αίματος και διαλύματος.....	67
3.4 Εργαστηριακές αναλύσεις.....	68
3.4.1 Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD).....	69
3.4.2 Γλουταθειόνη (GSH).....	69
3.4.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC).....	70
3.4.4 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονικής διαλδεϋδης (MDA).....	71
3.4.5 Προσδιορισμός των επιπέδων H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> με τη μέθοδο FOX-2.....	72
3.4.6 Επίπεδα χαλκού και ψευδαργύρου στο πλάσμα.....	72
3.5 Βιοχημικές αναλύσεις.....	73
3.6 Ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA).....	73
3.7 Στατιστική ανάλυση.....	76
4. Αποτελέσματα.....	77
4.1 Εργαστηριακές αναλύσεις.....	77
4.1.1 Μεταβολή των επιπέδων ψευδαργύρου και χαλκού κατά τη διάρκεια της AMK.....	77
4.1.2 Μεταβολή των επιπέδων TAC στο πλάσμα του αίματος και τα ερυθρά αιμοσφαίρια κατά τη διάρκεια της AMK.....	78
4.1.3 Μεταβολή των επιπέδων TAC στα ούρα στην αρχή και το τέλος της AMK.....	80
4.1.4 Μεταβολή της δραστηριότητας της SOD κατά τη διάρκεια της AMK.....	80
4.1.5 Μεταβολή των επιπέδων της GSH κατά τη διάρκεια της AMK.....	81
4.1.6 Μεταβολή των επιπέδων MDA στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK.....	82
4.1.7 Μεταβολή των επιπέδων H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK.....	82
4.1.8 Μέτρηση της TAC και των επιπέδων MDA στο έκπλυμα του φίλτρου κατά τη διάρκεια της AMK.....	83
4.2 Αποτελέσματα μετρήσεων βιοηλεκτρική εμπέδησης.....	84
4.2.1 Χαρακτηριστικά υγιών εθελοντών-μαρτύρων.....	84

4.2.2 Μεταβολή του σωματικού βάρους και της γωνίας φάσης κατά τη διάρκεια της AMK .....	85
4.2.3 Μεταβολή του pH και των αερίων του αίματος κατά τη διάρκεια AMK.....	87
4.2.4 Μεταβολή της αιμοσφαιρίνης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης κατά τη διάρκεια AMK .....	87
4.3 Βιοχημικές εξετάσεις.....	87
4.4 Συσχέτιση γωνίας φάσης με TAC πλάσματος.....	88
4.5 Σύγκριση TAC ασθενών σε AMK με ασθενείς σε CAPD .....	89
5. Συζήτηση.....	91
6. Συμπεράσματα.....	103
7. Περίληψεις .....	105
Περίληψη στην Ελληνική.....	105
Περίληψη στην Αγγλική.....	109
8. Βιβλιογραφία.....	111





## Εισαγωγή

### 1. Βιβλιογραφική επισκόπηση

#### 1.1 Αιμοκάθαρση

Η Χρόνια Νεφρική Νόσος (XNN) είναι η νεφρική βλάβη για περισσότερους από 3 μήνες, όπως ορίζεται από τις λειτουργικές ή δομικές ανωμαλίες του νεφρού με ή χωρίς έκπτωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR), πιστοποιημένη με:

1. ιστοπαθολογικές ανωμαλίες (παθολογικά ευρήματα στη βιοψία νεφρού)
2. δείκτες νεφρικής βλάβης, συμπεριλαμβανομένων ανωμαλιών στην σύσταση του αίματος ή των ούρων (όπως λευκωματουρία ή μεταβολές στο ίζημα των ούρων) ή ανωμαλιών στις απεικονιστικές μεθόδους

Οι ασθενείς με XNN πρέπει να αναγνωρίζονται και να αντιμετωπίζονται, όσο το δυνατόν πιο έγκαιρα, καθώς η βελτίωση ενός ή περισσότερων παραγόντων κινδύνου, μπορεί να επιβραδύνει την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης, ή να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου.

Σύμφωνα με το National Kidney Foundation (NKF) Kidney Disease Outcome Quality Initiative (KDOQI) υπάρχουν τα εξής στάδια XNN (**Πίνακας 1**):

**Πίνακας 1.** Τα στάδια της XNN σύμφωνα με τις συστάσεις των KDOQI (Πηγή: Daugirdas JT et al 2007).

Στάδιο	Περιγραφή	GFR <sup>a</sup>
1	Νεφρική βλάβη με φυσιολογικό ή αυξημένο GFR	≥ 90
2	Νεφρική βλάβη με ήπια μείωση του GFR	60-89
3	Μέτρια μείωση του GFR	30-59
4	Μεγάλη μείωση του GFR	15-29
5	Νεφρική ανεπάρκεια	< 15

GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης

<sup>a</sup>GFR: εκφραζόμενος σε ml/min/1.73m<sup>2</sup>

Το στάδιο 3 υποδιαιρείται σε 3α(GFR=59-45) και 3β(GFR=44-30). Τα πιο βαριά στάδια ΧΝΝ (τα στάδια 3,4,5) είναι παρόντα εξ'ορισμού, όταν ο eGFR είναι κάτω από 60, 30 και 15 ml/min/1.73m<sup>2</sup> αντίστοιχα.

### **Μέθοδοι ανίχνευσης της ΧΝΝ**

Στις μεθόδους ανίχνευσης περιλαμβάνεται ο έλεγχος της παρουσίας λευκωματουρίας και ο υπολογισμός της νεφρικής λειτουργίας:

1. Μέτρηση πρωτεϊνών ούρων
2. Υπολογισμός GFR
  - a. Εξίσωση τροποποιημένης δίαιτας της νεφρικής νόσου
  - b. Μέτρηση της κάθαρσης στα ούρα
3. Υπερηχογράφημα και ηλεκτρολύτες ορού

Όταν το GFR πέφτει κάτω από 15 ml/min σε διαβητικούς ή 10 ml/min σε μη διαβητικούς, τότε κρίνεται σκόπιμη η υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας με:

1. Αιμοκάθαρση και τις παραλλαγές της
2. Κάποια μορφή περιτοναϊκής κάθαρσης (CAPD,APD)
3. Μεταμόσχευση νεφρού από ζώντα ή πτωματικό δότη

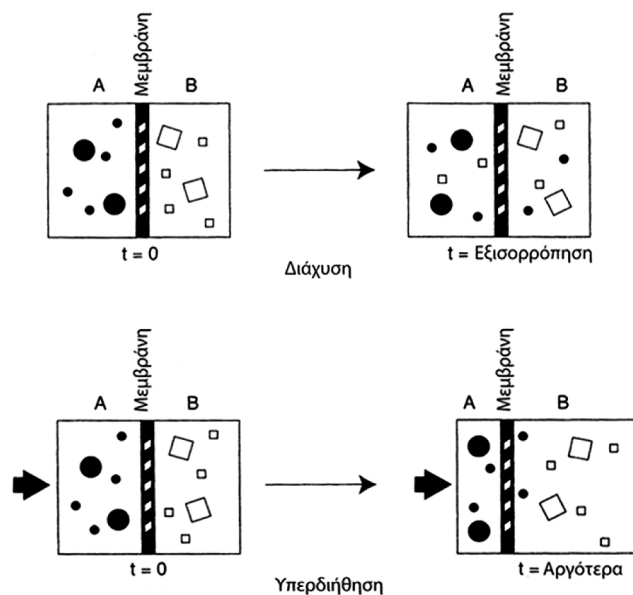
Στην Ελλάδα, λόγω των χαμηλών ποσοστών μεταμοσχεύσεων και των περιορισμών για διάφορους λόγους της ένταξης σε περιτοναϊκή κάθαρση, η επικρατούσα μέθοδος για υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας σε νεφροπαθείς τελικού σταδίου είναι η αιμοκάθαρση (ΑΜΚ), την οποία και αναλύουμε παρακάτω.

Τα μέτρα που λαμβάνονται για αναστολή εξέλιξης ΧΝΝ και καρδιαγγειακού κινδύνου είναι:

1. Υγιεινοδιαιτητικά (διακοπή καπνίσματος,περιορισμός λευκωμάτων και αλατιού κ.λ.π.)
2. Αντιυπερτασική αγωγή, έλεγχος πρωτεϊνουρίας (α-MEA,ARB κ.λ.π.)
3. Αντιλιπιδαιμική αγωγή
4. Ρύθμιση σακχάρου σε διαβητικούς
5. Καρδιοπροστατευτική αγωγή (β-αναστολείς,αντιαιμοπεταλιακά κ.λ.π.)
6. Διόρθωση αναιμίας (Fe,ερυθροποιητίνη κ.λ.π.)
7. Έλεγχος παραθορμόνης (PTH) ,Ca, P και βιτ D
8. Αντιμετώπιση μεταβολικής οξέωσης

### 1.1.1 Αρχή της μεθόδου

Η αιμοκάθαρση (ΑΜΚ) είναι η διαδικασία ανταλλαγής ουσιών, κατά την οποία η περιεκτικότητα σε διαλυμένες ουσίες ενός διαλύματος Α (αιματικός χώρος) μεταβάλλεται, όταν αυτό εκτίθεται σε δεύτερο διάλυμα Β (διάλυμα ΑΜΚ) μέσω ημιδιαπερατής μεμβράνης. Υποθετικά, η ημιδιαπερατή μεμβράνη μπορεί να θεωρηθεί σαν φύλλο χαρτιού με τρύπες ή πόρους. Τα μόρια νερού και οι διαλυμένες ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους, που περιέχονται στα δύο διαλύματα, μπορούν να διέλθουν από τους πόρους της μεμβράνης και να αναμιχθούν, αλλά μεγαλύτερα μόρια (όπως οι πρωτεΐνες) δεν μπορούν να περάσουν από το ημιδιαπερατό φράγμα και οι ποσότητες τους θα παραμείνουν αμετάβλητες και στις δύο πλευρές της μεμβράνης (Daugirdas JT et al 2007).



**Σχήμα 1.** Οι μηχανισμοί της διάχυσης (στο επάνω μέρος) και της υπερδιήθησης (στο κάτω μέρος). Όπως φαίνεται και στις δύο διαδικασίες, οι διαλυμένες ουσίες χαμηλού ΜΒ μπορούν να περάσουν την ημιδιαπερατή μεμβράνη, ενώ οι μεγαλύτερες διαλυμένες ουσίες κατακρατούνται (Daugirdas JT et al 2007).

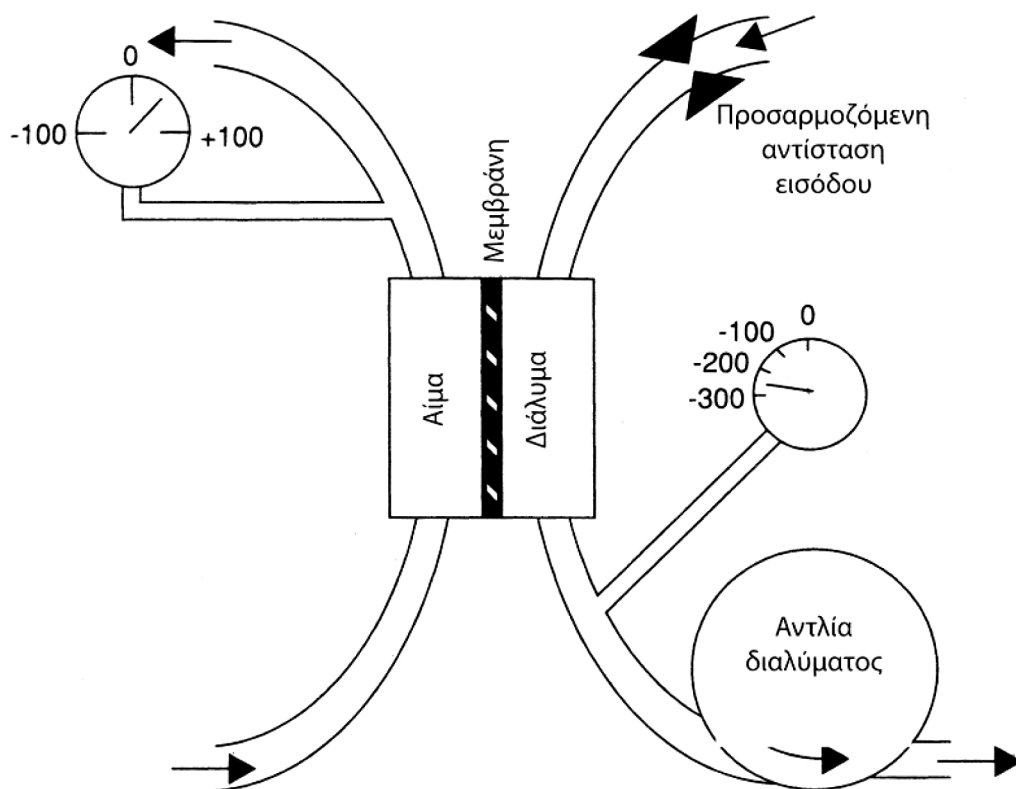
Η σύσταση του διαλύματος διαττανθρακικών που συνήθως χρησιμοποιείται σήμερα στην ΑΜΚ με τις διάφορες μεταβλητές του, όπως διέρχεται από το φίλτρο απεικονίζεται στο **Πίνακα 2**. Παλαιότερα γινόταν χρήση διαλύματος μόνο οξεικών, ενώ τώρα βρίσκονται σε χρήση και διαλύματα κιτρικών με ή χωρίς οξεικά.

Οι διαλυμένες ουσίες που διέρχονται από τους πόρους της μεμβράνης μεταφέρονται με δύο μηχανισμούς: τη διάχυση και την υπερδιήθηση ή συνεπαγωγή (Σχήμα 1).

1. Διάχυση
2. Υπερδιήθηση (Υδροστατική, Ωσμωτική)

Απομάκρυνση των διαλυμένων ουσιών από τη σκοπιά του φίλτρου (Σχήμα 2):

1. Κύκλωμα ΑΜΚ
2. Η κάθαρση του ολικού αίματος μέσω του φίλτρου
3. Παράγοντες που επηρεάζουν την κάθαρση ουρίας του νερού του αίματος:
  - a. Η ροή διαλύματος (Qd).
  - b. Η ροή αίματος(Qb).
  - c. Ο συντελεστής υπερδιήθησης (Kuf) εκφράζει τη διαπερατότητα μιας μεμβράνης στο νερό και ορίζεται ως ο όγκος του ύδατος (σε ml) που διηθείται ανά ώρα (h) για κάθε mmHg διαφοράς διαμεμβρανικής πίεσης (TMP: διαφορά υδροστατικής πίεσης εκατέρωθεν της μεμβράνης). Η ικανότητα ενός φίλτρου να απομακρύνει μικρού ΜΒ διαλυμένες ουσίες, όπως είναι η ουρία, είναι κυρίως συνάρτηση του εμβαδού επιφανείας της μεμβράνης. Τα φίλτρα υψηλής αποτελεσματικότητας είναι δυνατόν να έχουν μικρούς ή μεγάλους πόρους και υψηλή ή μικρή κάθαρση αντίστοιχα για τις μεγάλου ΜΒ διαλυμένες ουσίες, όπως η  $\beta_2$ -μικροσφαιρίνη. Οι μεμβράνες διακρίνονται σε High flux (υψηλής διαπερατότητας), όταν ο  $Kuf > 20$  ml/h/mmHg και σε Low flux (χαμηλής διαπερατότητας), όταν ο  $Kuf < 10$  ml/h/mmHg. Οι πρώτες διαθέτουν μεγάλους πόρους και είναι διαπερατές σε μικρού και μέσου μοριακού βάρους ουσίες, ενώ οι δεύτερες έχουν μικρούς πόρους και είναι διαπερατές σε ουσίες μικρού μοριακού βάρους.
  - d. KoA είναι ο συντελεστής επιφανείας μεταφοράς μάζας του φίλτρου.
  - e. Το μοριακό βάρος των ουσιών που καθαίρονται.



**Σχήμα 2.** Φίλτρο AMK με ροή αίματος προς μια κατεύθυνση και ροή διαλύματος προς την αντίθετη. Η υδροστατική διαμεμβρανική πίεση (και η υπερδιήθηση) προσαρμόζεται με διακύμανση της αντίστασης στην είσοδο του διαλύματος AMK. Επίσης, παρουσιάζεται η θέση των μετρητών που ελέγχουν την πίεση στα σημεία εξόδου του αίματος και του διαλύματος, καθώς και οι τυπικές πιέσεις λειτουργίας μιας μεμβράνης χαμηλής διαπερότητας. Στην περίπτωση του σχήματος, η διαμεμβρανική πίεση είναι περίπου 300mmHg (+50mm Hg στην έξοδο του αίματος, [- 250mmHg) στην έξοδο του διαλύματος (Daugirdas JT et al 2007).

**Πίνακας 2.** Συστατικά του διαλύματος της αιμοκάθαρσης

Ουσία	Διάλυμα HD (mEq/l)
Νάτριο	135-145
Κάλιο	0-4.0
Ασβέστιο	2.5-3.5
Μαγνήσιο	0.5-0.75
Χλώριο	98-124
Οξεϊκό οξύ	2-4
Διττανθρακικά	30-40
Γλυκόζη	0-10*
pH	7.1-.73

\* Σε διαβητικούς και σε υπογλυκαιμικά επεισόδια

### 1.1.2 Επιπλοκές κατά την αιμοκάθαρση

Οι συχνότερες επιπλοκές κατά τη διάρκεια της ΑΜΚ με φθίνουσα σειρά συχνότητας είναι η υπόταση (σε ποσοστό 20-30% των συνεδριών ΑΜΚ), οι κράμπες (5-20%), η ναυτία και ο έμετος (5-15%), η κεφαλαλγία (5%), το θωρακικό άλγος (2-5%), το οσφυϊκό άλγος (2-5%), ο κνησμός (5%), ο πυρετός και το ρίγος (<1%). Στον **Πίνακα 3** παρουσιάζονται οι επιπλοκές κατά την αιμοκάθαρση και τα κυριότερα αίτια που τις προκαλούν.

**Πίνακας 3.** Επιπλοκές κατά την αιμοκάθαρση και τα αίτια τους

Επιπλοκή ΑΜΚ	Αίτιο
Υπόταση	Μείωση του όγκου του αίματος, λόγω της απομάκρυνσης υγρών (υπερδιήθησης) συνοδευόμενης από αιμοδυναμικά ανεπαρκή αναπλήρωσή τους.
Κράμπες	Παραμένει άγνωστη
Ναυτία και ο έμετος	Πολυπαραγοντικά. Υπόταση, πρώιμες εκδηλώσεις συνδρόμου ρήξης της ωσμωτικής ισορροπίας
Κεφαλαλγία	Άγνωστη σε μεγάλο βαθμό.
Θωρακικό και οσφυϊκό άλγος	Άγνωστο.
Κνησμός	Ενδέχεται να αποτελεί εκδήλωση ήπιας υπερευαισθησίας στο φίλτρο ΑΜΚ ή στα τμήματα του εξωσωματικού κυκλώματος αίματος.
Πυρετός και το ρίγος	Ύπαρξη πυρετογόνων στο διάλυμα ΑΜΚ

Στις λιγότερο συχνές αλλά σοβαρές επιπλοκές περιλαμβάνονται το σύνδρομο ρήξης της ωσμωτικής ισορροπίας (DS), οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας, οι αρρυθμίες, ο καρδιακός επιπωματισμός, η ενδοκρανιακή αιμορραγία, οι σπασμοί, η αιμόλυση και η εμβολή αέρα.

### 1.1.3 Προσπέλαση

#### Φλεβική

Η ανάγκη αγγειακής προσπέλασης σε ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου (ΤΣ) μπορεί να είναι προσωρινή ή μόνιμη. Η προσωρινή προσπέλαση δημιουργείται με διαδερμική

εισαγωγή ενός καθετήρα σε μια μεγάλη φλέβα (έσω σφαγίτιδα, μηριαία ή υποκλείδια). Η κατασκευή μόνιμης αγγειακής προσπέλασης επιτρέπει την επανειλημμένη χρήση της για μήνες έως χρόνια.

Μια ιδανική μόνιμη προσπέλαση εξασφαλίζει επαρκή ροή αίματος για τις συγκεκριμένες παραμέτρους της ΑΜΚ, διατηρείται βατή για μεγάλο χρονικό διάστημα και εμφανίζει χαμηλή συχνότητα επιπλοκών. Η αυτόλογη αρτηριοφλεβική (ΑΦ) αναστόμωση ικανοποιεί σε μεγάλο βαθμό αυτά τα κριτήρια, καθώς κατά την περίοδο λειτουργίας της χρειάζεται πολύ λιγότερες παρεμβάσεις, σε σχέση με άλλες μεθόδους προσπέλασης.

Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε ΑΜΚ μέσω φλεβικών καθετήρων έχουν χειρότερη έκβαση από αυτούς που διαθέτουν ΑΦ προσπέλαση. Αναπτύσσουν συχνότερα λοιμώξεις, εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα δεικτών φλεγμονής, όπως της CRP, και έχουν μεγαλύτερη θνητότητα. Οι συχνότερες επιπλοκές καθετηριασμού κεντρικών φλεβών φαίνονται στο **Πίνακα 4**.

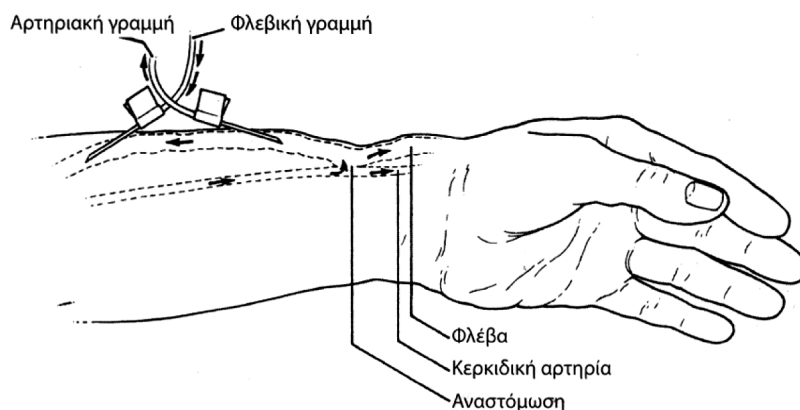
**Πίνακας 4.** Επιπλοκές καθετηριασμού κεντρικών φλεβών

<b>Άμεσες επιπλοκές</b>	<b>Ώσμιες επιπλοκές</b>
Παρακέντηση αρτηρίας	Θρόμβωση
Πνευμοθώρακας	Λοίμωξη
Αιμοθώρακας	Αγγειακή στένωση
Αρρυθμίες	Αρτηριοφλεβική επικοινωνία
Εμβολή αέρα	
Τρώση φλέβας ή καρδιακής κοιλότητας	<b>Βλάβη σε γειτονικά μέρη</b>
Περικαρδιακός επιπωματισμός	Βραχιόνιο πλέγμα
	Τραχεία
	Παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο

#### Αρτηριοφλεβική (ΑΦ)

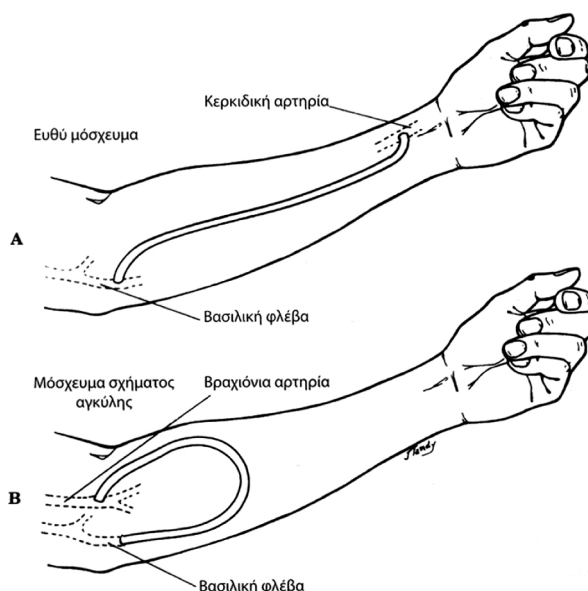
Υπάρχουν δύο τύποι ΑΦ προσπέλασης: η αυτόλογη αναστόμωση και τα μοσχεύματα. Η αυτόλογη ΑΦ επικοινωνία (fistula) κατασκευάζεται με υποδόρια αναστόμωση μιας αρτηρίας με μια παρακείμενη φλέβα επιτρέποντας τη ροή του αίματος απευθείας από την αρτηρία στη φλέβα, με επακόλουθο την προοδευτική διάταση της φλέβας. Παραδοσιακά, η αναστόμωση δημιουργείται στον καρπό, ανάμεσα στην κερκιδική αρτηρία και στην

κεφαλική φλέβα, αν και υπάρχουν πολλές πιθανές παραλλαγές με αναστομώσεις στον αγκώνα ή στο βραχίονα (**Σχήμα 3**).



**Σχήμα 3.** Αρτηριοφλεβική αναστόμωση κερκιδικής αρτηρίας-κεφαλικής φλέβας, όπου απεικονίζεται η ροή του αίματος και η συνήθης θέση τοποθέτησης των βελονών της αγγειακής προσπέλασης (Daugirdas JT et al 2007)

Το ΑΦ μόσχευμα (graft) είναι παρόμοιο, με τη διαφορά ότι η απόσταση ανάμεσα στην αρτηρία και στη φλέβα καλύπτεται από ένα σωλήνα από προσθετικό υλικό (**Σχήμα 4**).



**Σχήμα 4.** Οι δύο συνηθέστεροι τύποι ΑΦ μοσχευμάτων. Α: ευθύ μόσχευμα μεταξύ κερκιδικής αρτηρίας και βασιλικής φλέβας. Β. Μόσχευμα σχήματος αγκύλης μεταξύ βραχιόνιας αρτηρίας και βασιλικής (Daugirdas JT et al 2007)



Η ΑΦ αναστόμωση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αμέσως, ενώ συνήθως απαιτείται χρόνος 6 εβδομάδων περίπου, ώστε να διαταθούν τα αγγεία και με την προϋπόθεση ότι το αγγειακό δίκτυο της περιοχής είναι επαρκώς ανεπτυγμένο. Σε αυτό το χρονικό διάστημα η ροή στην αναστόμωση αυξάνεται και το τοίχωμα της φλέβας παχύνεται. Γενικότερα όμως οι ΑΦ αναστομώσεις θεωρούνται καλύτερες σε σχέση με τα μοσχεύματα, λόγω του ότι τα τελευταία προκαλούν σχεδόν πάντα υπερπλασία του έσω χιτώνα της φλέβας, η οποία οδηγεί σε στένωση και τελικά απόφραξη.

Αν και το ΑΦ μόσχευμα αποτελεί την δεύτερη επιλογή μετά την αναστόμωση, παραμένει πολύ καλύτερο από τον κεντρικό φλεβικό καθετήρα (ΚΦΚ). Γενικότερα, οι ασθενείς με ΑΦ μοσχεύματα παρουσιάζουν λιγότερες επιπλοκές (σοβαρές φλεγμονές, χαμηλότερη νοσηρότητα κ.ά.), σε σχέση με ασθενείς που υποβάλλονται σε ΑΜΚ με ΚΦΚ.

## ***1.2 Τύποι αιμοκάθαρσης***

### *1.2.1 Συμβατική*

Η χρόνια αιμοκάθαρση γίνεται τρεις φορές την εβδομάδα για περίπου 3-4 ώρες κάθε φορά. Η αιματική ροή ρυθμίζεται σε μια συχνότητα 200-400 ml/λεπτό, ενώ η ροή διαλύματος ορίζεται στα 500 ml/λεπτό. Η μεμβράνη της αιμοκάθαρσης αποτελείται συνήθως από κυτταρίνη (κουπροφάνη), τροποποιημένη κυτταρίνη (διοξεική, τριοξεική κ.λ.π), ημισυνθετική (αιμοφάνη), συνθετική (πολυσουλφόνη, EVAL, PAN, PMMA κ.λ.π.). Σε αυτόν τον τύπο της, το διάλυμα αποτελείται από διττανθρακικά, οξεικά ή κιτρικά και η απομάκρυνση των ουσιών πραγματοποιείται με διάχυση και διήθηση (υδροστατική, ωσμωτική).

### *1.2.3 Νυχτερινή*

Η βραχεία νυχτερινή ΑΜΚ (nocturnal hemodialysis, NHD) πραγματοποιείται 5-7 φορές την εβδομάδα, όπως και η SDHD, αλλά με τη διαφορά ότι κάθε συνεδρία διαρκεί 6-10 ώρες. Η σύνθεση του διαλύματος που χρησιμοποιείται για τη νυχτερινή αιμοκάθαρση, διαφέρει με αυτό της συμβατικής ΑΜΚ (**Πίνακας 5**).

Οι δύο τελευταίες μέθοδοι εφαρμόζονται αποτελεσματικά κατ' οίκον, αν και μπορούν να πραγματοποιηθούν και στην μονάδα τεχνητού νεφρού (MTN) του νοσοκομείου. Ορισμένα από τα πιθανά οφέλη που προκύπτουν από τις δύο τελευταίες μεθόδους σε σχέση με την συμβατική είναι: α) ο καλύτερος έλεγχος του εξωκυττάριου όγκου, β) βελτίωση της καρδιακής δομής και λειτουργίας, γ) βελτίωση της όρεξης και αύξηση της τιμής της λευκωματίνης, δ) μειωμένες απαιτήσεις σε ερυθροποιητίνη (EPO), ε) βελτίωση της ποιότητας ζωής και στ) μείωση του χρόνου νοσηλείας.

### *1.2.2 Καθημερινή*

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ενδιαφέρον για άλλα δύο σχήματα αιμοκάθαρσης, διαφορετικά από το συμβατικό τρισεβδομαδιαίο πρόγραμμα: η βραχεία καθημερινή AMK και η βραχεία νυχτερινή AMK. Η βραχεία καθημερινή AMK (short daily hemodialysis, SDHD) ποικίλει μεταξύ 5-7 συνεδριών ανά εβδομάδα και συνήθως διαρκεί 1.5-3 ώρες ανά συνεδρία. Το διάλυμα της αιμοκάθαρσης είναι ίδιο με αυτό της συμβατικής AMK.

### *1.2.4 . Αιμοδιήθηση-Αιμοδιαδιήθηση*

Η αιμοδιήθηση γίνεται με φίλτρα High Flux με  $k_{uf} > 50$  ml/h/mm Hg και High efficiency με  $ko_a > 600$  ml/min χωρίς την παρουσία διαλύματος AMK χρησιμοποιώντας την υπερδιήθηση και αναπληρώνοντας με ενδοφλέβια έγχυση ειδικών διαλυμάτων τον μεγάλο όγκο υγρών που χάνονται. Έχει πολύ καλά αποτελέσματα στην κάθαρση μέσου και μεγάλου μοριακού βάρους ουραιμικών τοξινών.

