ПРОУЧВАНЕ АКТИВНОСТТА НА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗАТА И КАТАЛАЗАТА И КОЛИЧЕСТВОТО НА МАЛОНДИАЛДЕХИДА ПРИ ПАЦИЕНТИ С ИНСУЛИН-ЗАВИСИМ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ, ПОДЛОЖЕНИ НА ХРОНИОХЕМОДИАЛИЗА С ПОЛИСУЛФОНОВИ И ЦЕЛУЛОЗОДИАЦЕТАТНИ МЕМБРАНИ

П. Гойчева[1], А. Толекова[2], Б. Попов[3], С. Попова[3], В. Гаджева[3], Р. Койчева[1] и Д. Сапунджиев[4]

[1]Катедра по вътрешни болести и клинична лаборатория, [2]Катедра по физиология, патофизиология и фармакология, [3]Катедра по химия и биохимия, Медицински факултет, Тракийски университет – Стара Загора
[4]Отделение по хемодиализа, МБАЛ „Проф. Ст. Киркович" – Стара Загора

ANALYSIS OF ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE AND CATALASE AND PLASMA MALONDIALDEHYDE CONCENTRATION IN PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS, UNDERGOING HAEMODIALYSIS WITH POLYSULFONE AND CELLULOSE DIACETATE MEMBRANES

P. Goycheva[1], A. Tolekova[2], B. Popov[3], S. Popova[3], V. Gadzheva[3], R. Koycheva[1] and D. Sapundzhiev[4]

[1]Department of Internal Medicine and Clinical Laboratory, [2]Department of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology, [3]Department of Chemistry and Biochemistry, Medical Faculty, Thracian University – Stara Zagora
[4]Department of Hemodialysis – Stara Zagora

Резюме:

Установено е, че оксидативният стрес съучастава в патогенезата на редица заболявания и болестни процеси. Днес при захарния диабет все повече се възприема становището за възможност от развитието на хронично оксидативно увреждане. Тези промени са още по-ясно изразени при болни на хронично хемодиализно лечение, тъй като се обсъжда ролята не само на хипергликемията, но и на увеличената концентрация на урея като източник на реактивни кислородни видове (ROS) и причина за неефективното действие на антиоксидантните защитни системи. От друга страна, самата процедура е допълнителен стимул за развитието на оксидативен стрес. Има доказателства за неблагоприятните ефекти, дължащи се на бионесъвместимост на диализните мембрани. Целта на настоящата работа е да се проучат активностите на антиоксидантните ензими супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ) и промените в концентрацията на малондиалдехида (МДА) като проява на оксидативен стрес при пациенти с диабетна нефропатия (ДНП) преди и след хрониохемодиализа (ХХД) и спрямо контролна група здрави лица. Да се изясни дали видът на използваната диализна мембрана оказва въздействие върху тези показатели за оксидативен стрес. Посочените параметри са проучени при 10 пациенти със захарен диабет тип 1 с диабетна нефропатия на хрониохемодиализа и 17 здрави лица като контроли. Намерихме изразен оксидативен стрес в групата на пациентите, отчитайки повишена липидна пероксидация и променени активности на антиоксидантните ензими, преди и след хемодиализа. В заключение може да се посочи, че оксидативният стрес при пациентите със захарен диабет тип 1 и хронична бъбречна недостатъчност персистира и след провеждане на хемодиализа с двата вида мембрани – целулозодиацетатна и полисулфонова, като установеното от нас понижение в активността на СОД показва известно предимство на полисулфоновите диализни мембрани.

