

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

**(UZMANLIK TEZİ)**

**ÜREMİK HASTALARDA VASKÜLER KALSİFİKASYON İLE  
OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON ARASINDAKİ  
İLİŞKİNİN DEĞELENİRİLMESİ**

**DR MÜKREMİN UYSAL**

**DANIŞMAN  
PROF DR ALAATTİN YILDIZ**

**İÇ HASTALIKLARI ABD  
PROF DR MURAT DİLMENER**

**İSTANBUL-2008**

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mükremin UYSAL

## TEŞEKKÜR

İstanbul Tıp Fakóltesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıŐtıđım süre içersinde her konuda anlayıŐ ve desteğini esirgemeyen, yetiŐmemde katkıları olan Prof. Dr. Murat Dilmener Őahsında t¼m İç Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarıma ve uzmanlarıma, t¼m İç Hastalıkları Anabilim Dalı asistanlarına, hemŐirelerine, personeline, tezimin hazırlanmasında katkıları olan Prof. Dr. G¼nnur Deniz, Doç. Dr. AyŐeg¼l Telci, Uzm. Dr. Fatih Salman, Uzm. Dr. Gaye Usluer, Dr Abdullah Özkök, Dr. K¼ltigin T¼rkmen ve özellikle tezimin hazırlanmasında g¼sterdiđi yakın ilgi ve bilimsel desteği için Prof Dr Alaattin Yıldız'a saygı ve teŐekk¼rlerimi sunarım.

Bu alıŐma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1206

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	<b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b>
BEYAN.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER .....	İV
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Vİİİ
ÖZET .....	İX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Üremik Kalsifikasyonun Tanımı.....	2
2.2. Mekanizma ve Patofizyoloji .....	2
2.2.1. Kalsifikasyon Aktivatörleri.....	2
2.2.2. Kalsifikasyon İnhibitörleri .....	4
2.2.3. Predispozan Faktörler .....	6
2.2.3.1. Predispozan Faktörlerden Oksidatif Stres ve İnflamasyon .....	9
2.3. Klinik Yaklaşımlar ve Tanı.....	11
2.4. Tanı .....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Hastalar .....	14
3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	14
3.2.1. Biyokimyasal Çalışmalar .....	15
3.2.2. Nitrotirozin Tayini .....	15
3.2.3. Serum IL-1 $\beta$ Tayini.....	16
3.2.4. Serum IL-6 Tayini .....	16
3.2.5. Serum TNF- $\alpha$ Tayini.....	17
3.3. Koroner Arter Kalsiyum Skorlaması .....	18
3.4. İstatistiksel Analiz.....	19
4. BULGULAR.....	20

4.1. Demografik Özellikler, Koroner Arter Kalsiyum Skorlama ve Laboratuvar Sonuçları .....	20
4.2. Hastaların Koroner Arter Kalsiyum Skorları (KAKS) Ve Oksidatif Stres, İnflamasyon Değerleri .....	21
5. TARTIŞMA .....	26
KAYNAKLAR .....	29

**TABLolar LİSTESİ**

Tablo 2-1: Üremik hastalarda vasküler kalsifikasyon için risk faktörleri .....	7
Tablo 2-2: Üremide kullanılan oksidatif stres marker'ları. ....	10
Tablo 4-1: Hastaların klinik özellikleri ve biyokimik değerleri (n: 78).....	20
Tablo 4-2: Hastaların koroner arter kalsiyum skorları ve inflamasyon parametreleri....	21
Tablo 4-3: Koroner arter kalsiyum skoruna göre hemodiyaliz hasta özellikleri .....	22
Tablo 4-4: Nitrotirozin ve inflamasyon göstergelerinin koroner arter kalsiyum skoruna göre karşılaştırılması.....	23
Tablo 4-5: Hastaların KAKS toplamı ile yaş, diyaliz süresi ve inflamasyon parametreleri arasındaki ilişki.....	23
Tablo 4-6: Nitrotirozin ile koroner arter kalsiyum skoru ilişkisi.....	23

**ŞEKİLLER LİSTESİ**

Şekil 2-1: Vasküler kalsifikasyonun mekanizması.....	3
Şekil 4-1: KAKS ile TNF-alfa arasındaki ilişki (r:0,246, p:0,03) .....	24
Şekil 4-2: KAKS ile CaxP arasındaki ilişki (r:0,246, p:0,03).....	25

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- SDBY: Son dönem böbrek yetersizliği  
KAH: Koroner arter hastalığı  
KB: Kan basıncı  
KBY: Kronik böbrek yetersizliği  
KVH: Kardiyovasküler hastalık  
KAKS: Koroner arter kalsiyum skoru  
KOL: Toplam kolesterol düzeyi  
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol  
LDL: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol  
TG: Trigliserid  
AGEs: Advanced glycation endproducts: ilerlemiş glikozillenme sonürinleri  
OPGL: Osteoprotegerin ligandı  
MGP: Matriks Gla protein  
RANK: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör (NF)- $\kappa$ B  
iPTH: intakt parathormon düzeyi  
PTHrp: Parathormon ilişkili peptid  
Ca: Kalsiyum  
BMP: kemik morfogenezik protein  
EBCT: Electron beam computed tomography  
TGF- $\beta$ : Transforming growth factor- $\beta$   
VKİ: Vücut kitle indeksi  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör alfa  
IL-1 $\beta$ : İnterlökin 1 beta  
IL-6: İnterlökin 6  
Kt/V: Diyaliz yeterliliğini gösteren ölçü.  
URR: Urea reduction rate  
LM: Sol ana koroner arter,  
LAD: Sol ön inen arter,  
Cx: Sirkumfleks arter,  
RCA: Sağ koroner arter

## ÖZET

**Uysal M.** Üremik Hastalarda Vasküler Kalsifikasyon İle Oksidatif Stres Ve İnflamasyon Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2008.

**Giriş:** Koroner arter kalsifikasyonu hemodiyalize giren üremik hastalarda aterosklerotik vasküler hastalığın ciddiyetinin bir göstergesidir ve kardiyovasküler olayları predikte edebilir. Üremik hastalarda artmış oksidatif stres ve inflamasyon olduğu aşikardır, ancak koroner arter kalsifikasyonuna olan katkısı tam olarak tanımlanmamıştır.

**Metod:** Bu çalışmaya hemodiyalize girmekte olan 78 SDBY hastası dahil edilmiştir (38 erkek, 40 kadın, ortalama yaş:52±14 yıl, ortalama hemodiyaliz süresi:60±41 ay idi). Hastaların rutin biyokimya tetkikleri ile oksidatif stres (Nitrotirozin) ve akut faz inflamasyon göstergeleri (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , hsCRP) diyaliz öncesi ölçüldü. Aynı hastaların koroner arter kalsiyum skorları EBCT yöntemiyle saptandı. Koroner arter kalsiyum skorları ile bu parametrelerin ilişkisine bakıldı.

**Bulgular:** Koroner arter kalsiyum skoruyla yaş, Kt/V, CaxP, TNF- $\alpha$  arasında anlamlı ilişki saptandı, yine oksidatif stres göstergesi olan nitrotirozin ile sadece koroner arterin sirkumfleks dalı arasında bir ilişki saptandı. Diğer faktörlerle koroner arter kalsiyum skoru arasında net bir ilişki saptanmamıştır.

**Sonuç:** Üremide arttığı iyi bilinen inflamasyon ile koroner arter kalsiyum skoru arasında anlamlı ilişki saptanırken oksidatif stres ile koroner arter kalsiyum skoru arasında tam olarak korelasyon bulunmamıştır. Bu sonuç; oksidatif stresin aterosklerozdaki rolü göz önüne alındığında, hemodiyaliz hastalarındaki koroner arter kalsifikasyonunun gelişiminde ateroskleroz dışı faktörlerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** hemodiyaliz, üremi, vasküler kalsifikasyon, oksidatif stres, inflamasyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1206

## ABSTRACT

Uysal M. Interpretation of the relationship between vascular calcification and oxidative stress and inflammation in patients with uremia. Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Expertise Thesis, Istanbul, 2008.

**Introduction:** Coronary artery calcification is an indicator of the severity of atherosclerotic vascular disease in patients with uremia on chronic hemodialysis treatment. It may also predict the cardiovascular outcomes. Increased oxidative stress and inflammation are well known issues in patients with uremia but their contribution to the coronary artery calcification has not been completely defined.

**Method:** 78 chronic renal failure patients on hemodialysis treatment were included into the study (38 male, 40 female, mean age:  $52\pm 14$ , mean duration of hemodialysis:  $60\pm 41$  months) Routine biochemical tests together with oxidative stress marker (Nitrotyrosine) and acute phase reactants of inflammation (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , hsCRP) were measured before the dialysis sessions. Coronary artery calcification scores of the same patients were detected by means of EBCT method. Relationship between coronary artery calcification scores and these parameters was investigated.

**Results:** A significant relationship was found between coronary artery calcification score and age, Kt/V, CaxP and TNF- $\alpha$ . An association between the oxidative stress marker, nitrotyrosine, and circumflex arterial calcification was shown. A significant relationship between coronary artery calcification score and other parameters could not be detected.