Η αιμοδιαδιήθηση χρησιμοποιεί ίδια φίλτρα με την αιμοδιήθηση, αλλά παράλληλα διέρχεται και διάλυμα συνδυάζοντας ουσιαστικά AMK με αιμοδιήθηση με καλύτερα αποτελέσματα στην κάθαρση ουραιμικών τοξινών. Η αναπλήρωση των υγρών που χάνονται γίνεται είτε με ειδικά διαλύματα σε σάκκους, όπως και στην αιμοδιήθηση ή με online σύστημα από το διάλυμα AMK και σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες.

**Πίνακας 5.** Συνταγή αιμοκάθαρσης

<b>Μεταβλητές</b>	<b>SDHD</b>	<b>NHD</b>
Χρόνος (ώρες)	1,5 έως>3	6-10
Συχνότητα (ημέρες/εβδομάδα)	5-7	3-7
Ροές αίματος (ml/min)	>350	200-300 (100 σε παιδιά)
Ροές διαλύματος (ml/min) (εξαίρεση συστήματος NxStage)	500-800	100-500 (τυπικά 300)
Σύνθεση διαλύματος σε σύγκριση με τη μη συμβατική HD	Ίδιο	<p>α. Χαμηλότερο διττανθρακικό 30 mEq/L ή mmol/L για 5-7 βράδια με τη συμβατική HD την εβδομάδα 35 mEq/L ή mmol/L για 3-4 βράδια την εβδομάδα</p> <p>β. Υψηλότερη συγκέντρωση ασβεστίου στο 3,0-3,5mEq/L ή 1,5 ή 1,75 mmol/L.</p> <p>–Χαμηλότερο ασβέστιο διαλύματος, αν παίρνει δεσμευτικά φωσφόρου με βάση το ασβέστιο.</p> <p>–Υψηλότερο ασβέστιο διαλύματος (4,5 mEq/L ή 2,25 mmol/L) έχει χρησιμοποιηθεί μετά από παραθυρεοειδεκτομή ή κατά τη διάρκεια εγκυμοσύνης</p> <p>γ. Μπορεί να απαιτηθεί πρόσθετο φωσφορικό νάτριο, π.χ. 30-120 ml φωσφορούχου ενέματος (fleet) ανά 4,5 L οξέος ή διττανθρακικού διαλύματος δίνει μια τελική συγκέντρωση φωσφορικών 1-3 mg/dl ή 0,3-0,9 mmol/L. Έως 200 ml ενέματος έχουν χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις συνδρόμου πεινασμένων οστών ή κατά τη διάρκεια εγκυμοσύνης.</p>

SDHD: Short daily Haemodialysis, σύντομη καθημερινή αιμοκάθαρση.

NHD: Nocturnal Haemodialysis, νυχτερινή αιμοκάθαρση

### *1.2.5 Άλλες μέθοδοι*

1. Μέθοδοι που εφαρμόζονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας: C-HD (συνεχής αιμοκάθαρση), C-HF (συνεχής αιμοδιήθηση), C-HDF (συνεχής αιμοδιαδιήθηση), SCUF (βραδεία συνεχής φλεβο-φλεβική υπερδιήθηση).
2. Μέθοδοι που εφαρμόζονται σε δηλητηριάσεις: Αιμοπροσρόφηση, ΑΜΚ, Πλασμαφαίρεση.
3. Μέθοδοι αφαίρεσης αυτοαντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων: Πλασμαφαίρεση

### **1.3 Περιτοναϊκή κάθαρση**

Η περιτοναϊκή κάθαρση είναι μια εναλλακτική της ΑΜΚ, ισοδύναμη μέθοδος υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας και στις αναπτυγμένες χώρες εφαρμόζεται στο 15% των καθαιρόμενων χρόνιων νεφροπαθών (Gokal et al., 1999). Σε άλλες περιπτώσεις πλεονεκτεί η ΑΜΚ, σε άλλες η περιτοναϊκή κάθαρση.

Η μέθοδος αυτή έχει δύο παραλλαγές:

1. την αυτοματοποιημένη (APD), όπου ένα μηχάνημα (cycler) κατά τη διάρκεια της νύκτας κάνει πολλαπλές αλλαγές σάκων διαλύματος για περιτοναϊκές πλύσεις, ενώ την ημέρα η κοιλιά παραμένει αναλόγως είτε με διάλυμα είτε στεγνή περιορίζοντας έτσι τις συνδέσεις και αποσυνδέσεις σε δύο.
2. την συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (CAPD), όπου χειροκίνητα γίνονται κάθε έξι ώρες συνδέσεις και αποσυνδέσεις των σάκων περιτοναϊκού διαλύματος, όσο πιο αποστειρωμένα γίνεται.

Αποτελεί την θεραπεία εκλογής για άτομα που στερούνται αγγειακής προσπέλασης, που δεν έχουν πρόσβαση σε μονάδα ΑΜΚ, ή που θέλουν να έχουν σχετική ανεξαρτησία. Επίσης, για παιδιά και νεαρούς ενήλικες πριν από μεταμόσχευση και για πάσχοντες από καρδιακή ανεπάρκεια ή ασταθή στηθάγχη. Οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι ασθενείς υπόκεινται σε αυξημένο οξειδωτικό κίνδυνο, που προκύπτει ως συνέπεια: α) της συνεχούς έκθεσης της περιτοναϊκής κοιλότητας σε διαλύματα με μεγάλη συγκέντρωση γλυκόζης, β) της χρόνιας φλεγμονώδους κατάστασης που συνυπάρχει και επιτείνεται από περιτονίτιδες, γ) της αυξημένης συχνότητας συνύπαρξης σακχαρώδους διαβήτη, δ) της μεγάλης ηλικίας και ε) της απώλειας διαφόρων αντιοξειδωτικών 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; Tarnag et al., 2002; Bonnefont-Rousselot et al., 1997).

Η θεραπεία με περιτοναϊκή κάθαρση είναι χρονικά σχετικά περιορισμένη, εξαιτίας προϋούσης βλάβης της μεμβράνης του περιτοναίου, 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).

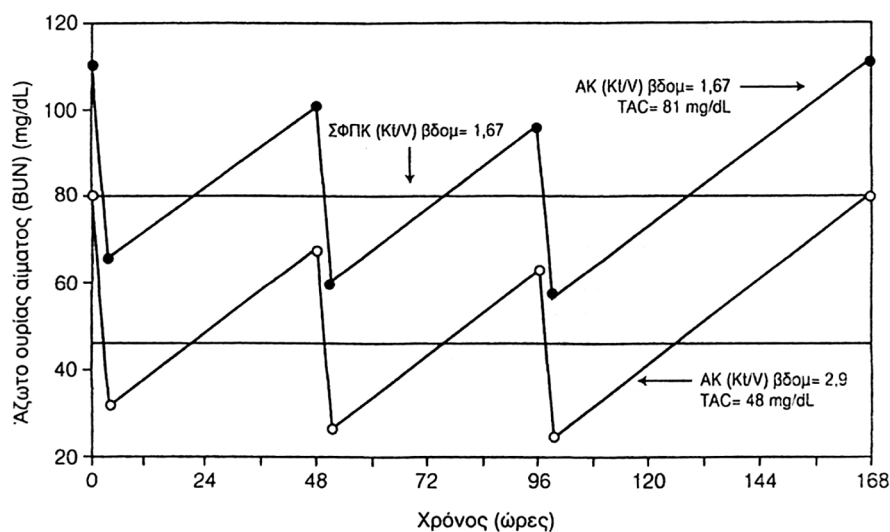
#### **1.4 Επάρκεια κάθαρσης $kt/v$ σε AMK και CAPD**

Για την εκτίμηση των λειτουργικών χαρακτηριστικών του περιτοναίου και της επάρκειας της κάθαρσης υπολογίστηκε το συνολικό εβδομαδιαίο  $Kt/V$  της ουρίας ( $wKt/V$ ). Ο δείκτης  $Kt/V$  είναι δείκτης επάρκειας κάθαρσης, όπου  $K$  είναι ο συντελεστής κάθαρσης ουρίας της μεμβράνης που χρησιμοποιείται (φίλτρο ή περιτόναιο),  $t$  είναι ο χρόνος κάθαρσης και  $V$  είναι ο όγκος κατανομής της ουρίας, που αντιστοιχεί σχεδόν στο ολικό νερό σώματος (TBW). Ο δείκτης προκύπτει από την εξίσωση:

$$\frac{K \cdot t}{V} = -\ln(1 - URR). \quad (8)$$

Η νέα βελτιωμένη εξίσωση του δείκτη από τον Daugirdas είναι:

$$sp(Kt/V) = -\ln(R - 0.008 \times t) + (4 - 3.5 \times R \times 0.55 \text{ UF/V})$$



**Σχήμα 5.** Διακυμάνσεις στην συγκέντρωση των τιμών του BUN στην αιμοκάθαρση και την ΣΦΠΚ στη διάρκεια 168 ωρών. Για τον δείκτη  $Kt/V=1,67$ , η TAC ουρίας στην αιμοκάθαρση και την ΣΦΠΚ είναι ίδια. Λόγω όμως της διαλείπουσας φύσης της αιμοκάθαρσης, οι τιμές του BUN στην αιμοκάθαρση υπερβαίνουν εκείνες της ΣΦΠΚ στις 88 από τις 168 ώρες της εβδομάδας.

### ***1.5 Οξειδωτικό stress, οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, οξειδωτικές διαδικασίες και αντιοξειδωτικά συστήματα***

Ως οξειδωτικό stress ορίζεται η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων στα βιολογικά συστήματα με επικράτηση των πρώτων. Συμβαίνει, όταν υπάρχει υπερπαραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ή και αζώτου) ή ανεπάρκεια των ενζυμικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Χαρακτηριστικά υπάρχει αύξηση των επιπέδων των προοξειδωτικών παραγόντων σε σχέση με τα φυσιολογικά. Το οξειδωτικό stress έχει ενοχοποιηθεί για πάρα πολλές νοσηρές καταστάσεις, όπως καρκίνος, γήρανση, αμυλοείδωση της ΑΜΚ, νευροεκφυλιστικές νόσοι, αθηροσκλήρυνση κ.λ.π. Οι Δραστικές Μορφές Οξυγόνου (ΔΜΟ), κύριοι παράγοντες του οξειδωτικού stress, 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 την διατήρηση της ζωής, όπως για παράδειγμα η χρήση τους ως αμυντικού μηχανισμού 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 μορίων αποτελεί σημαντικό στοιχείο της φλεγμονώδους διαδικασίας και των αμυντικών μηχανισμών κατά των βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών ή και κατά των νεοπλασματικών κυττάρων, ενώ συμβάλλει στην διαδικασία της ανάπλασης των ιστών μετά από βλάβη (Locateli et al., 2003).

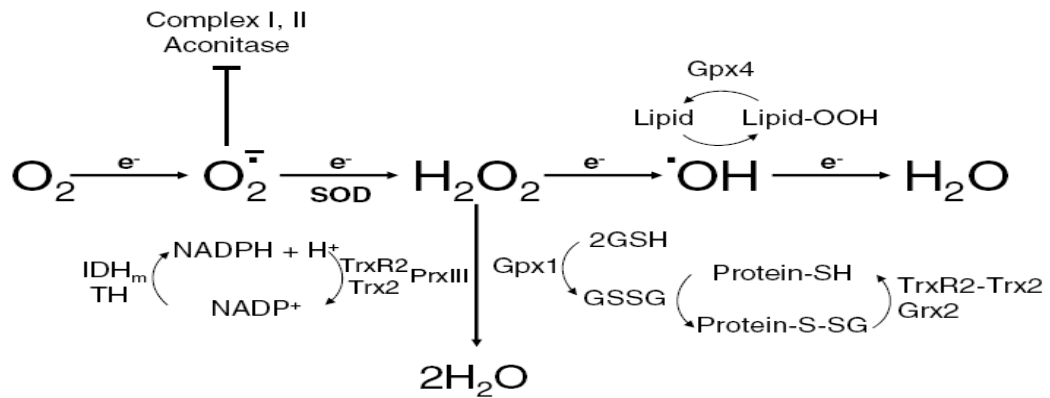
Οξειδοαναγωγική είναι μια χημική αντίδραση, κατά την οποία αλλάζει ο αριθμός οξείδωσης των στοιχείων-ατόμων της. Συγκεκριμένα, οξείδωση προκύπτει από την αύξηση του αριθμού οξείδωσης (αποβολή  $e^-$ ), ενώ αναγωγή από τη μείωσή του (προσθήκη  $e^-$ ).

Ως ελεύθερη ρίζα (free radical) ονομάζεται κάθε άτομο ή μόριο με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική του στιβάδα σε αντίθεση με τις μη-ελεύθερες ρίζες, οι εξωτερικές στιβάδες των οποίων καλύπτονται από ζεύγη ηλεκτρονίων με αντίθετη στροφορμή (Halliwell and Gutteridge 1999) (**Πίνακας 6**).

**Πίνακας 6.** Δραστικές μορφές οξυγόνου (ΔΜΟ) και αζώτου (RNS) (Παπαγεωργίου 2005)

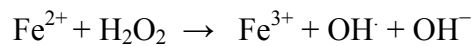
Ρίζες	Όνομα
$O_2^{\cdot-}$	Σουπεροξειδίο (superoxide)
$HO_2^{\cdot}$	Υδροξυπεροξειδική ρίζα (hydroperoxyl radical)
$OH^{\cdot}$	Υδροξυλική ρίζα (hydroxyl radical)
$ROO^{\cdot}$	Υπεροξειδική ρίζα (peroxy ή peroxy radical)
$RO^{\cdot}$	Αλκοξειδική ρίζα (alcoxyl radical)
$NO^{\cdot}$	Οξειδίο του αζώτου (nitric oxide)
<b>Μη ρίζες</b>	
$H_2O_2$	Υπεροξειδίο του υδρογόνου (hydrogen peroxide)
$^1O_2$	Μονήρες οξυγόνο (singlet oxygen)
$O_3$	Όζον (ozon)
$HOCl$	Υποχλωριώδες οξύ (hypochlorous acid)
$ROOH$	Οργανικά υδροξυπεροξειδία
$ONOO^{\cdot}$	Υπεροξυνιτρώδες (peroxynitrite)

Το παράδοξο με το οξυγόνο είναι ότι θεωρείται μια ασθενής διπλή ελεύθερη ρίζα, η οποία φέρει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην τροχιά Π (orbital Π), με παράλληλα τροχιακά (ίδια spin), άρα εμφανίζει ικανότητα αντίδρασης με βιομόρια. Με μια σειρά διαδοχικών αναγωγών το μοριακό οξυγόνο μετατρέπεται σε ένα μόριο νερού δίνοντας γένεση σε ενδιάμεσες δραστικές μορφές.



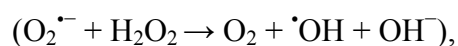
**Σχήμα 6.** Διαγραμματική απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με μονά ηλεκτρόνια.

Το αναγωγικό περιβάλλον των κυττάρων βοηθάει στην αναγωγή του  $\text{O}_2$  με ένα ηλεκτρόνιο σχηματίζοντας το ανιόν του σουπεροξειδίου. Ένα από τα ενδιάμεσα προϊόντα της αναγωγής του οξυγόνου σε νερό είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), το οποίο όταν συναντήσει ελεύθερο σίδηρο, τότε έχουμε τη γνωστή αντίδραση Fenton:

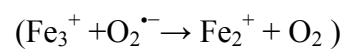


κατά την οποία ο σίδηρος οξειδώνεται σε τρισθενή και παράγονται το ανιόν του υδροξυλίου και η πολύ δραστική ρίζα του υδροξυλίου.

Παράλληλα σύμφωνα με την αντίδραση Haber-Weiss, ο σίδηρος ή και ο χαλκός παίζουν το ρόλο καταλύτη σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:



όπου ανάγεται ταυτόχρονα και ο σίδηρος



(Liochev & Fridovich 1994)



Σημαντικά σημεία παραγωγής οξειδωτικών μορίων του οργανισμού αποτελούν τα μιτοχόνδρια (κυρίως μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας), τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα. Σε καταστάσεις αυξημένου οξειδωτικού stress, τα φαγοκύτταρα εκούσια χρησιμοποιούν διαρκώς υψηλά επίπεδα οξυγόνου ως αμυντικό μηχανισμό του ξενιστή κατά των παθογόνων. Ένας σωστός όρος, για να περιγράψει αυτό το φαινόμενο, είναι η «οξειδωτική έκρηξη» (oxidative burst). Ειδικά στους νεφρούς, η παραγωγή οξειδωτικών μορίων γίνεται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και τα διαμεσοσωληνιαρικά κύτταρα (Ichikawa et al., 1994). Ο νεφρός παράγει  $H_2O_2$  ακόμα και σε φυσιολογικές συνθήκες. Παθολογικές διεργασίες μπορούν να διεγείρουν οξειδωτικές διαδικασίες είτε από κύτταρα του νεφρού, είτε από κύτταρα που διηθούν τον νεφρό (φλεγμονές, σπειραματονεφρίτιδες) μέσω κυτταροκινών.

Οι ΔΜΟ έχουν μεγάλη χημική αντιδραστικότητα. Αποτελούν –δυναμικά- βλαπτικά μόρια για τα βιολογικά συστήματα και -σε υψηλές συγκεντρώσεις- μπορεί να οδηγήσουν σε καταστροφή κυτταρικών δομών, νουκλεϊνικών οξέων, λιπιδίων και πρωτεϊνών (Valko et al., 2006). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι ΔΜΟ δεν είναι βλαπτικές, αλλά συμμετέχουν σε πολύ σημαντικές βασικές διεργασίες, όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, μεταγραφή γονιδίων, κυτταρικός πολλαπλασιασμός, απάντηση στην φλεγμονή, απόπτωση κ.λ.π. Μάλιστα αρχίζει να επικρατεί η άποψη, ότι το  $H_2O_2$  παράγεται συνεχώς σε μικρές ποσότητες και σε συγκεκριμένα κυτταρικά διαμερίσματα και λειτουργεί ως αγγελιοφόρος σημάτων (K. Bedard K. and Krause K.H., 2004).

Από την άλλη μεριά, η ρίζα του υδροξυλίου, η οποία είναι η πιο δραστική μορφή οξυγόνου, αντιδρά με όλα τα στοιχεία του DNA (δεοξυριβόζη, πουρίνες, πυριμιδίνες), γεγονός που μπορεί να αποτελεί το πρώτο βήμα προς μετάλλαξη, καρκινογένεση ή γήρανση (Halliwell and Gutteridge, 1999). Επίσης, η ρίζα του υδροξυλίου συμμετέχει στην οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων δίνοντας ως τελικό προϊόν την μαλονική διαλδεΐδη (MDA), μετά από την αντίδραση με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Επίσης 4-υδροξυ-2 νονενάλη είναι μια άλλη χαρακτηριστική αλδεΐδη, η οποία σχηματίζεται και αυτή από την λιπιδική υπεροξείδωση (HNE). Ως τελικό προϊόν η MDA, προκαλεί μεταλλάξεις και –τελικά- καρκινογένεση σε πειραματόζωα, ενώ η HNE εμφανίζει ασθενή μεταλλαξιογόνο, αλλά σημαντική τοξική δράση. Οι πρωτεΐνες αποτελούν επίσης στόχους για την δράση των ελευθέρων ριζών και ενδοκυττάρια, αλλά και εξωκυττάρια. Οξειδωτική βλάβη υφίστανται και οι πρωτεΐνες και μάλιστα τα αμινοξέα

κυστεΐνη, μεθειονίνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη κ.ά. 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). Οι επιπτώσεις της δημιουργίας ελευθέρων ριζών σε μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη εξαρτώνται: α) από την περιεκτικότητα της πρωτεΐνης σε αμινοξέα, τα οποία αντιδρούν με ελεύθερες ρίζες, β) το πόσο σημαντικά είναι αυτά τα αμινοξέα για την δράση της πρωτεΐνης και γ) από την ικανότητα των κυττάρων να διορθώσουν τις βλάβες στην συγκεκριμένη πρωτεΐνη.

Η έκθεση των οργανισμών στις δυνητικά επικίνδυνες δράσεις των ελευθέρων ριζών οδήγησε στην ανάπτυξη αμυντικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Cadenas, 1997), οι οποίοι στοχεύουν στην πρόληψη ή στην αποκατάσταση της οξειδωτικής βλάβης. Μόνο, όταν οι αμυντικοί μηχανισμοί του κυττάρου υπερκερασθούν, ανατρέπεται η προοξειδωτική/αντιοξειδωτική ισορροπία σε βάρος του δεύτερου σκέλους με καταστροφικά για το κύτταρο αποτελέσματα. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα μπορεί να είναι ενζυμικά ή μη (**Πίνακας 7**). Τα πρώτα περιλαμβάνουν την δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και την καταλάση (CAT). Η SOD μετατρέπει το  $O_2^{\cdot-}$  σε  $H_2O_2$ , το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε νερό ( $H_2O$ ) από την καταλάση ή και από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, ένα μόριο το οποίο περιέχει στο ενεργό της κέντρο μια σεληνοκυστεΐνη, στο οποίο το στοιχείο σελήνιο (Se) έχει αντικαταστήσει το S της κυστεΐνης. Παρ' όλη την αφθονία των παραπάνω ενζύμων σε όλους τους ιστούς των αερόβιων οργανισμών, ελεύθερες ρίζες μπορούν να διαφύγουν και να αρχίσουν αλυσιδωτές αντιδράσεις. Σε αυτήν την περίπτωση είναι απαραίτητες αντιοξειδωτικές ουσίες, μικρού μοριακού βάρους, ικανές για να σταματήσουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. 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 7**), καροτενοειδή και φλαβονοειδή, αλλά και μια σειρά ενδογενών μορίων (κυρίως δεσμευτές μετάλλων), όπως η φερριτίνη, η τρανσφερρίνη, η σερουλοπλασμίνη, το ουρικό, η λευκωματίνη, η γλουταθειόνη (GSH) κ.α.

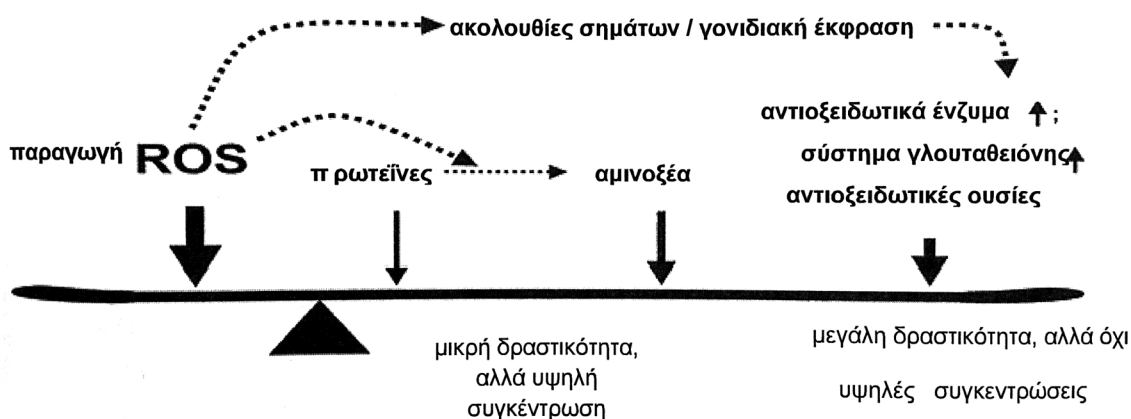
**Πίνακας 7.** Τα πιο σημαντικά ενζυμικά και μη ενζυμικά φυσιολογικά αντιοξειδωτικά

<b>Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά</b>	<b>Τοποθεσία</b>	<b>Ιδιότητες</b>
Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)	Μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα	Εξουδετερώνει ρίζες του υπεροξειδίου
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSH)	Μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα	Απομακρύνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου και οργανικά υδροπεροξειδία
Καταλάση (CAT)	Μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα	Απομακρύνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου
<b>Μη Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά</b>	<b>Τοποθεσία</b>	<b>Ιδιότητες</b>
Βιταμίνη C	Υδαρείς φάσεις του κυττάρου και εξωκυττάρια υγρά	Δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες και ανακυκλώνει την οξειδωμένη βιταμίνη E
Βιταμίνη E	Κυτταρική μεμβράνη και λιποπρωτείνες	Κύριο αντιοξειδωτικό επί των κυτταρικών μεμβρανών
Ουρικό οξύ	Προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών	Δεσμεύει ρίζες OH <sup>•</sup>
Γλουταθειόνη	Μη πρωτεϊνική θειόλη των κυττάρων	Υπηρετεί πολλαπλούς ρόλους της κυτταρικής αντιοξειδωτικής άμυνας
α-λιποϊκό οξύ	Ενδογενείς θειόλες	Αποτελεσματικό στην ανακύκλωση της βιταμίνης C, μπορεί επίσης να είναι αποτελεσματικό ως υποκατάστατο της γλουταθειόνης
Καροτενοειδή	Λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό που εντοπίζεται στον ιστό των μεμβρανών	Δεσμεύει ενεργές ρίζες οξυγόνου
Χολερυθρίνη	Προϊόν του μεταβολισμού της αίμης του αίματος	Εξωκυτταρικό αντιοξειδωτικό
Ουβικινόνες	Μιτοχόνδρια	Οι αναγωγικές μορφές είναι αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά
Δεσμευτές ιόντων μετάλλων: τρανσφερίνη, φερριτίνη, λακτοφερρίνη		Χηλικοί παράγοντες μεταλλικών ιόντων, υπεύθυνων για τις αντιδράσεις Fenton
Νιτρικό οξύ		Δεσμεύει ελεύθερες ρίζες, αναστολέας υπεροξειδίων λιπιδίων

Από: Τροποποιημένο από Noguchi et al. 2000 (Σίμος 2010)

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  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ). Ο μηχανισμός αυτός αποτελεί μια ελκυστική θεωρία για την βλάβη του νεφρού από την πρωτεϊνουρία (Agarwal, 2003).



**Σχήμα 7.** 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 στην συνέχεια δράση της καταλάσης, μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση  $\text{OH}\cdot$  υπό την παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού μέσω της αντίδρασης Fenton, που ήδη αναφέρθηκε (Ichikawa et al., 1994).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), η ρίζα του υπεροξειδίου ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), του υδροξυλίου ( $\text{OH}\cdot$ ) και του μονοξειδίου του αζώτου ( $\text{NO}\cdot$ ), 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 την δυσκολία που εμπεριέχει, δεν αποτελεί σαφή ένδειξη αυξημένης οξειδωτικής καταπόνησης (Halliwell, 1993). Ωστόσο, υπάρχει ανάγκη για την έμμεση μέτρηση του οξειδωτικού stress και αυτό μπορεί να γίνει από ουσίες, που προκύπτουν από την οξειδωτική μετατροπή των λιπιδίων, των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των νουκλεϊνικών οξέων, που έχουν χρόνους ημίσειας ζωής, από μερικές ώρες μέχρι και εβδομάδες και αποτελούν πιο «ασφαλείς» δείκτες ανίχνευσης του οξειδωτικού stress (Πίνακας 8). Τόσο τα αυξημένα επίπεδα αλδεϋδης, όσο και ο σχηματισμός AGE παίζουν βασικό ρόλο στην παθογένεση των αγγειακών παθήσεων,

μεταξύ των οποίων και η αθηροσκλήρωση. Οι δραστικές αλδεϋδες φαίνεται να εμπλέκονται στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL χοληστερόλης, που προάγει την δημιουργία αφρωδών κυττάρων, γεγονός που οδηγεί στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Berliner et al, 1995). Τα F<sub>2</sub>-ισοπροστάνια προέρχονται από την οξείδωση του αραχιδονικού οξέος και αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους δείκτες, όπως και τα όψιμα προϊόντα λιποϋπεροξειδωσης (ALEs), ή τα αντισώματα έναντι των οξειδωμένων, χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (anti-ox-LDLs). Επιπλέον, η μη αναστρέψιμη σύνδεση των δραστικών καρβονυλικών συμπλόκων, προϊόντα των δραστικών αλδεϋδών (Dalle-Donne et al., 2003; Dalle-Donne et al., 2005) με διάφορες αμινικές ομάδες των πρωτεϊνών, οδηγεί στον σχηματισμό τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) (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 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).

#### Πίνακας 8. Κυριότεροι *in vivo* δείκτες του οξειδωτικού stress

<b>Λιπίδια</b>	MDA και αλδεϋδες Υδροϋπεροξειδία λιπιδίων oxLDL Τελικά προϊόντα προχωρημένης λιποξειδωσης Εκπνεόμενες αλκάνες
<b>Παράγωγα αραχιδονικού οξέος</b>	F2 ισοπροστάνες Ισολεβουγλανδίνες
<b>DNA</b>	8(OH)-2'-δεοξυγουανοσίνη
<b>Υδατάνθρακες</b>	Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs)
<b>Αμινοξέα</b>	Κυστεΐνη Ομοκυστεΐνη Διτυροσίνη 3-νιτροτυροσίνη 3-χλωροτυροσίνη
<b>Πρωτεΐνες</b>	Θειόλες Καρβονύλιο Προϊόντα προχωρημένης οξείδωσης πρωτεϊνών (AOPP)

Πρόσφατα σε μελέτες, τόσο σε ασθενείς με ΧΝΝ προ-τελικού σταδίου (Nanayakkara et al 2007), όσο και σε ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου υπό αιμοκάθαρση (Zocalli et al, 2002) και περιτοναϊκή κάθαρση (Kocak et al, 2009), βρέθηκε ότι οι δείκτες του οξειδωτικού stress (TBARS, MDA, AGE, πεντοσιδίνη, AOPP) συσχετίζονταν, τόσο με δείκτες της φλεγμονής και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όσο και με το πάχος του έσω μέσου χιτώνα των καρωτίδων (Nanayakkara PW et al, 2005; Zoccali C et al, 2002; Kocak H et al, 2007).

### ***1.6 Ο ρόλος των ΔΜΟ στη νόσο***

Το οξειδωτικό stress 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 και η ΧΝΝ (Dalle-Donne et al., 2006; Jenner 2003; Sayre et al., 2001). Από την άλλη, οι ΔΜΟ 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 νόσος και η διαμεσοσωληνιακή νεφροπάθεια (Klahr, 1997). Αναφέρεται επίσης ότι μπορεί να συμμετέχουν στην υπερτροφία των σωληνιακών κυττάρων καθώς και στην παθογένεση της οξείας σωληνιακής 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).

Συμπερασματικά, μια υπέρμετρη ενεργοποίηση των οξειδωτικών διαδικασιών και η υπερπαραγωγή οξειδωτικών μορίων κατά τη διάρκεια χρόνιων παθολογικών καταστάσεων, όπως για παράδειγμα στην 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).