Ключови думи: захарен диабет, диабетна нефропатия, оксидативен стрес, супероксиддисмутаза, малондиалдехид, антиоксидантни ензими

Адрес за кореспонденция: *Д-р Петя Гойчева, Отделение по ендокринология, I вътрешна клиника, УМБАЛ, ул. „Армейска" № 11, 6000 Ст. Загора, тел. 042 664 382,*

e-mail: petya_goicheva@yahoo.com

Summary:

It has been established that the oxidative stress is involved in various pathological processes and diseases. Diabetes mellitus has recently been implicated as a causative factor for chronic oxidative damage. Due to hyperglycaemia, these complications have a higher incidence in patients receiving long-term haemodialysis. Increased concentration of urea promotes the development of ROS (Reactive Oxidative Species) further and leads to inefficiency of the antioxidant defence systems. The nature of the haemodialysis-procedure itself is a source of ROS on account of bio-incongruent dialysis-membranes. This study is designed to determine the activity of superoxide dismutase and catalase and the stage of lipid peroxidation in diabetic patients with diabetic nephropathy, undergoing haemodialysis – before and after it. And also to evaluate the effects of two types of dialysis-membranes on the lipid peroxidation and some antioxidant enzymes. The studied parameters are evaluated in 10 diabetic patients undergoing haemodialysis and 17 healthy volunteers. We found enhanced oxidative stress in all patient groups due to an increase in lipid peroxidation and changed activities of antioxidant enzymes. In conclusion, it has been noticed that the oxidative stress persists in diabetes mellitus type I patients with chronic renal failure undergoing haemodialysis using both types of dialysis-membranes. In our study, the polysulfone membrane showed out some advantage.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, oxidative stress, malondialdehyde, antioxidant enzymes

Address for correspondence: *Petya Goycheva, M. D., Section of Endocrinology, University Hospital, 11 Armeyska Str., Bg – 6000 Stara Zagora, tel. +359 42 664 382, e-mail: petya_goicheva@yahoo.com*

ВЪВЕДЕНИЕ

Реактивните кислородни видове (ROS) се образуват при оксиредукционните биохимични процеси като част от нормалния метаболизъм на аеробните организми [1, 13, 24]. Те са силно реактивоспособни и често оказват вредно въздействие върху човека. Ето защо има механизми за тяхното елиминиране, към които принадлежат и някои антиоксидантни ензими.

При физиологични условия съществува баланс между образуването на ROS, от една страна, и елиминирането им от защитните системи на организма – от друга. Този баланс е твърде деликатен и лесно може да бъде нарушен. Тогава възниква оксидативен стрес (ОС). Степента му може да се оцени по промените в активностите на антиоксидантните ензими или по количеството на получения при липидното перокисление малондиалдехид (МДА) [9].

Установено е, че ОС съучаства в патогенезата на редица заболявания и болестни процеси. От години се обсъжда ролята му при захарния диабет, бъбречните болести и др. [2, 16].

Днес при захарния диабет все повече се възприема становището за възможността от развитие на хронично оксидативно увреждане [12, 37]. Известно е, че хипергликемията води до образуване на ROS и причиненият по този начин оксидативен стрес участва в патогенезата на хроничните съдови усложнения на диабета [13, 24].

Клинично една от най-тежките прояви на микроангиопатията е диабетната нефропатия (ДН) [5, 6, 17]. В случая се обсъжда ролята не само на хипергликемията, но и на увеличената концентрация на урея като източник на ROS и причина за неефективното действие на антиоксидантните защитни системи [5, 11, 14, 15, 21, 22]. Тези промени са още по-ясно изразени при болни на хронично хемодиализно лечение, тъй като самата процедура е допълнителен стимул за развитието на ОС. Има доказателства за неблагоприятните ефекти, дължащи се на бионесъвместимост на диализните мембрани (биосъвместимостта на диализните мембрани се дефинира като отсъствие на активиране на комплемента, при което степента на активиране на комплемента зависи от типа на използваната мембрана и

това определя индекса ù на съвместимост) и активиране на макрофаги [23, 33]. Възможно е да попаднат потенциално токсични вещества в диализния воден поток, да се провокират хемолиза и освобождаване на желязо в циркулацията [29, 39]. Освен това серумните нива на някои микроелементи, напр. селен и цинк, могат да бъдат намалени [26]. Значение имат също и продължителността на хроничното хемодиализно лечение и други фактори.