**Conclusion:** Although a significant relationship between coronary artery calcium score and inflammation -well known to increase in uremia- was detected, no definite correlation could be found between oxidative stress and coronary artery calcium score. Regarding the role of oxidative stress in atherosclerosis, this result makes us think that factors other than atherosclerosis have important roles in the development of coronary artery calcification in patients on hemodialysis treatment.

**Key words:** hemodialysis, uremia, vascular calcification, oxidative stress, inflammation

This study was supported by Scientific Research Projects Unit of University of Istanbul. Project No: 1206

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Üremik hastalarda yıllık mortalite oranı genel populasyondan yüzlerce kat daha yüksektir. Bu primer olarak kardiyovasküler olaylar yüzünden olmaktadır (1,2). Son yıllarda üremik hastalarda kardiyovasküler risk faktörleri olarak bildiğimiz serum kalsiyum ve fosfor yüksekliği, kalsiyum-fosfor çarpımının yüksekliği gibi klasik bilgilerin yanında ek bazı risk faktörlerinin de üremik kalsifikasyonda rol oynayabileceği konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Aslında bunlar yine üremiyle ilişkili olan risk faktörleridir. Bunlar artmış oksidatif stres ve inflamasyon göstergeleri, diyaliz ve diyalizle ilişkili faktörler, hemodinamik yüklenme, hiperhomosisteinemi, kalsiyum içeren fosfor bağlayıcılar, sekonder hiperparatiroidizm tedavisinde kullanılan vitamin D tedavisidir (3,4,5,6,7,8). Üremik hastalarda bu kolaylaştırıcı faktörlere ek olarak fetüin-A, matriks Gla protein, osteoprotegerin ve osteopontin gibi azalmış endojen kalsifikasyon inhibitörleri de ekstraselüler dokulardaki artmış kalsifikasyonla ilişkilidir (3,9,10). Aslında vasküler kalsifikasyon, kalsifikasyon aktivatörleri ile inhibitörlerinin aktif ve dinamik dengesinin bozulmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (11). Üremik hastalarda bu etkileşimlerin açıklığa kavuşturulması ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilmek için ek klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle diyaliz hastalarında üremiyle ilişkili olarak artmış olan oksidatif stres ve inflamasyon ürünlerinin bu grup hastalardaki hızlanmış ateroskleroz gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (12,13). Ancak oksidatif stres ve inflamasyonun vasküler kalsifikasyona olan katkıları iyi bilinmemektedir. Bu çalışmada diyaliz hastalarında vasküler kalsifikasyon ve inflamasyon-oksidatif stres göstergeleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Üremik Kalsifikasyonun Tanımı

Kalsifikasyon terimi kemiklerde ve dişlerde normal bir oluşum iken damarlar, yumuşak dokular, periartiküler alan, kalp ve diğer solid organlar gibi dokularda oluştuğu zaman patolojiktir. Yumuşak dokularda kalsifikasyonun olmaması bazı inhibe edici faktörlerin aktivitesini gösterir. Bununla birlikte hastalık durumlarında anormal yerlerde yerleşmiş kalsifikasyon gözlenmesi aslında kalsifikasyon aktivatörleri ile inhibitörlerinin aktif ve dinamik dengesinin bozulmasının bir sonucudur (11,Şekil 2-1). Patolojik kalsifikasyonun etyolojisine göre 2 tipi vardır:

- 1- Metastatik ve distrofik kalsifikasyon. Metastatik kalsifikasyon sistemik fosfor ve kalsiyum metabolizmasının düzensizliği ile ilişkilidir ve son dönem böbrek yetersiliğinde kalp, damar ve diğer yumuşak dokularda meydana gelir.
- 2- Distrofik kalsifikasyon kalsiyum ve fosfor imbalansı olmadan yumuşak dokularda meydana gelir. Örneğin nekrotik doku ve aterosklerotik plakta olduğu gibi.

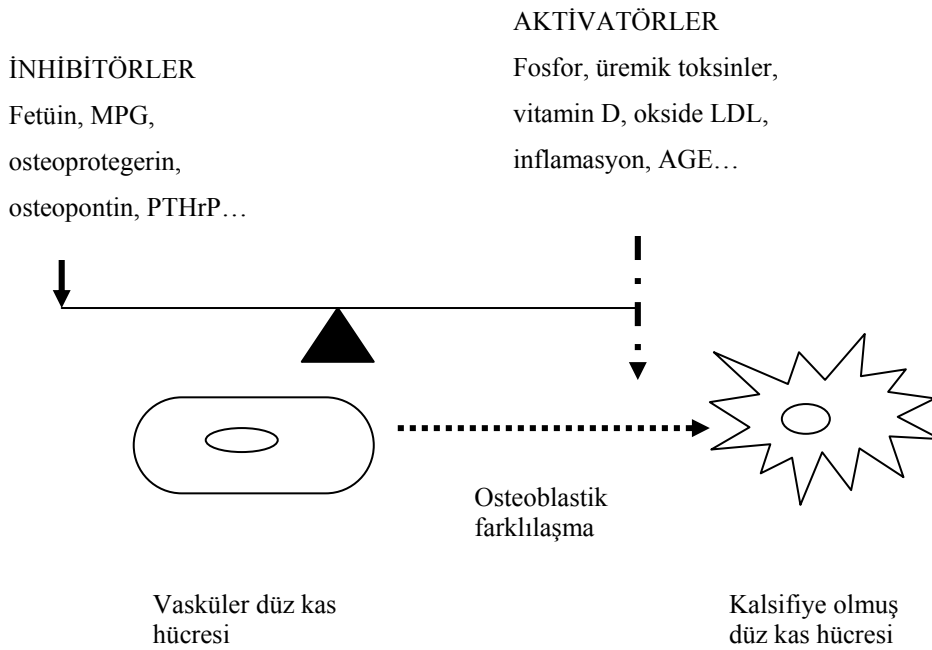
Üremik hastalarda kalsifikasyon oluşumu ne tam olarak metastatik ne de distroftiktir. Kalsifikasyonun her iki tipini de içermesi daha olasıdır. Kronik böbrek yetersizlikli hastalarda vasküler hastalık ve yapısal kalp hastalığı prevalansının çok yüksek olmasından dolayı üremik kalsifikasyon terimi daha uygun bir tanımlama olur.

### 2.2. Mekanizma ve Patofizyoloji

#### 2.2.1. Kalsifikasyon Aktivatörleri

Üremik kalsifikasyonun mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Uzun yıllardır hakim olan görüş plazmada süpersatüre olmuş yükselmiş serum kalsiyum-

fosfor düzeyleri ve yüksek kalsiyum fosfor çarımının yumuşak dokularda ve damarlarda pasif olarak kalsifikasyona sebep olduğu yönündeydi. Son gözlemler kalsifikasyon oluşumunun sadece bu divalan iyonların basit bir çökmesi ile değil aynı zamanda mineral birikiminin oldukça yüksek düzeyde regülasyonu ile olduğu yönündedir (9,14,15). Bu oluşumda kemik ve mineral metabolizmasıyla ilişkili çeşitli proteinler (osteopontin, alkalin fosfat, bone sialoprotein, tip 1 kollajen, bone morphogenetik protein-2a gibi) kalsifiye arteryal lezyonlarda bulunurlar (10,14,15).



PTHrP: Parathyroid hormone related peptide, MPG: Matrix Gla protein, AGE: Advanced glycation end products

### Şekil 2-1: Vasküler kalsifikasyonun mekanizması

SDBY'de yükselmiş kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunun yol açtığı kalsifikasyonun mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. İnvitro çalışmalarda havuzlanan üremik serum ve  $\alpha$ -gliserofosfatın (bir fosfat vericisi), sığır vasküler düz kas hücrelerinde alkali fosfat aktivitesini ve osteopontin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (16). Fosforun bu etkisinin benzer sonuçları insan aortik düz kas hücrelerinde de gözlenmiştir (17).

Üremik vasküler kalsifikasyon sadece hiperfosfatemi tarafından değil aynı zamanda üremik serumdaki diğer faktörler tarafından da indüklenebilir. Şimdiye kadar intraselüler gen ekspresyonunu, osteoblastik transformasyonu, damar duvarı ve diğer yumuşak dokularda bazı kemik matriks proteinlerinin ekspresyonunu indüklemeye kabiliyeti olan birçok faktör tanımlanmıştır. Bu faktörlerden bazıları: okside LDL kolesterol (18), TNF- $\alpha$  (19), kalcitriol (20,21), kollagen I (22), TGF-1 $\alpha$  (23), 25-hidroksikolesterol (23) ve AGEs (24). Bunların hepsi vasküler düz kas hücrelerinin osteogenik transformasyonunu sitümüle ederler. Vasküler duvarda hücre ölümü ve apoptozis kalsiyum ve fosfora karşı hücre permeabilitesini arttırarak kalsifikasyonu başlatabilir ve distrofik kalsifikasyon oluşmasını kolaylaştırabilir (10,25). Tüm bu mekanizmaların yanında hipertansiyon, kronik sıvı yüklenmesi ve sistemik renin-angiotensin sisteminin upregülasyonu sonucu oluşan hemodinamik değişiklikler ve kronik vasküler hasar düz kas hücre proliferasyonuna, medial hiperplaziye, artmış damar duvar stresine ve en son olarak osteoblast benzeri hücrelerin damar duvarında birikmesine neden olabilir (3).