## *1.7 Χρόνια νεφρική νόσος και οξειδωτική καταπόνηση*

Η **χρόνια νεφρική νόσος (XNN)** αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας με επιπλοκές, όπως η νεφρική ανεπάρκεια, τα καρδιαγγειακά νοσήματα (KAN) και ο πρόωρος θάνατος (Levey A. S. et al, 2005). Η χρόνια νεφρική νόσος (XNN) αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για την δημόσια υγεία και μάλιστα παρατηρείται διαρκής αύξηση της συχνότητάς της, ιδιαίτερα την τελευταία 30ετία. Είναι χαρακτηριστικό ότι η συνεχής αύξηση του αριθμού των ασθενών με χρόνια νεφρική νόσο τελικού σταδίου, οι οποίοι το 2013 στην Ελλάδα ανήλθαν σε περίπου 12.600 άτομα (σε AMK περίπου 9.400 και περίπου 700 σε CAPD, ενώ υπάρχουν περίπου 2.500 μεταμοσχευμένοι), ακολουθεί την πορεία μεταστροφής της ελληνικής κοινωνίας και του συνακόλουθου τρόπου ζωής της, που γίνεται ολοένα και πιο «δυτικότροπος». Απόδειξη αποτελεί το γεγονός ότι η υπέρταση και ο διαβήτης τύπου II, κατ' εξοχήν πολιτισμικές ασθένειες, ευθύνονται σήμερα σχεδόν για το 70% των περιστατικών νεφρικής ανεπάρκειας τελικού σταδίου. Πολλοί ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (XNN) παρουσιάζουν καρδιαγγειακά προβλήματα, ενώ η εμφάνιση τόσο συμβατικών όσο και μη-συμβατικών παραγόντων κινδύνου επιπλέκει την εικόνα της χρόνιας νεφρικής νόσου (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). Αυτοί οι παράγοντες είναι υπεύθυνοι για το 50% περίπου των καρδιαγγειακών επιπλοκών των ασθενών που βρίσκονται στην αιμοκάθαρση.

Τα δεδομένα της μελέτης NHANES III στις ΗΠΑ υποδεικνύουν πως περισσότεροι από 8 εκατομμύρια ενήλικες έχουν XNA σταδίων 3–5, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες (K/DOQI), με εκτιμώμενη GFR μικρότερη των 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (Levey et al., 2005). Παράλληλα, μεγάλο ποσοστό των χρόνιων νεφροπαθών δεν 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<sup>ο</sup> 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 τον φυσιολογικό ομοιοστατικό ρόλο του νεφρού.

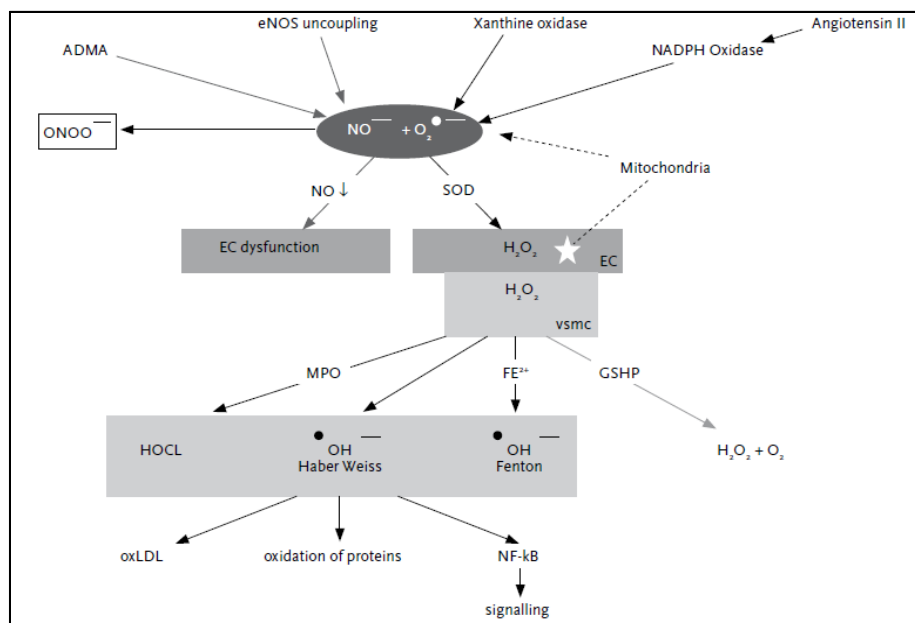
Οι αιμοκαθαιρόμενοι -αλλά και οι περιτοναϊκά καθαιρόμενοι- νεφροπαθείς χαρακτηρίζονται από αυξημένη θνητότητα, όταν συγκρίνονται με το γενικό πληθυσμό, παρά τις προόδους στις εφαρμοζόμενες μεθόδους κάθαρσης (Zoccali et al., 2005), ενώ το επίπεδο της νεφρικής δυσλειτουργίας αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα 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 θανάτου σε καθαιρόμενους αποτελούν τα καρδιαγγειακά νοσήματα. (USRDS, 1999). Συγκεκριμένα, συχνή επιπλοκή της νεφρικής νόσου αποτελεί η επιταχυνόμενη αθηρωματική νόσος. Η ΧΝΝ προάγει υπέρταση και δυσλιπιδαιμία, ενώ αντίστροφα η διαβητική νεφροπάθεια είναι η συχνότερη αιτία της ΧΝΝ στις ανεπτυγμένες χώρες. Τις τελευταίες δεκαετίες, επιδημιολογικές μελέτες στο γενικό πληθυσμό έδειξαν ότι, εκτός από τους κλασσικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, σημαντικό ρόλο παίζουν και ορισμένοι κλασσικοί παράγοντες και κυρίως η χρόνια φλεγμονή (Ridker PM et al, 1998) 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 μελέτες σε πειραματόζωα και κλινικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ του βαθμού του οξειδωτικού stress (ΟΣ) και αρκετών βιολογικών δεικτών φλεγμονής. 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). 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 stress στην παθογένεση της σπειραματικής και συνολικά της νεφρικής βλάβης έχει αποδειχθεί ήδη σε πειραματικά μοντέλα (Coimbra et al., 2000; Gealekman et al., 2004).

Το οξειδωτικό stress παίζει πρωτεύοντα ρόλο σε σπειραματικές 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 στην χρόνια νεφρική νόσο (González Díez 2003). Οι ΔΜΟ 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.



Επίσης το οξειδωτικό stress, που παρατηρείται στους AMK ασθενείς, αποτελεί τον κοινό παρονομαστή για αρκετές από τις επιπλοκές της χρόνιας AMK, όπως η αναιμία, οι διαταραχές των ανοσιακών αντιδράσεων και του πηκτικού μηχανισμού, η επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση και γήρανση, η αμυλοείδωση της αιμοκάθαρσης και η καρκινογένεση.

Είναι γνωστό ότι η ουραιμία συσχετίζεται με αυξημένο οξειδωτικό stress (Himmelfarb J. et al, 2002, 1524-1538), που οφείλεται, αφενός στη συσσώρευση οξειδωτικών παραγόντων, και αφετέρου στην εξάντληση των αντιοξειδωτικών. Σε ουραιμία, οι μηχανισμοί οξειδωτικού stress εμπλέκουν την ενεργοποίηση της οξειδάσης του ανεωγμένου 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 8).



Σχήμα 8. Γένεση, διαθεσιμότητα και δράσεις ΔΜΟ στη νεφρική νόσο. (Nanayakkara et al., 2010).

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).

### **1.8 Αιμοκάθαρση και οξειδωτικό stress**

Η επικρατούσα αντίληψη μέχρι τώρα είναι πως η διαδικασία της αιμοκάθαρσης, τουλάχιστον στην αρχή της, επιτείνει την οξειδωτική καταπόνηση των ήδη επιβαρυσμένων, σε σχέση με τους υγιείς, νεφροπαθών (Hashimoto H. et al, 1996). Οι μεμβράνες της AMK ανάλογα με τη βιοσυμβατότητά τους ενεργοποιούν τα ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα (με μεγαλύτερη ένταση στις πιο ασύμβατες μεμβράνες) (Nguyen A.T. et al, 1985; Taylor J.E. et al, 1992). Επίσης η ενεργοποίηση αυτή μπορεί να επιτείνεται από την έκθεση στο φως και την ενέργεια που αυτό διαθέτει μέσω των γραμμών και του φίλτρου (καθότι τα στοιχεία του αίματος δεν εκτίθενται στο φως υπό κανονικές συνθήκες) (Kubasona T. et al, 1995). Η ενεργοποίηση αυτή γίνεται από μεσολαβητές φλεγμονής, όπως οι κυτταροκίνες και οι μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέως, που αναδεικνύουν τις φαγοκυτταρικές αντιδράσεις. Με την ενεργοποίησή τους προκαλείται αναπνευστική έκρηξη με τη συνοδό παρουσία ελευθέρων ριζών οξυγόνου όπως  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ ,  $HOCl$ . Η ενεργοποίηση οδηγεί σε βλάβη ιστών, που αναδεικνύεται σαν οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, τόσο των ίδιων των κοκκιοκυττάρων, όσο και των παρακείμενων κυττάρων (Hennig B. et al, 1988; Suematsu M. et al, 1992). Οι ασθενείς που υποβάλλονται χρόνια στην AMK έχουν δυσλειτουργία των κοκκιοκυττάρων (Shurtz-Swirski R. et al, 1995; Haag Weber M and Horl WH, 1996). Πιθανολογείται και η λιπιδική υπεροξείδωση του πλάσματος των αιμοκαθαιρομένων από την δημιουργία ελευθέρων ριζών από τα ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα (Luciak M. et al, 1991). Σε αυτούς τους ασθενείς έχει αναπτυχθεί ένα πολύ αποτελεσματικό σύστημα ενζυματικών και μη αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Σε πειραματικά μοντέλα φάνηκε πως η δραστηριότητα των ενζυμικών εκκαθαριστών ελευθέρων ριζών (FRSE) ρυθμίζεται από τη γέννηση εξωκυττάρων και ενδοκυττάρων ριζών οξυγόνου (Valentine JF et al, 1992). Η επικρατούσα άποψη παλαιότερα ήταν ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών φαίνεται να ενεργοποιεί το συμπλήρωμα (Collard C D et al, 1999). Νεώτερες μελέτες δείχνουν πως λευκώματα του αίματος σε επαφή με τη μεμβράνη

AMK, ενεργοποιούν το συμπλήρωμα. Τα στοιχεία του συμπληρώματος, οι αναφυλατοξίνες C3a και ιδιαίτερα η C5a, ενεργοποιούν τα ουδετερόφιλα, απελευθερώνουν ΔΜΟ, με αποτέλεσμα την αυξημένη πηκτικότητα (Σχήμα 9) (Kourtzelis et al, 2010). Ελεύθερες ρίζες προκύπτουν, εκτός από τα λευκοκύτταρα, που ενεργοποιούνται μετά από επαφή με τη μεμβράνη της κάθαρσης και από σίδηρο που απελευθερώνεται συνεπεία αιμόλυσης (Eiselt et al, 1999). Το διάλυμα AMK, πέρα από το ότι πρέπει να είναι υπερκαθαρό και να μην επιμολύνεται, καθώς οι ενδοτοξίνες των μικροβίων εισέρχονται από το διάλυμα στο αίμα μέσω του φίλτρου (back filtration), με αποτέλεσμα ενδοτοξιναιμία και επίταση του ΟΣ. Ο τύπος του διαλύματος, δηλ π.χ. αν περιέχει γλυκόζη το κάνει πιο ευάλωτο σε επιμόλυνση. Η AMK με διάλυμα διττανθρακικών με κιτρικά (ελεύθερα οξείκων), φαίνεται να πλεονεκτεί ως προς το ΟΣ έναντι διαλύματος διττανθρακικών που περιέχει οξείκα (Masuda A et al, 2012; Kossmann RJ et al, 2009).



Σχήμα 9. Ενεργοποίηση του συμπληρώματος κατά την επαφή του αίματος με τη μεμβράνη AMK και επαγωγή θρομβώσεων (Από: Kourtzelis et al, 2010)

### 1.9 Μεταβολική οξέωση και αιμοκάθαρση

Οι διαταραχές της οξεοβασικής ισορροπίας (ΟΒΙ) αποτελούν ένα από τα προβλήματα που εμφανίζουν οι ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (ΧΝΝ) τελικού σταδίου, εκ των οποίων η μεταβολική οξέωση (ΜΟ) είναι η συχνότερη και η σημαντικότερη. Κάποιες από τις βασικές αιτίες πρόκλησης ΜΟ στους ασθενείς με ΧΝΝ είναι: α) η μείωση της νεφρικής

απέκκρισης αμμωνίου ( $\text{NH}_4^+$ ) από τους εναπομείναντες νεφρώνες, β) η απώλεια μεγάλης ποσότητας  $\text{HCO}_3^-$  στα ούρα που διαπιστώθηκε, τόσο σε ασθενείς, όσο και σε πειραματόζωα (Slatopolsky E et al, 1970), γ) η αυξημένη περιεκτικότητα του διαιτολογίου σε λευκώματα (Lin SH et al, 2002) και δ) ο μεταβολισμός των οξέων, δηλαδή η παραγωγή μη μεταβολιζόμενων οργανικών ανιόντων, όπως το ουρικό. Στους AMK ασθενείς για τη ΜΟ ευθύνονται όλες οι παραπάνω αιτίες που διαπιστώνονται σε ΧΝΝ, αλλά και η ενδογενής παραγωγή οξέων (όπως κιτρικού) που διεγείρεται από την διεργασία της συνεδρίας της αιμοκάθαρσης. Για παράδειγμα, οι συνθήκες αιμοκάθαρσης με διάλυμα που δεν περιέχει γλυκόζη, είναι παρόμοιες με αυτές της στέρησης τροφής, οπότε επιτείνεται κατά την διάρκεια της συνεδρίας η παραγωγή των οξέων και παράλληλα περιορίζεται ο μεταβολισμός των οξικών του διαλύματος στον κύκλο του Krebs (Zucchelli P et al, 1995). Η προστιθέμενη λοιπόν ποσότητα  $\text{HCO}_3^-$  στο αίμα κατά την διάρκεια της συνεδρίας στοχεύει στην εξουδετέρωση των  $\text{H}^+$  που απελευθερώνονται στον ενδοκυττάριο και στον εξωκυττάριο χώρο κατά το μεταβολισμό (Adrogué HJ et al, 1983). Γενικότερα όμως, υπάρχει μια αντίφαση μεταξύ των προβλεπόμενων και των διαπιστούμενων επιπέδων  $\text{HCO}_3^-$  κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης, η οποία εξηγείται μόνο από το γεγονός της παραγωγής των οργανικών οξέων και την απώλεια ανιόντων, ως απάντηση στην διαδικασία της αιμοκάθαρσης. Υπάρχουν αρκετές μελέτες, που υποστηρίζουν ότι η μεταβολική οξέωση συνεισφέρει στην αύξηση των δραστικών μορφών οξυγόνου και συνεπώς στην αύξηση του οξειδωτικού stress. Ο Rustom και οι συνεργάτες του δημιούργησαν ένα νέο μοντέλο χρόνιας οξέωσης στην LLC-PK1 κυτταρική σειρά, όπου μέτρησαν δείκτες οξειδωτικού stress και μεταβολισμού. Παρατηρήθηκε ότι η οξέωση οδήγησε σε μείωση των συνολικών επιπέδων της ενδοκυττάριας γλουταθειόνης, σε αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) και σε αύξηση της αναγέννησης του  $\text{NH}_3$  (Rustom R et al, 2003). Η οξέωση οδηγεί στον σχηματισμό των οξειδωτικών μορίων και συνεπώς των ΔΜΟ. Κατά την οξέωση, οι δραστηριότητες των ενζύμων SOD και GPx αυξάνονται, η δραστηριότητα της  $\gamma$ -GT παραμένει ανεπηρέαστη και αυξάνεται η έκφραση της ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) ΑΤΡάσης, ενώ μειώνεται η GLUT 2 (μεταφορέας γλυκόζης τύπου 2) σε ζώα με οξέωση και τέλος το επίπεδο της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων παραμένει σταθερό. Το  $\text{H}_2\text{O}_2$  αναστέλλει την δραστηριότητα της  $\gamma$ -GT μόνο σε απομονωμένες μεμβράνες, ενώ σε ολόκληρο τον ιστό ενισχύει τις δραστηριότητες των ενζύμων CAT (καταλάση) και SOD και μειώνει την έκφραση της GLUT 2 (Tosco M et al, 2011).

### ***1.10 Το σύνδρομο δυσθρεψίας, φλεγμονής και αθηρωμάτωσης [malnutrition, inflammation, atherosclerosis (MIA)]***

Η χρόνια νεφρική νόσος (XNN) χαρακτηρίζεται από ένα καθεστώς χρόνιας φλεγμονής που έχει συσχετιστεί με υψηλούς δείκτες θνησιμότητας (Stenvinkel P. and Alvestrand A., 2002). Η φλεγμονή που επάγεται μέσω των κυτοκινών εμπλέκεται στο σύνδρομο δυσθρεψίας-φλεγμονής-αθηροσκλήρωσης (MIA), που επίσης σχετίζεται με συχνές νοσοκομειακές νοσηλείες και υψηλούς δείκτες καρδιαγγειακής θνησιμότητας στους ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (XNN) (Stenvinkel P et al, 2002a). Το σύνδρομο MIA καθορίζεται από την αλληλεπίδραση μεταξύ αυξημένων επιπέδων προφλεγμονωδών κυτοκινών, δυσθρεψίας και αθηροσκλήρωσης σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (XNN) (Stenvinkel P et al, 2000). Τα αυξημένα επίπεδα των δεικτών της φλεγμονής όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι γνωστοί προγνωστικοί παράγοντες των καρδιαγγειακών επιπτώσεων στον γενικό πληθυσμό, αλλά και σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (XNN) (Rao M. et al, 2005), οι οποίοι συσχετίζονται με υποπρωτεΐναιμία, δυσθρεψία, αντίσταση στην ερυθροποιητίνη και αυξημένη θνησιμότητα (Bergström J., 1995; Arici M. and Walls J., 2001). Επίσης, το σύνδρομο MIA 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).

#### ***1.10.1 Δυσθρεψία***

Δυσθρεψία (κακή θρέψη) ορίζεται η διαταραχή που προκύπτει στον ανθρώπινο οργανισμό από τη διαφορά μεταξύ της ποσότητας τροφής και άλλων θρεπτικών συστατικών, που απαιτούνται για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού και της ποσότητας τροφής και θρεπτικών συστατικών, που εν τέλει ο οργανισμός προσλαμβάνει, όπως σε καταστάσεις υπερκαταβολισμού και συστηματικής φλεγμονής. Σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου - καθαιρόμενους 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 και η απώλεια λευκωμάτων της

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) η παρουσία συνοδών λοιμωδών ή άλλων νοσημάτων, δ) ιατρογενείς αιτίες, όπως για παράδειγμα η σύσταση για ελαττωμένη πρόσληψη πρωτεϊνών, ε) 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.), στ) ενδοκρινικές και μεταβολικές διαταραχές, όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, με αποτέλεσμα την ελάττωση της πρωτεϊνοσύνθεσης και την προαγωγή του καταβολισμού των πρωτεϊνών και ζ) η συμβολή ψυχολογικών και κοινωνικο-οικονομικών παραγόντων, που σε αυτούς τους ασθενείς είναι σε αυξημένη συχνότητα (καταθλιπτική διαταραχή, αναπηρία, ανεργία κ.α.) (Locatelli 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).

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι εκτίμησης της θρέψης και του ξηρού σωματικού βάρους των αιμοκαθαιρόμενων, όπως ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), η μέτρηση δερματικών πτυχών, αλλά κυρίως η ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA). Η τελευταία μέθοδος, που θα αναλυθεί παρακάτω, χαρακτηρίζεται από την ωμική αντίσταση που παρουσιάζουν οι διάφοροι ιστοί, σε άλλοτε άλλο βαθμό ο καθένας, ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε νερό και ηλεκτρολύτες, κατά τη διέλευση μικρής έντασης εναλασσόμενου ρεύματος. Η BIA έχει τη δυνατότητα, πέρα από τη λιπομετρική της ιδιότητα, να δείχνει μέσω της γωνίας φάσης (PhA) (Φ.Τ. PhA.= 5,5 μοίρες-9 μοίρες ανάλογα με το φύλλο και την ηλικία) την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών που η βλάβη τους είναι συνυφασμένη με την οξειδωτική καταπόνηση. Όσο μικρότερη είναι η γωνία φάσης, τόσο μεγαλύτερη η βλάβη των κυτταρικών μεμβρανών που λειτουργούν σαν πυκνωτές.

Αντίστροφα, το οξειδωτικό stress, όπως αντικατοπτρίζεται και από τα επίπεδα των όψιμων οξειδωτικών προϊόντων των πρωτεϊνών ή των υδατανθράκων (AOPPs/AGEs), συνιστά σημαντικό παράγοντα κινδύνου σε AMK. 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 όψιμη γλυκοσυλίωση και στη λιπιδική υπεροξειδωση (Sahin et al., 2008). Συμπληρώματα διατροφής ωφέλησαν νεφροπαθείς σε AMK ως προς τα επίπεδα λευκωματίνης (Roxanne et al., 2008).

### 1.10.2 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, απώλεια μυϊκής μάζας και λιπώδους ιστού, υπερκαταβολισμό -ιδιαίτερα πρωτεϊνικό-, 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). Καταρχήν, η ίδια η νεφρική ανεπάρκεια συμβάλλει στην ανάπτυξη της χρόνιας φλεγμονής, ενδεχομένως μέσω αυξημένης παραγωγής, ή μειωμένης απέκκρισης φλεγμονωδών κυτταροκινών.

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, η μειωμένη νεφρική κάθαρση φλεγμονογόνων κυτταροκινών, η συγκέντρωση οξειδωτικών ουσιών και προϊόντων ενδογενούς οξείδωσης καθώς και συμπαραμαρτούσες καταστάσεις (π.χ. η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια) συμβάλλουν στη διατήρηση μιας ενεργούς φλεγμονώδους κατάστασης. Επιπλέον, οι παραπάνω ασθενείς ενδέχεται να παρουσιάζουν επίμονες λοιμώξεις είτε λόγω της ανεπάρκειας του ανοσιακού τους συστήματος είτε λόγω επιμόλυνσης από τα διαλύματα και λοιπά υλικά των μεθόδων υποκατάστασης. Τέλος, συνδράμουν και παράγοντες, που σχετίζονται με την ίδια την θεραπεία υποκατάστασης (Stenvinkel, 2002).

Διάφοροι δείκτες χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση του βαθμού ενεργοποίησης της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται πρωτεΐνες οξείας φάσης, κυτταροκίνες και μόρια προσκόλλησης, όπως 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 της CRP είναι γνωστό ότι αυξάνονται με την έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας (Stenvinkel et al,

1999) και σχετίζονται ακόμη και μετά την ένταξη σε θεραπεία υποκατάστασης με τη συνεχιζόμενη έκπτωση της υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας (Kaysen GA, 2001).

Όσον αφορά τα AGEs, μπορούν να ξεκινήσουν την φλεγμονώδη απάντηση και να προκαλέσουν διέγερση των μονοκυττάρων, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή CRP (Schwedler et al., 2001). Τα επίπεδα της IL-6 στον ορό έχει βρεθεί ότι είναι υψηλότερα σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομα (ασταθής στηθάγχη, οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου) σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Plutzky et al, 2001), ενώ συσχετίζονται με τη νεφρική ανεπάρκεια (Descamps et al, 1994). Επίσης, μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της IL-6 αποτελούν ισχυρότερο προγνωστικό δείκτη της συνολικής και της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας από τη CRP (Panichi et al., 2004, Vasan RS et al 2003; Cesari M et al, 2003). Ο TNF-α επίσης παρεμβαίνει στο συντονισμό παραγωγής πρωτεϊνών οξείας φάσης και θεωρείται σημαντικός δείκτης φλεγμονώδους νόσου στους αιμοκαθαιρόμενους νεφροπαθείς (Suffredini et al., 1999).

### *1.10.3 Αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσος*

Η καρδιαγγειακή νόσος, που περιλαμβάνει την αθηροσκληρυντική καρδιαγγειακή νόσο και τις λειτουργικές διαταραχές της καρδιάς, είναι η κυριότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας ασθενών που έχουν υποβληθεί σε νεφρική μεταμόσχευση. Η αθηροσκληρυντική νόσος έχει μελετηθεί καλύτερα και συνίσταται από τη στεφανιαία νόσο, την ισχαιμική νόσο του εγκεφάλου και την περιφερική αγγειακή νόσο. Οι παραδοσιακοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου του γενικού πληθυσμού, όπως η υπερλιπιδαιμία, η υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης εμφανίζονται πάρα πολύ συχνά σε λίπτες νεφρικών μοσχευμάτων, λόγω κυρίως των ανεπιθύμητων επιδράσεων των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, που λαμβάνουν αυτοί οι ασθενείς. 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). Η επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση σε ΧΝΝ οφείλεται σε συνεργική δράση παραγόντων κινδύνου, κλασικών και μη. 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 οξειδωτικό stress, το μεταβολικό σύνδρομο, την αναιμία, τη φλεγμονή και την τροποποίηση του μεταβολισμού του ασβεστίου και του φωσφόρου (Menon et al., 2005).

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). Διατυπώνεται η άποψη ότι η αύξηση των τελικών προϊόντων οξειδωτικού και καρβονυλικού stress (AOPP, AGEs), των αυτοαντισωμάτων έναντι τροποποιημένων βιολογικών δομών και οι πρωτεΐνες οξείας 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 την φλεγμονή και την αντίδραση οξείας φάσης σε σχέση με την προκεχωρημένη γλυκοτελική οξείδωση και τα προϊόντα της. Επομένως, τα AGEs ίσως αποτελούν καλύτερο δείκτη χρόνιας βλάβης, ενώ τα AOPPs φαίνεται ότι περιγράφουν καλύτερα την οξεία φάση οξειδωτικού stress (Miyata et al., 1999).

Σημειώνεται ακόμα ότι θα ήταν προτιμότερο να μην χρησιμοποιείται η CRP ως μακροπρόθεσμος δείκτης φλεγμονής και ελέγχου του καρδιαγγειακού κινδύνου σε αιμοκαθαιρόμενους, μια σεβαστή γνώμη, 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).

Η επιταχυνόμενη αθηρωμάτωση σχετίζεται με αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, κυτταροκινών 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). Τέλος, σε μία μελέτη 130.000 ηλικιωμένων ατόμων με ΧΝΝ, φάνηκε ότι η αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων θα μπορούσε εν μέρει να αποδοθεί στο γεγονός ότι δεν λαμβάνονταν η ενδεδειγμένη καρδιοπροστατευτική θεραπεία (Shlipak et al., 2002; Schiffrin et al., 2007).

#### *1.10.4 Ερυθροκυτταρικά αντιοξειδωτικά*

Η γλουταθειόνη προσφέρει υπόστρωμα για την υπεροξειδάση της (GPx), ένα ένζυμο που δρα απομακρύνοντας υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η ανεωγμένη μορφή της γλουταθειόνης (GSH) αντιδρά με την GPx, της οποίας ουσιώδες συστατικό είναι το Se, για το σχηματισμό της οξειδωμένης μορφής της (GSSG). Σε ασθενείς υπό AMK, 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).

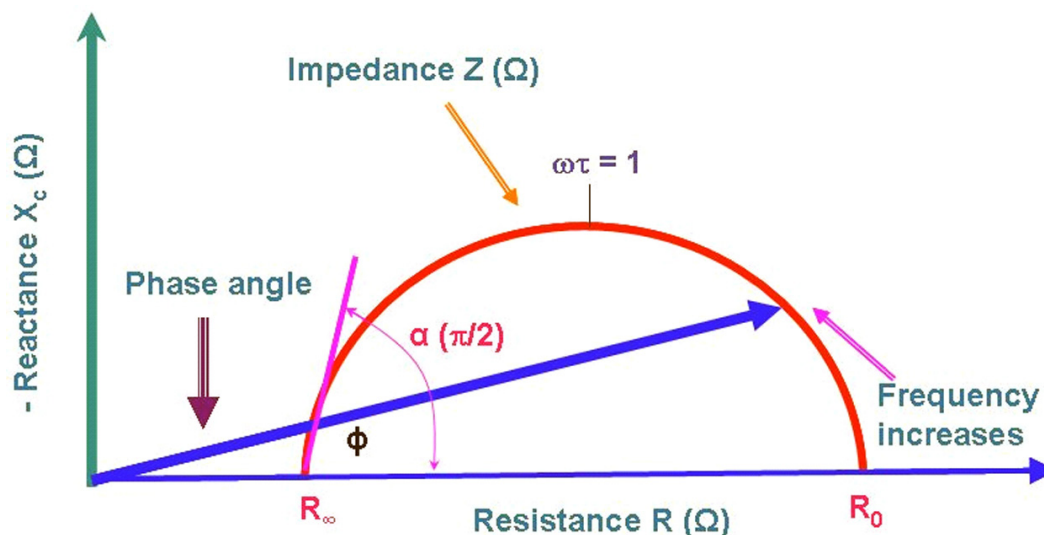
Τα επίπεδα της Cu/ Zn υπεροξειδικής δισμουτάσης του πλάσματος είναι ένας απλός και ταυτόχρονα ευαίσθητος δείκτης της οξειδωτικής καταπόνησης σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου. Τα επίπεδα SOD είναι χαμηλότερα στους καθαίρομενους ασθενείς από τους υγιείς μάρτυρες και μάλιστα χαμηλότερα στους ασθενείς σε AMK από τους ασθενείς σε CAPD (Kayabasi et al. 2010). Επίσης, 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 καθαίρομενους νεφροπαθείς σχετίζονται ακόμη με τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης και με τα συμπλέγματα πλασμίνης-αντιπλασμίνης, άρα κατ' επέκταση με την ινωδολυτική ικανότητα (Pawlak et al., 2006), όπως και με δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης (αντιγόνο του παράγοντα von Willebrand, θρομβομοντουλίνη, αναστολέα του ιστικού παράγοντα) (Pawlak et al., 2005).