Цел: да се проучат активностите на антиоксидантните ензими супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ) и промените в концентрацията на МДА като проява на оксидативен стрес при пациенти с диабетна нефропатия (ДНП) преди и след хрониохемодиализа (ХХД) и спрямо контролна група здрави лица. Да се изясни дали видът на използваната диализна мембрана оказва някакво въздействие върху тези показатели за оксидативен стрес.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвани бяха 10 пациенти – 5 жени и 5 мъже – с инсулинозависим захарен диабет и нефропатия от Отделението по хемодиализа на МБАЛ „ Проф. Д-р Стоян Киркович “ – Стара Загора. Те бяха на възраст от 40 до 66 години и давност на диабета от 8 до 41 години. Всички пациенти бяха на инсулиново лечение – един с ново микс 30 НМ, двама с микстард 20 НМ и останалите – с микстард 30 НМ.

Пациентите са на бикарбонатна диализа от 2 до 12 години. Процедурата е провеждана трикратно седмично, с продължителност по 4 часа. Според вида на използваната диализна мембрана те бяха разделени на две групи. Петима пациенти бяха подложени на ХХД с полисулфонова мембрана на фирма Nipro – Япония, стерилизирана с γ-камера, а останалите – с целулозодиацетатна, на българската фирма Етропал, стерилизирана с етилендиоксин. Мембраните и диализният разтвор не бяха обработени с антиоксиданти.

Като контроли бяха използвани 17 здрави лица – 8 жени и 9 мъже – на възраст от 18 до 66 год.

Венозна кръв се вземаше в деня на изследването непосредствено преди и след хемодиализата, по стандартна процедура. Проследени бяха рутинни клиниколабораторни показатели, характеризиращи състоянието на захарния диабет – кръвнозахарен профил (КЗП), гликиран хемоглобин (HbA_1c), липиден профил – и степента на бъбречна недостатъчност (креатинин, урея, кръвна картина, плазмени протеини). Изследванията бяха извършени в ЦКЛ на МБАЛ – Стара Загора, с помощта на затворена система COBAS Integra 400 на фирма Roche.

Нивата на липидното перокисление и активностите на антиоксидантните ензими СОД и КАТ бяха определяни в Лаборатория по антиоксидантни ензими към Катедрата по химия и биохимия на Медицинския факултет на Тракийския университет, с помощта на спектрофотометър Pharma LKB – Ultrospec III.

За определяне степента на липидното перокисление беше изследвано количеството на малондиалдехида по метода на тиобарбитуровата киселина [30]. Той се основава на спектрофотометрично измерване на розовото оцветяване на получените при реакцията продукти при λ 532 nm и моларен екстинкционен коефициент 1.56. Резултатите бяха представени в μmol/l.

Активността на СОД беше определяна в еритроцитен лизат по модифициран от нас метод на Sun et al., 1988 г. [34]. В случая за получаване на супероксиден анион беше използвана системата хипоксантин-ксантиноксидаза. Супероксидният анион редуцира нитроблутетразола (NBT) до разтворим формазан, който беше определян спектрофотометрично при 560 nm. Наличната СОД в изследваната проба превръща супероксидния анион във водороден пероксид и инхибира редукцията на NBT. За единица супероксиддисмутазна активност се приема количеството ензим, при което редукцията до формазан се инхибира наполовина. Резултатите бяха представени като килоединици ензимна активност за грам хемоглобин (kU/gHb).

Активността на каталазата беше определяна в еритроцитен лизат по модифициран от нас метод на Beers и Sizer, 1995 г. [7]. Като субстрат беше използван водороден пероксид и намалението на концентрацията му при 25º С и pH 7.0 беше определяно спектрофотометрично при 240 nm. За единица каталазна активност се приема количеството ензим, което разгражда 1μM H_2O_2 за 1 минута. Резултатите бяха представени като килоединици ензимна активност за грам хемоглобин (kU/gHb).

Концентрацията на хемоглобина в изследвания лизат беше определяна по

цианметхемоглобиновия метод на Mahoney et al., 1993 г. [19].

