



Oxidant-Antioxidant Status of Rats Treated with Mesenchymal Stem Cells in Chronic Peritoneal Dialysis

Mezenkimal Kök Hücre ile Tedavi Edilen Kronik Periton Diyalizindeki Ratlarda Oksidan-Antioksidan Durum

M. Hakan Poyrazoğlu¹, Sebahat Tülpar¹, Zübeyde Gündüz¹, Funda Baştuğ¹, Hatice Özbilge², Ebru Çetin³, Yasemin Torun⁴, Hülya Akgün⁵, Esmâ Kaya², Ruhan Düşünsel¹, Musa Düdükçü⁶

ORIGINAL
INVESTIGATION
ÖZGÜN
ARAŞTIRMA

ABSTRACT
ÖZET

Objective: The aim of the present study was to investigate the effects of mesenchymal stem cell (MSC) transplantation on the oxidant-antioxidant system in rat models of chronic peritoneal dialysis (PD).

Material and Methods: A total of 50 Wistar albino male rats were used. All rats were given PD fluid intraperitoneally once daily during six weeks. Then, rats were divided into five groups: PD, MSC-2, placebo-2, MSC-3 and placebo-3 groups. The MSC group was treated with MSC while the placebo group was treated with phosphate buffer solution via intraperitoneal injection. Placebo and MSC groups were evaluated at the second and third week of treatment. At the end of the study, peritoneum samples were taken from all rats under anesthesia. Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activities and malondialdehyde (MDA) levels were studied in samples. Submesothelial thickness was measured.

Results: Submesothelial thickness was significantly increased in PD and placebo groups compared with the MSC group. There were no statistical differences between PD with placebo and MSC groups in terms of MDA concentrations. Activities of antioxidant enzymes in MSC and P groups were lower than the PD group.

Conclusion: MSC transplantation has a beneficial effect on the peritoneal membrane. It cannot be said that this effect occurs via an antioxidant defense system according to the results of our study.

Key words: Mesenchymal stem cells, peritoneal dialysis, oxidant-antioxidant system

Amaç: Bu çalışmada kronik periton diyaliz (PD) modelinde mezenkimal kök hücreler (MKH) naklinin oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada toplam 50 Wistar albino erkek rat kullanıldı. Tüm ratlara PD sıvısı intraperitoneal (ip) yolla 6 hafta süresince günde bir defa verildi. Daha sonra ratlar 5 gruba ayrıldı: PD, plasebo-2, MKH-2, plasebo-3 ve MKH-3 grupları. MKH gruplarına MKH, plasebo gruplarına ise fosfat tampon çözeltisi ip yolla verildi. PD grubundaki ratlarda hemen, plasebo ve MKH gruplarında ise tedaviyi takip eden 2. ve 3. haftalarda periton dokuları elde edildi. Bu örneklerde glutasyon peroksidaz (GPx), superoksid dismutaz (SOD) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü ve submezotelyal kalınlık değerlendirildi.

Bulgular: Submezotelyal kalınlık, PD ve plasebo gruplarında MKH gruplarına kıyasla belirgin olarak artmıştı. MDA düzeyi plasebo ve MKH gruplarında PD grubu ile kıyaslandığında istatistiksel fark bulunmadı. Antioksidan enzimlerin aktiviteleri ise plasebo ve MKH gruplarında PD grubuna göre düşük bulundu.

Sonuç: MKH naklinin periton zarı üzerinde olumlu sonuçları vardır. Çalışmamızın sonuçlarına göre bu etkinin antioksidan defans sistemi aracılığıyla olduğu söylenemez.

Anahtar kelimeler: Mezenkimal kök hücreler, periton diyalizi, oksidan-antioksidan sistem

Giriş

Çocuklarda, özellikle erken çocukluk döneminde, son dönem böbrek yetmezliğinin renal replasman tedavisinde ilk tercih periton diyalizidir (PD). Periton diyalizinde en önemli sıkıntı periton zar bütünlüğünün uzun süreli korunamamasıdır. Kronik PD programında 5-10 yıl içerisinde periton zar bütünlüğü bozulmakta ve yeterli ultrafiltrasyon sağlanamamaktadır (1). Periton zarı, tek tabakalı mezotel hücreleri ile kaplıdır. Kronik PD'de mezotel hücreleri sürekli olarak hiperosmotik, hiperglisemik ve asidik PD sıvısına maruz kalır. Bunun sonucunda kronik inflamasyon oluşur ve periton zar yetersizliği gelişir. Periton zar yetersizliğinin patogeneğinde birçok etkenin yanı sıra oksidatif stresin de rol oynadığı gösterilmiştir (2-6).