#### *1.11 Η κλινική σημασία της ανάλυσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης*

Οι πρώτες μέθοδοι μέτρησης του ολικού νερού χρησιμοποιούσαν ραδιοσημασμένο νερό. Σήμερα ο υπολογισμός πραγματοποιείται με την χρήση σταθερών ισοτόπων (δευτέριο,

τρίτιο ή οξυγόνο 18). Διάφορες εναλλακτικές μέθοδοι για τον υπολογισμό του σωματικού νερού έχουν αναπτυχθεί βασισμένες στις ηλεκτρικές ιδιότητες των ιστών. Η πιο κοινή από τις μεθόδους αυτές -και πιθανά η πιο πρακτική για χρήση- είναι η ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA). Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε κάποιους βασικούς τύπους του ηλεκτρισμού. Όταν ένα ηλεκτρικό ρεύμα περνά από το σώμα, η πτώση της τάσης μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων είναι ανάλογη του ποσού του υγρού του σώματος στην συγκεκριμένη περιοχή. Η βασική αρχή, στην οποία βασίζεται η μέθοδος αυτή, σχετίζεται με την ιδιότητα κυρίως των εξωκυττάρων υγρών του σώματος, αλλά και του άπαχου ιστού, να έχουν μικρότερη αντίσταση στη ροή του ηλεκτρικού ρεύματος απ' ό,τι ο λιπώδης ιστός. Αυτό συμβαίνει, αφενός μεν λόγω των ηλεκτρολυτών (διαφόρων θετικών και αρνητικών ιόντων με κύριο το  $\text{Na}^+$ ), που υπάρχουν στα εξωκυττάρια υγρά και οι οποίοι άγουν το ηλεκτρικό ρεύμα, και αφετέρου, διότι ο μη-λιπώδης ιστός περιέχει περισσότερο νερό σε σχέση με τον λιπώδη, με αποτέλεσμα οι διαλυμένοι σ' αυτό ηλεκτρολύτες να άγουν το ηλεκτρικό ρεύμα. Επομένως, η ωμική αντίσταση του σώματος σχετίζεται άμεσα με την ποσότητα του σωματικού λίπους, αλλά και με την ποσότητα της μυϊκής μάζας και το ποσοστό ενυδάτωσης των ιστών. Η μέθοδος παραδοσιακά χρησιμοποιεί ένα χαμηλής έντασης εναλλασσόμενο ρεύμα 50 KHz ή σε νεώτερη τεχνική πολλαπλές συχνότητες (5-100KHz), που διαπερνά όλο το σώμα, το οποίο συμπεριφέρεται σαν μονός κύλινδρος (Piccoli A et al 2004). Μια άλλη πολυπλοκότητα είναι ότι το ανθρώπινο σώμα εμπεριέχει δύο τύπους ηλεκτρικής αντίστασης: την κανονική Ωμική Αντίσταση R (Resistance) και τη Χωρητική ή μη Ωμική Αντίσταση Xc (Reactance). Η R προκύπτει από τα εξωκυττάρια και τα ενδοκυττάρια υγρά, ενώ η Xc από τις μεμβράνες των κυττάρων, που περιέχουν δομικά λιπίδια και μπορούν να θεωρηθούν ότι δρουν σαν πυκνωτές.

Έτσι, όταν εφαρμόσουμε εναλλασσόμενο ρεύμα σε ένα κύκλωμα (π.χ. ανθρώπινο σώμα), η αντίσταση στη διέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος εκφράζεται από τη σύνθετη αντίσταση ή αλλιώς εμπέδηση Z, και χρησιμοποιείται για να περιγράψει την ανυσματική πρόσθεση των R και Xc, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 10).



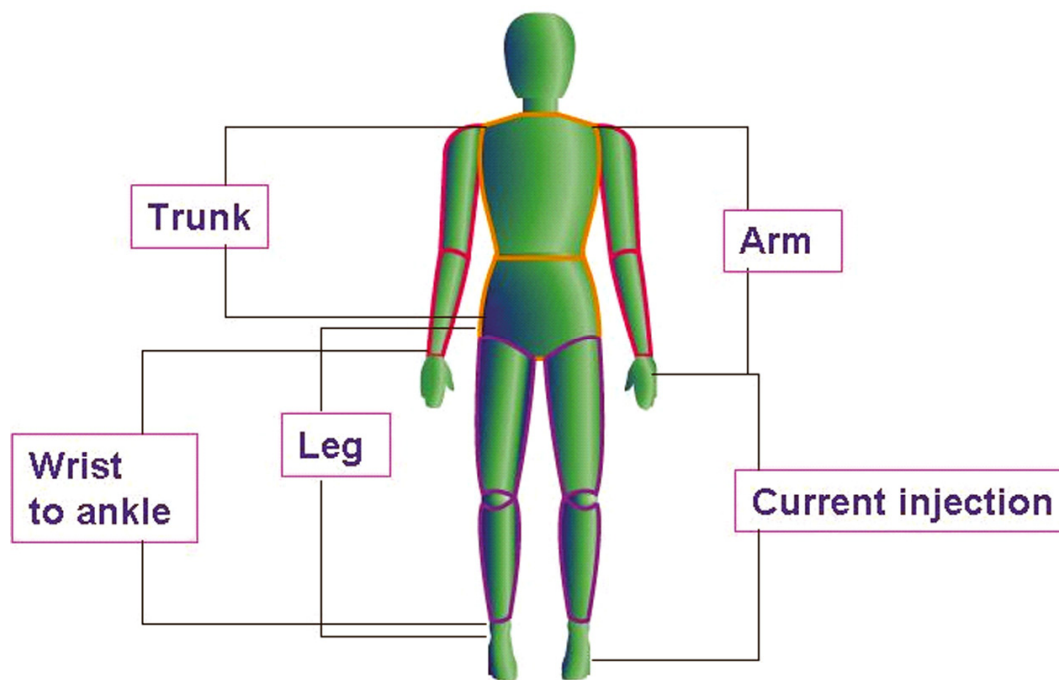
**Σχήμα 10.** Γραφική απεικόνιση της γωνίας  $\phi$ , η σχέση της με την αντίσταση  $R$ , τη χωρική αντίσταση ( $X_c$ ), την εμπέδηση ( $Z$ ) και τη συχνότητα του εφαρμοζόμενου ρεύματος. Δηλαδή  $Z = \sqrt{R^2 + X_c^2}$ , όπου  $X_c = \frac{1}{\omega C}$  και  $\omega = 2\pi f$  που  $f =$  συχνότητα εναλλασσόμενου ρεύματος και  $C =$  χωρητικότητα κυττάρων.

Η γωνία φάσης (phase angle ή PhA) που προκύπτει από τις δύο αυτές παραμέτρους ( $R, X_c$ ), δηλώνει τον βαθμό λειτουργικότητας και ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών ανεξάρτητα από λίπος, βάρος ή ύψος (Allison RD, 2005). Οι φυσιολογικές τιμές ποικίλουν από 6-9 μοίρες ανάλογα με το φύλλο και την ηλικία. Οι γυναίκες και οι ηλικιωμένοι έχουν τάση για μικρότερη γωνία φάσης. Προγνωστικά για την πιθανότητα επιβίωσης των νεφροπαθών, η γωνία φάσης έχει συσχετισθεί θετικά, ανεξάρτητα από τα μεθοδολογικά προβλήματα της BIA για τον προσδιορισμό του ξηρού σωματικού βάρους (Maggiore Q et al, 1996). Όσο πιο μεγάλη είναι η γωνία φάσης, τόσο πιο ακέραιες φαίνονται οι κυτταρικές μεμβράνες καθώς και το προσδόκιμο ποσότητας και ποιότητας ζωής των ασθενών. Η ίδια εκτίμηση υπάρχει και για μια σειρά χρόνιων νοσημάτων, όπως καρκίνος (Digant Gupta et al, 2008), HIV (M.Ott et al, 1995), υποθρεψία, γήρας, αλκοολισμός κ.λπ. Η άποψη πως η ενδοκυττάρια αφυδάτωση συνδυάζεται με αυξημένη γωνία φάσης (ειδικά σε καρκινοπαθείς), όταν αυτή αυξάνεται μετά την επανυδάτωση και πάλι οδηγεί στο συμπέρασμα της βλάβης κυτταρικών μεμβρανών (Wirth R et al, 2010; Muobarac Tuorkey, 2012; Davis et al, 2009).

Η λιπομέτρηση που γίνεται με τη μέθοδο της ανάλυσης της βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) δείχνει την κατάσταση θρέψης των νεφροπαθών, που ως γνωστόν πάσχουν από δυσθρεψία. Παράλληλα, έχει χρησιμοποιηθεί στον προσδιορισμό του

ιδανικού ξηρού βάρους των νεφροπαθών. Το ηλεκτρικό σήμα μεταφέρεται πιο εύκολα στους υδαρείς ιστούς σε σχέση με τους λιγότερο υδαρείς, όπως το λίπος. Από τη μέτρηση της ωμικής αντίστασης ( $R_z$ ), που εκφράζει την υδατική κατάσταση των ιστών και της μη ωμικής αντίστασης ( $X_c$ ), που εκφράζει το ποσό της ενέργειας που μπορεί να συσσωρευτεί στους ιστούς (τα κύτταρα των ιστών συμπεριφέρονται σαν πυκνωτές) και με ένα συνδυασμό εξισώσεων, προκύπτει η ποσοτική ανάλυση των συστατικών του σώματος, καθώς και η γωνία φάσης (PhA), που θεωρείται προγνωστικός δείκτης της επιβίωσης των νεφροπαθών σε AMK (Abad S et al, 2011).

Το **Σχήμα 11** απεικονίζει τα σημεία του ανθρώπινου σώματος, τα οποία επιλέγονται σε εξετάσεις ρουτίνας για την ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA).



**Σχήμα 11.** Σχηματική απεικόνιση των σημείων του ανθρώπινου σώματος, τα οποία επιλέγονται σε εξετάσεις ρουτίνας για την ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης.



## **B. Ειδικό μέρος**

### **2. Σκοπός**

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη δεικτών οξειδωτικού stress σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, υπό αιμοκάθαρση (ΑΜΚ) πριν, κατά και μετά την διαδικασία αιμοκάθαρσης και η σύγκρισή τους τόσο με υγιείς μάρτυρες, όσο και με CAPD ασθενείς. Συγκεκριμένα μελετώνται η TAC, η GSH, η MDA, η SOD activity, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c), ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn) στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της συνεδρίας αιμοκάθαρσης. Η επικρατούσα άποψη ως τώρα ήταν πως η διαδικασία της αιμοκάθαρσης, ασχέτως βιοσυμβατότητας μεμβράνης, επέτεινε την οξειδωτική καταπόνηση σε άλλοτε άλλο βαθμό ανάλογα με το υλικό της μεμβράνης. Πρόσφατες δημοσιεύσεις εμφανίζουν βελτιωμένη συγκριτική εικόνα στο τέλος της συνεδρίας ΑΜΚ, σε σχέση με την αρχή, όταν χρησιμοποιούνται νέες βιοσυμβατότερες μεμβράνες. Δεν έχει γίνει επισταμένη μελέτη της μεταβολής των δεικτών που σχετίζονται με την οξειδωτική καταπόνηση κατά τη διάρκεια της συνεδρίας ΑΜΚ. Στην παρούσα διατριβή, πέρα από κλασσικούς δείκτες stress, επιχειρείται ο συσχετισμός ενός πρώιμου οξειδωτικού προϊόντος γλυκοζυλίωσης, όπως η HbA1c με αυτούς. Επίσης, γίνεται συνεκτίμηση των αερίων αίματος και στοιχείων της οξεοβασικής ισορροπίας του αίματος, όπως αυτό διέρχεται από το φίλτρο καθώς και παράμετροι της ανάλυσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA).

Η BIA που έγινε στους αιμοκαθαιρόμενους στην αρχή, στη μέση όσο και στο τέλος της ΑΜΚ, πέρα από την κατάσταση θρέψης τους, έδωσε και στοιχεία για την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών (που είναι παράγοντας συνυφασμένος με την ένταση του οξειδωτικού stress) μέσω της γωνίας φάσης (PhA).

Παράλληλα, γίνεται μελέτη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) σε έκπλυμα φίλτρου στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της αιμοκάθαρσης καθώς και σε κάποιους ασθενείς που διατηρούν υπολειπόμενη διούρηση στα ούρα στην αρχή και στο τέλος της συνεδρίας ΑΜΚ.





### 3. Μεθοδολογία

#### 3.1 Επιλογή ασθενών

Η κλινική δοκιμή έγινε σύμφωνα με τις Οδηγίες της Διακήρυξης του Ελσίνκι. Οι ασθενείς και οι εθελοντές ενημερώθηκαν αναλυτικά, ενώ επίσης παρείχαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη.

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 30 (τριάντα) ασθενείς με Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια (ΧΝΑ) τελικού σταδίου (14 γυναίκες και 16 άνδρες, ηλικίας  $64.0 \pm 14$  ετών) σε αιμοκάθαρση. Επίσης συμμετείχαν 15 (δεκαπέντε) υγιείς εθελοντές με 9 γυναίκες και 6 άνδρες, ηλικίας  $56 \pm 12$  ετών), καθώς και 20 (είκοσι) εθελοντές CAPD 13 άνδρες και 7 γυναίκες ηλικίας 51 έως 70 ετών). Για τον κάθε ασθενή και εθελοντή λήφθηκε λεπτομερές ιατρικό ιστορικό. Οι ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου, υπό ΑΜΚ αποτέλεσαν την Ομάδα Πειράματος (ΟΠ), ενώ οι εθελοντές με φυσιολογική νεφρική λειτουργία την Ομάδα Ελέγχου 1 (ΟΕ<sub>1</sub>), και οι ασθενείς της CAPD την Ομάδα Ελέγχου 2 (ΟΕ<sub>2</sub>). Αρχικά στην ΟΠ συμμετείχαν 35 ασθενείς με ΧΝΑ, ωστόσο κατά τη διάρκεια της μελέτης οι 5 από αυτούς αποκλείστηκαν από την περαιτέρω συλλογή στοιχείων και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, καθώς δεν τηρούσαν πλέον τους κανόνες ένταξης στο δείγμα της έρευνας.

Σε όλους τους ασθενείς της ΟΠ χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα με μεμβράνες μεταξύ «low flux» και «high flux» ( $\text{kuf} < 20$  και  $\text{kuf} > 10$ ) κατασκευασμένες από πολυσουλφόνη, ένα πολυμερές συνθετικό υλικό. Το διάλυμα της ΑΜΚ που χρησιμοποιήθηκε στους ασθενείς είχε την παρακάτω σύσταση (**Πίνακας 9**):

**Πίνακας 9.** Ανάλυση του διαλύματος της ΑΜΚ που χρησιμοποιήθηκε στους ασθενείς της μελέτης

Συστατικό	mEq/l
Νάτριο	138
Κάλιο	2
Ασβέστιο	3.5
Μαγνήσιο	1
Χλωριούχα	109.5
Οξικό οξύ	3
Διττανθρακικά	35
Γλυκόζη (Κατά περίπτωση, σε διαβητικούς ή υπογλυκαιμικά επεισόδια)	0-10

### 3.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού στο δείγμα της έρευνας (inclusion-exclusion criteria)

#### 3.2.1 Κριτήρια ένταξης (inclusion criteria) στις ομάδες

Τα κριτήρια ένταξης των ασθενών στην ΟΠ, που λήφθηκαν υπόψη στην παρούσα διατριβή, παρουσιάζονται στο **Πίνακα 10**, ενώ των εθελοντών της ΟΕ<sub>1</sub> στον **Πίνακα 11** και της ΟΕ<sub>2</sub> στον **Πίνακα 12**:

#### Πίνακας 10. Κριτήρια ένταξης στην ΟΠ

<i>a/a</i>	<b>Κριτήριο</b>
1	Ηλικία > 34 ετών.
2	Φύλο: Άρρενες και θήλεις
3	Πρωτοπαθές νόσημα: Χωρίς εξαίρεση
4	Διάρκεια εφαρμογής ΑΜΚ > 6 μήνες
5	Σταθερό σχήμα κάθαρσης, για > 2 μήνες από την έναρξη και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και χωρίς λήψη ισχυρών αντιοξειδωτικών
6	Σταθερό σχήμα σιδηροθεραπείας και ερυθροποιητίνης την περίοδο της ΑΜΚ

#### Πίνακας 11. Κριτήρια ένταξης στην ΟΕ<sub>1</sub>

<i>a/a</i>	<b>Κριτήριο</b>
1	Ηλικία > 34 ετών.
2	Φύλο: Άρρενες και θήλεις
3	Φυσιολογική νεφρική λειτουργία
4	Χωρίς φαρμακευτική αγωγή ή λήψη αντιοξειδωτικών
5	Χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα υγείας ή συστηματικό πρόβλημα

#### Πίνακας 12. Κριτήρια ένταξης στην ΟΕ<sub>2</sub>

<i>a/a</i>	<b>Κριτήριο</b>
1	Ηλικία > 34 ετών.
2	Φύλο: Άρρενες και θήλεις
3	Πρωτοπαθές νόσημα: Χωρίς εξαίρεση
4	Διάρκεια εφαρμογής CAPD > 6 μήνες
5	Σταθερό σχήμα κάθαρσης, για > 2 μήνες από την έναρξη και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και χωρίς λήψη ισχυρών αντιοξειδωτικών
6	Σταθερό σχήμα σιδηροθεραπείας και ερυθροποιητίνης την περίοδο της CAPD

### 3.2.2 Κριτήρια αποκλεισμού (exclusion criteria) από τις ομάδες

Τα κριτήρια αποκλεισμού από την ΟΠ παρουσιάζονται στον **Πίνακα 13**:

**Πίνακας 13.** Κριτήρια αποκλεισμού από την ΟΠ

<i>a/a</i>	<b>Κριτήριο</b>
<b>1</b>	$Kt/V < 1.2$ *
<b>2</b>	Διάρκεια εφαρμογής AMK < 6 μήνες
<b>3</b>	Σταθερό σχήμα AMK < 2 μήνες
<b>4</b>	Η λήψη ισχυρής αντιοξειδωτικής αγωγής
<b>5</b>	Εμπύρετο και CRP πάνω από τριπλάσιο του φυσιολογικού

\*  $Kt/V$ : ένας αριθμός που χρησιμοποιείται για να ποσοτικοποιηθεί η επάρκεια της AMK

### 3.3 Λήψη δειγμάτων αίματος και διαλύματος

Τα δείγματα αίματος και διαλύματος στην ΟΠ, στα οποία πραγματοποιήθηκαν οι εργαστηριακές αναλύσεις, λήφθηκαν στις εξής χρονικές στιγμές:

**1<sup>η</sup> δειγματοληψία** (χρονική στιγμή 0): Κλινική και εργαστηριακή εκτίμηση των ασθενών για τυχόν ύπαρξη κριτηρίων αποκλεισμού και διαμόρφωση της υπό μελέτη ομάδας πριν την έναρξη της AMK. Πρώτο δείγμα αίματος για τον προσδιορισμό όλων των υπό μελέτη παραμέτρων στην ομάδα, καθώς και διαλύματος και εκπλύματος φίλτρου τόσο στην αρχή, όσο και 10 λεπτά μετά την έναρξη AMK.

**2<sup>η</sup> δειγματοληψία** (χρονική στιγμή 1, μετά από 2 ώρες εις το μέσο της αιμοκάθαρσης): Δεύτερο δείγμα αίματος και εκπλύματος για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη παραγόντων της ομάδας κατά την πορεία της AMK.

**3<sup>η</sup> δειγματοληψία** (χρονική στιγμή 2, στο τέλος της συνεδρίας αιμοκάθαρσης): Τρίτο δείγμα αίματος και εκπλύματος για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη παραγόντων της ομάδας μετά την ολοκλήρωση της AMK.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τη 2<sup>η</sup> συνεδρία της εβδομάδας και ξεκινούσαν 44 ώρες μετά το τέλος της προηγούμενης συνεδρίας. Με μια κατάλληλη αποστειρωμένη βελόνα λήφθηκαν 10 ml φλεβικού αίματος από το αρτηριακό σκέλος του κυκλώματος εξωσωματικής κυκλοφορίας. Στη συνέχεια το αίμα μεταφέρθηκε σε πλαστικά σωληνάρια χωρητικότητας 10ml, τα οποία περιείχαν κατάλληλο αντιπηκτικό. Ακολούθησε ήπια

ανάδευση των δειγμάτων για την καλή ανάμειξη του περιεχομένου τους. Τα δείγματα ύστερα φυγοκεντρήθηκαν για 30 λεπτά στις 3.500 στροφές, για να γίνει πλήρης διαχωρισμός του πλάσματος και των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ύστερα τοποθετήθηκαν (πλάσμα και ερυθρά) στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι να αναλυθούν. Τα δείγματα εκπλυμάτων διαλύματος τοποθετήθηκαν κι αυτά στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Λήφθηκαν δείγματα φλεβικού αίματος προ του προγεύματος, τόσο από την Ομάδα των υγείων ΟΕ<sub>1</sub> (n=15), όσο και από την Ομάδα των ασθενών (n=20) υπό συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (CAPD) ΟΕ<sub>2</sub>, ώστε να πραγματοποιηθεί ανάλυση της TAC πλάσματος και ερυθρών αιμοσφαιρίων και να συγκριθεί με τις αντίστοιχες τιμές των ασθενών σε ΑΜΚ. Η διαδικασία για τα δείγματα αυτά φλεβικού αίματος ήταν ανάλογη του αίματος των ασθενών στην ΟΠ.

### **3.4 Εργαστηριακές αναλύσεις**

Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες μέθοδοι μελέτης της οξειδοαναγωγικής κατάστασης:

1. Προσδιορισμός της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου δισμουτάση του υπεροξειδίου (Superoxide dismutase, SOD) στα **ερυθρά αιμοσφαίρια** του αίματος.
2. Προσδιορισμός των επιπέδων γλουταθειόνης του **πλάσματος** (glutathione, GSH).
3. Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής κατάστασης -ικανότητας (Total Antioxidant Capacity, TAC) του πλάσματος, των ερυθροκυττάρων, των ούρων (σε όσους βέβαια από τους ασθενείς διατηρείται κάποιου βαθμού υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία) και του εκπλύματος φίλτρου.
4. Προσδιορισμός της μαλονικής διαλδεΰδης (MDA) του **πλάσματος και του εκπλύματος φίλτρου**.
5. Προσδιορισμός των επιπέδων του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) του **πλάσματος**.
6. Προσδιορισμός των επιπέδων χαλκού και ψευδαργύρου του **πλάσματος**.

### 3.4.1 Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, το οποίο καταλύει την αυτο-οξειδωση του ανιόντος υπεροξειδίου (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και μοριακό οξυγόνο. Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητάς της έχουν αναπτυχθεί πολλές άμεσες και έμμεσες μέθοδοι.

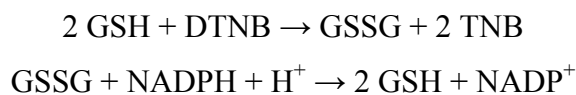
Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο της Sigma-Biochemica με κωδικό αριθμό «19160». Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της οξειδάσης της ξανθίνης και έναν καινοτόμο χρωματικό παράγοντα. Συγκεκριμένα, η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα ιδιαίτερα υδατοδιαλυτό τετραζολικό άλας [2-(4-Iodophenyl)- 3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)- 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 με τη δραστηριότητα της οξειδάσης της ξανθίνης, η οποία αναστέλλεται από τη SOD. Συνεπώς, η δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου μπορεί να μετρηθεί μέσω χρωματομετρικής μεθόδου (Vaculin et al., 2010; Katsoulis et al., 2010; Otitoloju et al., 2011).

### 3.4.2 Γλουταθειόνη (GSH)

Η γλουταθειόνη (reduced glutathione, GSH) είναι ένα τριπεπτίδιο και η θειόλη, που απαντάται στις μεγαλύτερες ποσότητες στα περισσότερα κύτταρα και συμμετέχει σε πολλές βιολογικές διεργασίες, όπως στην απομάκρυνση των υδροπεροξειδίων και τη διατήρηση της οξειδωτικής κατάστασης των σουλφυδρικών πρωτεϊνών. Αποτελεί το πιο σημαντικό αντιοξειδωτικό στους ζωικούς ιστούς.

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο της Sigma-Biochemica με κωδικό αριθμό «CS0260». Σύμφωνα με την αρχή λειτουργίας του αντιδραστηρίου, το βιολογικό δείγμα αρχικά αποπρωτεϊνώνεται με 5% 5-sulfosalicylic acid solution. Στη συνέχεια με φυγοκέντρηση απομακρύνονται οι πρωτεΐνες που έχουν καθιζάνει και πραγματοποιείται η μέτρηση της γλουταθειόνης. Η μέτρηση είναι ένας κινηματικός προσδιορισμός, κατά τον οποίο ποσότητες GSH καταλύουν συνεχώς την αναγωγή του 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) σε TNB και δισουλφίδιο της γλουταθειόνης

(GSSG), που σχηματίζεται και ανακυκλώνεται από την αναγωγή της γλουταθειόνης και NADPH.



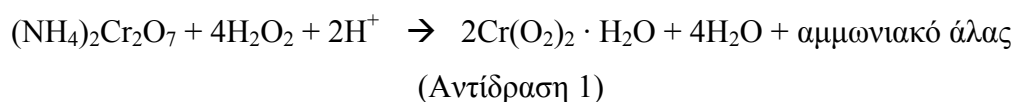
Συνολικά:



Η αντίδραση είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση της γλουταθειόνης σε συγκεντρώσεις ως 2μM. Το κίτρινο προϊόν, 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB) μετράται φωτομετρικά στα 412nm. Το κιτ χρησιμοποιεί μια πρότυπη καμπύλη αναφοράς της ανεωγμένης γλουταθειόνης, για να προσδιορίσει την ποσότητα γλουταθειόνης στο βιολογικό δείγμα (Akerboom and Sies, 1981; Nair et al. 1991).

### 3.4.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)

Για την μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στον ορό, στα ερυθροκύτταρα, στο έκπλυμα φίλτρου και στα ούρα, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυανού του CrO<sub>5</sub> (Charalampidis et al., 2009). Η παρούσα μέθοδος βασίζεται στη χρήση ενός ισχυρού οξειδωτικού, του υπεροξειδίου του χρωμίου [Cr(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O ή εν συντομία CrO<sub>5</sub>]. 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 λ= 569 nm σε ισοαμυλική αλκοόλη και λ=566 nm σε ανθρακικό προπυλεστέρα. Για το όξινο περιβάλλον της αντίδρασης χρησιμοποιήθηκαν οξέα όπως H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και HClO<sub>4</sub>. Όταν τα προϊόντα της αντίδρασης (1) αναμειχθούν με οργανικό διαλύτη, π.χ ισοαμυλική

αλκοόλη, το σχηματιζόμενο CrO<sub>5</sub> 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 CrO<sub>5</sub>. 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 τοποθέτησή της στο φασματοφωτόμετρο 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 ορισθεί 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:

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

#### 3.4.4 Φωτομετρικός προσδιορισμός της μαλονικής διαλδεύδης (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 μαλονικής διαλδεύδης (malondialdehyde, MDA). 100μl δείγματος αραιώθηκαν με δις-αποσταγμένο νερό σε αναλογία 1:1 (50μL δείγμα και 50μL ddH<sub>2</sub>O) 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 επωάστηκαν στους 95°C για μια ώρα. Η αντίδραση διακόπηκε αμέσως με την τοποθέτηση των δειγμάτων σε πάγο και τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 στροφές για 5 λεπτά. Η απορρόφηση του υπερκείμενου μετρήθηκε στα 532nm με τη χρήση φασματοφωτόμετρου.

#### *3.4.5 Προσδιορισμός των επιπέδων H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> με τη μέθοδο FOX-2*

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του πλάσματος μετρήθηκε με την μέθοδο FOX-2 (ferrous ion oxidation xylenol orange version-2) (Nourooz-Zadeh, 1999). 90μl δείγματος τοποθετήθηκαν σε eppendorf και στη συνέχεια προστέθηκαν 10μl μεθανόλης και 900μl δ/τος FOX-2. Τα δείγματα αναδεύτηκαν ισχυρά σε Vortex και στη συνέχεια παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Ακολούθησε ισχυρή φυγοκέντρωση στα 15.000 x g για 10 λεπτά και φωτομέτρηση στα 560nm. Η συγκέντρωση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> υπολογίστηκε με βάση πρότυπης καμπύλης.

Το δ/μα FOX-2 περιείχε:

1. 100μmol/l xylenol orange
2. 250 μmol/l ammonium ferrous sulfate
3. 90% methanol
4. 4 mmol/l butylated hydroxytoluene
5. 25 mmol/l sulfuric acid

#### *3.4.6 Επίπεδα χαλκού και ψευδαργύρου στο πλάσμα*

Τα επίπεδα χαλκού και ψευδαργύρου στο πλάσμα του αίματος προσδιορίστηκαν με τη χρήση φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης (Perkin Elmer spectrometer, model 560). Τα δείγματα αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1+4 για τις μετρήσεις του ψευδαργύρου και 1+2 για τις μετρήσεις του χαλκού. Η ευαισθησία ορίστηκε στα 0.018μg/ml για τον ψευδάργυρο και στα 0.09μg/ml για τον χαλκό για κάθε 1% απορρόφησης.



### **3.5 Βιοχημικές αναλύσεις**

Ο κάθε ασθενής υποβλήθηκε σε ένα σύνολο βιοχημικών εξετάσεων στην αρχή και στο τέλος της ΑΜΚ. Οι εξετάσεις αυτές περιλάμβαναν: ουρία, κρεατινίνη, νάτριο, κάλιο, ουρικό οξύ, αλβουμίνη, ολική πρωτεΐνη, φώσφορο, ασβέστιο και μαγνήσιο. Στόχος των βιοχημικών εξετάσεων είναι ο έλεγχος απόδοσης της ΑΜΚ και η μεταβολή των παραμέτρων, που συμβάλλουν στον έλεγχο του οξειδωτικού stress, όπως η αλβουμίνη και το ουρικό οξύ. Επίσης πραγματοποιείται έλεγχος των συγκεντρώσεων των ηλεκτρολυτών.