### 2.2.2. Kalsifikasyon İnhibitörleri

Sağlıklı insanlarda fetüin, matriks Gla protein (MGP), osteoprotegerin ve osteopontin için “vasküler kalsifikasyonun önemli doğal inhibitörleri” olarak söz edilir (3,9,10). Fetüin-A aynı zamanda alfa-2 Heremans-Schmid glikoproteini olarak da bilinir ve hidroksiapatit yapılarına bağlanarak kalsifikasyonu inhibe eden ve çoğunlukla karaciğerde sentezlenen bir proteindir (26). Serum fetüin-A düzeyleri akut inflamatuvar bir durum göstergesi olarak nonüremik hastalarda serum albumini azalmasıyla korele bir şekilde çok belirgin olarak azalır. Bu bulgular fetüin-A'nın aynı zamanda negatif akut faz reaktanı olduğunu gösterir (27). Bu glikoproteinin düşük olması aynı zamanda artmış CRP değeri, kardiyovasküler ve tüm sebeple olan mortalitedeki artışla birlikte ve üremideki artmış aterosklerozdan sorumlu olabilir (28). Diyaliz hastalarında serum fetüin-A düzeyi oldukça düşük bulunur (26,28,29,). Diğer taraftan diabetik nefropatili hastalarda serum fetüin-A düzeyi ile koroner arter kalsifikasyonu arasında güçlü ve pozitif bir korelasyon vardır (30). Şüphesiz vasküler kalsifikasyon ve serum fetüin-A

düzei arasındaki bu ilişki oldukça komplekstir ve daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Matriks Gla proteini, hem arteryal hem kıkırdak kalsifikasyonunun diğer bir inhibitörüdür, kondrositler ve vasküler düz kas hücrelerinden salgılanır (31). MPG aynı zamanda kemik morfojenik protein-2 aktivitesini ve promineralizasyon faktörünü inhibe ederek osteogenik farklılaşmayı azaltır (32). Warfarin kullanımı MPG'nin alfa-karboksilasyonunu inhibe ettiği için diyalize devam eden hastalarda kalsifik üremik arteriyolopati için risk faktörü olarak tanımlanır (33). MPG eksikliği olan farelerde dramatik vasküler kalsifikasyonlar, osteopeni, fraktürler, kıkırdak kalsifikasyonları gelişir ve son olarak doğumu takiben 8 hafta içinde aortik rüptürden dolayı ölürler (31). Nonüremik hastalarda yapılan çalışmalar sonucunda koroner arter kalsiyum skoru, serum MGP düzeyiyle korele bulunmuş (33), fakat üremik hastalarda bu korelasyon belirsizdir.

Osteoprotegerin TNF süperfamilyasından olan osteoblasttan türetilen inhibitör bir proteindir. Osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunu inhibe ederek kemik kitlesinin regülasyonunda fizyolojik rol oynar. Osteoprotegerin ligandına (OPGL) bağlanır ve böylelikle osteoklastlardaki OPGL ve reseptör aktivatör nükleer faktör (NF)-κB (RANK) arasındaki etkileşimi inhibe eder (34). Osteoprotegerin noksanlığı olan farelerde total kemik dansitesinde azalma, kraniumun parietel kemiğinde belirgin incelme, artmış fraktür insidansı, aorta ve renal arterlerde kalsifikasyon gözlenir (35). Bu bulgular hem aterosklerotik kalsifikasyon ve hem de osteoklastogenezisde osteoprotegerinin önemini gösterir.

Osteopontin normal olarak kemik ve dişte bulunan asidik bir fosfoproteindir. Bu protein vasküler kalsifikasyonun güçlü bir inhibitörüdür. Bunu osteoklast fonksiyonunu  $\alpha\beta3$  integrin aracılığıyla indüklemesi ve kristal yüzeylere bağlanması neticesinde hidroksiapatit büyümesini direk inhibe ederek yapar (36). Osteopontin aynı zamanda monositik hücrelerde karbonik anhidraz II'nin ekspresyonunu yükseltir, ekstraselüler ortamın asidifikasyonunu arttırır (36). İnsan ve farelerde karbonik anhidraz eksikliği yumuşak doku kalsifikasyonuna ve osteopetrozise neden olur (37). Bu yüzden osteopontin vasküler ve yumuşak doku kalsifikasyonunu direkt ve indirekt yollarla inhibe eder. Bu bulgular ektopik kalsifikasyonun tedavisinde osteopontinin terapötik bir potansiyeli olduğunu düşündürür.

Paratiroid hormon related peptide (PTHrP) paratiroid hormonuna (PTH) benzer, PTH reseptörünü aktive eder ve hiperkalsemiye neden olur. Kronik böbrek yetersizliğinde aşırı aktif renin anjiotensin sistemi (RAS), sıvı yüklenmesi ve hipertansiyonun neden olduğu damar duvarındaki mekanik gerginliğe cevap olarak bu peptit artmıştır (38). PTHrP ekspresyonu kalsifiye hücre kültürlerinde kemik morfojenik protein-2 (BMP-2) ve alkalin fosfatazın down-regülasyonu ile ilişkilidir, böylelikle kalsifikasyonu azaltır (39). Kalsitriol (1,25 OH<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) direk olarak PTHrP ekspresyonunu inhibe eder ve sıgır vasküler düz kas hücrelerinde vasküler kalsifikasyonu kolaylaştırır (20).

Mutant farelerde  $\alpha$ -glukosidaz ve karbonik anhidraz II kodlayan bazı genlerin eksikliği vasküler kalsifikasyon ve osteoporozis ile ilişkilidir (40). Bu konularda altta yatan mekanizmaların çoğu hala açık değildir. Ümit edilir ki yukarıda tanımlanan faktörlerin bazılarının manipülasyonu, vasküler kalsifikasyondan korunmayı amaçlayan yeni terapötik stratejilere yol açacaktır.

### 2.2.3. Predispozan Faktörler

Yıllardır SDBY’de vasküler kalsifikasyonun potansiyel risk faktörlerini tanımlamaya yönelik birçok çalışmalar yapılmaktadır. Bu hastalar ateroskleroz ve aterosklerotik kalsifikasyon için bilinen geleneksel risk faktörlerine ek olarak üremiyle ilişkili bazı risk faktörlerine de sahiptirler (11,Tablo 2-1). Daha spesifik olarak serum fosfor, kalsiyum, kalsiyum-fosfor çarpımı ve bu anormallikleri kontrol etmek için başlanan tedaviler bu popülasyonda kardiyovasküler kalsifikasyonların gelişmesinde etkilidir. Aslında bu serum fosfor, kalsiyum ve ikisinin çarpımı kısa zaman periyotlarıyla değişebilir ve bu da vasküler kalsifikasyon gibi uzun dönem komplikasyonlarla bu değişken parametreler arasındaki ilişki hakkındaki fikir edinmeyi zorlaştırır. Yakın zamanda Yıldız ve ark. tarafından fakültemizde yapılan çalışmada koroner arter kalsifikasyon gelişimi ile serum fosfor, diyaliz süresi, yaş ve ateroskleroz şiddeti arasında ilişki gösterilmiştir (41).

**Tablo 2-1: Üremik hastalarda vasküler kalsifikasyon için risk faktörleri**

<b>Modifiye edilebilir risk faktörleri</b>	<b>Modifiye edilemeyen risk faktörleri</b>
Serum fosfat düzeyi	Artmış yaş
Serum kalsiyum düzeyi	Diyaliz süresi
Ca x P	Cinsiyet
Oral kalsiyum içeren fosfat bağlayıcıları	Irk ?, Genetik?
Hiperparatiroidizm	
Vitamin D kullanımı	
Dislipidemi	
İnflamasyon	
Hipertansiyon	
Diğerleri: Oksidatif stres, warfarin, homosistein, leptin, artmış demir yükü	

Bazı çalışmalarda serum kalsiyum, fosfor ve ikisinin çarpımı ile kardiyovasküler kalsifikasyonlar arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiş (4,5,14,42-44) iken diğer çalışmalarda bu ilişki konfirme edilememiştir (45-48). Amerika Böbrek Veri Sistemi (USRDS) yüksek serum fosfor konsantrasyonu (  $6.5\text{mg/dl}$ 'de daha büyük; relatif riski 1.72) ve yüksek kalsiyum fosfor çarpımı değerinin (  $72\text{mg}^2/\text{dl}^2$ ' den daha fazla, relatif riski: 1.34) diyaliz hastalarında total ölümler için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (49). Bu analizde PTH ve kalsiyumdan bağımsız risk faktörü olarak söz edilmemektedir. Bununla birlikte hiperkalsemi direk çökelmeye yol açarak kalsifikasyon oluşumunu kolaylaştırır (50), yine sekonder hiperparatiroidizmin tedavisi sürecinde oluşan hiperkalsemik episodların arteriyel kalsifikasyondaki önemi net olarak

gösterilmiştir (51-53). Kalsiyum içeren bileşiklerin suprafizyolojik dozda yaygın olarak kullanılması hiperkalsemik episodların ana nedenlerinden birisi olduğu düşünülür. Bu ilaçların oral kümülatif dozlarıyla diyaliz hastalarında kardiyovasküler kalsifikasyonlar gelişmesi arasında ilişki olduğu konusunda gittikçe artan kanıtlar vardır (4,43,51,54). PTH'nın üremik durumdaki bir çok anormalliklerde önemli rol oynadığı ve aynı zamanda bir kardiyovasküler risk faktörü olduğu düşünülmesi konusundaki kanıtlara rağmen artmış PTH seviyeleriyle ve kardiyovasküler kalsifikasyonlar arasında açık bir ilişki henüz daha gösterilememiştir (48). Dahası düşük PTH seviyeleri yüksek arteryel kalsiyum skorları, düşük kemik döngüsü ve adinamik kemik hastalığıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (4). PTH supresyonu için kullanılan vitamin D analoglarının ve kalsiyum bazlı fosfor bağlayıcıların çok yoğun kullanımı bu bulguların bazılarını açıklayabilir (4,43,51).