Mezenkimal kök hücreler (MKH), kemik iliği veya diğer dokulardan kaynaklanıp in vitro ortamda plastiğe yapışma özelliği olan hücrelerdir (7). MKH'nın aralarında kas, kıkırdak, kemik, sinir, karaciğer, kalp, beyin, adipoz doku, böbrek, akciğer ve bağırsakların da olduğu çeşitli dokuların parankimal hücrelerine farklılaştıkları in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (8-10). MKH hasarlı dokuya göç edip, hedef alandaki immun ve inflamatuvar yanıtı inhibe ederek hasarlı dokunun tamirini kolaylaştırabilmektedir (11). Ayrıca MKH'nın antioksidan özelliği olduğu gözlenmiştir (12).

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Nefroloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁴Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kayseri, Türkiye

⁵Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁶Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Submitted/Geliş Tarihi
25.02.2013

Accepted/Kabul Tarihi
13.06.2013

Correspondance/Yazışma
Dr. Sebahat Tülpar,
Şehit Ömer Budak Cad, Aziziye
25090 Erzurum, Türkiye
Phone: +90 442 232 53 60
e.mail:
stulpar76@yahoo.com

©Copyright 2013
by Erciyes University School of
Medicine - Available online at
www.erciyesmedicaljournal.org
©Telif Hakkı 2013
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Makale metnine
www.erciyesmedicaljournal.org
web sayfasından ulaşılabilir.

Daha önce yayınlanmış çalışmalarda MKH tedavisinin peritonda ki fibrozisi azalttığı gösterilmiştir (13, 14). Bu çalışmada, oksidatif stresin göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyini ve antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz (GPx) ve superoksit dismutaz (SOD) aktivitelerini ratların periton dokusunda ölçerek MKH naklinin deneysel kronik PD modelinde oksidan-antioksidan sisteme etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışmada toplam 50 Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlara standart laboratuvar şartlarında bakıldı, su ve yiyecek kısıtlaması yapılmadı. Çalışma projesi Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Tüm gruplara altı hafta süresince günde bir kez %3,86 glukoz konsantrasyonlu ticari PD sıvısı intraperitoneal enjeksiyon yoluyla verildi. İnjektionlar karın duvarı alt kadranının sağ ve sol yanına dönüşümlü olarak yapıldı. Altı haftanın sonunda ratlar beş gruba ayrıldı: PD, plasebo-2, MKH-2, plasebo-3 ve MKH-3 grupları. PD grubu, periton dokusu örneği alındıktan sonra sakrifiye edildi. MKH gruplarına intraperitoneal yolla, her bir rata 1.5 milyon hücre/kg dozunda olacak şekilde fosfat tamponu içinde MKH; plasebo gruplarına ise intraperitoneal yolla MKH gruplarındakine denk miktarda fosfat tamponu çözeltisi verildi. İntraperitoneal tedaviden iki hafta (plasebo-2 ve MKH-2 grupları) ve üç hafta sonra (plasebo-3 ve MKH-3 grupları) periton dokusu örneği alındı.

MKH

Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden satın alınan, rat kemik iliğinden elde edilmiş MKH kullanıldı. Kullanılacağı zamana kadar MKH -80°C'de saklandı. Ayrıntısı daha önceki makalemizde anlatıldığı şekilde çözündürme ve pasajlama işlemlerinin ardından MKH, ratlara ip yolla verildi (13).

Periton Dokusunun Alınışı

Ketamin (80 mg/kg) ve ksilazin (40 mg/kg) ip yolla verilerek anestezi sağlandıktan sonra ratların karınları tıraşlandı. Ratlar tespit tahtasına alındı. Karınları orta hattan insizyon ile açıldı. GPx, SOD ve MAD ölçümü için pariyetal periton örneği batın sağ üst kadranından kas dokusundan sıyrılarak alındı.