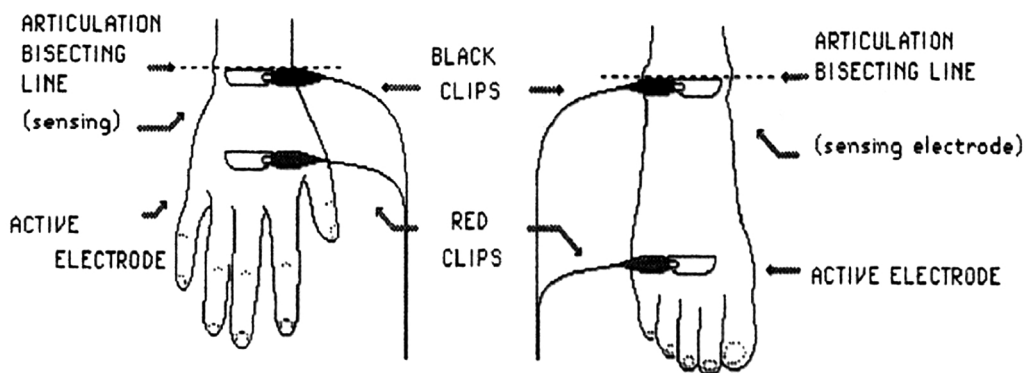
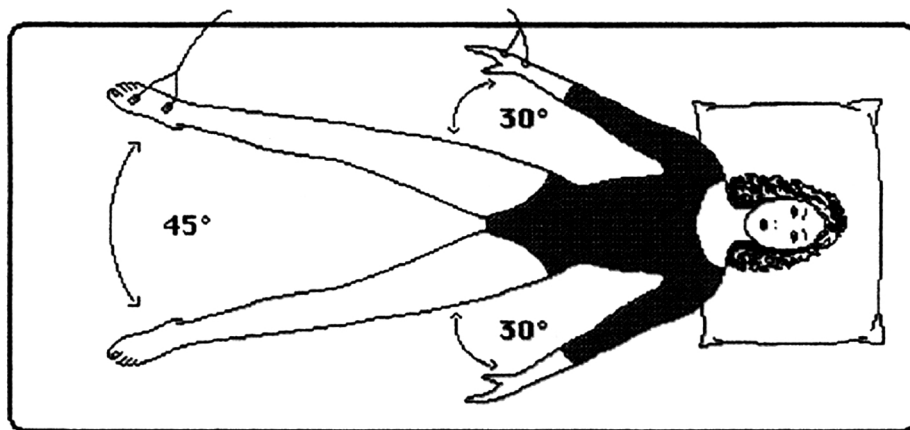
Όλοι οι ασθενείς, αλλά και οι υγιείς εθελοντές, υποβλήθηκαν αρχικά σε πλήρη βιοχημικό και αιματολογικό έλεγχο, καθώς και σε έλεγχο φλεγμονωδών παραγόντων στην αρχή της μελέτης.

### **3.6 Ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA)**

Η ανάλυση της βιοηλεκτρικής εμπέδησης έγινε με το μηχάνημα **BODYGRAM-AKERN BIA 101 (Σχήμα 12)**. Τοποθετήθηκαν τέσσερα ηλεκτρόδια, δύο στο δεξί κάτω άκρο, ένα στο δεύτερο μετατόρσιο και ένα στην άκρη της κνήμης εξωτερικά προς την ποδοκνημική άρθρωση και δύο στο δεξί άνω άκρο, ένα στο δεύτερο μερακάρπιο και ένα στην άκρη του πήχη προς την άρθρωση του καρπού και διοχετεύτηκε εναλασσόμενο ρεύμα έντασης 800mA και συχνότητας 50kHz. Οι μετρήσεις έγιναν σε οριζόντια θέση με τα χέρια απλωμένα σε απόσταση 30 μοιρών από το σώμα και με τα πόδια ανοιχτά να σχηματίζουν μια γωνία 45 μοιρών μεταξύ τους και έγιναν στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της αιμοκάθαρσης (**Σχήμα 13**). Τα ηλεκτρόδια δεν τοποθετήθηκαν στην πλευρά λειτουργούσας AVF. Τα αποτελέσματα της αντίστασης (R) σε  $\Omega$ , της αντίδρασης (Xc) σε  $\Omega$ , καθώς και της γωνίας φάσης που προκύπτει από αυτές, μετρήθηκαν από το εν λόγω μηχάνημα και έδωσαν στοιχεία, τόσο για τη σύσταση στοιχείων του σώματος και της θρέψης των νεφροπαθών, όσο και για την ακεραιότητα των κυτταρικών τους μεμβρανών. Οι φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων μέτρησης της BIA σύμφωνα με τον κατασκευαστή του BODYGRAM-AKERN BIA 101 παρουσιάζονται στο Σχήμα 14.



Σχήμα 12. Η συσκευή Bodygram Akern BIA 101



Σχήμα 13. Σχηματική απεικόνιση θέσης σώματος κατά την BIA και σημείων προσκόλλησης των ηλεκτροδίων.

**Ποσοτική και ποιοτική ανάλυση της σύνθεσης του σώματος**  
**Φυσιολογικά επίπεδα**

**Γωνία φάσης (ΡΑ)**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	6 - 8	6 - 7
< 50	5,5 - 6	5 - 6
< 70	5 - 5,6	4,8 - 5,2

**Ανταλλαγή νατρίου /καλίου (ΝΑΚ)**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	0.85	0.9
< 50	0.9	1.0
< 70	1.1	1.15

**FFM**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	80 - 85%	78 - 80%
< 50	78 - 80%	76 - 78%
< 70	75 - 80%	70 - 75%

**FM**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	15 - 18%	16 - 20%
< 50	18 - 20%	22 - 26%
< 70	20 - 22%	28 - 30%

**BCM**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	> 50%	> 49%
< 50	> 43%	> 40%
< 70	> 40%	> 38%

**TBW**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	65%	62%
< 50	60%	58%
< 70	58%	55%

**ECW**

Ηλικία	Άνδρες	Γυναίκες
< 30	38 - 44%	39 - 45%
< 50	39 - 48%	40 - 48%
< 70	42 - 50%	42 - 53%

**BCMI**

< 8	Ελλιπής διατροφή
> 8	Φυσιολογικό
> 15	Αθλητής

**BMI**

< 18	Έλλειποβαρής
18 - 25	Φυσιολογικό βάρος
26 - 30	Υπέρβαρος
> 30	Παχυσαρκία

**Σχήμα 14.** Φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων μέτρησης της BIA σύμφωνα με τον κατασκευαστή του BODYGRAM-AKERN BIA 101.

### **3.7 Στατιστική ανάλυση**

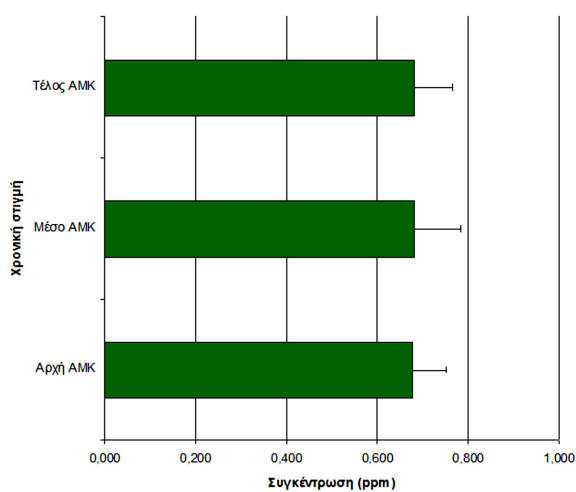
Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικό σφάλμα. Για τον προσδιορισμό στατιστικής σημαντικότητας μεταξύ των μέσων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test και η ανάλυση two-way analysis of variance (ANOVA), για την ανίχνευση στατιστικών σημαντικά διαφορών ανάμεσα στις ομάδες στα διαφορετικά χρονικά σημεία. Για την συσχέτιση μεταξύ των δεδομένων, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση bivariate correlation με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο SPSS 17.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Τιμές  $p < 0.05$  θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

## 4. Αποτελέσματα

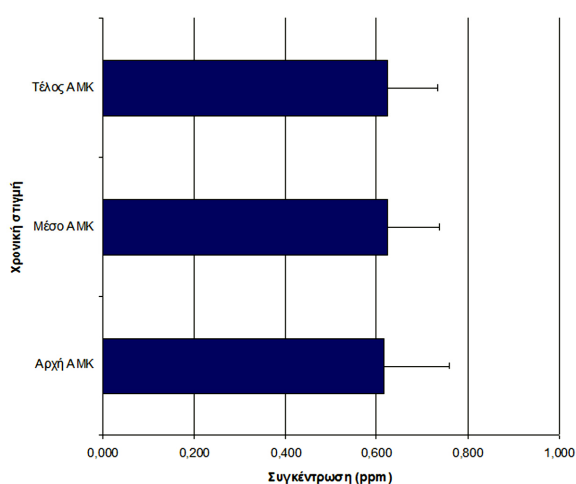
### 4.1 Εργαστηριακές αναλύσεις

#### 4.1.1 Μεταβολή των επιπέδων ψευδαργύρου και χαλκού κατά τη διάρκεια της AMK

Στα **Γραφήματα 1 και 2** παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης χαλκού και ψευδαργύρου στο πλάσμα του αίματος των ασθενών της AMK.

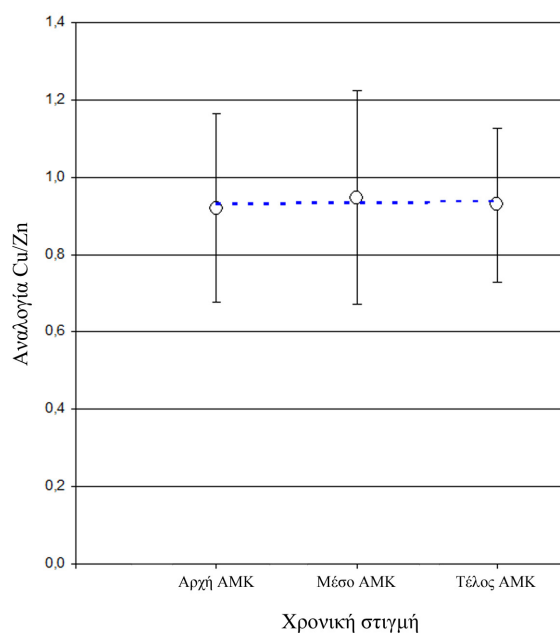


**Γράφημα 1.** Συγκέντρωση ψευδαργύρου στο πλάσμα αίματος των ασθενών. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.



**Γράφημα 2.** Συγκέντρωση χαλκού στο πλάσμα αίματος των ασθενών. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

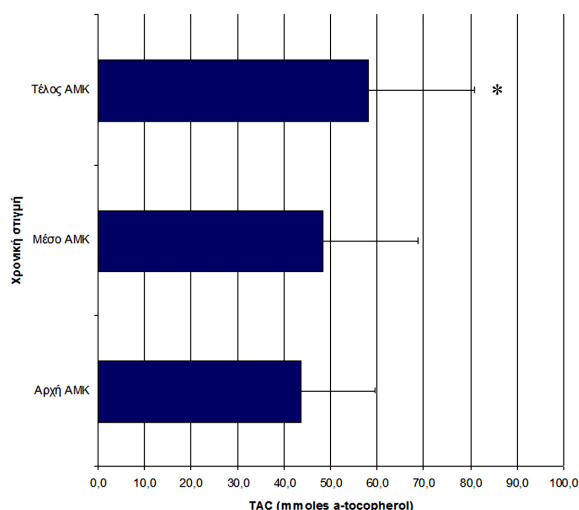
Τόσο από τα **Γραφήματα 1 και 2** όσο και από την αναλογία χαλκού/ψευδαργύρου που παρουσιάζεται στο **Γράφημα 3** είναι εμφανές ότι οι ασθενείς δεν υφίστανται μεταβολή των συγκεντρώσεων των δύο αντιοξειδωτικών μετάλλων στο πλάσμα του αίματος σε καμία χρονική στιγμή της AMK.



**Γράφημα 3.** Αναλογία χαλκού/ψευδαργύρου στο πλάσμα του αίματος. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

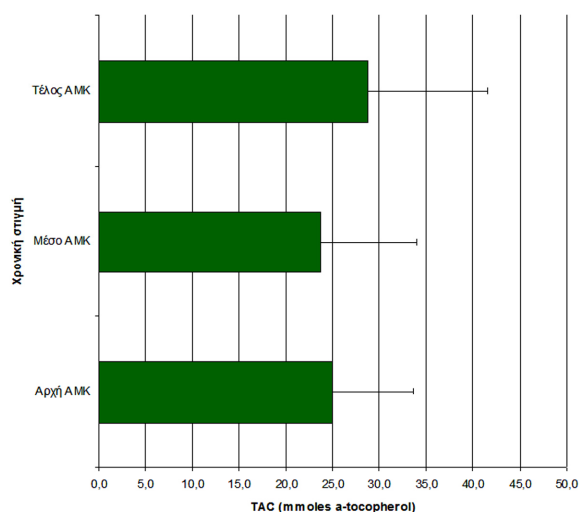
#### 4.1.2 Μεταβολή των επιπέδων TAC στο πλάσμα του αίματος και τα ερυθρά αιμοσφαίρια κατά τη διάρκεια της AMK

Η AMK οδήγησε σε σταδιακή αύξηση της TAC του πλάσματος του αίματος. Συγκεκριμένα, στο Μέσο της AMK η TAC αυξήθηκε κατά περίπου 11%, ενώ στο τέλος της AMK η TAC είχε αυξηθεί κατά 33%. Η αύξηση αυτή ήταν στατιστικά σημαντική ( $p < 0.05$ ) (**Γράφημα 4**).



**Γράφημα 4.** Μεταβολή της TAC στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK. \* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

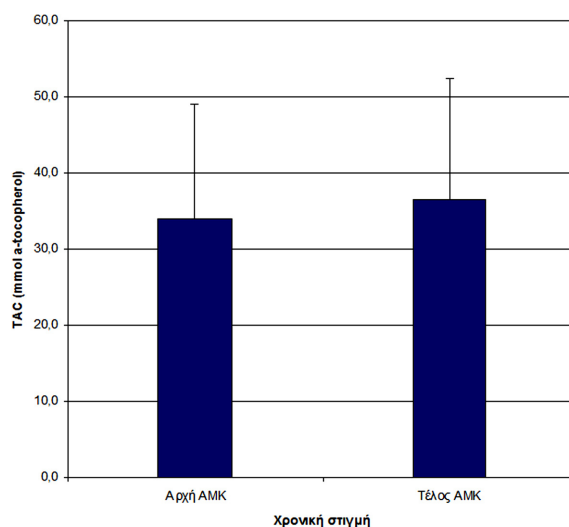
Κατά τη διάρκεια της AMK η TAC των ερυθρών αιμοσφαιρίων παρέμεινε σταθερή, αν και έγινε εμφανής μια μικρή τάση αύξησής της στο τέλος της AMK. Συγκεκριμένα σε σχέση με την αρχή της AMK η TAC αυξήθηκε κατά 3.7 mmoles a-tocopherol (15%), χωρίς ωστόσο αυτή η αύξηση να είναι στατιστικά σημαντική (**Γράφημα 5**).



**Γράφημα 5.** Μεταβολή της TAC στα ερυθρά αιμοσφαίρια του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.1.3 Μεταβολή των επιπέδων TAC στα ούρα στην αρχή και το τέλος της AMK

Η TAC στα ούρα των ασθενών δεν σημείωσε κάποια αξιοσημείωτη μεταβολή, όπως φαίνεται στο **Γράφημα 6**. Να τονίσουμε εδώ ότι δεν είναι εφικτή η συλλογή ούρων από όλους τους ασθενείς, αλλά μόνο σε όσους βέβαια διατηρείται κάποιου βαθμού υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία.

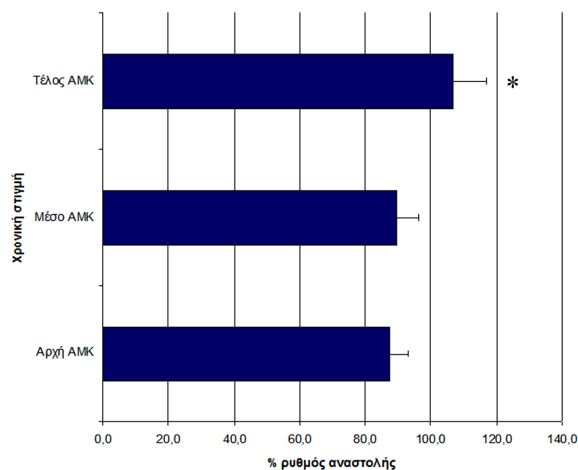


**Γράφημα 6.** Μεταβολή της TAC στα ούρα των ασθενών στην αρχή και το τέλος της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.1.4 Μεταβολή της δραστηριότητας της SOD κατά τη διάρκεια της AMK

Στο **Γράφημα 7** παρουσιάζεται η μεταβολή της δραστηριότητας της SOD κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης. Ενώ κατά τη διάρκεια της AMK δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στη δραστηριότητα της SOD, ωστόσο στο τέλος της AMK ήταν αυξημένη κατά 22% ( $p < 0.05$ ).

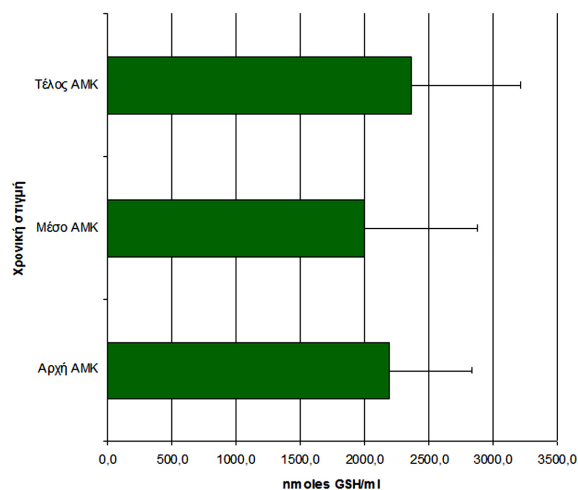




**Γράφημα 7.** Μεταβολή της δραστηριότητας της SOD κατά τη διάρκεια της AMK. \* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.1.5 Μεταβολή των επιπέδων της GSH κατά τη διάρκεια της AMK

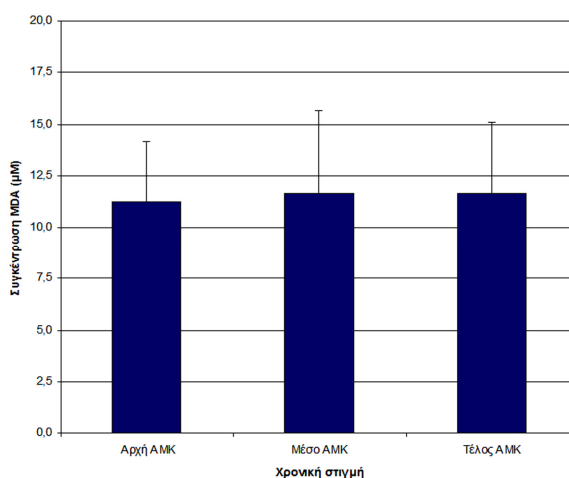
Η συγκέντρωση της GSH στο πλάσμα του αίματος των ασθενών παρέμεινε σταθερή χωρίς να παρατηρηθούν σημαντικές αυξομειώσεις κατά τη διάρκεια της AMK (**Γράφημα 8**).



**Γράφημα 8.** Μεταβολή των επιπέδων της γλουταθειόνης στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.1.6 Μεταβολή των επιπέδων MDA στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK

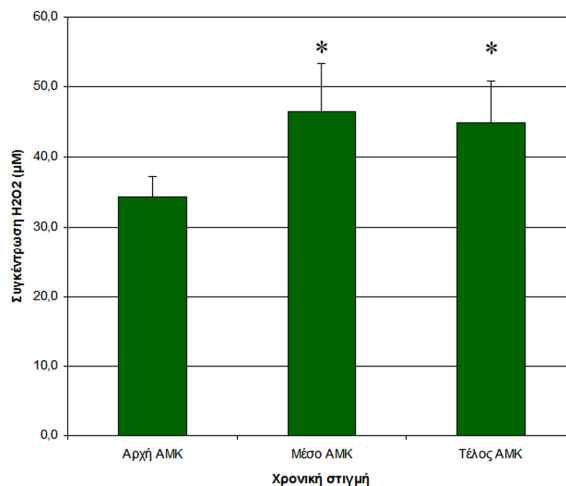
Η μέτρηση της συγκέντρωσης της MDA πραγματοποιήθηκε στο πλάσμα του αίματος των ασθενών. Η MDA αποτελεί προϊόν της υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Οι μετρήσεις έδειξαν ότι η συγκέντρωσή της κυμαίνεται στο κατώτερο όριο μετρητικής ικανότητας της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε (μέθοδος του TBA - Thiobarbituric acid). Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της MDA ήταν αρχικά 11.2  $\mu\text{M}$  ενώ στο μέσο και στο τέλος της AMK 11.7  $\mu\text{M}$  (Γράφημα 9).



**Γράφημα 9.** Μεταβολή της συγκέντρωσης της MDA στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.1.7 Μεταβολή των επιπέδων $\text{H}_2\text{O}_2$ στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK

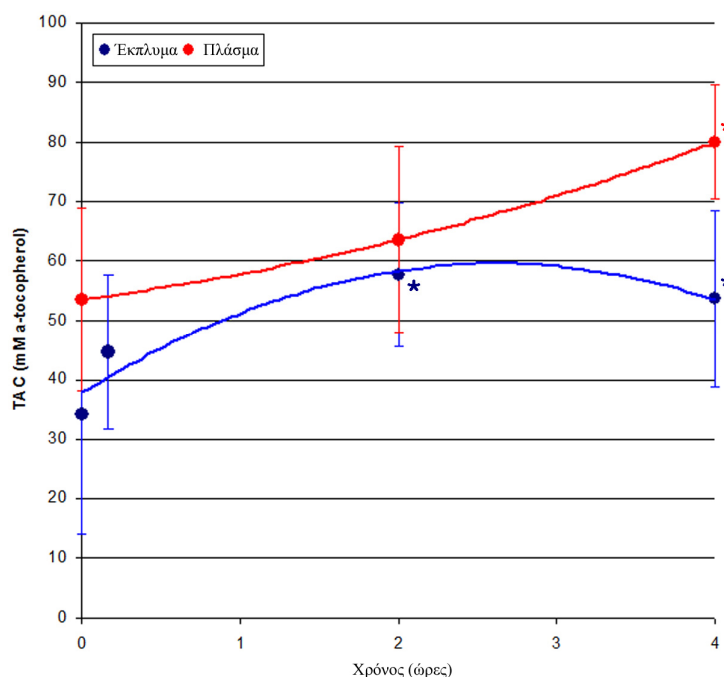
Η συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο πλάσμα υπολογίστηκε με μέθοδο FOX-2 (ferrous ion oxidation xylenol orange version-2). Σε αντίθεση με τα επίπεδα της MDA η συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο πλάσμα του αίματος αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της AMK. Η αύξηση ήταν άμεση και ήδη από το μέσο της AMK η συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  είχε αυξηθεί κατά 35% ( $p < 0.05$ ). Στο τέλος σημείωσε μια μικρή πτώση σε σχέση με το μέσο της AMK, ωστόσο η συγκέντρωσή της ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με την αρχική (30%,  $p < 0.05$ ) (Γράφημα 10).



**Γράφημα 10.** Μεταβολή της συγκέντρωσης του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο πλάσμα του αίματος κατά τη διάρκεια της AMK. \* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι ± τ.α.

#### 4.1.8 Μέτρηση της TAC και των επιπέδων MDA στο έκπλυμα του φίλτρου κατά τη διάρκεια της AMK

Στη φάση αυτή πραγματοποιήθηκε λήψη δειγμάτων σε 4 χρονικές στιγμές για το έκπλυμα φίλτρου -στην Αρχή της AMK, 10 λεπτά μετά, στο Μέσο της AMK και στο Τέλος της AMK- και σε 3 χρονικές στιγμές –Αρχή, Μέσο και Τέλος της AMK- για τα δείγματα αίματος. Στόχος ήταν να παρατηρηθεί η μεταβολή της TAC ταυτόχρονα, τόσο στο πλάσμα του αίματος, όσο και στο έκπλυμα. Όπως φαίνεται στο **Γράφημα 11** η TAC αυξάνεται σταδιακά στο πλάσμα του αίματος. Στο τέλος της AMK η TAC στο πλάσμα είχε αυξηθεί κατά 31% σε σχέση με την αρχή της AMK και κατά 21% ( $p < 0.05$ ) σε σχέση με το μέσο της AMK. Στο έκπλυμα ήδη από τα πρώτα 10 λεπτά η TAC αυξάνεται κατά 31%. Στο μέσο της AMK είναι αυξημένη κατά 70% ( $p < 0.05$ ) σε σχέση με την αρχή της AMK και στο τέλος κατά 58% ( $p < 0.05$ ).



**Γράφημα 11.** Μεταβολή της TAC στο πλάσμα του αίματος και στο έκπλυμα του διαλύματος κατά τη διάρκεια της AMK. \* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK. Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

Τα επίπεδα της MDA στο έκπλυμα του φίλτρου ήταν εκτός της μετρητικής ικανότητας της μεθόδου ( $<10^{-6}M$ ). Πιθανόν να μην είναι εφικτή η είσοδος προϊόντων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στο έκπλυμα του φίλτρου.

## 4.2 Αποτελέσματα μετρήσεων βιοηλεκτρική εμπέδησης

### 4.2.1 Χαρακτηριστικά υγιών εθελοντών-μαρτύρων

Στον **Πίνακα 14** παρουσιάζονται τα βασικά χαρακτηριστικά των μαρτύρων, καθώς και τα αποτελέσματα των μετρήσεων της βιοηλεκτρικής εμπέδησης. Η μέση ηλικία ήταν  $56 \pm 12$  έτη και το βάρος τους  $75.8 \pm 19.4$  κιλά. Η γωνία φάσης ήταν  $5.9 \pm 0.9$  μοίρες, εντός των φυσιολογικών τιμών για ηλικίες μικρότερες των 50 και μεγαλύτερες των 30 ετών (5-6 μοίρες για τις γυναίκες και 5.5-6 μοίρες για τους άνδρες).

**Πίνακας 14.** Βασικά χαρακτηριστικά και αποτελέσματα της βιοηλεκτρικής εμπέδησης στους υγιείς εθελοντές

Άνδρες	6
Γυναίκες	9
Ηλικία (έτη)	56.2±11.5
Ύψος (m)	1.7±0.1
Βάρος (kg)	75.8±19.4
<hr/>	
Ανταλλαγή Na/K	1.1±0.2
Άλιπη σωματική μάζα (kg)	30.0±8.7
Λιπώδης μάζα (kg)	19.8±12.9
Βασικός μεταβολισμός (kcal)	1615±255
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	26.4±6.8
Κυτταρική μάζα σώματος (kg)	10.3±2.4
Ολικό νερό σώματος (lt)	41.4±9.5
Ολικό νερό σώματος (εξωκυττάριο) (lt)	19.5±3.7
Ολικό νερό σώματος (ενδοκυττάριο) (lt)	21.8±5.4
<hr/>	
Γωνία φάσης (μοίρες)	5.9±0.9
Ωμική αντίσταση (Resistance, R)	500.5±102.9
Μη ωμική αντίσταση (Reactance, Xc)	50.8±9.9

#### 4.2.2 Μεταβολή του σωματικού βάρους και της γωνίας φάσης κατά τη διάρκεια της AMK

Στο **Πίνακα 15** παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη. Το μέσο βάρος τους ήταν 71±19 κιλά, ενώ η μέση ηλικία 68±14 έτη. Το δείγμα αποτελούταν από 16 άνδρες και 14 γυναίκες

**Πίνακας 15.** Χαρακτηριστικά των ασθενών σε AMK

Άνδρες	16
Γυναίκες	14
Ηλικία (έτη)	64.0±14.2
Ύψος (m)	1.6±0.1
Βάρος (kg)	70.5±18.7

Κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της μη ωμικής αντίστασης καθώς και σημαντική μείωση του εξωκυττάριου νερού σώματος. Οι υπόλοιποι δείκτες που μετρήθηκαν με την BIA παρέμειναν αμετάβλητοι. Η γωνία φάσης έδειξε μια τάση αύξησης, ωστόσο η αύξηση αυτή δεν έφτασε σε στατιστική σημαντικότητα στο τέλος της AMK (Πίνακας 16). Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται οι μεταβολές στους επιμέρους δείκτες στο μέσο και στο τέλος της AMK.

**Πίνακας 16.** Αποτελέσματα μέτρησης της βιοηλεκτρικής εμπέδησης κατά τη διάρκεια της AMK

	Αρχή AMK	Μέσο AMK	Τέλος AMK
<b>Βάρος (kg)</b>	70.5±18.7	69.3±18.6	68.0±18.3
<b>Γωνία φάσης (μοίρες)</b>	4.5±0.9	4.6±1.0	5.0±1.0
<b>Ωμική αντίσταση (Resistance, R)</b>	482±90	512±97	548±105
<b>Μη ωμική αντίσταση (Reactance, Xc)</b>	38±10	41±10	48±13*
<b>Ολικό νερό σώματος (lt)</b>	39±9	38±8	36±8
<b>Ολικό νερό σώματος (εξωκυττάριο) (lt)</b>	21±4	19±5	18±4*
<b>Άλιπη σωματική μάζα (kg)</b>	51±12	49±11	47±11
<b>Κυτταρική μάζα σώματος (kg)</b>	24±8	22±8	23±7
<b>Λιπώδης μάζα (kg)</b>	21±11	22±11	23±11

\* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK,  $p < 0.05$ . # Στατιστικά σημαντική μεταβολή από το Μέσο της AMK,  $p < 0.05$ . Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

**Πίνακας 17.** Μεταβολή των μετρήσεων της βιοηλεκτρικής εμπέδησης κατά τη διάρκεια της AMK

	$\Delta$ (Μέσο-Αρχή)	$\Delta$ (Τέλος-Αρχή)
<b>Βάρος (kg)</b>	-1.2±0.4	-2.5±0.8
<b>Γωνία φάσης (μοίρες)</b>	0.1±0.8	0.4±0.5
<b>Ωμική αντίσταση (Resistance, R)</b>	31±27	66±32
<b>Μη ωμική αντίσταση (Reactance, Xc)</b>	3±9	10±6
<b>Ολικό νερό σώματος (lt)</b>	-1.7±1.3	-3.2±1.7
<b>Ολικό νερό σώματος (εξωκυττάριο) (lt)</b>	-2.4±5.1	-2.7±1.4
<b>Άλιπη σωματική μάζα (kg)</b>	-2.1±1.8	-4.2±2.2
<b>Κυτταρική μάζα σώματος (kg)</b>	-1.4±3.2	-1.2±2.8
<b>Λιπώδης μάζα (kg)</b>	0.7±1.4	1.4±1.6

Οι τιμές απεικονίζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τ.α.

#### 4.2.3 Μεταβολή του pH και των αερίων του αίματος κατά τη διάρκεια AMK

Τόσο η μερική πίεση οξυγόνου ( $pO_2$ ), όσο και η ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα ( $pCO_2$ ) δεν μεταβλήθηκαν κατά τη διάρκεια της AMK. Το pH επίσης παρέμεινε σταθερό. Ωστόσο, σημαντική αύξηση παρουσίασε ήδη από το μέσο της AMK η ποσότητα των διττανθρακικών (ανιόντων του καρβονικού οξέος) (**Πίνακας 18**).