За статистическа и графична обработка на данните е използвана програмата Statistica 6.1, StaSoft. Inc. Резултатите са представени като средни стойности ± стандартна грешка ($\bar{x}$ ± $S_{\bar{x}}$). Статистически значимите различия между резултатите, получени в групите, са определени с Mann-Whetney U тест. За статистически значими се приемат различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ

Изследваните лица със захарен диабет тип 1 показаха умерено повишение на кръвните нива на глюкозата, като средната стойност от четирикратен КЗП е 6.9 ± 0.3 mmol/l спрямо контролната група здрави лица – 4.2 ± 1.3 mmol/l. Това съответства на нивата на гликирания хемоглобин, който е повишен при диабетиците (7.4 ± 1.3 %) в сравнение със здравите контроли (4.2 ± 1.5%) – $p < 0.05$. Сравнително добрите показатели за контрол на диабета най-вероятно са резултат от активното наблюдение на тези болни и трикратно седмично срещи с лекар.

На табл. 1 са представени лабораторните показатели, засягащи азотната обмяна на пациентите със захарен диабет преди и след хемодиализа, както и на контролната група здрави лица.

Таблица 1. Състояние на азотната обмяна на пациентите със захарен диабет тип 1 преди и след ХХД спрямо контролната група здрави лица

Показатели	*Контроли n = 17*	*Пациенти със ЗД тип 1*	
		преди ХХД n = 10	*след ХХД n = 10*
Урея, mmol/l	5.8 ± 1.8	30.8 ± 4.7* $p < 0.005$	18.7 ± 4.9*# $p < 0.005$
Креатинин, μmol/l	83.0 ± 20.5	825.0 ± 111.4* $p < 0.005$	404.3 ± 73.6*# $p < 0.005$

* – сигнификантна разлика за диабетната група спрямо контролите

\# – сигнификантна разлика за диабетната група преди и след ХХД

При пациентите значимо е увеличена концентрацията на уреята и на креатинина спрямо контролите – както преди, така и след процедурата ($p < 0.05$). Намалението на двата показателя при пациентите след ХХД спрямо изходните им нива е също сигнификантно ($p < 0.05$).

Проследени са активностите на антиоксидантните ензими СОД и КАТ, както и концентрацията на МДА на контроли и пациенти непосредствено преди и след приключване на диализата, като пациентите са разделени на две групи според вида на използваната мембрана. Получените резултати са представени в табл. 2.

При пациентите преди ХХД бяха установени статистически значимо по-високи активности на СОД (3.74 ± 0.62 kU/gHb) и КАТ (36.73 ± 3.19 kU/gHb) спрямо здравите контроли (СОД: 2.52 ± 0.22 kU/gHb; КАТ: 20.29 ± 1.64 kU/gHb) ($p < 0.05$).

След приключване на диализната процедура беше отчетена статистически значимо намалена активност на СОД при полисулфоновата мембрана (1.93 ± 0.68 kU/gHb) спрямо контролите (2.52 ± 0.22 kU/gHb) и статистически значимо увеличена при целулозодиацетатната (3.25 ± 0.68 kU/gHb).

И след ХХД активността на КАТ остава статистически значимо повишена спрямо контролите (20.29 ± 1.64 kU/gHb) и при двата вида мембрани (целулозодиацетатна – 36.69 ± 2.03 kU/gHb; полисулфонова – 44.00 ± 5.88 kU/gHb) ($p < 0.05$).

Няма статистическа разлика ($p > 0.05$) в активността на КАТ при пациентите преди и след ХХД независимо от вида на използваната мембрана.

При пациентите преди ХХД е налице значимо ($p < 0.05$) по-голямо количество на МДА (3.66 ± 0.19 μmol/l) спрямо контролите (1.73 ± 0.07 μmol/l). Въпреки че след процедурата то намалява, все пак остава статистически значимо по-високо независимо от вида на използваната диализна мембрана.

При сравняване на резултатите за МДА в групата на пациентите преди (3.66 ± 0.18 μmol/l) и след ХХД има статистически значимо намаление в концентрацията му и при двата вида мембрани (целулозодиацетатна: 2.75 ± 0.14 μmol/l; полисулфонова: 2.45 ± 0.13 μmol/l) ($p < 0.05$).