Submezotelyal kalınlığın ölçümü

Submezotelyal kalınlığın (SMK) ölçümü için pariyetal periton örneği batın sol üst kadranından kas dokusu ile birlikte alındı. Ardından ratlar sakrifiye edildi. Periton dokusu formol ile fikse edildi. Rutin takip işlemlerinden geçirilen periton dokularından parafin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Doku kesitleri hemotoksilen-eozin boyama yöntemi ile boyandı. SMK, mezotel tabakası ve kasın arasında kalan iç yüzeyden ölçüldü. Her bir rat için 14 farklı alandan ölçüm yapıldı ve bu ölçümlerin ortalaması hesaplandı, µm olarak ifade edildi.

GPx, SOD ve MDA Düzeylerinin Ölçülmesi

Karın duvarının sağ üst kadranındaki periton dokusu diğer dokulardan sıyrılarak çıkarıldıktan sonra tartıldı. Periton dokusu 1 gram/7 mL oranında fosfat tamponu ile buzlu ortamda, mekanik uçlu homojenizatörde 16000 devir/dak hızda 30 sn homojenize edildi. Homojenatlar +4°C'ye ayarlı soğutmalı santrifüjde 10000 x g'de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar ependorf tüplerine alındı.

Tüm örnekler analiz zamanına kadar -80°C'de saklandı. GPx ve SOD için numuneler Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında Glutathione Peroxidase Assay Kit (Cayman Chemical Company, USA) ve Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chemical Company, USA) ticari kitleri kullanılarak ticari kitlerin kullanım kılavuzlarındaki bilgilere uygun olarak çalışıldı ve 'SynergyHT (Biotek) Multidetecion microplatereader ELISA cihazı'nda okuma yapıldı. GPx ve SOD aktiviteleri U/g yaş doku olarak ifade edildi. MDA düzeyi ise Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında spektrofotometrik olarak Ohkawa ve ark. (15) yazdıkları metoda göre çalışıldı, µmol/mg yaş doku olarak ifade edildi.

İstatistiksel analiz

Araştırma verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 15,0 istatistik paket programından yararlanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Shapiro-Wilk Normallik Testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren parametreler ortalama±SD, uymayanlar ise ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerde gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve post Hoc Tukey Testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde ise gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis Testi, fark çıkan grupların karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Submezotelyal kalınlıktaki değişikliklerle oksidan-antioksidan sistem değişiklikleri arasında ilişki olup olmadığı Spearman's korelasyon analizi ile değerlendirildi. P<0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmanın ilk 6 haftası içinde 6 rat exitus oldu.

GPx aktivitesi plasebo-2 grubu hariç diğer gruplarda PD grubundan düşük bulundu (hepsi için p<0,05). SOD aktivitesi, hem plasebo hem de MKH gruplarında PD grubundan düşük bulundu (hepsi için p<0,05). Plasebo-2 grubunda SOD aktivitesi diğer tüm gruplara göre düşüktü (PD grubu ile kıyaslandığında p<0,05; diğer gruplarla kıyaslandığında ise p<0,01 idi). Plasebo ve MKH grubunun ortalama MDA konsantrasyonları PD grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark yoktu, ancak plasebo-2 ve 3 gruplarının MDA düzeyi MKH-3 grubununkinden düşük bulundu (her ikisi için p<0,05) (Şekil 1).