**Πίνακας 18.** Μεταβολή του pH και των αερίων του αίματος κατά τη διάρκεια AMK

	Αρχή AMK	Μέσο AMK	Τέλος AMK
<b>pH</b>	7.4±0.1	7.5±0.1	7.5±0.1
<b>pO<sub>2</sub></b> (mmHg)	83.5±23.8	80.3±23.4	78.4±26.0
<b>pCO<sub>2</sub></b> (mmHg)	37.2±6.6	40.8±7.2	42.3±13.9
<b>HCO<sub>3</sub></b> (mEq/l)	23.5±3.1	29.4±2.6*	30.9±3.1*

\* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK,  $p < 0.05$ .

#### 4.2.4 Μεταβολή της αιμοσφαιρίνης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης κατά τη διάρκεια AMK

Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη παρέμεινε σταθερή κατά τη διάρκεια της AMK, ωστόσο η αιμοσφαιρίνη αυξήθηκε στο τέλος της AMK σχεδόν κατά 13% (**Πίνακας 19**).

**Πίνακας 19.** Μεταβολή της αιμοσφαιρίνης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης κατά τη διάρκεια AMK

	Αρχή AMK	Μέσο AMK	Τέλος AMK
<b>Hb</b> (g/dL)	10.6±1.5	11.5±1.1	12.0±1.4*
<b>HbA1c</b> (%)	5.2±0.3	5.2±0.4	5.1±0.4

\* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK,  $p < 0.05$ .

### 4.3 Βιοχημικές εξετάσεις

Στο **Πίνακα 20** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των βιοχημικών εξετάσεων στην αρχή και στο τέλος της AMK. Όλοι οι δείκτες που αναλύθηκαν, σημείωσαν στατιστικά

σημαντική μεταβολή. Συγκεκριμένα, μειώθηκαν η ουρία, η κρεατινίνη, το κάλιο, το ουρικό οξύ, ο φώσφορος, και το μαγνήσιο, ενώ αυξήθηκαν το νάτριο, η αλβουμίνη, η ολική πρωτεΐνη και το ασβέστιο. Το ουρικό οξύ θεωρείται ως ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά μόρια του αίματος και κατά τη διάρκεια της AMK η συγκέντρωσή του στο αίμα μειώνεται κατά 5 mg/dL (μείωση κατά 77%).

**Πίνακας 20.** Αποτελέσματα των βιοχημικών εξετάσεων των ασθενών πριν και μετά το τέλος της AMK

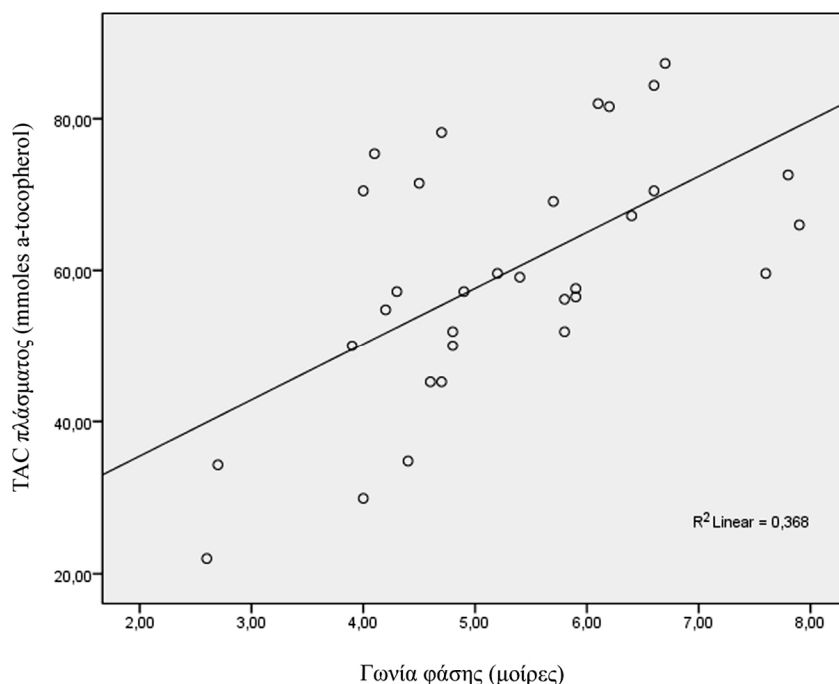
Εξέταση	Φυσιολογικές τιμές	Μονάδες	Αρχή AMK	Τέλος AMK
<b>Ουρία</b>	Urea	15-40 (mg/dL)	144.8±42.0	41.0±12.7*
<b>Κρεατινίνη</b>	Crea	0.6-1.3 (mg/dL)	11.2±1.2	4.0±0.9*
<b>Νάτριο</b>	Na	136-145 (mmol/L)	133.8±2.8	138.0±2.2*
<b>Κάλιο</b>	K	3.5-5.1 (mmol/L)	5.6±1.0	3.5±0.4*
<b>Ουρικό οξύ</b>	Urca	2.6-7.2 (mg/dL)	6.5±1.4	1.5±0.4*
<b>Αλβουμίνη</b>	Alb	3.4-5.0 (g/dL)	3.7±0.3	4.1±0.6*
<b>Ολική πρωτεΐνη</b>	TP	6.4-8.2 (g/dL)	7.3±0.5	8.1±0.9*
<b>Φώσφορος</b>	Phos	2.5-4.9 (mg/dL)	4.8±1.2	2.3±0.2*
<b>Ασβέστιο</b>	Ca	8.5-10.1 (mg/dL)	9.9±0.5	11.5±0.9*
<b>Μαγνήσιο</b>	Mg	1.8-2.4 (mg/dL)	2.6±0.3	2.2±0.2*

\* Στατιστικά σημαντική μεταβολή από την Αρχή της AMK,  $p < 0.05$ .

#### 4.4 Συσχέτιση γωνίας φάσης με TAC πλάσματος

Η TAC του πλάσματος εμφανίζει μετρίως θετική συσχέτιση ( $r=0.606$ ,  $p < 0.001$ ) με τη αύξηση της γωνίας φάσης. Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης δείχνει μια ασθενώς θετική σχέση ( $F(1,30)= 17.451$ ,  $p < 0.001$ ) (**Γράφημα 12**).

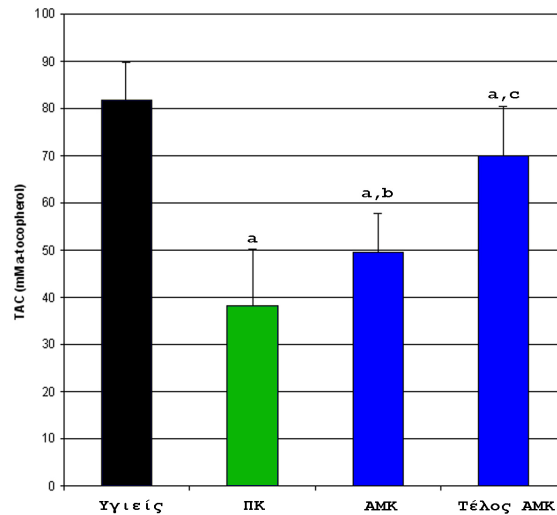




**Γράφημα 12.** Συσχέτιση της TAC πλάσματος και τη γωνίας φάσης των ασθενών σε AMK.

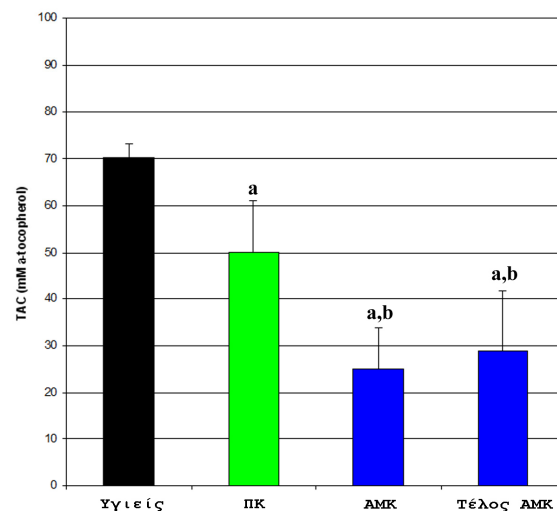
#### **4.5 Σύγκριση TAC ασθενών σε AMK με ασθενείς σε CAPD**

Στο **Γράφημα 13** παρουσιάζεται η TAC του πλάσματος υγιών εθελοντών σε σχέση με ασθενείς υπό CAPD και AMK (στην αρχή και τέλος της AMK). Είναι φανερό ότι η TAC είναι πολύ πιο χαμηλή τόσο στους ασθενείς υπό CAPD, όσο και στους ασθενείς σε AMK ( $p < 0.05$ ). Οι ασθενείς σε CAPD ωστόσο εμφανίζουν πολύ μικρότερη TAC σε σχέση με τους ασθενείς σε AMK (κατά περίπου 11.5 mM a-tocopherol). Η AMK οδηγεί σε στατιστικά σημαντική αύξηση της TAC του πλάσματος των ασθενών (~20 mM a-tocopherol,  $p < 0.05$ ) χωρίς να φτάνει στο επίπεδο των υγιών ατόμων, από το οποίο διαφέρει στατιστικά σημαντικά (~12 mM a-tocopherol).



**Γράφημα 13.** Σύγκριση της TAC πλάσματος σε υγιείς εθελοντές, ασθενείς στην αρχή και το τέλος της ΑΜΚ και ασθενείς σε CAPD. <sup>a</sup> Στατιστικά σημαντική διαφορά από τους υγιείς εθελοντές,  $p < 0.05$ . <sup>b</sup> Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ΑΜΚ και CAPD ασθενών,  $p < 0.05$ . <sup>c</sup> Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της Αρχής και το Τέλος της ΑΜΚ,  $p < 0.05$ .

Στο **Γράφημα 14** παρουσιάζεται η TAC των ερυθρών αιμοσφαιρίων υγείων εθελοντών σε σχέση με ασθενείς υπό CAPD και ΑΜΚ (στην αρχή και τέλος της ΑΜΚ). Είναι φανερό ότι η TAC είναι πολύ πιο χαμηλή τόσο στους ασθενείς υπό CAPD, όσο και στους ασθενείς σε ΑΜΚ ( $p < 0.05$ ). Οι ασθενείς σε ΑΜΚ ωστόσο εμφανίζουν πολύ μικρότερη TAC (το 50%), σε σχέση με τους ασθενείς σε CAPD (κατά περίπου 25 mM a-tocopherol).



**Γράφημα 14.** Σύγκριση της TAC ερυθρών αιμοσφαιρίων σε υγιείς εθελοντές, ασθενείς στην αρχή και το τέλος της ΑΜΚ και ασθενείς σε CAPD. <sup>a</sup> Στατιστικά σημαντική διαφορά από τους υγιείς εθελοντές,  $p < 0.05$ . <sup>b</sup> Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ΑΜΚ και CAPD ασθενών,  $p < 0.05$ .

## 5. Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη -σ' ένα πρώτο επίπεδο- διερευνά τη μεταβολή της οξειδωτικής κατάστασης ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (XNA) τελικού σταδίου υπό AMK στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της συνεδρίας AMK. Παράλληλα γίνεται εκτίμηση της θρέψης αυτών των ασθενών με την ανάλυση της μέτρησης βιοηλεκτρικής εμπέδησης σε τρεις φάσεις πριν, κατά και μετά την AMK, καθώς και η συσχέτιση της μεταβολής της γωνίας φάσης, που εκφράζει την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών με τη μεταβολή παραγόντων του οξειδωτικού stress (που συνδυάζεται με βλάβη των κυτταρικών μεμβρανών).

Οι ασθενείς με XNA έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, όχι μόνο λόγω της συνύπαρξης παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου, αλλά και λόγω παραγόντων που σχετίζονται με την ίδια την XNN, όπως αναιμία, αγγειακές επασβεστώσεις, ουραιμικές τοξίνες, υπερφόρτωση της κυκλοφορίας, τροποποίηση του μεταβολισμού του ασβεστίου και του φωσφόρου, υπερπαραθυρεοειδισμός, υπερομοκυστεϊναιμία κ.α., ή και παραγόντων που συνδέονται με το σύνδρομο MIA.

Η ίδια η διαδικασία της AMK σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών προϊόντων, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αθηρογένεσης, αμυλοείδωσης, δυσθρεψίας κλπ. (Ward RA and McLeish KR, 2003), αλλά και η ίδια η ουραιμία per se είναι αιτία του οξειδωτικού stress σε AMK (Morena M et al, 2005). Οι ασθενείς με XNN έχουν αυξημένα επίπεδα F2-ισοπροστανίων στο πλάσμα του αίματος σε σχέση με υγιείς εθελοντές (Spittle et al. 2001; Johnson-Davis KL et al, 2011). Η αύξηση του οξειδωτικού stress προτείνεται ως ένας μη παραδοσιακός παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου σε αυτόν τον πληθυσμό ασθενών (Himmelfarb J, 2009). Πολλά εργαστήρια έχουν πλέον αποδείξει ότι η ουραιμία είναι μια κατάσταση αυξημένου οξειδωτικού stress. Το ουραιμικό οξειδωτικό stress χαρακτηρίζεται βιολογικά από την αύξηση των προϊόντων υπεροξειδωσης λιπιδίων και δραστικές ομάδες αλδεϋδης, καθώς και από την αυξημένη κατακράτηση των οξειδωμένων θειολών. Η παθοφυσιολογία της αύξησης του οξειδωτικού stress στην ουραιμία είναι πολυπαραγοντική, αλλά η απώλεια της νεφρικής λειτουργίας είναι πιθανώς ο πιο σημαντικός παράγοντας (Himmelfarb 2008).

Σε μια πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε ότι το μέσο πάχος του έσω- μέσου χιτώνα της καρωτίδας (CMIT, carotid artery intima-media thickness) συσχετίζεται θετικά με την

οξειδωτική βλάβη του DNA σε ασθενείς υπό AMK χωρίς προϋπάρχουσα γνωστή αθηρωματική νόσο (Ari E. et al. 2011). Σε αυτή την έρευνα συσχετίστηκε θετικά το CMIT με το λόγο 8-OHdG/dG ratio ( $r = 0.57$ ,  $p < 0.01$ ) καθώς και με τα επίπεδα MDA ( $r = 0.41$ ,  $p < 0.01$ ). Αρνητική συσχέτιση εμφάνισαν τα δύο αντιοξειδωτικά ένζυμα SOD και GPx με το δείκτη CMIT ( $r = -0.47$ ,  $p < 0.01$  και  $r = -0.62$ ,  $p < 0.01$ , αντίστοιχα).

Η αιμοκάθαρση έχει συνδεθεί με την αύξηση του οξειδωτικού stress. Η παρατήρηση αυτή φαίνεται να οφείλεται σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης, στη μείωση της συγκέντρωσης πολλών αντιοξειδωτικών, και τους παράγοντες που έχουν σχέση με την ουραιμική κατάσταση. Διάφορες μελέτες δείχνουν την έντονη φλεγμονώδη αντίδραση κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης, που παράγεται από διάφορους παράγοντες και μηχανισμούς. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται με την αλληλεπίδραση των ουραιμικών τοξινών, ενδοτοξινών, του διηθήματος, και της μεμβράνης (Winterbourn et al., 2000; Miyata et al., 1998). Η γλυκόζη στα διαλύματα περιτοναϊκής κάθαρσης αυξάνει την αυτοοξειδωση και τη γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, αυξάνοντας τους οξειδωτικούς παράγοντες και μειώνοντας την αντιοξειδωτική αντίδραση μέσω του μονοπατιού της πολυόλης. Το οξειδωτικό stress συνδέεται με μία επιταχυνόμενη αθηρωματική διαδικασία και συνοδεύεται από αλλαγές στις πρωτεΐνες (Weiss et al., 1999; Dawnay and Millar 1998; Honda et al., 1999). Στη μελέτη των Do ate et al., 2002 αποδείχθηκε ότι οι αιμοκαθαρόμενοι ασθενείς έχουν υψηλότερα επίπεδα καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών, απ' ότι οι ασθενείς σε περιτοναϊκή διάλυση, με τους συγγραφείς να εικάζουν ότι αυτή η διαφορά οφείλεται είτε στη τεχνική της αιμοδιάλυσης είτε στο ότι οι ασθενείς σε περιτοναϊκή διάλυση έχουν μεγαλύτερη υπολειπομένη νεφρική λειτουργία (Do ate T. et al., 2002). Οι Boudouris et al. 2012 έδειξαν ότι η λήψη συμπληρωμάτων βιταμίνης C και E για διάστημα 16 εβδομάδων σε ασθενείς σε περιτοναϊκή διάλυση οδηγεί σε σταδιακή μείωση των επιπέδων των καρβονυλικών προϊόντων (Boudouris et al., 2012).

Το οξειδωτικό stress διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη νοσηρότητα, όσο και στη θνητότητα των ασθενών με XNN, που αντιμετωπίζονται είτε συντηρητικά είτε με εξωνεφρική κάθαρση. Εκτός του ότι 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 XNN, όσο και των ίδιων των μεθόδων κάθαρσης, ελαττώνει τη διαχρονικότητα εφαρμογής της μεθόδου της κάθαρσης

(επιτείνοντας για παράδειγμα τη βλάβη ή την ίνωση της περιτοναϊκής μεμβράνης), αλλά και συμμετέχει δυνητικά στην εξέλιξη της ίδιας της νεφρικής νόσου.

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της ολικής MDA (δηλαδή της υπεροξειδωσής των λιπιδίων) είναι υψηλότερα στους ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου χωρίς κάθαρση, σε σχέση με αιμοκαθαιρόμενους ή περιτοναϊκά καθαιρόμενους ασθενείς. Σε σχέση με την αιμοκάθαρση η περιτοναϊκή κάθαρση εμφανίζει μικρότερου βαθμού λιπιδική υπεροξειδωση (Erdogan et al., 2002; Jackson et al., 1995; Samouilidou et al., 2003). Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στη συγκέντρωση της MDA στο πλάσμα του αίματος των ασθενών κατά τη διάρκεια της AMK, ενώ ήταν αδύνατη (τουλάχιστον με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη) η ανίχνευσή της στο έκπλυμα του φίλτρου. Πιθανόν να απαιτείται μια πιο ευαίσθητη μέθοδος για την μέτρηση των επιπέδων της MDA (π.χ LC-MS, Υγρή Χρωματογραφία-φασματογράφου Μάζας), ή αν λάβουμε υπόψη τη μη μεταβολή τους στο πλάσμα του αίματος, όντως να μην είναι εφικτή η απομάκρυνση των προϊόντων υπεροξειδωσής των λιπιδίων, όπως η MDA μέσω της AMK.

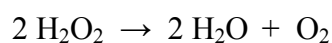
Η TAC έχει αποδειχτεί ότι εμφανίζει ισχυρή θετική συσχέτιση των τιμών της με τα επίπεδα του ουρικού οξέος του ορού σε τέτοιο βαθμό, ώστε οι τιμές του τελευταίου να επηρεάζουν σημαντικά την εκτίμηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων (Ahmadpoor et al., 2009) για τις μετρήσεις πριν την AMK. Ωστόσο, η μέτρηση της TAC των ούρων σε νεφροπαθείς φαίνεται να αποτελεί εύχρηστο δείκτη για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής τους κατάστασης (Kirschbaum 2001), και μάλιστα τα επίπεδά της εμφανίζουν θετική συσχέτιση με εκείνα της 8- epiPGF<sub>2</sub>α, ενός ιδιαίτερα αξιόπιστου δείκτη οξειδωτικής καταπόνησης (Dounousi et al., 2006).

Στους ασθενείς της παρούσας μελέτης παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση της TAC του πλάσματος μετά το τέλος της AMK. Σημαντική ήταν επίσης και η αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου της SOD. Υπάρχει δηλαδή μια αύξηση της δραστηριότητας των ενζυμικών αντιοξειδωτικών και παράλληλα φυσιολογική αύξηση των επιπέδων της TAC. Ωστόσο όμως, παρατηρήθηκε και μια σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο πλάσμα του αίματος. Στηριζόμενοι στο **Σχήμα 6** της παρούσας διδακτορικής διατριβής αντιλαμβανόμαστε ότι σε καταστάσεις έντονου οξειδωτικού stress (όπως στην AMK) έχουμε μετατροπή αρχικά του O<sub>2</sub> σε H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> μέσω της δραστηριότητας του ενζύμου SOD, την οποία την βρήκαμε αυξημένη και γι' αυτό έχουμε και αυξημένα επίπεδα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Είναι γνωστό ότι στους ασθενείς σε AMK (και σε CAPD ) υπάρχει μια αύξηση των

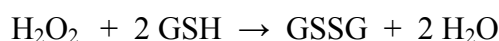
επιπέδων των οξειδωτικών μορίων (οξειδωτικό stress) και αντίστοιχα μια μείωση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών παραγόντων, όπως βιταμίνη C και E και άλλων ενδογενών ενζυμικών συστημάτων (Puchades et al. 2013; Johnson-Davis et al. 2011). Αντίθετα όμως, στην παρούσα διατριβή παρατηρήθηκε αύξηση της TAC, που υποδηλώνει ότι υπήρχε αύξηση των αντιοξειδωτικών παραγόντων. Αυτό πιθανά να οφείλεται στην αντιρρόπηση του οργανισμού, για να μπορέσει να ανταπεξέλθει στο αυξημένο οξειδωτικό stress. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο παίζει και ο χρόνος συλλογής του δείγματος, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ένα άλλο στοιχείο της παρούσης μελέτης είναι η στατιστικά σημαντική αύξηση των διττανθρακικών σε αέρια αίματος τόσο στη μέση, όσο και στο τέλος της AMK χωρίς αξιόλογη μεταβολή του pH. Η περίσσεια διττανθρακικών είχε συνδυασθεί παλαιότερα με επιδείνωση του ΟΣ και παραγωγή ΔΜΟ (Epperlein M et al, 1998). Σύγχρονες μελέτες δείχνουν την ωφέλεια των διττανθρακικών σε παθήσεις που οφείλονται σε ΔΜΟ, όπως νεφροπάθεια από σκιαγραφικά (Nozomou T et al, 2012). Επίσης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης, κάτι που σημαίνει ότι δεν ήταν ο κύριος παράγοντας απομάκρυνσης των οξειδωτικών παραγόντων. Ένα άλλο μόριο, το οποίο δεν μετρήθηκε, αλλά φαίνεται να έπαιξε σημαντικό ρόλο, είναι η καταλάση.

Η δραστηριότητα της SOD είναι σημαντικά μικρότερη σε καθαιρόμενους νεφροπαθείς σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και μάλιστα περισσότερο σε αιμοκαθαιρόμενους έναντι των περιτοναϊκά καθαιρόμενων (Kayabasi et al., 2010).

Η μη μέτρηση της δραστηριότητας της καταλάσης αποτελεί ένα μειονέκτημα της παρούσας μελέτης, καθώς το ένζυμο αυτό αποδομεί το  $H_2O_2$  σε νερό και οξυγόνο σύμφωνα με την αντίδραση:



Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) απομακρύνει επίσης το  $H_2O_2$  ανάγοντας το σε  $H_2O$  με την ένωσή του με ανεωγμένη γλουταθειόνη (GSH), σύμφωνα με την αντίδραση:



Η μέτρηση της GSH, που πραγματοποιήσαμε στο πλάσμα των ασθενών, δεν έδειξε κάποια σημαντική μεταβολή της συγκέντρωσής της. Πιθανολογούμε ότι η απομάκρυνση του  $H_2O_2$  έγινε κυρίως μέσω του ενζύμου της καταλάσης, χωρίς ωστόσο να μπορούμε να το αποδείξουμε. Μια έμμεση ένδειξη γι' αυτήν την εικασία αποτελεί και η αύξηση της TAC του πλάσματος.

Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα της GSH είναι μειωμένα στους ασθενείς με ΧΝΑ, που βρίσκονται είτε υπό αιμοκάθαρση είτε περιτοναϊκή κάθαρση, ενώ η δραστηριότητα της GPx είναι και αυτή ελαττωμένη (Ceballos-Picot et al., 1996; Zwolinska et al., 2009) σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Σύμφωνα με τον Ahmadpoor et al. δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές αντιοξειδωτικών ενζύμων των ερυθροκυττάρων μεταξύ των αιμοκαθαιρόμενων και περιτοναϊκά καθαιρόμενων νεφροπαθών (Ahmadpoor et al., 2009).

Οι Bogye et al. αξιολόγησαν την απώλεια σεληνίου σε AMK ασθενείς μέσω των πολυσουλφονικών μεμβρανών. Στην μελέτη συμμετείχαν 28 ασθενείς και 32 υγιείς εθελοντές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι κατά τη διάρκεια της AMK χάνεται σελήνιο μέσω των πόρων της μεμβράνης σε ανάλογο βαθμό με τη διαπερατότητά τους στα λευκώματα. Το σελήνιο είναι ένα απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό για τους οργανισμούς, καθώς συμβάλει στη λειτουργία των αντιοξειδωτικών ενζύμων της οικογένειας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx). Επομένως, η απώλεια σεληνίου κατά τη διαδικασία της AMK πιθανόν να υποβαθμίζει τη λειτουργία του ενζύμου και να επηρεάζει την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού των ασθενών (Bogye et al. 2000). Μέσω των μεμβρανών υψηλής διαπερατότητας συντελείται και σημαντική απώλεια βιταμίνης C σύμφωνα με την έρευνα των Morena et al. Οι συγγραφείς μέτρησαν τα επίπεδα βιταμίνης C καθώς και δείκτες οξειδωτικού stress σε 19 ασθενείς σε AMK με φίλτρα πολυσουλφόνης «High flux». Η συνεδρία είχε διάρκεια 4 ωρών και οδήγησε σε πτώση των επιπέδων της βιταμίνης C από  $1.87 \pm 1.57$   $\mu\text{g/ml}$  πριν την αιμοδιαδιήθηση (HDF) σε  $0.98 \pm 0.68$   $\mu\text{g/ml}$  μετά την HDF (Morena et al. 2002). Η χορήγηση ασκορβικού οξέος, είτε ενδοφλέβια είτε μέσω του εξωσωματικού κυκλώματος, μειώνει τις απώλειες σε βιταμίνη C και αμβλύνει το οξειδωτικό stress (Shi et al. 2005).

Η AMK επιβαρύνει το οξειδωτικό stress πρόσθετα της ΧΝΝ μέσω της ενεργοποίησης των κοκκιοκυττάρων (ουδετερόφιλων) στις μεμβράνες αιμοκάθαρσης από μεσολαβητές, όπως οι κυτταροκίνες και μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, που αποδεικνύουν τις φαγοκυτταρικές φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Όταν ενεργοποιηθούν προκαλείται αναπνευστική έκρηξη με τη συνοδό παρουσία ελευθέρων ριζών οξυγόνου όπως  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}$  και  $\text{HOCl}$ . Η ενεργοποίηση οδηγεί σε βλάβη ιστών, που αναδεικνύεται σαν οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών τόσο των ιδίων των κοκκιοκυττάρων, όσο και των παρακείμενων κυττάρων. Οι ασθενείς με χρόνια στην AMK έχουν δυσλειτουργία των κοκκιοκυττάρων. Πιθανολογείται και η λιπιδική υπεροξειδωση του πλάσματος των αιμοκαθαιρόμενων από τη δημιουργία ελευθέρων ριζών από τα

ουδετερόφιλα (κοκκιοκύτταρα). Σε αυτούς τους ασθενείς έχει αναπτυχθεί ένα πολύ αποτελεσματικό σύστημα ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Σε πειραματικά μοντέλα φάνηκε ότι η δραστηριότητα των ενζύμων-καθαριστών ελευθέρων ριζών ρυθμίζεται από την γέννηση εξοκυττάρων και ενδοκυττάρων ριζών οξυγόνου (Schettler et al. 1998).

Ένα ακόμα μειονέκτημα της παρούσας μελέτης αποτελεί ο σχετικά μικρός αριθμός των ασθενών (30) που συμμετείχαν. Η αύξηση του αριθμού των ασθενών θα οδηγούσε σε πιο ξεκάθαρα αποτελέσματα και πιθανώς σε ενίσχυση των παρατηρήσεών μας σε κάποιους δείκτες, όπως πχ. στην TAC των ερυθρών αιμοσφαιρίων, που, αν και έδειξε μια τάση αύξησης, η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Κάτι ανάλογο ισχύει και για την GSH.

Οι βιοχημικές αναλύσεις έδειξαν σημαντική μείωση του ουρικού οξέος του πλάσματος, ενώ η αλβουμίνη σημείωσε σημαντική αύξηση. Μελέτες έχουν δείξει ότι το 70% της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος οφείλεται στη αλβουμίνη και το ουρικό (Miller et al., 1993). Η σημαντική αύξηση της TAC στο έκπλυμα του φίλτρου επομένως πιθανόν να οφείλεται στην απομάκρυνση του ουρικού οξέος. Συγκεκριμένα, αποβάλλεται από το αίμα το 77% του ουρικού οξέος, χωρίς ωστόσο να επηρεάζεται στο ελάχιστο η TAC του πλάσματος. Το ουρικό οξύ μπορεί να αποτελέσει έναν δείκτη του οξειδωτικού stress, (Becker 1993) και ίσως να έχει δυνητικό θεραπευτικό ρόλο ως αντιοξειδωτικό (Glantzounis et al. 2005). Ωστόσο, όπως και άλλες ισχυρές αναγωγικές ουσίες, όπως το ασκορβικό οξύ, το ουρικό οξύ μπορεί να λειτουργήσει και ως ένα προοξειδωτικό. Δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί, αν τα αυξημένα επίπεδα του ουρικού οξέος σε ασθένειες που σχετίζονται με το οξειδωτικό stress, αποτελούν μια προστατευτική απόκριση ή μια πρωταρχική αιτία (Proctor 2008). Ορισμένοι ερευνητές προτείνουν ότι η επαγόμενη υπερουριχαιμία από οξειδωτικό stress είναι μια αιτία του μεταβολικού συνδρόμου (Nakagawa et al. 2006; Hayden et al. 2004). Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα ουρικού οξέος στο πλάσμα συσχετίζονται με τη μακροζωία σε πρωτεύοντα και άλλα θηλαστικά (Cutler 1984). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στις ιδιότητες του ουρικού οξέος ως αντιοξειδωτικό μόριο (Ames et al. 1981).