Aktif vitamin D sekonder hiperparatiroidizmin tedavisinde hiperkalsemi, hiperfosfatem ve artmış kalsiyum fosfor çarpımı gibi yan etkilerine rağmen çok sık olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda  $1.25\text{OH}_2\text{D}_3$  vasküler düz kas hücrelerinde osteopontin gen ekspresyonuna ilaveten alkali fosfataz aktivitesinin artmasını ve PTHrP ekspresyonunu inhibe edebilir (20). Yapılan çalışmalar vitamin D'nin vasküler kalsifikasyonları hızlandırdığını göstermiştir (21,34).

Kan lipidleri kalsifikasyonun muhtemel modilatörleri olarak gösterilmektedir. Okside lipidler alkali fosfataz aktivitesinde doz bağımlı artışa sebep olur ve kalsifiye vasküler hücrelerde kalsifikasyonun geniş alanlara dağılmasını indükler. Ancak aynı zamanda kemik hücrelerinde mineralizasyonu inhibe ederler (18). Kalsiyum skorunda artış ve hızlı progresyon bazı çalışmalarda dislipidemiyle (yüksek total kolesterol, yüksek LDL, düşük HDL, yüksek trigliseritler) ilişkilendirilmiş (6,48,55), bazılarında ise ilişkilendirilememiştir (33,42). Lipidler ile kardiyovasküler kalsifikasyonlar arasındaki güçlü bir ilişkinin yokluğu bu popülasyonda dislipideminin daha az önemli olduğunu göstermez. Bu ilişki beslenme durumu, inflamatuvar değişiklikler ve karaciğer hastalıklarından etkilenebilir (42).

Bazı çalışmalara göre kan basıncındaki değişiklikler ile vasküler kalsifikasyonlar arasında bir ilişki vardır (56,57). Artmış sistolik kan basıncı ve nabız basıncı, azalmış diastolik kan basıncı sıklıkla arteryel kalsifikasyonlarla ilişkilidir. Hipertansiyon prevalansı ateroskleroz ve intimal kalsifikasyonlarda çok yüksektir (56).

Fakat medial duvar kalsifikasyonları ve kan basıncı arasındaki ilişki kesin değildir. Kan basıncının artması medial kalsifikasyonun sonucu gibi gözükmemektedir (9).

Diabetik hastalarda vasküler kalsifikasyonun çok önemli bir prediktörü yükselmiş HbA1c değeridir. Klinik çalışmalarda HbA1c'deki %1'lik artışın kalsifikasyon riskinde 2.1 kat artışa sebep olduğu gösterilmiştir (58).

Yaş ve diyaliz süresi kalsifikasyon ve kardiyovasküler olaylar için bağımsız, değiştirilemeyen, önemli bir risk faktörü olarak kabul edilir ve bu bir çok çalışmada gösterilmiştir (41,59,60,79). Diyaliz hastalarında yaş arttıkça kalsifikasyon oranının da gittikçe arttığı açıkça gösterilmiştir. Vasküler kalsifikasyon sadece yaşlı hastalar için değil aynı zamanda genç erişkin diyaliz hastaları (20-30 yaşlar arasında) için de problemidir.

Üremide artmış olan inflamasyon (IL-1, IL-6, TNF, CRP vd), reaktif oksijen ürünleri (süperperoksit ve hidrojen peroksit vd) ve artmış oksidatif stres (61), warfarin tedavisi (34), artmış plazma homosisteini (5,6), leptin düzeyleri (62) arteriyel kalsifikasyonların gelişmesinde etkili olabilir. Demirin aşırı birikmesi de diğer olası bir risk faktörüdür, bunu LDL oksidasyonunu ve endotel disfonksiyonunu indükleyerek yapabilir (63). Üremik hastalarda bu etkileşimlerin açıklığa kavuşturulması için ek klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

### **2.2.3.1. Predispozan Faktörlerden Oksidatif Stres ve İnflamasyon**

Üreminin kendisi ve diyaliz yapılırken kanın ekstrakorporal dolaşımında diyalizata ve diyaliz membranına maruz bırakılması proinflamatuvar sitokinleri stimüle edebilir ve proinflamatuvar bir ortam oluşmasına sebep olabilir (64). İnflamasyon, artmış CRP, fibrinojen ve azalmış albumin ile karakterizedir. Kardiyovasküler olaylar ve mortalite için hem genel populasyonda hem de SDBY populasyonda önemli bir risk faktörüdür (57,64). Yüksek serum CRP, fibrinojen ve düşük serum albumin düzeyleri SDBY'de kardiyovasküler kalsifikasyon skorlarıyla pozitif olarak koreledir (51,57,65,66). IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi bazı proinflamatuvar sitokinler indirgenmiş LDL kolesterol partiküllerine enzimatik olarak bağlanır, intima-media arasında birikir, kompleman sistemi aktive eder ve monositleri aterosklerotik lezyonlara çeker (64). TNF- $\alpha$  sıgır aortik düz kas hücrelerinde hem alkali fosfataz aktivitesini hem de matriks

mineralizasyonunu arttırır (19). İnflamasyon aynı zamanda dolaşımdaki fetüin-A gibi bazı faktörleri etkileyerek de vasküler ve yumuşak doku kalsifikasyonlarını kolaylaştırabilir (26,28).

Oksidatif stres kronik böbrek yetersizliği hastalarında değişmez bir özellik olarak karşımıza çıkar. Kronik böbrek yetersizliğinde oksidatif stres; plazma ve dokularda lipid, karbonhidrat ve proteinlerden kaynaklanan aşırı miktarlardaki oksidasyon ürünlerini ifade eder (Tablo 2-2).

**Tablo 2-2: Üremide kullanılan oksidatif stres göstergeleri.**

Lipitler	Malondialdehyde ve diğer aldehydler
	Lipid hidroperoksidler
	Okside low-density lipoprotein (LDL)
	İleri lipoksidasyon son ürünleri (ALE)
Araşidonik asid deriveleri	F <sub>2</sub> isoprostanlar
	Isolevuglandinler
Karbohiratlar	Reaktif aldehydler
	İleri glikasyon son ürünleri (AGE)
Amino asidler	Sistein/sistin
	Homosistein/homosistin
	Isoaspartat
	3-chlorotyrosin
	Ditirozin
	3 nitrotirozin
Proteinler	Thiol oksidasyon
	Karbonil formasyonu
	İleri okside protein ürünleri (AOPP)

Son dönem böbrek yetersizliğinde oksidatif stres ve inflamasyonun arttığı birçok çalışmayla ortaya konmuştur ve bu ikisinin artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkisi olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır (7,12,64,67-69). Üremik hastalarda sadece inflamasyon veya oksidatif stres değil, her ikisi de artmaktadır. Oberg ve arkadaşları evre 3-5 kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda birçok inflamasyon ve oksidatif stres marker'ının sağlıklı insanlara göre yüksek olduğunu göstermişlerdir (70).

Diğer yapılan çalışmalarda diyaliz hastalarında serum CRP ve diğer inflamasyon marker düzeyleriyle oksidatif stress marker düzeyleri (F2-İsoprostane vd) arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (8,71,13).

Üremide artmış olan bu iki durumun, yine üremik hastalarda artmış olan kardiyovasküler mortalite ve morbiditeye katkılarının olup olmadığı hususunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Üremik hastalarda yükselmiş olan inflamasyon göstergelerinin (özellikle IL-6 ve CRP) gelişecek olan kardiyovasküler mortalite ve morbidite için bağımsız ve güçlü bir prediktör olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (8,67,68,72-76). Yine diyaliz hastalarında artmış oksidatif stress düzeylerinin de kardiyovasküler mortaliteyle ilişkili olduğuna dair veriler elde edilmiştir (12,13,77).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, üremik hastalarda inflamasyon ve oksidatif stresin iki yönlü ve sinerjistik bir ilişkiyle yükseldiğini göstermektedir. Üstelik elde edilen bulgular bu iki faktörün yine iki yönlü ve sinerjistik olarak kardiyovasküler mortalite ve morbiditeye katkıda bulunduğu yönündedir. Bu konuda çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte kronik böbrek hastalığında artmış ateroskleroza açıklayan mekanizma net olarak bilinmemektedir ve özellikle oksidatif stres göstergeleriyle koroner arter kalsifikasyonu arasındaki ilişki tam olarak tanımlanamamıştır.