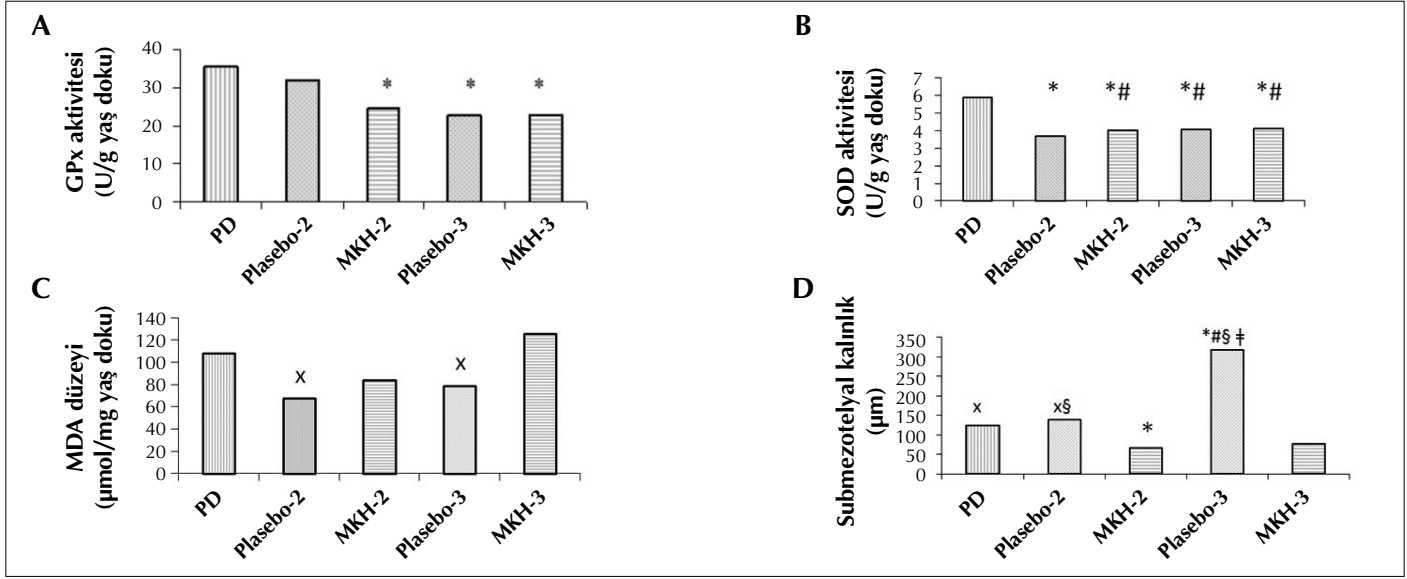
Fibrozis göstergesi olan SMK; MKH-2 ve MKH-3 gruplarında PD grubundan (her ikisi için p<0,05), plasebo-2 ve plasebo-3 gruplarından düşük bulundu. Plasebo gruplarında SMK artma eğilimindeydi ve tüm gruplar içinde plasebo-3 grubunun SMK'sı en kalın bulundu (Şekil 1, 2).

Submezotelyal kalınlıktaki artış ile oksidan-antioksidan sistem değişiklikleri arasında ilişki bulunmadı (p>0,05).

Tartışma

Bu çalışmada, MKH naklinin deneysel kronik PD modelinde oksidan-antioksidan sisteme etkisini araştırdık. Bu çalışmadaki en önemli bulgu MKH nakli yapılan ratlarda fibrozisin göstergesi olan submezotelyal kalınlığın azalmasıydı.

Uzun süreli PD sırasında üremi, tekrarlayan peritonitler, biyouyumsuz diyaliz solüsyonlarına maruz kalma, PD katateri gibi sebeplerle bazı yapısal ve fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Mezotel hücreleri arasındaki bağlantılar gevşemekte, mezotel



Şekil 1. Grupların (A) GPx aktivitesi, (B) SOD aktivitesi, (C) MDA düzeyi ve (D) Submezotelyal kalınlık açısından karşılaştırılması

GPx, glutasyon peroksidaz; SOD, superoksit dizmutaz; MDA, malondialdehit; SMK, submezotelyal kalınlık.