Η προσθήκη σκευασμάτων σιδήρου έχει γίνει ένα αποδεκτό μέσο για την προφύλαξη των AMK ασθενών έναντι της ανεπάρκειας σιδήρου και της ρύθμισης της αναιμίας τους (Sunder-Plassmann and Horl 1995; Bailie et al. 2000). Ωστόσο, η προσθήκη τόσο του σιδήρου, όσο και της ερυθροποιητίνης έχει αρνητικές επιδράσεις, κυριότερες εκ



των οποίων είναι η επαγωγή του οξειδωτικού stress (Paul et al. 1993; Dakshinamurty et al. 2003). Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που υποδεικνύουν ότι τα ΔΜΟ μπορεί να εμπλέκονται στην ουραιμική τοξικότητα των ασθενών σε τελικό στάδιο της νεφρικής νόσου και ότι υπάρχει γενικότερος προβληματισμός για τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης σκευασμάτων σιδήρου, όπως η αυξημένη υπεροξειδωση των λιπιδίων στο πλάσμα (Lim et al. 1999). Επίσης, η συνεχής χορήγηση (και πιθανά σε μεγάλες ποσότητες) του σιδήρου στους ΑΜΚ ασθενείς με αναιμία οδηγεί σε έναν «υπερκορεσμό» της τρανσφερρίνης. Ως αποτέλεσμα, ο μη-δεσμευμένος στην τρανσφερρίνη δραστικός σίδηρος μπορεί να προκαλέσει λιπιδιακή υπεροξειδωση. Από την άλλη μεριά, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι η χορήγηση διαφόρων αντιοξειδωτικών παραγόντων βελτιώνει το οξειδωτικό stress σε ΑΜΚ ασθενείς, οι οποίοι λαμβάνουν σκευάσματα σιδήρου ενδοφλεβίως (Roob et al. 2000; Swarnalatha et al. 2010). Στην παρούσα διατριβή, όλοι οι ασθενείς λάμβαναν σταθερό σχήμα σιδηροθεραπείας κατά την περίοδο, που είναι ενταγμένοι στην ΑΜΚ, αναλόγως των τιμών φερρίτινης και κορεσμού τρανσφερρίνης, καθώς και ερυθροποιητίνη αναλόγως της Hb και του Ht.

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).

Η μέτρηση της βιοηλεκτρικής εμπέδησης αποτελεί ένα σημαντικό κλινικό εργαλείο για κάθε ιατρό στην αξιολόγηση της μεταβολικής κατάστασης των ασθενών. Είναι μια οικονομική και μη επεμβατική μέθοδος και παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τις μεταβολές της σύστασης του σώματος και το δυναμικό της μεμβράνης στο επίπεδο των ιστών, όπως μετριέται αυτό με τη γωνία φάσης. Ως γωνία φάσης (PhA) ορίζεται η σχέση μεταξύ των δύο συνιστωσών του διανύσματος: Ωμική αντίσταση και μη ωμική αντίσταση και προκύπτει με σχετικά μεγάλη ακρίβεια από την εξίσωση  $PhA = (Rz/Xc) \times (180/\pi)$ . Η γωνία φάσης έχει χρησιμοποιηθεί ως ένα άλλος τρόπος ερμηνείας BIA. Καθώς η αντίσταση μειώνεται, υπάρχει διάσπαση της διαμερισματοποίησης της μεμβράνης των κυττάρων και απώλεια της ηλεκτρολυτικής ισορροπίας, η οποία οδηγεί σε μείωση της γωνίας φάσης.

Η γωνία φάσης αλλάζει ανάλογα με το φύλο και την ηλικία. Η μείωση της γωνίας φάσης έχει συσχετιστεί με καταστάσεις χρόνιας ή οξείας ασθένειας. Κάποιες ασθένειες που σχετίζονται με μειωμένη γωνία φάσης είναι το Σύνδρομο Επίκτητης

Ανοσοανεπάρκειας (AIDS), η φυματίωση, νεφρική ανεπάρκεια κτλ (Norman et al. 2012). Η γωνία φάσης έχει χρησιμοποιηθεί επίσης και ως προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου (Gupta, et al. 2004a), προχωρημένου σταδίου καρκίνο του παγκρέατος (Gupta, et al. 2004b), καθώς και του καρκίνου του μαστού (Gupta, et al. 2008). Μπορεί επίσης να αποτελέσει ένα διαγνωστικό εργαλείο της κατάστασης θρέψης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα, κίρρωση του ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (Peres et al. 2012). Σύμφωνα με τους Stobaus et al., 2012 οι δύο κυριότεροι παράγοντες, που καθορίζουν την γωνία φάσης είναι ο υποσιτισμός (85.4 %;  $P < 0.0001$ ) και η φλεγμονή (9.6 %;  $P < 0.0001$ ), γεγονός που εξηγεί και τη προγνωστική δύναμη της PhA (Stobaus et al. 2012). Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άτομα με εγκαύματα και δρεπανοκυτταρική νόσο, επιβεβαιώνουν την ικανότητά της ως δείκτη αξιολόγησης της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης (Barbosa-Silva and Bar AJD 2005).

Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε περιτοναϊκή διάλυση ή αιμοκάθαρση και έχουν λόγο εξωκυττάριας μάζας προς την κυτταρική μάζα σώματος μικρότερη από 1.2 και γωνίας φάσης μικρότερη από 6, έχουν χειρότερη καρδιαγγειακή πρόβλεψη (de Araujo et al. 2012). Η γωνία φάσης (PhA) έχει βρεθεί ότι είναι μειωμένη σε άνδρες ασθενείς (αλλά όχι στις γυναίκες) χωρίς διαβήτη και με στάδιο 5 Χρόνιας Νεφρικής Νόσου (XNN) (Cupisti et al. 2004). Κατά τη διάρκεια της συντηρητικής θεραπείας και παρακολούθησης για διάστημα 9 μηνών σε ασθενείς με XNN, η PhA δεν σημειώνει αξιοσημείωτη μεταβολή (Dumler and Kilates 2005). Οι Bellizzi et al. 2006 σύγκριναν, τόσο γυναίκες, όσο και άνδρες ασθενείς με XNN με υγιή άτομα και παρατήρησαν ότι οι ασθενείς με XNN έχουν σημαντικά μικρότερη PhA (-22%), ακόμα και μετά τη διόρθωση που πραγματοποίησαν σύμφωνα με το δείκτη R (Δείκτης  $R = \text{ύψος}^2 / \text{αντίσταση}$ , σε  $\text{cm}^2 / \text{ohm}$ ) ή το ολικό νερό σώματος (Bellizzi et al. 2006).

Οι φυσιολογικές τιμές της γωνίας φάσης σε άνδρες και γυναίκες μεταξύ 50-70 ετών ανέρχονται σε 5-5.6 και 4.8-5.2 αντίστοιχα. Σε μια παλαιότερη μελέτη 3009 αιμοκαθαρόμενων ασθενών οι Chertow et al. 1997 έδειξαν ότι στους άνδρες το 50% έχει PhA μικρότερη από 5.16, ενώ στις γυναίκες το ποσοστό αγγίζει το 75%. Είναι εμφανές ότι οι ασθενείς σε AMK έχουν διαταραγμένη PhA (Chertow et al. 1997).

Σύμφωνα με όσο γνωρίζουμε, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη έρευνα σε ασθενείς σε AMK που αποδεικνύει την συσχέτιση της PhA με την TAC του πλάσματος. Η σχέση αυτή είναι μετρίως θετική ( $r=0.606$ ,  $p < 0.001$ ). Λόγω του μεγάλου εύρους διακύμανσης της TAC σε κάθε τιμή της PhA, η TAC του πλάσματος ευθύνεται για το 36.8% της

μεταβλητότητας των επιπέδων της PhA. Οι AMK ασθενείς έχουν μικρότερη αρχική TAC πλάσματος σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές ( $81.6 \pm 8.0$  σε σχέση με  $49.7 \pm 8.0$ ). Η αύξηση της TAC συμβάλει στη βελτίωση της γωνίας φάσης και επομένως στην καλύτερη λειτουργία των μεμβρανών και των κυττάρων.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της βιοηλεκτρικής εμπέδησης βοηθάει στην αξιολόγηση των αλλαγών στη σύνθεση του σώματος, έτσι ώστε να είναι εφικτή η διόρθωση σύμφωνα με το ξηρό βάρος και να πραγματοποιηθούν τροποποιήσεις στο πρόγραμμα θεραπείας (Di-Gioia et al. 2012). Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση παρουσιάζουν σημαντικές διακυμάνσεις στις τιμές που προκύπτουν από την βιοηλεκτρική εμπέδηση (με τις υψηλότερες τιμές αμέσως μετά την αιμοκάθαρση), αλλά παραμένουν σταθερές και ιδιαίτερα αναπαραγωγίμες για πάνω από τα 120 λεπτά μετά το τέλος της αιμοκάθαρσης, δηλαδή, σε κατάσταση ξηρού βάρους. Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη ότι η χρονική στιγμή που επιλέγεται για την εκτέλεση βιοηλεκτρικής εμπέδησης είναι ζωτικής σημασίας για την σωστή αξιολόγηση της σύστασης του σώματος, η BIA μπορεί να εκτελεστεί οποιαδήποτε στιγμή μετά το τέλος της συνεδρίας της AMK, υπό την προϋπόθεση ότι δεν υπάρχουν μεταβολές στην ενυδάτωση, λόγω κατανάλωσης τροφής ή ποτών (Di Iorio et al. 2004).

Οι μεμβράνες AMK έχουν καθοριστικό ρόλο στην επαγωγή του οξειδωτικού stress. Ανάλογα με το υλικό τους (κουπροφάνη, τροποποιημένη κυτταρίνη, ημισυνθετικές, συνθετικές) παρουσιάζουν διαφορετική βιοσυμβατότητα και κατ' επέκταση παραγωγή ΔΜΟ (Morena M et al, 2002; Eiselt J et al, 1996; Tayeb JS et al, 2000; Varan H I et al, 2010). Η επαναχρησιμοποίηση των φίλτρων, που έχει αρκετά μειονεκτήματα, εδώ φαίνεται να πλεονεκτεί, τουλάχιστον στην αρχή της συνεδρίας της AMK (Ramakrishna P et al, 2012; Gunduz Z et al, 1996). Η χρήση φίλτρων High Flux έναντι Low Flux για κάποιους φαίνεται να έχει πλεονεκτήματα (Ward RA et al, 2003), αλλά υπάρχουν και μελέτες που δεν βρίσκουν αξιολογική διαφορά (House A et al, 2000). Η λιποδιαλυτή βιταμίνη E έχει χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας επικάλυψης των ινών των μεμβρανών αιμοκάθαρσης, με σκοπό την αύξηση της βιοσυμβατότητάς τους και την πρόληψη του οξειδωτικού stress, που θεωρούνται ως τα κύρια μειονεκτήματα της θεραπείας με AMK (Floridi et al. 2009). Τα τελευταία χρόνια, αρκετές κλινικές δοκιμές, με μικρό αριθμό ασθενών, υποδεικνύουν μια θετική δράση των μεμβρανών αυτών σε δείκτες του οξειδωτικού stress και φλεγμονής σε AMK ασθενείς (Galli 2002; Cruz et al. 2008; Washio K et al, 2012). Μια πρόσφατη μετά-ανάλυση επιβεβαίωσε την προστατευτική δράση των

μεμβρανών με βιταμίνη E απέναντι στο οξειδωτικό stress, όπως αυτό μετρήθηκε με την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) κατά τη διάρκεια της AMK (Sosa et al. 2006).

Η ΣΦΠΚ(CAPD) έχει ένα σταθερό προφίλ κάθαρσης ουραιμικών τοξινών, οπότε και η ολική TAC αυτών των ασθενών αντιπροσωπεύει μια σταθερή κατάσταση, όπως και στους κ.φ. Αντίθετα στην AMK η κάθαρση ουσιών γίνεται 3 φορές/εβδομάδα και ακολουθεί το σχήμα «πριονιού» (**Σχήμα 5**). Στην αρχή της AMK φαίνεται μια επιβαρυνόμενη από ουραιμικές τοξίνες εικόνα, στο τέλος ο ασθενής φαίνεται αισθητά βελτιωμένος, ενώ κατά τη διάρκεια των επόμενων 44 ωρών εμφανίζει πάλι σταδιακή αύξηση των ουραιμικών τοξινών. Φαίνεται ότι και οι δείκτες του οξειδωτικού stress στην δικιά μας μελέτη ακολουθούν ανάλογη πορεία.

Οι ασθενείς σε AMK διακρίνονται από μεταβολική οξέωση, που αντιρροπείται σε μεγάλο βαθμό από την αναπνευστική αλκάλωση. Η AMK με διττανθρακικά προσφέρει μεγάλη ποσότητα διατανθρακικών, που στην πορεία διορθώνει και υπερδιορθώνει τη μεταβολική οξέωση. Η ίδια η μεταβολική οξέωση, όπως αναλύθηκε στην εισαγωγή, ευοδώνει το οξειδωτικό stress.

Οι Epperlein et al. είχαν προτείνει ότι η AMK με τη χρήση διαλυμάτων διττανθρακικών οδηγεί σε αύξηση του οξειδωτικού stress και τα υπεροξειδία που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της AMK αντιδρούν με τα διττανθρακικά παράγοντας τοξικές ρίζες (κυρίως το περοξυνιτρικό και μονοξειδίο του αζώτου με διττανθρακικό σχηματίζοντας προϊόντα νιτροζυλίου και καρβονυλικές ρίζες) (Epperlein et al. 1998). Στους AMK ασθενείς της μελέτης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ολικής γλουταθειόνης, καθώς και του υπεροξειδίου του υδρογόνου μετά το τέλος της συνεδρίας, αύξηση που αποδόθηκε στην παραγωγή προϊόντων υπεροξείδωσης λιπιδίων από τις τοξικές ρίζες. Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Liu et al. μελέτησαν τη δράση του διττανθρακικού νατρίου στις αιμοδυναμικές μεταβολές και την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου κατά την ανάνηψη υποξικών νεογέννητων χοιριδίων με σοβαρή αντιρροπηθείσα οξέωση (Liu et al., 2012). Η θεραπεία με διττανθρακικό νάτριο μείωσε τη συσσώρευση υπεροξειδίου του υδρογόνου στον εγκεφαλικό φλοιό, χωρίς να επηρεάσει σημαντικά τους δείκτες του οξειδωτικού stress πιθανόν αναστέλλοντας τη δράση της SOD, αλλά όχι της καταλάσης. Η σημαντική αύξηση του  $\text{HCO}_3$  παράλληλα με την αύξηση της TAC και τη μη μεταβολή της MDA στους ασθενείς της μελέτης υποδηλώνει ότι τα

διαλύματα διττανθρακικών, που χρησιμοποιήθηκαν, δεν φαίνεται να επηρέασαν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό των ασθενών.

Σε ασθενείς με προχωρημένη μορφή καρκίνου, η υψηλότερη γωνία φάσης πριν την ενυδάτωση αποτελεί δείκτη μικρότερης επιβίωσης και παραδόξως η αύξηση της γωνίας φάσης κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης προέβλεψε μικρότερη επιβίωση και προϋπάρχουσα ενδοκυτταρική αφυδάτωση, καχεξία ή δυσλειτουργία της μεμβράνης των κυττάρων (Davis et al. 2009). Παρατηρήσαμε μια μείωση στατιστικά σημαντική του εξωκυττάρου νερού του σώματος, χωρίς ωστόσο να επηρεάζεται το ολικό νερό του σώματος (σημειώθηκε μείωση). Γεγονός που υποδεικνύει ότι παραμένει σταθερό το ενδοκυττάριο νερό του σώματος (περίπου στα 18 lt κατά μέσο όρο). Επίσης σταθερή παρέμεινε και η κυτταρική μάζα σώματος. Επομένως η αύξηση της γωνίας φάσης μετά την AMK δεν οφείλεται στην μεταβολή της ενυδάτωσης των κυττάρων, καθώς αυτή παρέμεινε σταθερή, ενώ η μη εύρεση διαφοράς μεταξύ του ενδοκυττάρου όγκου νερού μεταξύ των υγιών εθελοντών και των ασθενών υποδηλώνει ότι δεν υπάρχει ενδοκυττάρια αφυδάτωση. Συνεπώς στην παρούσα μελέτη δεν υπάρχει ενδοκυττάρια αφυδάτωση που συνδυάζεται με υψηλή γωνία φάσης. Άρα, η βελτίωση της γωνίας φάσης σχετίζεται άμεσα με τη βελτίωση της λειτουργικότητας των κυτταρικών μεμβρανών, καθότι τα συνολικά υγρά, που αφαιρούνται, είναι τελικά μόνο από τον εξωκυττάριο χώρο. Δηλαδή δεν προκαλείται ενδοκυττάρια αφυδάτωση από τη διαδικασία της AMK. Με την προοδευτική ενυδάτωση, που επιτυγχάνεται μέχρι την επόμενη συνεδρία των νεφροπαθών, μειώνεται η γωνία φάσης. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε δυσλειτουργία της μεμβράνης από το επιτεινόμενο οξειδωτικό stress, λόγω της προοδευτικής αύξησης των ουραιμικών τοξινών και μέχρι την επόμενη συνεδρία AMK.



## 6. Συμπεράσματα

1. Οι νεφροπαθείς πριν την AMK έχουν αυξημένο οξειδωτικό stress, όπως εκτιμάται από εξωκυττάρια TAC, που φαίνεται να είναι σε καλύτερη κατάσταση από τους ασθενείς σε CAPD. Η ενδοκυττάρια TAC όμως στους CAPD ασθενείς είναι υψηλότερη από τους AMK ασθενείς, ακόμα και στο τέλος της AMK. Η 4ωρη συνεδρία AMK με συνθετικές μεμβράνες πολυσουλφόνης με  $K_{uf} < 20$  ml/h/mm Hg βελτιώνει αυτή την εικόνα, χωρίς να φθάνει η TAC πλάσματος των νεφροπαθών την TAC πλάσματος των υγιών μαρτύρων.
2. Η υπολειπόμενη διούρηση σε όσους ασθενείς σε AMK διατηρείται, φαίνεται πως δεν επηρεάζει τους δείκτες του οξειδωτικού stress, σε αντίθεση με τους ασθενείς σε CAPD. Αυτό δείχνει ότι οι ρικνοί νεφροί στους αιμοκαθαρόμενους δεν έχουν σχεδόν καμία λειτουργικότητα και τα παραγόμενα ούρα δεν έχουν πρακτικά ωφέλεια στο μεταβολικό προφίλ και βοηθούν απλά στη μείωση της υπερυδάτωσης.
3. Η αυξημένη TAC διαλύματος συνδυάζεται με τη μεγάλη απώλεια αντιοξειδωτικών, όπως το ουρικό οξύ που και στην παρούσα μελέτη φαίνεται να μειώνεται δραματικά στον ορό, αλλά ενδεχομένως και σε άλλα στοιχεία, όπως βιταμίνη C κλπ.
4. Η BIA είναι μια χρήσιμη μέθοδος τόσο για την εκτίμηση της θρεπτικής κατάστασης των νεφροπαθών, όσο και για τον υπολογισμό του ιδανικού ξηρού βάρους. Ο δείκτης της γωνίας φάσης (PhA) σε σειρά μελετών δείχνει να σχετίζεται με την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών. Φαίνεται να επηρεάζεται από την ενυδάτωση (κυρίως ενδοκυττάρια). Οι ασθενείς στην AMK αφυδατώνονται από τον εξωκυττάριο χώρο. Αφού δεν υπάρχει μεταβολή στον ενδοκυττάριο όγκο των αιμοκαθαρομένων, θα μπορούσε η αύξηση της PhA να αποδοθεί στη βελτίωση της βλάβης των κυτταρικών μεμβρανών, που προκαλείται από το οξειδωτικό stress κατά τη διαδικασία της AMK. Στη παρούσα μελέτη η αύξηση της PhA σε στατιστική σημαντικότητα με την εξωκυττάρια TAC, δείχνει ότι μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο δείκτη, μη επεμβατικό, για την οξειδωτική κατάσταση των ασθενών σε AMK και όχι μόνο.
5. Η στατιστικά σημαντική αύξηση των διττανθρακικών στο μέσο και στο τέλος της συνεδρίας AMK, παράλληλα με την TAC πλάσματος, θα πρέπει να δώσει λαβή για αναθεώρηση της παγιωμένης άποψης ότι τα διττανθρακικά ενισχύουν την οξειδωτική καταπόνηση. Άλλωστε σύγχρονες μελέτες καταδεικνύουν την ευεργετική τους δράση

σε παθήσεις, όπως η νεφροπάθεια από σκιαγραφικά, όπου διαπιστωμένα στο μηχανισμό βλάβης συμμετέχουν ΔΜΟ.

6. Κλείνοντας, θα ήταν χρήσιμη η προσθήκη υδατοδιαλυτών αντιοξειδωτικών στο διάλυμα ΑΜΚ, λόγω της μεγάλης απώλειας που φαίνεται να υπάρχει. Εναλλακτικά προτείνεται η *per os* ή και ενδοφλέβια αγωγή αντιοξειδωτικών. Παράλληλα προτείνεται η χρήση μεμβρανών ΑΜΚ προς το βιοσυμβατότερο, με ή χωρίς αντιοξειδωτικά, ώστε να μην κινητοποιείται το συμπλήρωμα και να επιβαρύνεται το οξειδωτικό stress. Η χρήση της μεθόδου ΒΙΑ θα πρέπει να γενικευθεί για όλους τους νεφροπαθείς υπό ΑΜΚ. Η συσχέτιση της μεταβολής της γωνίας φάσης με την ΤΑC πλάσματος, που έγινε στην παρούσα μελέτη, δείχνει πως μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο και εύχρηστο δείκτη ελέγχου της οξειδωτικής καταπόνησης, πέρα από τον προσδιορισμό του ιδανικού ξηρού βάρους και της θρέψης τόσο των νεφροπαθών, όσο και άλλων ομάδων ασθενών, αλλά ενδεχομένως και υγιών.



## 7. Περίληψεις

### Περίληψη στην Ελληνική

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Η Χρόνια Νεφρική Νόσος είναι μια κατάσταση που προάγει το οξειδωτικό stress και στο τελικό στάδιο της Χρόνιας Νεφρικής Ανεπάρκειας χειροτερεύει, ώστε να αυξάνει ο καρδιαγγειακός κίνδυνος. Υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις για το αν η αιμοκάθαρση επιδεινώνει ή όχι το οξειδωτικό stress, γεγονός που έχει κυρίως να κάνει με παραλλαγές υλικών, όπως το υλικό της μεμβράνης (συνθετικές, ημισυνθετικές, κυτταρίνη, τροποποιημένη κυτταρίνη), την ποιότητα και το είδος του διαλύματος ΑΜΚ (Διτανθρακικά, Οξεικά, Κιτρικά), τη μέθοδο ΑΜΚ, την επαναχρησιμοποίηση φίλτρων κ.λ.π.. Η μέθοδος ανάλυσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) χρησιμοποιείται ευρέως, τόσο για την κατάσταση θρέψης των νεφροπαθών, όσο και για τον προσδιορισμό του ξηρού σωματικού του βάρους. Η γωνία φάσης (PhA), που προκύπτει από τη BIA, είναι συνυφασμένη με τη λειτουργικότητα των κυτταρικών μεμβρανών, όπως άλλωστε και οι δείκτες του ΟΣ. Επιχειρείται σε αυτή τη μελέτη ίσως για πρώτη φορά ο συσχετισμός αυτών των παραμέτρων, δηλαδή της PhA με οξειδωτικό stress.

**ΜΕΘΟΔΟΣ:** Στην παρούσα μελέτη, εκτιμήθηκαν βασικές παράμετροι της οξειδωτικής κατάστασης (TAC, MDA, SOD, GSH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Cu, Zn) σε ερυθροκύτταρα και πλάσμα ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση (ΑΜΚ) με συνθετικές μεμβράνες πολυσουλφόνης (kuf >10mm/h/mmHg αλλά <20mm/h/mmHg), καθώς στο έκπλυμα φίλτρου (TAC, MDA) και στα ούρα (TAC), όσων διατηρούσαν υπολειπόμενη διούρηση. Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα διτανθρακικών. Οι εκτιμήσεις έγιναν από δείγματα αίματος, που λήφθηκαν από 30 ασθενείς (16 άνδρες και 14 γυναίκες) ηλικίας 64±14 ετών πριν, κατά και μετά την αιμοκάθαρση σε πλάσμα και ερυθρά αιμοσφαίρια. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (TAC) εκτιμήθηκε επίσης σε δεκαπέντε υγιείς ηλικίας 44-68 ετών, καθώς και σε 20 περιτοναϊκούς ασθενείς (CAPD) ηλικίας 51-70 ετών.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η TAC στα ερυθρά αιμοσφαίρια έμεινε σταθερή με τάσεις μείωσης στο μέσο της ΑΜΚ, ενώ στο τέλος της ΑΜΚ αυξήθηκε κατά 15%. Η GSH παρέμεινε πρακτικά σταθερή σε όλη τη διάρκεια της συνεδρίας. Αυξήθηκε σημαντικά η δραστηριότητα SOD μετά την ΑΜΚ (κατά 22%, p<0.05). Επίσης

η TAC του πλάσματος αυξήθηκε σημαντικά (33%,  $p < 0.05$ ). Η ενδοκυττάρια TAC σημείωσε μια μη σημαντική αύξηση οφειλόμενη πιθανά στην αύξηση της δραστηριότητας της SOD, η οποία επίσης επηρεάζει θετικά και την εξωκυττάρια TAC. Η στατιστική ανάλυση της TAC του πλάσματος μεταξύ υγιών και ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια έδειξε μια σημαντική διαφορά πριν την αιμοκάθαρση ( $p < 0.05$ ) και μικρότερη διαφορά στην TAC του πλάσματος μεταξύ υγιών και ασθενών μετά την αιμοκάθαρση. Η TAC πλάσματος των ασθενών σε AMK, σε κάθε περίπτωση, ακόμα και πριν τη συνεδρία, ήταν μεγαλύτερη από ασθενείς σε CAPD. Αντίθετα η ενδοκυττάρια TAC των ασθενών σε AMK ήταν σε κάθε περίπτωση μικρότερη των CAPD. Ο προσδιορισμός της MDA στα τρία διαφορετικά στιγμιότυπα και συγκεκριμένα πριν την AMK, στη μέση της AMK και μετά την AMK δεν έδειξε κάποια στατιστική μεταβολή, σε αντίθεση με το  $H_2O_2$  που παρουσίασε σημαντική αύξηση ( $p < 0.05$ ). Η αύξηση του  $H_2O_2$  πιθανά να οφείλεται στην αύξηση της δραστηριότητας της SOD, ή στα διττανθρακικά του διαλύματος, ή και στα δύο. Στους ίδιους χρόνους και στα ίδια δείγματα έγιναν αναλύσεις αερίων αίματος, όπου βρέθηκε σαφής αύξηση των διττανθρακικών. Η MDA δεν ανιχνεύθηκε στο έκπλυμα φίλτρου όπου η TAC βρέθηκε υψηλή πιθανά από απώλεια αντιοξειδωτικών π.χ ουρικού οξέος. Η TAC των ούρων, σε όσους είχαν υπολειπόμενη διούρηση, δεν έδειξε κάποια ιδιαίτερη διαφορά πριν και μετά την AMK. Παράλληλα έγινε ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης με σταθερά ηλεκτρόδια στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της συνεδρίας. Ενώ το ενδοκυττάριο νερό παραμένει σταθερό το εξωκυττάριο δείχνει να μειώνεται στο βαθμό επίτευξης του ξηρού βάρους. Η γωνία φάσης (PhA) αυξάνει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στο τέλος της AMK. Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια είναι σε αυξημένη οξειδωτική καταπόνηση (οξειδωτικό stress). Η γωνία φάσης, που προκύπτει από την ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης και που είναι συνυφασμένη με τη λειτουργικότητα των κυτταρικών μεμβρανών, αυξάνει ανάλογα με την ολική TAC πλάσματος (εξωκυττάρια) σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Αυτό δείχνει πιθανότατα βελτίωση της λειτουργικότητας των κυτταρικών μεμβρανών με τη βελτίωση του οξειδωτικού stress.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:** Η διαδικασία της AMK με βιοσυμβατότερες συνθετικές μεμβράνες με  $kuf < 20 \text{ ml/h/mmHg}$  και διάλυμα διττανθρακικών βελτιώνει την TAC πλάσματος και κατ' επέκταση το οξειδωτικό stress των αιμοκαθαιρομένων, παρά τη μεγάλη απώλεια αντιοξειδωτικών στο έκπλυμα φίλτρου. Οι αιμοκαθαιρόμενοι φαίνεται ακόμα και πριν τη συνεδρία AMK να βρίσκονται σε καλύτερη κατάσταση από πλευράς οξειδωτικού stress σε

σχέση με τους CAPD ασθενείς ως προς την TAC πλάσματος (εξωκυττάρια), αλλά το αντίστροφο συμβαίνει με την TAC ερυθρών (ενδοκυττάρια). Σε καμιά περίπτωση όμως δεν φθάνουν τα επίπεδα των υγιών. Η βελτίωση αυτή έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη PhA της BIA, που αυξάνει ανάλογα με την TAC πλάσματος και θα μπορούσε έτσι και μετά ίσως από μεγαλύτερη έρευνα, να αποτελέσει μέθοδο εκτίμησης του οξειδωτικού stress, όχι μόνο για τους νεφροπαθείς, αλλά και γενικότερα.



## Περίληψη στην Αγγλική

### **STUDIES ON THE OXIDATIVE STRESS IN RENAL PATIENTS BEFORE, DURING AND AFTER HEMODIALYSIS**

**INTRODUCTION:** Chronic kidney disease is a condition that promotes oxidative stress (OS) At the final stages (ESRD) of the disease the cardiovascular risk is increased. There is conflicting evidence about the role of hemodialysis on OS, which are mostly related with the various types of materials used such as the membrane material, the quality and type of dialysate, the method used the repeated use of the filters etc. Bioelectrical impedance analysis (BIA) is a method widely used for the determination of renal patient's nutritional status and dry body weight. The phase angle (PhA), which is determined with BIA, measures the functionality of cell membranes. In this a study the correlation of the PhA with parameters of oxidative stress is attempted for the first time.

**METHODS:** We evaluated parameters of oxidative status (Total Antioxidant Capacity, malonaldehyde, Superoxide Dismutase, Glutathione, hydrogen peroxide, copper and zinc levels) in erythrocytes (RBCs) and plasma of patients with ESRD undergoing hemodialysis with synthetic polysulfone membranes (20mm/h/mmHg >kuf>10mm/h/mmHg) as well as in the lavage fluid (Total Antioxidant Capacity, malonaldehyde) and urine (Total Antioxidant Capacity, of patients who retained residual diuresis. A sodium bicarbonate dialysate was used. Measurements were recorded from 30 patients (16 men and 14 women) aged 64±14 years before, during and after dialysis, in 15 healthy volunteers aged 56±12 years and in 20 CAPD patients 51 to 70 years old.