### **2.3. Klinik Yaklaşımlar ve Tanı**

Vasküler kalsifikasyonun prevalansı ölçüm yapılan metoda, yaşa, ölçüm yapılan yere ve diyaliz zamanına göre değişir. Diyabetik durumda daha da artar. Bilgisayarlı tomografi ve X-ray çalışmalarında yaşa, cinsiyete, diyaliz süresine, ölçüm yapılan yere göre %30'dan %92'ye kadar prevalans aralığı rapor edilmiştir (59,60,78). Radyografide kalsifikasyonun en kolay ve en sık kullanılan ölçüm yer bileklerdir, daha sonra sıkkık sırasına göre abdominal aorta, ayaklar, pelvis, eller ve el bileğidir (60). Kronik diyaliz hastalarında koroner arter kalsifikasyonu nondiyaliz hastalardan 2.5 kattan 5 kata kadar daha yüksek olduğu gösterilmiştir (79). EBCT çalışmalarında Raggi ve arkadaşları erişkinlerin %70'inde (42), Goodman ve arkadaşları 30 yaşından küçük hastaların %36'sında (79) ciddi koroner arter kalsifikasyonu saptamışlar. Aynı zamanda üremik hastalarda nonüremiklere göre valvüler kalsifikasyonlar da daha sıktır. EBCT

çalışmalarında mitral valvülde %45-59, aortik valvülde %34-55 kalsifikasyon prevalansı olduğu gösterilmiştir (5,42-45). Fakültemizde yapılan çalışmada bir çalışmada koroner kalsifikasyon sıklığı % 65 olarak satanmıştır (80). Ekokardiyografik çalışmaların sonuçları da benzer bulunmuştur (81).

Vasküler kalsifikasyon yaygınlığına ve etkilenen organ göre birçok klinik problemlerle ilişkilidir. Vasküler kalsifikasyon büyük ve orta boy arterlerden arteriyollere kadar hemen hemen tüm arterleri etkileyebilir. Venler ise bu değişikliklerden hemen hemen hiç etkilenmezler (50). Arteriyal kalsifikasyonlar arteriyal duvar sertleşmesine neden olur. Artan arteriyel sertlik; artmış nabız basıncı (artmış sistolik kan basıncı ve azalmış diastolik kan basıncı sonucu) (52), artmış sol ventrikül hipertrofisi (azalmış büyük arter kompliansı sonucu) (51,80,82) ve artmış kardiyovasküler mortalite riskiyle (56,82) ilişkilidir.

İskemik kalp hastalığı, miyokard infarktüsü, bozulmuş miyokard fonksiyonu, konjestif kalp yetersizliği, kalp kapak yetersizliği ve aritmiler diyaliz hastalarındaki kardiyovasküler kalsifikasyonun diğer önemli sorunlarıdır. Aterosklerotik lezyon etrafındaki koroner arter kalsifikasyonu plak fragilitesini artırır, akut plak rüptürüne ve anjioplasti sırasında diseksiyona neden olabilir (42,46,55,83). Vasküler kalsifikasyonun artmış koroner olayları, düşük sürvi oranını ve genel populasyon (84,85), nondiyabetik ve diyabetik asemptomatik kişilerde (86) ve diyaliz hastalarında (55,56,57,59) hem kardiyovasküler, hem tüm sebeplerden dolayı artmış mortaliteyi predikte ettiği açık bir şekilde gösterilmiştir.

Periferel vasküler kalsifikasyon doku perfüzyonunun bozulmasına, klodikasyon ve ampütasyona yol açar. Hemodiyaliz (damar yolu giriş sorunları) ve transplantasyon (anostamoz güçlükleri) tedavilerinde güçlüklerle karşılaşılmasına neden olur.

## **2.4. Tanı**

Vasküler kalsifikasyon birkaç çeşit radyolojik görüntüleme teknikleriyle saptanabilir. Bunlar basit radyografi, ultrason, ekokardiyografi, sintigrafi, sinefloroskopi, sineradyografi, magnetik rezonans, bilgisayarlı tomografi ve EBCT' dir (87). Son Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) rehberinde kemik

metabolizması ve hastalığında vasküler kalsifikasyonun saptanması için basit radyografik filmi önermektedir (88).

Goodman ve arkadaşları kardiyovasküler kalsifikasyonun saptamak ve takip etmek için 3 tane basit, noninvazif teknik önermişler. Bunlar standart radyografi, nabız basıncının ölçülmesi ve ekokardiyografidir (9). Koroner arter kalsifikasyonu için diğer noninvazif teknikler spiral BT ve EBCT sayılabilir. Spiral BT, EBCT ile karşılaştırıldığında daha yaygın kullanılır fakat artmış radyasyon maruziyeti vardır ve temporal rezolüsyonu yetersizdir (45). EBCT ise dördüncü jenerasyon, noninvazif, yüksek-hızlı radyolojik bir tekniktir ve bütün vücut kalsifikasyonunun erken evrelerini bile değerlendirmeyi kesin olarak sağlar (89,90). Braun ve arkadaşları bu tekniği üremik hastalarda kullandılar ve referans standart olarak anjiyografi kullanıldığında EBCT'nin koroner arter kalsifikasyonunu saptamada %93 sensitiviteye, %73 spesifiteye sahip olduğunu gösterdiler. BT bazlı tekniklerin en önemli dezavantajı aterosklerotik kalsifikasyon ve medial kalsifikasyon ayırımını yapamamasıdır (9). Ek olarak genel popülasyonda ve diyaliz hastalarında EBCT ile ölçülmüş koroner arter kalsifikasyonun ciddiyetiyle tıkalı koroner arter hastalığının derecesi ve akabinde gelişen koroner arter olaylar arasındaki korelasyon hakkında çelişkili sonuçlar vardır (42,84,85).

Buna rağmen, EBCT tekniği halen diğer görüntüleme teknolojilerine kıyasla daha iyi yol göstermektedir (86,91). EBCT koroner kalsiyum skorları 0-10 arasında olan hastalar, düşük olasılıkla tıkalı koroner arter hastalığına sahiptirler. Kalsiyum skoru 11-100 arası ve 101-400 arası değerler ise sırasıyla hafif ve orta derecede aterosklerotik plak ile uyumludur. Kalsiyum skoru 400 ve üzerinde olan hastalar asemptomatik bile olsalar yaygın aterosklerotik plak varlığından şüphelenilmeli ve gerekli kardiyak incelemeler yapılmalıdır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hastalar

Bu çalışmaya, 78 tane son dönem böbrek hastası (38 erkek ve 40 kadın, ortalama yaş: 52±14 yıl, ortalama hemodiyaliz süresi: 59±42 ay) dahil edilmiştir. Son dönem böbrek hastalığının etyolojisi, 7 hastada kronik glomerülonefrit, 20 hastada nefroskleroz, 9 hastada kronik pyelonefrit, 10 hastada diyabetik nefropati ve 4 hastada polikistik böbrek hastalığı olup, 4 hastada amiloidoz, 24 hastada ise son dönem böbrek hastalığının nedeni bilinmemekteydi. Hastalar haftada 3 defa 4'er saatlik konvansiyonel hemodiyalize alınmaktaydı. Hemodiyaliz işlemi bikarbonatlı diyalizatla gerçekleştirilmekte ve standart antikoagülasyon için konvansiyonel heparin ya da düşük molekül ağırlıklı heparin kullanılmaktadır.

Çalışma için İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığına bağlı olarak çalışan Etik Kuruldan gerekli izin alınmıştır (2007/435 nolu dosya, 23/05/2007 tarihli 05 sayılı ile etik kurul onayı). Çalışma öncesinde bütün hastalar aydınlatılmış onam formunu okuyup imzalamışlardır.

Çalışmaya alınan tüm hastaların yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi (VKİ), primer hastalıkları, diyaliz süreleri, rutin biyokimik değerleri kaydedildi. Hastaların kan basıncı ölçümleri diyaliz seansı öncesinde supin pozisyonda 10 dakika istirahat sonrası yapıldı. Sistolik kan basıncı 140mmHg ve/veya diastolik kan basıncı 90mmHg olan hastalar hipertansif olarak kabul edildi.

#### 3.2. Laboratuvar Çalışmaları

Serum inflamasyon marker'ları olarak IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP kullanıldı. Oksidatif stress markeri olarak nitrotirozin kullanıldı.

### 3.2.1. Biyokimyasal Çalışmalar

Kan örneği, hastaların programlanmış hemodiyaliz seansının hemen öncesinde direkt olarak arteriyovenöz fistül üzerinden alınmıştır. Rutin biyokimyasal çalışmalar İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tam kan sayımı için gerekli serum örnekleri ultraviolet assay ile (Beckman-Coulter, Krefeld, Almanya); serum biyokimyasal testleri ise kinetik ultraviolet assay (Roche, Hitachi system, Indianapolis, IN, Amerika Birleşik Devletleri) ile çalışılmıştır. Serum trigliserid (TG) ve toplam kolesterol düzeyleri (KOL) de ticari kolorometrik assay metodu ile (GPO-PAP and CHODPAP kitleri, Boehringer–Mannheim kitleri, Almanya) ölçülmüştür.