*p<0,05 PD grubu ile karşılaştırıldığında

#p<0,01 Plasebo-2 grubu ile karşılaştırıldığında

xp<0,05 MKH-3 grubu ile karşılaştırıldığında

§p<0,001 MKH-2 grubu ile karşılaştırıldığında

‡p<0,01 MKH-3 grubu ile karşılaştırıldığında

hücrelerinde kayıp meydana gelmekte, mezotel bazal membranı kalınlaşmaktadır. İnterstiyumda kollajen birikimi ve ekstrasellüler matrikste artışın etkisiyle submezotelyal kalınlık artmaktadır. İnterstiyumda yeni damarlar oluşmakta, ayrıca damarların yapısında da değişim olmaktadır. Kapiller damarlarda kollajen birikimine bağlı olarak lümen daralmaktadır. Bu değişikliklerin klinik yansıması UF yetersizliği olarak kendini göstermektedir (4, 16-19). Williams ve ark. (18) uzun süredir PD yapılan 130'dan fazla hastanın biyopsisini sağlıklı kontrollerle ve üremik hastalarla karşılaştırdıkları çalışmada üremik hastaların submezotelyal alanını sağlıklı kişilere kıyasla 3 kat daha kalın, PD hastalarının ise 5 kat kalın bulmuşlardır (18). Çalışmamızda da fibrozisin göstergesi olan SMK, MKH tedavisi verilen ratlarda azalırken, MKH tedavisi verilmeyen ratlarda ise arttı. Çalışmamızdaki bu bulgu MKH tedavisinin PD'de meydana gelen fibrozisi azaltabileceğini ve önleyebileceğini düşündürmektedir.

Periton diyalizi yapılanlarda antioksidan savunma sisteminde azalma ve oksidatif strese artışların olduğu gösterilmiştir (20-23). Erişkinlerde yapılan çalışmalarda PD hastalarında MDA seviyesi sağlıklı kişilere kıyasla yüksek bulunurken, total antioksidan kapasite ise sağlıklı kişilerdekenden düşük bulunmuştur (20-22). Çocuklarda yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (23). Hem PD, hem de HD hastalarında sağlıklı çocuklara göre MDA yüksek, SOD ve GPX düşük bulunmuştur (23). Bu yüzden uzun süreli PD'de periton zarının bozulmasındaki faktörlerden birinin de oksidan-antioksidan sistemdeki dengenin bozulması ve oksidatif stres meydana gelmesi olduğu ileri sürülmüştür (4).

Mezenkimal kök hücrelerin antioksidan özelliği olduğunu gösteren çalışmalar vardır. İn vitro bir çalışmada, MKH'nin oksidatif strese dirençli olduğu ve bu dirençte ürettiği SOD, GPx ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin etkisi olduğu gösterilmiştir (12). Ratlarda yapılan bir böbrek-iskemi modelinde, MKH'nin böbrek fonksiyon-

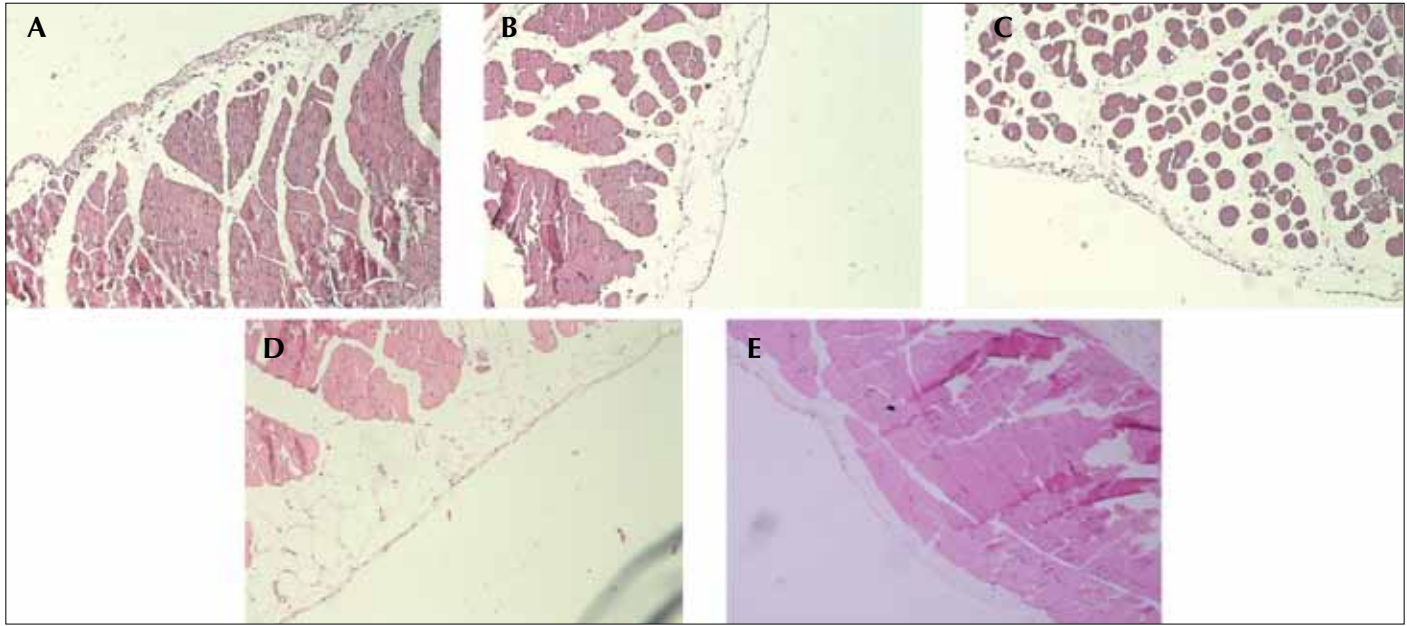
larını ve hasarı düzelttiği, böbrek dokusundaki MDA'yı azaltırken, SOD ve GPx düzeylerini ise arttırdığı gözlenmiştir (24). Ancak çalışmamızda MDA düzeyi, MKH gruplarında PD grubu ile benzerdi. Hatta MKH-3 grubunun MDA düzeyi plasebo gruplarından daha yüksekti. Antioksidan enzimlerden SOD aktivitesi, MKH-2 ve MKH-3 gruplarında plasebo-2 grubuna göre daha yüksekti. Fakat plasebo-3'ün SOD aktivitesi de plasebo-2 grubuna göre yüksekti. Lanza ve ark. (25) deneysel otoimmün ensefalomiyelitte MKH tedavisinin etki mekanizmasını değerlendirdikleri çalışmalarında MKH verilen grupta antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve aktivitelerinin azaldığını, ayrıca in vitro olarak nöroblastoma hücre kültür ortamına eklenen MKH'nin oksidan olan hidrojen peroksitten sinir hücrelerini koruduğunu gözlemlemişlerdir. Lanza ve ark. (25) çalışmalarının sonuçlarına göre MKH'nin bizzat kendisinin antioksidan ve nöron koruyucu özelliği olduğu yorumunda bulunmuşlardır. Çalışmamızın sonucuna göre kronik PD modelinde MKH'nin antioksidan özelliği olduğunu söyleyemeyiz, çünkü oksidatif stresin göstergesi olan MDA, MKH gruplarında PD grubundakine kıyasla farklı bulunmadı.