**RESULTS:** Glutathione levels remained stable throughout the session while superoxide dismutase activity was significantly increased by 22% ( $p<0.05$ ). Plasma's TAC increased significantly (33%,  $p<0.05$ ). Intracellular TAC noted a non-significant increase probably due to the increased activity of SOD which also affected positively extracellular TAC. Total antioxidant capacity of the patients before and after hemodialysis was significantly lower from the healthy volunteers ( $p<0.05$ ) showing that ESRD patients are at state of increased OS. The TAC plasma of patients in hemodialysis, in any case, even before the session was greater than patients on CAPD. In contrast, intracellular TAC was lower than of the CAPD patients. The determination of MDA showed no statistical changes in contrast to  $H_2O_2$  which showed a significant increase ( $p<0.05$ ). The increase of  $H_2O_2$  was probably

due to the increased activity of SOD, the bicarbonates or both. Blood gases analysis revealed a significant increase in bicarbonate concentration. Malondialdehyde was not detected at the lavage fluid but TAC showed a significant increase probably due to the loss of antioxidants such as uric acid. Urine TAC remained unchanged. The extracellular water reduced while intracellular remained stable. The phase angle (PhA) increased significantly at the end of hemodialysis. The PhA obtained by bioelectrical impedance analysis, as a measure of the functionality of cell membranes, correlated significantly with extracellular TAC, indicating an improved functionality of cell membranes.

**CONCLUSION:** The process of hemodialysis with biocompatible synthetic membranes (10ml/h/mmHg<kuf<20ml/h/mmHg) and bicarbonate dialysate improved plasma TAC and hence the oxidative stress in the patients despite the loss antioxidants in the lavage fluid. Initial extracellular TAC in patients undergoing hemodialysis seems to be higher compared to that of CAPD, but nevertheless compromised in both cases. The positive correlation of PhA with extracellular TAC could evolve to a method of oxidative stress estimation but further research is needed.

## 8. Βιβλιογραφία

1. Abad S, Sotomayor G, Vega A, Pérez de José A, Verdalles U, Jofré R, López-Gómez JM. The phase angle of the electrical impedance is a predictor of long-term survival in dialysis patients. *Nefrologia*. 2011;31(6):670-6. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2011.Sep.10999.
2. Adrogué HJ, Brensilver J, Cohen JJ, Madias NE. Influence of steady-state alterations in acid-base equilibrium on the fate of administered bicarbonate in the dog. *J Clin Invest*. 1983 Apr;71(4):867-83
3. 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.
4. Ahmadpoor P, Eftekhari 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
5. Akerboom TP and Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 1981; 77: 373-382
6. Alessandro Floridi, Marta Piroddi, Francesca Pilolli, Yutaka Matsumoto, Masaharu Aritomi, Francesco Galli. Analysis method and characterization of the antioxidant capacity of vitamin E-interactive polysulfone hemodialyzers. *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 2974–2982
7. Allison RD, Ray Lewis A, Liedtke R, Buchmeyer ND, Frank H. Early identification of hypovolemia using total body resistance measurements in long-term care facility residents. *Gen Med*. 2005 Mar;2(1):19-34.
8. Ames BN et al. (November 1981). "Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis". *Proc Natl Acad Sci U S A* 78 (11): 6858–62
9. Ari Elif, Yuksel KAYA, Halit DEMIR, Aysegul CEBI, Hamit Hakan ALP, Ebubekir BAKAN, Dolunay ODABASI, Siddik KESKIN. Oxidative DNA damage correlates with carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients. *Hemodialysis International* 2011; 15:453–459

10. 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.
11. Bailie GR, Johnson CA, Mason NA. Parenteral iron use in the management of anemia in end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis*. 2000 Jan;35(1):1-12
12. Barbosa-Silva MCG, Barros AJD: Bioelectrical impedance analysis in clinical practice: A new perspective in its use beyond body composition equations. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 8: 311–317, 2005
13. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251(5 Pt 2): F765-F776
14. 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.
15. Becker BF (June 1993). "Towards the physiological function of uric acid". *Free Radical Biology & Medicine* 14 (6): 615–31
16. Bellizzi V, Scalfi L, Terracciano V, De Nicola L, Minutolo R, Marra M, Guida B, Cianciaruso B, Conte G, Di Iorio BR. Early changes in bioelectrical estimates of body composition in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2006 May;17(5):1481-7. Epub 2006 Apr 12
17. Bergström, J. (1995) Nutrition and mortality in hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology* 6, 1329-1341; Arici, M. & Walls, J. (2001) End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney International* 59, 407-414
18. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation*. 1995 May 1;91(9):2488-96.
19. Blumberg A, Hanck A, Sander G. Vitamin nutrition in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Clin Nephrol* 1983; 20:244 -50
20. 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.



21. 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
22. Bogye G, Tompos G, Alftan G. Selenium depletion in hemodialysis patients treated with polysulfone membranes. *Nephron.* 2000 Feb;84(2):119-23.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6, 391–397.
28. 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.
29. 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
30. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation.* 2003 Nov 11;108(19):2317-22. Epub 2003 Oct 20.
31. Charalampidis PS, Veltsistas P, Karkabounas S et al. Blue CrO<sub>5</sub> 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

32. Chertow GM, Lazarus JM, Lew NL, Ma L, Lowrie EG. Bioimpedance norms for the hemodialysis population. *Kidney Int.* 1997 Dec;52(6):1617-21
33. 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
34. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol.* 1999 Sep-Oct;36(13-14):941-8.
35. 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.
36. 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.
37. Cruz DN, de Cal M, Ronco C. Oxidative stress and anemia in chronic hemodialysis: the promise of bioreactive membranes. *Contrib Nephrol* 2008;161:89–98
38. Cupisti A, D'Alessandro C, Morelli E, Rizza GM, Galetta F, Franzoni F, Barsotti G: Nutritional status and dietary manipulation in predialysis chronic renal failure patients. *J Ren Nutr* 14: 127–133, 2004
39. Cutler RG (December 1984). "Urate and ascorbate: their possible roles as antioxidants in determining longevity of mammalian species". *Archives of Gerontology and Geriatrics* 3 (4): 321–48
40. Dakshinamurty KV, Rao PV, Saibaba KS, Sheela RB, Sreekrishna V, Venakataramana G, Shyam C, Jayaseelan L. Oxidative stress in hemodialysis--postdialytic changes. *Clin Lab.* 2003;49(5-6):255-61
41. Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., & Milzani, A. (2003). Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol. Med.*, 9, 169–176.
42. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52, 601–623.
43. 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.

44. 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
45. Daugirdas JT et al 2007. *Handbook of dialysis*. 4<sup>th</sup> edition
46. Davis MP, Yavuzsen T, Khoshknabi D, Kirkova J, Walsh D, Lasheen W, Lagman R, Karafa MT. Bioelectrical impedance phase angle changes during hydration and prognosis in advanced cancer. *Am J Hosp Palliat Care*. 2009 Jun-Jul;26(3):180-7. doi: 10.1177/1049909108330028. Epub 2009 Jan 30
47. Dawnay A, Millar DJ. The pathogenesis and consequences of AGE formation in uraemia and its treatment. *Cell Mol Biol* 1998; 44:1081-94
48. de Araujo Antunes A, Vannini FD, de Arruda Silveira LV, Barretti P, Martin LC, Caramori JC. Associations between bioelectrical impedance parameters and cardiovascular events in chronic dialysis patients. *Int Urol Nephrol*. 2012 Dec 4. [Epub ahead of print]
49. Deicher R, Horl WH. Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res* 2003; 26:100–6.
50. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Chatenoud L. Immune system dysregulation in uremia. *Semin Nephrol*. 1994 May;14(3):253-60.
51. Di Iorio BR, Scalfi L, Terracciano V, Bellizzi V. A systematic evaluation of bioelectrical impedance measurement after hemodialysis session. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2435-40
52. 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
53. Digant Gupta, Carolyn A Lammersfeld, Jessica L Burrows, Sadie L Dahlk, Pankaj G Vashi, James F Grutsch, Sara Hoffman, and Christopher G Lis. Bioelectrical impedance phase angle in clinical practice: implications for prognosis in advanced colorectal cancer. *Am J Clin Nutr* 2004a;80:1634–8
54. Digant Gupta, Carolyn A Lammersfeld, Pankaj G Vashi, Jessica King, Sadie L Dahlk, James F Grutsch and Christopher G Lis. Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic indicator in breast cancer. *BMC Cancer* 2008, 8:249
55. Digant Gupta, Christopher G. Lis, Sadie L. Dahlk, Pankaj G. Vashi, James F. Grutsch and Carolyn A. Lammersfeld. Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic

- indicator in advanced pancreatic cancer. *British Journal of Nutrition* (2004b), 92, 957–962
56. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defences. *Mol Cell Biochem.* 2000; 205: 1-11.
  57. 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
  58. 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.
  59. Dumler F, Kilates C: Prospective nutritional surveillance using bioelectrical impedance in chronic kidney disease patients. *J Ren Nutr* 15: 148–151, 2005
  60. 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.
  61. Ece A, Gürkan F, Kervancioğlu 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.
  62. Eiselt J, Racek J, Holecek V, Krejcová I, Opatrný K. [Antioxidants and malondialdehyde during hemodialysis with cellulose diacetate and polysulfone membranes]. *Cas Lek Cesk.* 1996 Nov 6;135(21):691-4.
  63. Eiselt J, Racek J, Opatrný K Jr: Free radicals and extracorporeal renal replacement therapy. *Vnitr Lek* 45: 319-324, 1999.
  64. Epperlein MM, Nourooz-Zadeh J, Jayasena SD, Hothersall JS, Noronha-Dutra A, Neild GH. Nature and biological significance of free radicals generated during bicarbonate hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 1998 Mar;9(3):457-63
  65. 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
  66. Foley R.N., P. Parfrey and M.J. Samak, Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure, *Am J Kidney Dis* 32 (1998).
  67. Gabor Bogye, Gabor Tompos, Georg Alftan. Selenium Depletion in Hemodialysis Patients Treated with Polysulfone Membranes. *Nephron* 2000;84:119–123

68. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 2135-2137.
69. Galli F. Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22(Suppl 5): 20-36.
70. Galli F. Vitamin E-modified dialysers. *ContribNephrol* 2002;137:95–105
71. 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
72. Georgios Boudouris, Ioannis I. Verginadis, Yannis V. Simos, Andreas Zouridakis, Vasilios Ragos, Spyridon Ch. Karkabounas, Angelos M. Evangelou. Oxidative stress in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and the significant role of vitamin C and E supplementation. *Int Urol Nephrol.* 2012 Dec 2. [Epub ahead of print]
73. Glantzounis GK, Tsimoyiannis EC, Kappas AM, Galaris DA (2005). "Uric acid and oxidative stress". *Current Pharmaceutical Design* 11 (32): 4145–51
74. Gokal R, Mallick NP. Peritoneal dialysis. *Lancet* 1999; 353:823 -8.
75. González Díez B. Progression of chronic renal failure and oxidative stress. *Electron J Biomed.* 2003; 1: 5-11.
76. Gündüz Z, Düşünsel R, Köse K, Utaş C, Doğan P. The effects of dialyzer reuse on plasma antioxidative mechanisms in patients on regular hemodialysis treatment. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(2):225-31.
77. Haag-Weber M, Hörl WH. Dysfunction of polymorphonuclear leukocytes in uremia. *Semin Nephrol.* 1996 May;16(3):192-201.
78. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis.* 1993; 23(Suppl 1): 118-126.
79. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). Oxford University Press.
80. Hashimoto H, Mio T, Sumino K. Lipid abnormalities of erythrocyte membranes in hemodialysis patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta.* 1996 Aug 30;252(2):137-45.

81. Haugen E, Nath KA. The involvement of Oxidative Stress in the Progression of Renal Injury. *Blood Purif.* 1999; 17: 58-65.
82. Hayden MR, Tyagi SC (2004). "Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle". *Nutrition & Metabolism* 1 (1): 10
83. 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.
84. Hennig B, Chow CK. Lipid peroxidation and endothelial cell injury: implications in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 1988;4(2):99-106.
85. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002 Nov;62(5):1524-38.
86. Himmelfarb J. Oxidative stress in hemodialysis. *Contrib Nephrol.* 2008;161:132-7
87. Himmelfarb J. Uremic toxicity, oxidative stress, and hemodialysis as renal replacement therapy. *Semin Dial.* 2009 Nov-Dec;22(6):636-43. doi: 10.1111/j.1525-139X.2009.00659.x.
88. Honda K, Nitta K, Horita S, *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; 14:1541-9
89. House AA, Wells GA, Donnelly JG, Nadler SP, Hébert PC. Randomized trial of high-flux vs low-flux haemodialysis: effects on homocysteine and lipids. *Nephrol Dial Transplant.* 2000 Jul;15(7):1029-34.
90. Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal antioxidant enzymes: their regulation and function. *Kidney Int.* 1994; 45: 1-9.
91. 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.
92. J.D. Lambeth. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, 4 (2004); 181–189
93. 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

94. Jaffar Nourooz-Zadeh. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods in Enzymology* Volume 300, 1999, Pages 58–62
95. Jenner, P. (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 53, S26–S36
96. Johnson-Davis KL, Fernelius C, Eliason NB, Wilson A, Beddhu S, Roberts WL. Blood enzymes and oxidative stress in chronic kidney disease: a cross sectional study. *Ann Clin Lab Sci.* 2011 Fall;41(4):331-9
97. Johnson-Davis KL, Fernelius C, Eliason NB, Wilson A, Beddhu S, Roberts WL. Blood enzymes and oxidative stress in chronic kidney disease: a cross sectional study. *Ann Clin Lab Sci.* 2011 Fall;41(4):331-9.
98. 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
99. K. Bedard, K.-H. Krause. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87 (2007); 245–313
100. 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.
101. 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.
102. 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
103. Kaysen GA, Chertow GM, Adhikarla R, Young B, Ronco C, Levin NW. Inflammation and dietary protein intake exert competing effects on serum albumin and creatinine in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001 Jul;60(1):333-40.
104. Kirschbaum B. Total urine antioxidant capacity. *Clin Chim Acta.* 2001 Mar;305(1-2):167-73
105. Klahr S. Oxygen radicals and renal diseases. *Miner Electrolyte Metab.* 1997; 23: 140-143.

106. Kocak H, Gumuslu S, Ermis C, Mahsereci E, Sahin E, Gocmen AY, Ersoy F, Suleymanlar G, Yakupoglu G, Tuncer M. Oxidative stress and asymmetric dimethylarginine is independently associated with carotid intima media thickness in peritoneal dialysis patients. *Am J Nephrol*. 2008;28(1):91-6. Epub 2007 Oct 3.
107. 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
108. Kossmann RJ, Gonzales A, Callan R, Ahmad S. Increased efficiency of hemodialysis with citrate dialysate: a prospective controlled study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Sep;4(9):1459-64. doi: 10.2215/CJN.02590409. Epub 2009 Aug 6.
109. Kourtzelis I, Markiewski MM, Dumas M, Rafail S, Kambas K, Mitroulis I, Panagoutsos S, Passadakis P, Vargemezis V, Magotti P, Qu H, Mollnes TE, Ritis K, Lambris JD. Complement anaphylatoxin C5a contributes to hemodialysis-associated thrombosis. *Blood*. 2010 Jul 29;116(4):631-9. doi: 10.1182/blood-2010-01-264051. Epub 2010 Apr 27.
110. Kristina Norman, Nicole Stobäus, Matthias Pirlich, Anja Bosy-Westphal. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis - Clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clinical Nutrition* 31 (2012) 854e861
111. Kubasova T, Horváth M, Kocsis K, Fenyö M. Effect of visible light on some cellular and immune parameters. *Immunol Cell Biol*. 1995 Jun;73(3):239-44.
112. 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.
113. 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.
114. Levey, A. S., Eckardt, K. U., Tsukamoto, Y., Levin, A., Coresh, J., Rossert, J., De Zeeuw, D., Hostetter, T. H., Lameire, N. & Eknoyan, G. (2005) Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney International* 67, 2089-2100



115. 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.
116. 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.
117. Lim PS, Wei YH, Yu YL, Kho B. Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrol Dial Transplant*. 1999 Nov;14(11):2680-7
118. Lin SH, Lin YF, Chin HM, Wu CC. Must metabolic acidosis be associated with malnutrition in haemodialysed patients? *Nephrol Dial Transplant*. 2002 Nov;17(11):2006-10
119. Liochev, S. I., & Fridovich, I. (1994). The role of O<sub>2</sub> in the production of HO: In vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 29–33
120. Liu JQ, Manouchehri N, Lee TF, Yao M, Bigam DL, Cheung PY. Infusing sodium bicarbonate suppresses hydrogen peroxide accumulation and superoxide dismutase activity in hypoxic-reoxygenated newborn piglets. *PLoS One*. 2012;7(6):e39081. doi: 10.1371/journal.pone.0039081. Epub 2012 Jun 22
121. 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
122. 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.
123. Laciak M, Trznadel K. Free oxygen species metabolism during haemodialysis with different membranes. *Nephrol Dial Transplant*. 1991;6 Suppl 3:66-70.
124. M. Cristina Di-Gioia, Paloma Gallar, Isabel Rodríguez, Nuria Laso, Ramiro Callejas, Olimpia Ortega, Juan C. Herrero, Ana Vigil. Changes in body composition parameters in patients on haemodialysis and peritoneal dialysis. *Nefrologia* 2012;32(1):108-13
125. Maggiore Q, Nigrelli S, Ciccarelli C, Grimaldi C, Rossi GA, Michelassi C. Nutritional and prognostic correlates of bioimpedance indexes in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1996 Dec;50(6):2103-8.
126. 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.
127. 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
128. 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.
129. Marion Morena, Jean-Paul Cristol, Jean-Yves Bosc, Ciro Tetta, Gilles Forret, Claude-Louis Leger<sup>1</sup>, Cecile Delcourt, Laure Papoz, Bernard Descomps and Bernard Canaud. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* (2002) 17: 422–427
130. 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.
131. Massy ZA, Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. *J Nephrol* 2002; 15:336 -41.
132. Masuda A, Hagiwara S, Tanimoto M, Kodama F, Okumura K, Nohara N, Matsumoto M, Maiguma M, Omote K, Io H, Kurusu A, Ohsawa I, Shimizu Y, Hamada C, Horikoshi S, Tomino Y. Effects of acetate-free citrate dialysate on glycoxidation and lipid peroxidation products in hemodialysis patients. *Nephron Extra*. 2012 Sep 27;2(1):256-68. doi: 10.1159/000342258. Print 2012 Jan.
133. 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.
134. 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.
135. 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.
136. 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.
137. Menon, A. Gul and M.J. Sarnak, Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease, *Kidney Int* 68 (2005), pp. 1413–1418.
138. 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
139. Miyata T, Inagi R, Asahi K, *et al.* Generation of protein carbonyls by glycooxidation and lipoxidation reactions with autoxidation products of ascorbic acid and polyunsaturated fatty acids. *FEBS Lett* 1998; 437:24—8
140. 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.
141. Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP. Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodial Int.* 2005 Jan;9(1):37-46.
142. Morena M, Martin-Mateo M, Cristol JP, Canaud B. [Oxidative stress, hemoincompatibility and complications of long-term dialysis]. *Nephrologie.* 2002;23(5):201-8.
143. 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
144. Muobarak J Tuorkey. Bioelectrical Impedance as a Diagnostic Factor in the Clinical Practice and Prognostic Factor for Survival in Cancer Patients: Prediction, Accuracy and Reliability. *J Biosens Bioelectron* 2012, 3:4. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6210.1000121>
145. Nair S et al. Flow cytometric monitoring of glutathione content and anthracycline retention in tumor cells. *Cytometry* 1991; 12: 336-342
146. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, et al. (March 2006). "A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome". *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 290 (3): F625–31
147. Nanayakkara PW, Teerlink T, Stehouwer CD, Allajar D, Spijkerman A, Schalkwijk C, ter Wee PM, van Guldener C. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA)

- concentration is independently associated with carotid intima-media thickness and plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) concentration in patients with mild-to-moderate renal failure. *Kidney Int.* 2005 Nov;68(5):2230-6.
148. Nanayakkara PW, van Guldener C, ter Wee PM, Scheffer PG, van Ittersum FJ, Twisk JW, Teerlink T, van Dorp W, Stehouwer CD. Effect 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
149. Nanayakkara PWB, Gaillard CAJM: Vascular disease and chronic renal failure: new insights. *The Netherlands journal of Medicine* 2010, 68(1): 5-14
150. 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
151. Nguyen AT, Lethias C, Zingraff J, Herbelin A, Naret C, Descamps-Latscha B. Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo and in vitro within microamounts of whole blood. *Kidney Int.* 1985 Aug;28(2):158-67.
152. Nicole Stobaus, Matthias Pirlich, Luzia Valentini, Jorg Dieter Schulzke and Kristina Norman. Determinants of bioelectrical phase angle in disease. *British Journal of Nutrition* (2012), 107, 1217–1220
153. Noguchi N, Watanabe A, Shi H. Diverse functions of antioxidants. *Free Radic Res* 2000; 33:809-817.
154. Otitoloju 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].
155. Ott M, Fischer H, Polat H, Helm EB, Frenz M, Caspary WF, Lembcke B. Bioelectrical impedance analysis as a predictor of survival in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1995 May 1;9(1):20-5.
156. 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. |

157. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007). "Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease". *Physiol. Rev.* 87 (1): 315–424.
158. 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.
159. 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
160. Passlick-Deetjen J, Quellhorst E. Continuous flow peritoneal dialysis (CFPD): a glimpse into the future. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 2296-2299.
161. Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron.* 1993;64(1):106-9
162. 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.
163. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Oxidative stress effects fibrinolytic system in dialysis uraemic patients. *Thromb Res.* 2006;117(5):517-22.
164. 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
165. Piccoli A; Italian CAPD-BIA Study Group. Bioelectric impedance vector distribution in peritoneal dialysis patients with different hydration status. *Kidney Int.* 2004 Mar;65(3):1050-63.
166. Plutzky J. Inflammatory pathways in atherosclerosis and acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2001 Oct 18;88(8A):10K-15K.
167. Proctor PH (May 2008). "Uric acid: neuroprotective or neurotoxic?". *Stroke* 39 (5): e88; author reply e89
168. Puchades MJ, Saez G, Muñoz MC, Gonzalez M, Torregrosa I, Juan I, Miguel A. *Clin Nephrol.* Study of oxidative stress in patients with advanced renal disease and undergoing either hemodialysis or peritoneal dialysis. 2013 Jun 19. [Epub ahead of print];

169. Ramakrishna P, Reddy EP, Suchitra MM, Bitla AR, Rao PV, Sivakumar V. Effect of reuse of polysulfone membrane on oxidative stress during hemodialysis. *Indian J Nephrol.* 2012 May;22(3):200-5. doi: 10.4103/0971-4065.98758.
170. Rao, M., Guo, D., Perianayagam, M. C., Tighiouart, H., Jaber, B. L., Pereira, B. J., Balakrishnan, V. S. (2005) Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases* **45**, 324-333
171. 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
172. 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 Mar;11(3):539-49
173. Rösler A, Lehmann F, Krause T, Wirth R, von Renteln-Kruse W. Nutritional and hydration status in elderly subjects: clinical rating versus bioimpedance analysis. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010 May-Jun;50(3):e81-5. doi: 10.1016/j.archger.2009.06.007. Epub 2009 Jul 17.
174. Roxanne Poole, Abdullah Hamad. Nutrition Supplements in Dialysis Patients: Use in Peritoneal Dialysis Patients and Diabetic Patients *Advances in Peritoneal Dialysis*, Vol. 24, 2008.
175. Rustom R, Wang B, McArdle F, Shalamanova L, Alexander J, McArdle A, Thomas CE, Bone JM, Shenkin A, Jackson MJ. Oxidative stress in a novel model of chronic acidosis in LLC-PK1 cells. *Nephron Exp Nephrol.* 2003;95(1):e13-23
176. 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.
177. 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.* 2003;35(3):393-397
178. 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.

179. Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr. Med. Chem.*, 8, 721–738
180. Schettler V, Wieland E, Methe H, Schuff-Werner P, Müller GA. Oxidative stress during dialysis: effect on free radical scavenging enzyme (FRSE) activities and glutathione (GSH) concentration in granulocytes. *Nephrol Dial Transplant*. 1998 Oct;13(10):2588-93
181. 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.
182. 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
183. Shi XF, Ding F, Zhu QY, Xue J, Lu FM, Gu Y, Lin ST. Use of ascorbate-rich dialysate to attenuate oxidative stress in maintenance hemodialysis patients. *Ren Fail*. 2005;27(2):213-9
184. 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.
185. 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.
186. Shurtz-Swirski R, Mashiach E, Kristal B, Shkolnik T, Shasha SM. Antioxidant enzymes activity in polymorphonuclear leukocytes in chronic renal failure. *Nephron*. 1995;71(2):176-9.
187. Slatopolsky E, Hoffsten P, Purkerson M, Bricker NS. On the influence of extracellular fluid volume expansion and of uremia on bicarbonate reabsorption in man. *J Clin Invest*. 1970 May;49(5):988-98
188. Snyder S, Pendergraph B: Detection and evaluation of chronic kidney disease. *Am Fam Physician* 2005, 72: 1723-1732
189. Sosa MA, Balk EM, Lau J, Liangos O, Balakrishnan VS, Madias NE, et al. A systematic review of the effect of the Excebrane dialyser on biomarkers of lipid peroxidation. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2825–33

190. Spittle MA, Hoenich NA, Handelman GJ, Adhikarla R, Homel P, Levin NW. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2001 Dec; 38(6):1408-13
191. Stadtman, E. R. (2004). Role of oxidant species in aging. *Curr. Med. Chem.*, 11, 1105–1112.
192. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulsen F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L, Jørgensen T: Strong association between malnutrition, inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 55 : 1899 –1911, 1999
193. Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif.* 2001; 19: 53-61.
194. Stenvinkel, P. & Alvestrand, A. (2002) Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Seminars in Dialysis* **15**, 329-337
195. Stenvinkel, P., Barany, P., Heimbürger, O., Pecoits-Filho, R. & Lindholm, B. (2002a) Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney International. Supplement* **80**, 103-108
196. Stenvinkel, P., Lindholm, B. & Heimbürger, O. (2000) New strategies for management of malnutrition in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* **20**, 271-275
197. Suematsu M, Tsuchiya M. Microtopographic analysis of oxidative stress in organ microcirculatory units. *Adv Exp Med Biol.* 1992;316:211-21.
198. 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.
199. Sunder-Plassmann G, Hörl WH. Importance of iron supply for erythropoietin therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 1995 Nov;10(11):2070-6
200. 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
201. Swarnalatha G, Ram R, Neela P, Naidu MU, Dakshina Murthy KV. Oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy and the role of N-acetylcysteine in preventing oxidative stress. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2010 Sep;21(5):852-8



202. Szczech LA, Lazar IL: Projecting the United States ESRD population: Issues regarding treatment of patients with ESRD. *Kidney Int Suppl* 66 : S3 –S7, 2004.
203. Tamai N, Ito S, Nakasuka K, Morimoto K, Miyata K, Inomata M, Yoshida T, Suzuki S, Murakami Y, Sato K. Sodium bicarbonate for the prevention of contrast-induced nephropathy: the efficacy of high concentration solution. *J Invasive Cardiol*. 2012 Sep;24(9):439-42
204. 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.
205. Tayeb JS, Provenzano R, El-Ghoroury M, Bellovich K, Khairullah Q, Pieper D, Morrison L, Calleja Y. Effect of biocompatibility of hemodialysis membranes on serum albumin levels. *Am J Kidney Dis*. 2000 Apr;35(4):606-10.
206. Taylor JE, Scott N, Bridges A, Henderson IS, Stewart WK, Belch JJ. Lipid peroxidation and antioxidants in continuous ambulatory dialysis patients. *Perit Dial Int*. 1992;12(2):252-6.
207. Teresa Do ate, Alba Herreros, Ester Martinez, Joaquin Martinez, Enric Andr s, Antonio Cabezas, Angeles Ortiz, Ana de Prado,1 Jos M. Pou, 1 Reinald Pamplona, Manuel Portero Otin, Maria J. Bellmunt. Protein Oxidative Stress in Dialysis Patients. *Advances in Peritoneal Dialysis*, Vol. 18, 2002
208. Topley N. Membrane longevity in peritoneal dialysis: impact of infection and bio-incompatible solutions. *Adv Ren Replace Ther* 1998; 5:179 -84
209. Tosco M, Porta C, Sironi C, Laforenza U, Orsenigo MN. Acute and chronic acidosis influence on antioxidant equipment and transport proteins of rat jejunal enterocyte. *Cell Biol Int*. 2011 Apr;35(4):345-53. doi: 10.1042/CBI20100428
210. 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
211. 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.
212. USRDS: Expects from United State Renal Data System 1999. Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:S1–176

213. Vaculin S, Franek M, Vejrazka M. Role of oxidative stress in animal model of visceral pain. *Neurosci Lett*. 2010; 477:82-85.
214. Valentine JF, Nick HS. Acute-phase induction of manganese superoxide dismutase in intestinal epithelial cell lines. *Gastroenterology*. 1992 Sep;103(3):905-12.
215. 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.
216. 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.
217. Varan HI, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: comparison of two dialysis membranes. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2010;3:39-45. Epub 2010 Apr 12.
218. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, Sawyer DB, Levy D, Wilson PW, D'Agostino RB; Framingham Heart Study. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study Circulation. 2003 Mar 25;107(11):1486-91.
219. 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.
220. W. A. F. Peres, D. F. Lento, K. Baluz and A. Ramalho. Phase angle as a nutritional evaluation tool in all stages of chronic liver disease. *Nutr Hosp*. 2012;27:2072-2078
221. Ward RA, McLeish KR. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? *Artif Organs*. 2003 Mar;27(3):230-6.
222. Ward RA, Ouseph R, McLeish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int*. 2003 Jan;63(1):353-9.
223. Washio K, Inagaki M, Tsuji M, Morio Y, Gotoh H, Gotoh Y, Oguchi K. Correlation between leukocyte membrane lipid peroxidation and expression of Cu/Zn-superoxide dismutase mRNA in hemodialysis patients. *Blood Purif*. 2012;33(1-3):59-65. doi: 10.1159/000333840. Epub 2011 Dec 29.
224. Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced Glycation End Products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab (Paris)*. 2001; 27: 535-542.

225. Weiss MF, Saxena AK, Monnier VM. Pharmacological modulation of AGEs: a unique role for redoxactive metal ions. *Perit Dial Int* 1999; 19(Suppl 2): S62-7
226. Winterbourn CC, Buss IH, Chan TP, *et al.* Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients. *Crit Care Med*; 2000; 28:143—9
227. 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.
228. 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.
229. Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS, Böger R; CREED Investigators. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002 Feb;13(2):490-6.
230. 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.
231. Zucchelli P, Santoro A. How to achieve optimal correction of acidosis in end-stage renal failure patients. *Blood Purif.* 1995 Nov-Dec;13(6):375-84
232. 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.
233. 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
234. Zwolinska D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in patients with chronic renal failure. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 1998; 7:87 -92.
235. Παπαγεωργίου ΓΕ. Βιοχημεία ελευθέρων ριζών. Αντιοξειδωτικά και λιπιδική υπεροξείδωση. University Studio Press, 2005.