### 3.2.2. Nitrotirozin Tayini

Serum nitrotirozin düzeyleri ELİSA yöntemi ile ticari kit (Hycult Biotechnology, Hbt, Uden, Hollanda) kullanılarak ölçülmüştür.

Hbt nitrotirozin kiti sandviç prensibine dayalı solid faz ELİSA yöntemi ile çalışmaktadır. Buna göre, nitrotirozini tanıyan antikorlarla kaplanmış mikropalak kuyucuklarında örnekler ve standartlar inkübe edilir. İnkübasyon sırasında nitrotirozin, kuyucuklara bağlı antikor tarafından tutulur. Örneklerdeki bağlı olmayan materyal yıkanarak uzaklaştırılır. Yıkama aşamasından sonra kuyucuklara biyotinlenmiş ikinci antikor konur. İkinci antikor, kuyucuklara bağlı birinci antikor tarafından tutulan nitrotirozine bağlanır. İkinci antikorun fazlası yıkanarak uzaklaştırılır, kuyucuklara streptavin-peroksidaz konjugatı eklenir. Bu konjugat spesifik olarak nitrotirozini bağlayan ikinci antikor ile reaksiyona girer. Streptavidin-peroksidaz konjugatın fazlası yıkanarak uzaklaştırılır, kuyucuklara tetrametilbenzin (TMB) substratı eklenir. Örnekteki mevcut nitrotirozin ile orantılı olarak renklenme gerçekleşir. Kuyucuklara sitrik asit eklenerek enzimatik reaksiyon durdurulur ve 450nm'deki absorbans spektrofotometrik olarak ölçülür.

Standart absorbansları ve bunlara karşılık gelen konsantrasyonlar kullanılarak bir standart eğri çizilir. Örneklerin nitrotirozin konsantrasyonları standart eğriden hesaplanır.

### 3.2.3. Serum IL-1 $\beta$ Tayini

#### Prensip

Biosource insan IL-1 $\beta$  kiti solid faz sandviç ELISA ile metodu ile çalışmaktadır. İnsan IL-1 $\beta$ 'ya özgül antikor ile kaplı kuyucuklara örnekler, standartlar kontrol ve serum örnekleri pipetlendikten sonra biyotinlenmiş ikincil antikor eklenir. Birinci inkübasyon sırasında insan IL-1 $\beta$  antijeni simultan olarak immobilize antikora ve sıvı faz biyotinlenmiş antikora bağlanır. İkincil antikor fazlasının ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından streptavidin-peroksidaz enzimi eklenir ve bağlanmayan enzim yıkama yoluyla ortamdaki uzaklaştırılır. Substrat eklenir ve oluşan renk yoğunluğu ölçülür. Renk yoğunluğu direkt olarak IL-1 $\beta$  konsantrasyonu ile orantılıdır.

#### Metod

Kan örneklerinden elde edilen serumlar -20 derecede saklandı. IL-1 $\beta$  tayini için Human IL-1 $\beta$  ELISA (Biosource Europe S.A. Belgium) kullanıldı. Ana standart 2500 pg/ml olacak şekilde standart sulandırma tamponu ile hazırlandı. Bu ana standarttan seri dilüsyon ile 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, 7.8 pg/ml, 3.9 pg/ml ve 0 pg/ml olarak diğer standartlar hazırlandı. Kuyucuklara 50  $\mu$ l standartlar, çözülen serum örnekleri ve kontroller eklendi, 100  $\mu$ l biyotinlenmiş anti IL-1 $\beta$  solüsyonu blank dışındaki tüm kuyulara ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında üzeri kapatılarak inkübe edildi. 4 kez 400  $\mu$ l ile yıkamanın ardından blank dışı tüm kuyucuklara 100  $\mu$ l streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tekrar yıkanan kuyucuklara 100  $\mu$ l stabilize kromojen eklendi ve mavi renk oluşumu başlatıldı. Karanlık ortamda 25 dakika bekletilen plağa son aşamada 100  $\mu$ l stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve plak 450 nm'de ELISA okuyucusunda (Bio-tek Instruments ELx800) değerlendirildi.

### 3.2.4. Serum IL-6 Tayini

#### Prensip

Biosource insan IL-6 kiti solid faz sandviç ELISA ile metodu ile çalışmaktadır. İnsan IL-6'ya özgül antikor ile kaplı kuyucuklara örnekler, standartlar kontrol ve serum örnekleri pipetlendikten sonra biyotinlenmiş ikincil antikor eklenir. Birinci inkübasyon

sırasında insan IL-6 antijeni simultan olarak immobilize antikora ve sıvı faz biyotinlenmiş antikora bağlanır. İkincil antikor fazlasının ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından streptavidin-peroksidaz enzimi eklenir ve bağlanmayan enzim yıkama yoluyla ortamdaki uzaklaştırılır. Substrat eklenir ve oluşan renk yoğunluğu ölçülür. Renk yoğunluğu direkt olarak IL-6 konsantrasyonu ile orantılıdır.

### **Metod**

Kan örneklerinden elde edilen serumlar -20 derecede saklandı. IL-6 tayini için Human IL-6 ELISA (Biosource Europe S.A. Belgium) kullanıldı. Ana standart 2500 pg/ml olacak şekilde standart sulandırma tamponu ile hazırlandı. Bu ana standarttan seri dilüsyon ile 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, 7.8 pg/ml ve 0 pg/ml olarak diğer standartlar hazırlandı. Kuyucuklara 100 µl standartlar, çözülen serum örnekleri ve kontroller eklendi, 50 µl biyotinlenmiş anti IL-6 solüsyonu blank dışındaki tüm kuyulara ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında üzeri kapatılarak inkübe edildi. 4 kez 400 µl ile yıkamanın ardından blank dışı tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tekrar yıkanan kuyucuklara 100 µl stabilize kromojen eklendi ve mavi renk oluşumu başlatıldı. Karanlık ortamda 30 dakika bekletilen plaka son aşamada 100 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve plak 450 nm'de ELISA okuyucusunda (Bio-tek Instruments ELx800) değerlendirildi.

### **3.2.5. Serum TNF- $\alpha$ Tayini**

#### **Prensip**

Biosource insan TNF- $\alpha$  kiti solid faz sandviç ELISA ile metodu ile çalışmaktadır. İnsan TNF- $\alpha$ 'ya özgül antikor ile kaplı kuyucuklara örnekler, standartlar kontrol ve serum örnekleri pipetlenir. Birinci inkübasyon sırasında insan TNF- $\alpha$  antijeni simultan olarak immobilize antikora bağlanır. Yıkama sonrası insan TNF- $\alpha$ 'ya özgül biyotinlenmiş monoklonal antikor eklenir. İkinci inkübasyon sırasında bu antikor birinci inkübasyonda yakalanan immobilize TNF- $\alpha$ 'ya bağlanır. Üçüncü inkübasyon ve bağlanmayan antikor fazlasının ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından substrat eklenir ve oluşan renk yoğunluğu ölçülür. Renk yoğunluğu direkt olarak TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ile orantılıdır.

## Metod

Kan örneklerinden elde edilen serumlar -20 derecede saklandı. TNF- $\alpha$  tayini için Human TNF- $\alpha$  ELISA (Biosource Europe S.A. Belgium) kullanıldı. Ana standart 2000 pg/ml olacak şekilde standart sulandırma tamponu ile hazırlandı. Bu ana standarttan seri dilüsyon ile 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, ve 0 pg/ml olarak diğer standartlar hazırlandı. Kuyucuklara 50  $\mu$ l inkübasyon tamponu eklendi. 0 pg/ml kuyucuklarına 100  $\mu$ l standart sulandırma tamponu ilavesinin ardından 100  $\mu$ l standartlar, çözülen serum örnekleri ve kontroller eklenerek 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. 4 kez 400  $\mu$ l ile yıkamanın ardından 100  $\mu$ l biyotinlenmiş anti TNF- $\alpha$  solüsyonu blank dışındaki tüm kuyulara ilave edilerek 1 saat oda sıcaklığında üzeri kapatılarak inkübe edildi. 4 kez 400  $\mu$ l ile yıkamanın ardından blank dışı tüm kuyucuklara 100  $\mu$ l streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tekrar yıkanan kuyucuklara 100  $\mu$ l stabilize kromojen eklendi ve mavi renk oluşumu başlatıldı. Karanlık ortamda 30 dakika bekletilen plağa son aşamada 100  $\mu$ l stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve plak 450 nm'de ELISA okuyucusunda (Bio-tek Instruments ELx800) değerlendirildi.

### 3.3. Koroner Arter Kalsiyum Skorlaması

Koroner arter kalsiyum skorları bir adet 16-MDCT scanner (Sensation 16, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. İnceleme sırasında kalp kraniyokaudal yönde, karinadan apekse kadar taranmıştır. İşlem esnasında 120 Kv'lık tüp voltajı, 133 mAs<sub>eff</sub>'lik efektif tüp akım zamanı çarpımı, 12x0.75 mm'lik bir kollimasyon, rotasyon başına 2.8 mm masa desteği ve 420 ms'lik tüp rotasyon zamanı elde edilmiştir. Her hastada, mediyum düz kıvrımlı kermelde (B35f) ve 512x512'lik rekonstrüksiyon matriksinde %60'lık R-R rekonstrüksiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra rekonstrükte edilen bütün görüntüler kalsiyum skorlama maksadıyla (Syngo Calcium Scoring CT, Siemens, Almanya) dış ortama aktarılmıştır (Leonardo, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Almanya). Koroner kalsiyum skorlama Agatston ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde 130 HU'luk bir eşik göz önüne alınarak hesaplanmıştır (6).