Çalışmanın kısıtlılığı

Daha uzun süreli takip yapılsa MKH'nin oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisiyle ilgili belki de daha farklı bir sonuç bulunabilirdi. Bu çalışmamızın eksik yönüdür.

Sonuç

Periton diyaliz modelinde MKH tedavisi ile fibroziste düzelme meydana gelmektedir, fakat çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre bu düzeltici etkinin oksidan-antioksidan sistemi üzerindeki etki ile meydana geldiğini söyleyemeyiz. Ayrıca kronik PD'de MKH tedavisinin fibrozis üzerindeki olumlu etkisinin ne kadar süre devam edebileceği ile ilgili daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.



Şekil 2. Pariyetal peritonun histoloji örnekleri (A) PD grubu, (B) Plasebo-2 grubu, (C) MKH-2 grubu, (D) Plasebo-3 grubu, (E) MKH-3 grubu (H&E, x10)

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Erciyes University Local Ethics Committee for Animal Experiments.

Authors' contributions: Conceived and designed the experiments or case: MHP, ST, ZG, FB, HÖ, YT, RD. Performed the experiments or case: ST, FB, HÖ, EÇ, YT, HA, EK, MD. Analyzed the data: MHP, ST. Wrote the paper: ST. All authors have read and approved the final manuscript.

Acknowledgements: This study was supported financially by the Erciyes University Research Fund (Project no. TSA-10-3064)

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Hakem değerlendirmesi: Bağımsız hakemlerce değerlendirilmiştir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Yazar Katkıları: Çalışma fikrinin tasarlanması: MHP, ST, ZG, FB, HÖ, YT, RD. Deneylerin uygulanması: ST, FB, HÖ, EÇ, YT, HA, EK, MD. Verilerin analizi: MHP, ST. Yazının hazırlanması: ST. Tüm yazarlar yazının son halini okumuş ve onaylamıştır.

Teşekkür: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (TSA-10-3064).