Таблица 2. Влияние на вида на мембраните върху активността на СОД, КАТ и концентрацията на МДА при пациенти със ЗД тип 1 преди и след хрониохемодиализа спрямо контролната група здрави лица

Показатели	*Контроли n = 17*	*Пациенти със захарен диабет тип 1*		
		Преди ХХД n = 10	*след ХХД – мембрани*	
			целулозоацетатна n = 5	*полисулфонова n = 5*
СОД, kU/gHb	2.52 ± 0.22	3.74 ± 0.62*	3.25 ± 0.68*	1.93 ± 0.68*#
КАТ, kU/gHb	20.29 ± 1.64	36.73 ± 3.19*	36.69 ± 2.03*	44.00 ± 5.88*

МДА, μmol/l	1.73 ± 0.07	3.66 ± 0.19*	2.75 ± 0.14*#	2.45 ± 0.13*#

* – сигнификантна разлика за диабетната група спрямо контролите, $p < 0.05$

– сигнификантна разлика за диабетната група преди и след ХХД

ОБСЪЖДАНЕ

Известно е, че захарният диабет се съпровожда с ясно изразен ОС. Особен интерес представлява ролята му при болни с ХБН, както и подложени на хрониохемодиализа. Има доста натрупани данни за промените в антиоксидантния статус на организма и степента на липидна пероксидация, свързани със самия процес на хемодиализа, както и вида на използваните мембрани, за които е описана различна биосъвместимост. Повечето от тези данни са разнопосочни.

При едни от тях след ХХД серумните нива на комплемента корелират негативно с полиморфонуклеарните фагоцити и образуването на пероксиди и позитивно – с полиморфонуклеарната апоптоза и образуването на цитокини от мононуклеарните клетки на периферната кръв. Въпреки че резултатите не показват предимство на типа диализна мембрана върху имунологичните параметри, активирането на комплемента може да модулира клетъчната функция и след ХХД – апоптозата [3].

В други случаи е описано по-значимо индуциране на комплементния отговор при целулозодиацетатните мембрани в сравнение със синтетичните акрилонитрилни мембрани (AN69). Това показва по-ниската биосъвместимост на първите [28] и респективно – по-ясно изразен ОС.

В настоящото проучване с помощта на избрани показатели за антиоксидантна активност и липидна пероксидация беше изследван оксидативният стрес при пациенти с инсулин-зависим захарен диабет и нефропатия на хронично хемодиализно лечение. Установени са значимо по-високи активности на СОД и КАТ преди хемодиализа, сравнени с тези на контролите. Те могат да се разглеждат като индикатор за повишен антиоксидантен капацитет на организма в отговор на изразен ОС при пациенти със захарен диабет и ХБН на ХХД. След ХХД, особено с ЦДА мембрана, активността на СОД е значимо по-висока в сравнение с ПС. Вероятно това е поради по-ниска биосъвместимост на целулозодиацетатната мембрана и оттам – повишена фагоцитна активност, изявена с повишено образуване на супероксидни радикали. Същевременно при пациентите след диализа с полисулфонова мембрана има значително намаление на активността на СОД, което най-вероятно се дължи на по-добрата биосъвместимост на тази мембрана.

За задържането на високите активности на СОД може би има значение и освобождаването на ензима в циркулацията в резултат на клетъчна апоптоза, засилена при хемодиализните процеси. Това може да се разглежда като маркер на клетъчно увреждане [20, 32, 38].

Известно е, че високата активност на СОД се последва от увеличено количество на водороден пероксид и вторично активиране на каталазата. След процедурата тази активност се задържа сигнификантно висока спрямо контролите и независимо от вида на използваната мембрана стойностите на КАТ са почти на същото високо ниво, както преди ХХД. Тази повишена каталазна активност косвено доказва съществуването на оксидативен стрес при пациентите със захарен диабет и хронична бъбречна недостатъчност.

Разнопосочни резултати има при проучване липидната пероксидация по отношение концентрацията на МДА. Например Canestari et al. [8] установяват, че количеството на плазмения МДА при пациентите с ХБН на ХХД, особено преди процедурата, е по-високо от това на контролите. До същото заключение достигат и някои други автори [4, 18, 25, 27, 35, 36].

За разлика от тях Samouilidou et al. [31] установяват, че количеството на МДА при пациентите след хемодиализа е по-ниско в сравнение с това преди нея, както и спрямо контролната група здрави лица.