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Çalışmamızda, sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların saptanmasında One Way ANOVA kullanılmıştır. Korelasyonların değerlendirilmesinde Spearman veya Pearson testinden yararlanılmıştır. Değerlendirme esnasında 0.05'in altında olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bütün istatistiksel incelemeler SPSS for Windows (13.0, SPSS Company, Illinois, USA) istatistik programı yardımıyla yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Özellikler, Koroner Arter Kalsiyum Skorlama ve Laboratuvar Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen hastaları ortalama yaşı  $52\pm 14$ , VKI'leri  $24.2\pm 3.7$   $\text{kg/m}^2$ , ortalama diyaliz süreleri  $59,2\pm 42,1$  ay olarak saptandı. Hastalarımıza ait bazı klinik ve rutin biyokimik laboratuvar bulguları Tablo 4-1'de, koroner arter kalsiyum skoru, nitrotirozin, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  sonuçları Tablo 4-2'de özetlenmiştir.

**Tablo 4-1: Hastaların klinik özellikleri ve biyokimik değerleri (n: 78)**

SKB (mmHg)	126 $\pm$ 19
DKB (mmHg)	75 $\pm$ 10
Hipertansiyon varlığı	%38,5 (n:30)
Kalsiyum (mg/dl)	8,8 $\pm$ 0,5
Fosfor (mg/dl)	4,9 $\pm$ 1,4
Ca x P ( $\text{mg}^2/\text{dl}^2$ )	43,6 $\pm$ 13,2
iPTH (pg/ml)	344 $\pm$ 33
Ürik asit (mg/dl)	6,9 $\pm$ 0,2
CRP (mg/L)	1,81 $\pm$ 0,2
Albumin (g/dl)	3,9 $\pm$ 0,29
Ferritin (ng/ml)	696 $\pm$ 499
Trigliserid (mg/dl)	181 $\pm$ 116
Kolesterol (mg/dl)	166 $\pm$ 39
Hemoglobin (g/dl)	10,9 $\pm$ 1,56
Lökosit (hücre/ $\text{mm}^3$ )	6295 $\pm$ 1746
URR	78,4 $\pm$ 7,0
Kt/v	1,91 $\pm$ 0,4

SD; Standart Deviasyon, SKB; sistolik kan basıncı, DKB; diyastolik kan basıncı, URR; Urea reduction rate, iPTH; İntakt Paratiroid Hormonu

**Tablo 4-2: Hastaların koroner arter kalsiyum skorları ve inflamasyon parametreleri**

<b>PARAMETRELER</b>	<b>Hemodiyaliz hastalarında ortalama±SD (n:78)</b>
LM kalsifikasyon	18,43±66,95
LAD kalsifikasyon	264,20±481,60
Cx kalsifikasyon	60,31±169,03
RCA kalsifikasyon	139,92±312,61
toplam kalsifikasyon	488,55±835,09
Nitrotirozin(nmol/mg)	22,29±7,72
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	1,19±0,2
IL-6 (pg/ml)	9,5±1,17
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	32,86±9,97

SD; Standart Deviasyon, IL; İnterlökin, TNF; Tümör nekroz faktör, CRP; C reaktif protein,

LM; sol ana koroner arter, LAD; sol ön inen arter, Cx; Sirkumfleks arter, RCA; Sağ koroner arter, Kt/V; Diyaliz yeterliliğini gösteren ölçü

#### **4.2. Hastaların Koroner Arter Kalsiyum Skorları (KAKS) Ve Oksidatif Stres, İnflamasyon Değerleri**

Bu çalışmada ortalama koroner arter kalsiyum skoru (KAKS) 488,55±835 olarak saptanmıştır. Hastalar KAKS'a göre düşük kalsifikasyon skorlu hastalar (KAKS<10, Grup 1, n: 25), orta kalsiyum skorlu (KAKS 10–249, Grup 2, n: 26) ve yüksek kalsiyum skorlu (KAKS≥250, Grup 3, n: 27) hastalar olmak üzere 3 gruba ayrılmışlardır. Yaş arttıkça ve Kt/V azaldıkça KAKS' da anlamlı olarak artmaktadır. Bunun dışında diğer demografik özellikler ve serum biyokimyasal parametreleri açısından her 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır (Tablo 4-3). Nitrotirozin ve inflamasyon göstergelerinin koroner arter kalsiyum skoruna göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4-4). Toplam koroner arter kalsiyum skorlarıyla trigliserit, total kolesterol, kalsiyum, fosfor, CaxP ve inflamasyon göstergelerinden IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP arasındaki korelasyon Tablo 4-5'de gösterildi. Buna göre koroner arter kalsiyum skoruyla TNF- $\alpha$

ve CaxP arasında nispeten orta derecede pozitif bir korelasyon varken (her ikisi de  $r:0,246$ ,  $p:0,03$  ve Şekil 4-1, Şekil 4-2), kalsiyum, fosfor, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CRP arasında çok zayıf bir korelasyon saptandı. Trigleserid ve total kolesterol ile koroner arter kalsiyum skoru arasında korelasyon saptanmadı. Nitrotirozin ile koroner arter kalsiyum skoru arasındaki ilişkisi değerlendirildiğinde; kalsifikasyon skorları arttıkça nitrotirozin düzeyleri de artmaktaydı, ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca ek olarak nitrotirozin arttıkça sirkumfleks arter (Cx) kalsiyum skorunun da anlamlı olarak arttığı, aralarında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. Ancak nitrotirozin ile diğer koroner arter dalları arasında böyle bir korelasyon saptanmadı (Tablo 4-6).

**Tablo 4-3: Koroner arter kalsiyum skoruna göre hemodiyaliz hasta özellikleri**

PARAMETRE	KAKS	KAKS	KAKS	P Değeri
	GRUP 1 (KAKS<10) ortalama $\pm$ SD	GRUP 2 (KAKS 10-250) ortalama $\pm$ SD	GRUP 3 (KAKS>250) ortalama $\pm$ SD	
Yaş (yıl)	44 $\pm$ 15	52 $\pm$ 10	59 $\pm$ 15	0,001*
Diyaliz süresi(ay)	52 $\pm$ 40	59 $\pm$ 41	66 $\pm$ 46	0,483
KB (n)	11(%44)	10(%38)	9(%33)	0,73
Ürik asit(mg/dl)	6,1 $\pm$ 1,2	6,8 $\pm$ 1,3	6,5 $\pm$ 0,9	0,131
Kt/V	2,11 $\pm$ 0,57	1,82 $\pm$ 0,43	1,83 $\pm$ 0,35	0,043*
Kalsiyum (mg/dl)	8,88 $\pm$ 0,5	8,88 $\pm$ 0,6	8,98 $\pm$ 0,5	0,594
Fosfor (mg/dl)	4,5 $\pm$ 1,2	5,0 $\pm$ 1,5	5,2 $\pm$ 1,5	0,288
Ca x P (mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> )	40,3 $\pm$ 11,6	43,7 $\pm$ 13,2	46,6 $\pm$ 14,2	0,234
PTH (pg/ml)	281 $\pm$ 259	402 $\pm$ 314	347 $\pm$ 296	0,336
Kolesterol (mg/dl)	156 $\pm$ 39	168 $\pm$ 33	174 $\pm$ 44	0,247
Trigliserit (mg/dl)	154 $\pm$ 113	194 $\pm$ 113	195 $\pm$ 122	0,359
Albumin(g/dl)	3,9 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,3	0,936
VKİ	23,4 $\pm$ 4,0	24,8 $\pm$ 3,9	24,4 $\pm$ 3,3	0,391

SD; Standart Deviasyon, KAKS; koroner arter kalsiyum skoru, iPTH; İntakt Paratiroid Hormonu, VKİ:

Vücut kitle indeksi, KB; Kan basıncı, Kt/V; Diyaliz yeterliliğini gösteren ölçü. \* ; P<0,05

**Tablo 4-4: Nitrotirozin ve inflamasyon göstergelerinin koroner arter kalsiyum skoruna göre karşılaştırılması**

PARAMETRE	KAKS	KAKS	KAKS	P Değeri
	GRUP 1 (KAKS<10) ortalama±SD	GRUP 2 (KAKS 10-250) ortalama±SD	GRUP 3 (KAKS>250) ortalama±SD	
Nitrotirozin (nmol/ml)	20,96±5,92	21,76±5,40	24,05±10,53	0,325
IL-1β (pg/ml)	0,95±0,10	1,03±0,38	1,58±0,95	0,507
IL-6 (pg/ml)	11,46±1,58	8,76±7,27	8,52±7,96	0,534
TNF-α (pg/ml)	29,19±10,28	34,96±7,60	34,23±11,05	0,079
CRP (mg/l)	1,6±0,5	1,7±0,4	1,9±0,5	0,895