Kaynaklar

- Kim YI. Update on mechanisms of ultrafiltration failure. *Perit Dial Int* 2009; 29: 123-7.
- Yung S, Chan TM. Mesothelial Cells. *Perit Dial Int* 2007; 27: 110-5.
- Hjelle JT, Miller-Hjelle MA, Dobbie JW. The biology of the mesothelium during peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1995; 15(7 Suppl): 13-22.
- Saxena R. Pathogenesis and treatment of peritoneal membrane failure. *Pediatr Nephrol* 2008; 23(5): 695-703. [CrossRef]
- Alhamdani MS. Impairment of glutathione biosynthetic pathway in uremia and dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(1): 124-8. [CrossRef]
- Gotloib L. Mechanisms of cell death during peritoneal dialysis. A role for osmotic and oxidative stress. *Contrib Nephrol* 2009; 163: 35-44. [CrossRef]
- Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells* 2004; 22(4): 487-500. [CrossRef]
- Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997; 64(2): 278-94. [CrossRef]
- Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone* 1992; 13(1): 81-8. [CrossRef]
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411): 143-7. [CrossRef]
- Newman RE, Yoo D, LeRoux MA, Danilkovitch-Miagkova A. Treatment of inflammatory diseases with mesenchymal stem cells. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2009; 8: 110-23. [CrossRef]
- Valle-Prieto A, Conget PA. Human mesenchymal stem cells efficiently manage oxidative stress. *Stem Cells Dev* 2010; 19(12): 1885-93. [CrossRef]
- Tülpar S, Poyrazoğlu MH, Özbilge H, Baştuğ F, Gündüz Z, Torun YA, et al. Modulation of inflammation by mesenchymal stem cell transplantation in peritoneal dialysis in rats. *Ren Fail* 2012; 34(10): 1317-23. [CrossRef]
- Ueno T, Nakashima A, Doi S, Kawamoto T, Honda K, Yokoyama Y, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental peritoneal fibrosis by suppressing inflammation and inhibiting TGF-β1 signaling. *Kidney Int* 2013; 84(2): 297-307. [CrossRef]
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-8. [CrossRef]
- Schilte MN, Celie JW, Wee PM, Beelen RH, van den Born J. Factors contributing to peritoneal tissue remodeling in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2009; 29(6): 605-17.

17. Fusshoeller A. Histomorphological and functional changes of the peritoneal membrane during long-term peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol* 2008; 23(1): 19-25. [\[CrossRef\]](#)
18. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, et al. Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(2): 470-9.
19. De Vriese AS, Mortier S, Lameire NH. What happens to the peritoneal membrane in long-term peritoneal dialysis? *Perit Dial Int* 2001; 21(Suppl 3): 9-18.
20. Sundl I, Roob JM, Meinitzer A, Tiran B, Khoschsorur G, Haditsch B, et al. Antioxidant status of patients on peritoneal dialysis: associations with inflammation and glycoxidative stress. *Perit Dial Int* 2009; 29(1): 89-101.
21. De Vecchi AF, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Guerra L, Lonati S, et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(8): 2524-9. [\[CrossRef\]](#)
22. Boudouris G, Verginadis II, Simos YV, Zouridakis A, Ragos V, Karkabounas SC, et al. Oxidative stress in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and the significant role of vitamin C and E supplementation. *Int Urol Nephrol* 2013; 45(4): 1137-44. [\[CrossRef\]](#)
23. Zwolińska D, Grzeszczak W, Szczepańska M, Kiliś-Pstrusińska K, Szprynger K. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in children on maintenance dialysis. *Pediatr Nephrol* 2006; 21(5): 705-10. [\[CrossRef\]](#)
24. Zhuo W, Liao L, Xu T, Wu W, Yang S, Tan J. Mesenchymal stem cells ameliorate ischemia-reperfusion-induced renal dysfunction by improving the antioxidant/oxidant balance in the ischemic kidney. *Urol Int* 2011; 86(2): 191-6. [\[CrossRef\]](#)
25. Lanza C, Morando S, Voci A, Canesi L, Principato MC, Serpero LD, et al. Neuroprotective mesenchymal stem cells are endowed with a potent antioxidant effect in vivo. *J Neurochem* 2009; 110(5): 1674-84. [\[CrossRef\]](#)