В нашето проучване количеството на МДА при пациентите непосредствено преди и след хемодиализа беше сигнификантно по-високо в сравнение с контролната група. Беше отчетено несигнификантно намаление в количеството на МДА след хемодиализа и при двата вида мембрани.

Следователно при пациентите с инсулинозависим захарен диабет, подложени на продължително хемодиализно лечение, протича интензивна липидна пероксидация. Фактът, че след ХХД се задържа висока концентрация на МДА, подсказва, че пациентите са в състояние на непрекъснат ОС.

При изследваните болни количествата на уреята и креатинина бяха значително увеличени, а средната кръвна захар – съизмерима с тази на контролите. В много съвременни проучвания върху големи групи е установено, че ОС има дори и в най-ранния стадий на ХБН и е налице правопропорционална зависимост между него и уремията [10]. В случая тя може да се разглежда като втори източник на реактивни карбонилни производни (карбоксиметиллизин, пентозидин,

МДА и др.) [13, 21, 22], които допринасят за усилване на оксидативния стрес и липидната пероксидация. Ето защо комбинацията между диабет и ХБН влошава значително състоянието на пациентите.

В заключение може да се посочи, че оксидативният стрес при пациентите със захарен диабет тип 1 и хронична бъбречна недостатъчност персистира и след провеждане на хемодиализа с двата вида мембрани – целулозодиацетатна и полисулфонова, като установеното от нас понижение в активността на СОД показва известно предимство на полисулфоновите диализни мембрани.

Поради тези причини изучаването на диализните мембрани, хемодиализните техники и използването на различни екзогенни антиоксиданти, отстраняване на реактивните кислородни видове, е от изключителна важност за осигуряване на качество на живот на пациентите, подложени на хрониохемодиализа.

Библиография

1. Дукова, П. и Д. Йонова. Проинфламаторни цитокини при един хемодиализен сеанс. – Мед. преглед, 43, 2007, № 1, 69-72.
2. Цветков, Н. и П. Бочев. Свободнорадикални увреждания. Перспективи на антиоксидантната профилактика и терапия. С., Център за информация по медицина, 1996 г.
3. Andreoli, M. C. et al. Impact of dialyzer membrane on apoptosis and function of PMN cells and cytokine synthesis by periferal blood MN cells in hemodialysis patients. – Artif. Organs, 31, 2007, № 12, 887-892.
4. Balashova, T. S. et al. Lipid peroxidation as a possible mechanism of erythrocyte damage in patients with chronic renal failure on haemodialysis. – Ter. Arkh., 64, 1992, № 6, 66-69.
5. Baynes, J. W. et S. R. Thorpe. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. – Diabetes, 48, 1999, 1-9.
6. Baynes, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. – Diabetes, 40, 1991, 405-412.
7. Beers, R. et T. Sizer. Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. – J. Biol. Chem., 195, 1952, 133-138.
8. Canestari, F. et al. Redox state, antioxidative activity and lipid peroxidation in erythrocytes and plasma of chronic ambulatory peritoneal dialysis patients. – Clin. Chim. Acta, 234, 1995, 127-136.
9. Ceriello A. et al. Defective intracellular antioxidant enzyme production in type 1 diabetic patients with nephropathy. – Diabetes, 49, 2000, 170-177.
10. Descamps-Latscha, B. et V. Witko-Sarsat. Oxidative stress in chronic renal failure and haemodiaysis. – Nephrologie, 24, 2003, № 7, 377-379.
11. Galle, J. Oxidative stress in chronic renal failure. – Nephrol. Dial. Transplant., 16, 2001, 2135-2137.
12. Guigliano, D., A. Ceriello et G. Paolisso. Oxidative stress and diabetic vascular complications. – Diabetes Care, 19, 1996, 257-266.
13. Halliwell, B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? – Lancet, 1994, № 344, 721-724.
14. Himmelfarb, J. et R. M. Hakim. Oxidative stress in uremia. – Curr. Opin. Nephrol. Hypertens., 12, 2003, 593-598.
15. Jackson, P. et al. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. – Clin. Chem., 41, 1995, 1135-1138.
16. Kohen, R. et al. Evaluation of the total low molecular weight antioxidant activity of plasma in health and diseases. – A new approach. – Cell Pharmacol., 1996, № 3, 355-359.
17. Lee, H. B., H. Ha et G. L. King. Reactive oxygen species and diabetic nephropathy. – J. Am. Nephrol., 14, 2003, 209-210.
18. Loungrey, C. M. et al. Oxidative stress in haemodialysis. – QJM, 11, 1987, 679-683.

19. M a h o n e y , J. J. et al. Measurement of carboxyhemoglobin and total hemoglobin by five specialized spectrophotometers (CO-oximeters) in comparison with reference methods. – Clin. Chem., 39, 1993, № 8, 1693-1700.
20. M e u c c i , E. et al. Antioxidant status and dialysis: plasma and sliva antioxidant activity in patients with fluctuating urate levels. – Free Radic. Res., 29, 1998, 367-376.
21. M i y a t a , T. et al. Alterations in non-enzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. – Kidney Int., 55, 1999, 389-399.
22. M i y a t a , T. et al. Generation of protein carbonyls by glycoxidation and lipoxidation reactions with autoxidation products of ascorbic acid and polyunsaturated fatty acids. – FEBS Lett., 437, 1998, № 1-2, 24-28.
23. N g u y e n -K h o a , T. et al. Oxidative stress in haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. – Nephrol. Dial. Transplant., 16, 2001, 335-340.
24. O b e r l e y , L. W. Free radicals and diabetes. – Free Radic. Biol. Med., 1988, № 5, 13-124.
25. O z d e n , M. et al. Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in haemodialysis and CAPD patients. – Clin. Biochem., 35, 2002, № 4, 269-273.
26. P a u l , J. L. et al. Lipid peroxidation abnormalities in haemodialysed patients. – Nephrology, 64, 1993, 106-109.
27. P a v l o v a , E. L., I. M. Lilova et V. M. Savov. Oxidative stress in children with kidney disease. – Pediatr. Nephrol., 20, 2005, № 11, 1599-1604.
28. P e t r o v i c , G. D. Comparison of biocompatibility of hemophane, cellulose diacetate and acrilonitrile membranes in hemodialysis. – Acta Med. Croatica, 58, 2004, № 1, 31-36.
29. P e u c h a n t , E. et al. Lipoperoxidation in plazma and red blood cells of patients undergoing hemodialysis: vitamins A, E and iron status. – Free Radic. Biol. Med., 16, 1994, 339-346.
30. P l a s e r , Z. A. et L. L. Cushman. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in biochemical systems. – Anal. Biochem., 16, 1966, 359-364.
31. S a m o u i l i d o u , E. et E. Graspa. Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end stage renal failure. – Blood Purif., 21, 2003, № 3, 209-212.
32. S a t a , M. et K. Walsh. Oxidased LDL activities Fas-mediated endothelial apoptosis. – J. Clin. Invest., 102, 1998, 1682-1689.
33. S t e n v i n k e l , P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patients. – Blood Purif., 19, 2001, 53-61.
34. S u n , Y., L. W. Oberley et Y. Li. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. – Clin. Chem., 34, 1988, 497.
35. T a y l o r , J. E. et al. Lipid peroxidation and antioxidants in continuous ambulatory dialysis patients. – Perit. Dial. Int., 12, 1992, № 2, 252-256.
36. T o b o r e k , J. E. et al. Effect of haemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. – Metabolism, 11, 1992, № 4, 1299-1232.
37. W o l f f , S. P. Diabetes mellitus and free radicals. FR, transition metals and OS in the aetiology of DM complications. – Br. Med. Bull., 49, 1993, № 3, 642-652.
38. W r a t t e n , M. L. et al. Oxidant stress in haemodialysis: prevention and treatment strategies. – Kidney Int., 76, 2000, 126-132.
39. Z a n e n , A. L. et al. Oversaturation of transferring after intravenous ferric glukonate (Ferrlecit) in haemodialysis patients. – Nephrol. Dial. Transplant., 11, 1996, 820-824.

Постъпила за печат на 26 септември 2008 г.