SD; Standart Deviasyon, KAKS; koroner arter kalsiyum skoru, IL; İnterlökin, TNF; Tümör nekroz faktör, CRP; C reaktif protein

**Tablo 4-5: Hastaların KAKS toplamı ile yaş, diyaliz süresi ve inflamasyon parametreleri arasındaki ilişki**

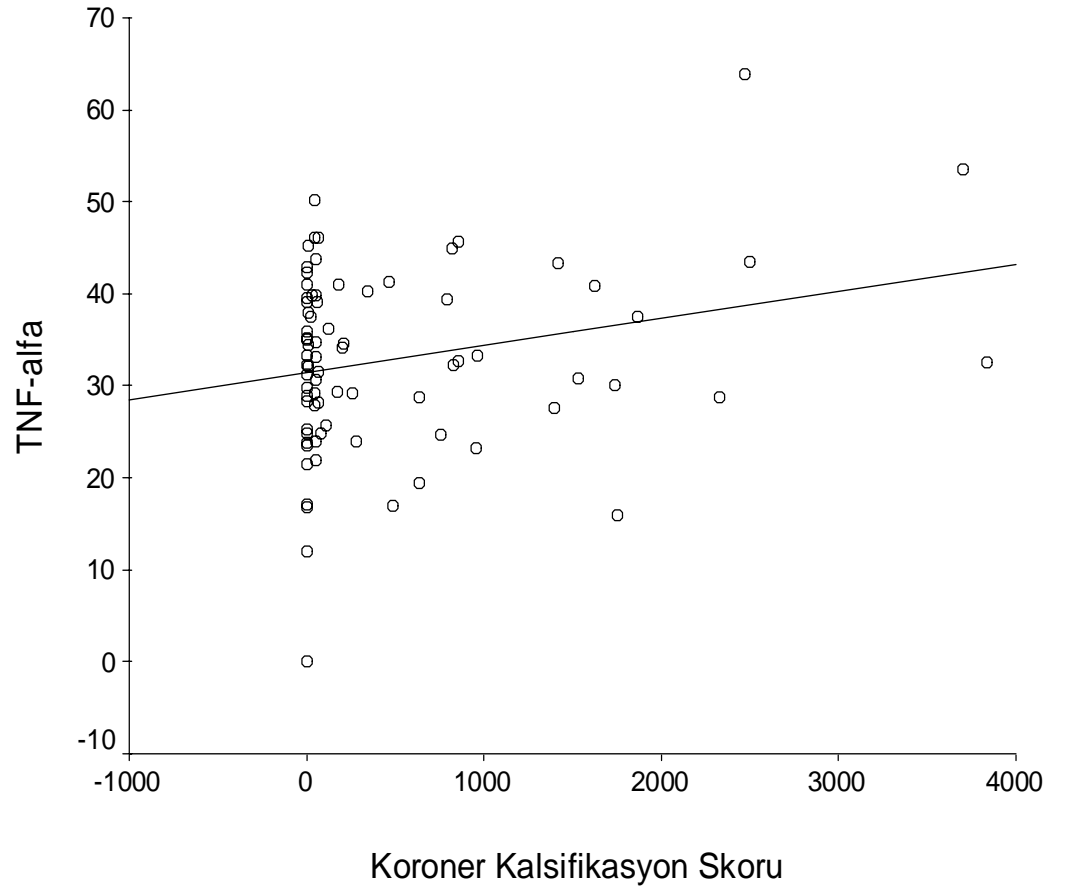
	Yaş	Diyaliz süresi	TNF-α	IL-1β	IL-6	CRP	Ca	P	CaxP	TG	KOL	Kt/V
Toplam r	0,458	0,197	0,246	0,123	0,035	0,130	0,194	0,196	0,246	0,077	0,106	-0,284
KAKS P	0,0001	0,084	0,030	0,283	0,763	0,257	0,089	0,086	0,030	0,503	0,354	0,012

KAKS; koroner arter kalsiyum skoru, IL; İnterlökin, TNF; Tümör nekroz faktör, CRP; C reaktif protein, Kt/V; Diyaliz yeterliliğini gösteren ölçüm.

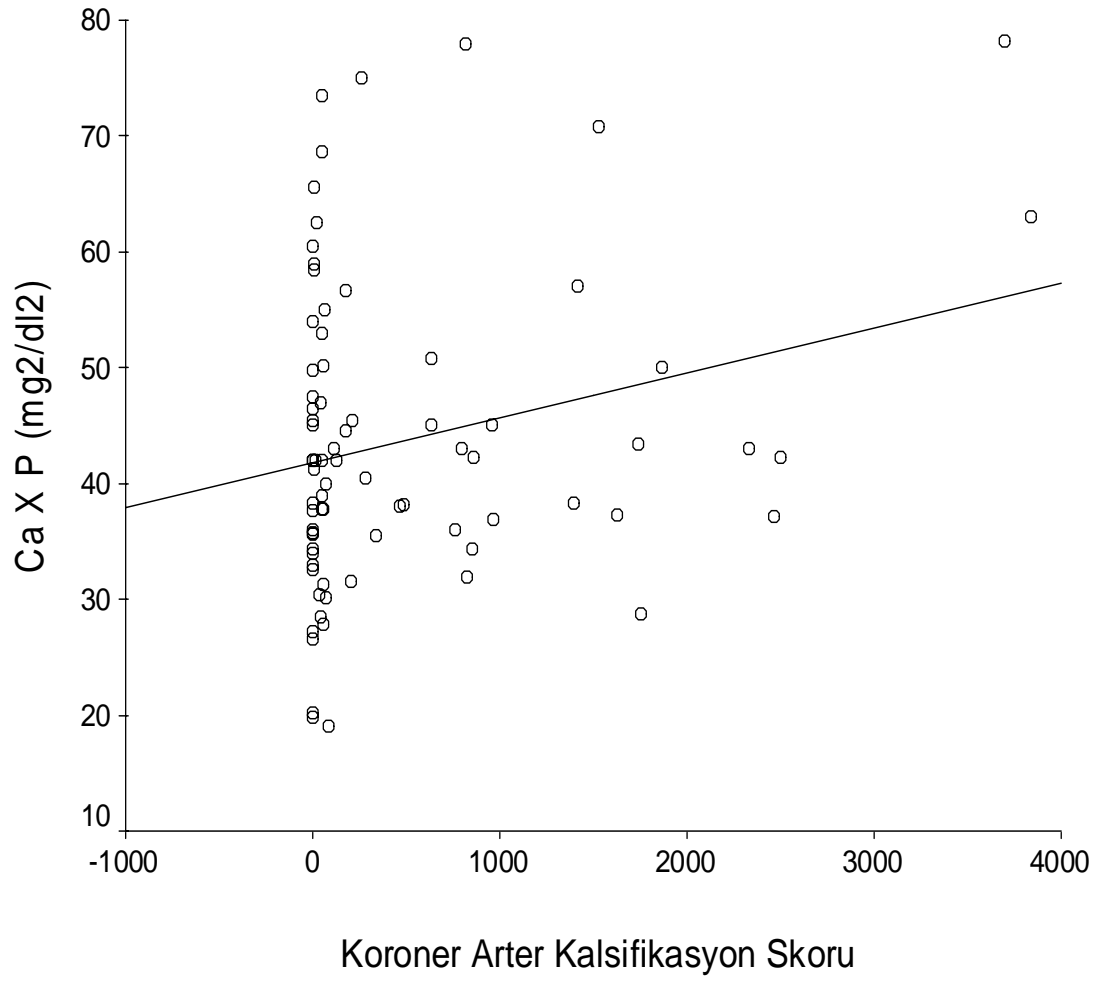
**Tablo 4-6: Nitrotirozin ile koroner arter kalsiyum skoru ilişkisi**

	LM	LAD	Cx	RCA
	kalsifikasyon	kalsifikasyon	kalsifikasyon	kalsifikasyon
Nitrotirozin r		0,075	-0,021	0,389*
Nitrotirozin P		0,515	0,853	0,000

LM; sol ana koroner arter, LAD; sol ön inen arter, Cx; Sirkumfleks arter, RCA; Sağ koroner arter



**Şekil 4-1: KAKS ile TNF-alfa arasındaki ilişki (r:0,246, p:0,03)**



**Şekil 4-2: KAKS ile CaX P arasındaki ilişki (r:0,246, p:0,03)**

## 5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) gelişen hastalarda en önemli mortalite ve morbidite nedeni olup, tüm ölümlerin yaklaşık %50'sinden ve hastanede yatış nedenlerinin %20'sinden sorumludur. Günümüzde SDBY hastalarında, KVH riski genel popülasyona oranla yaklaşık 10-20 kat daha fazladır. Kronik böbrek yetersizliği birçok sistemi etkilemekle birlikte bunlar arasında en önemli olanı erken ateroskleroz gelişimidir. Bu nedenle hastaların yaklaşık yarısının ölüm sebebi aterosklerotik kalp hastalığıdır (1,92,93). Kardiyovasküler olay sıklığı normal böbrek fonksiyonu olan evre 1 hastalarda 9.2-14/1000 hasta yılı iken hafif-orta dereceli böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda 22-27/1000 hasta yılı, son dönem böbrek yetersizliği bulunan hastalarda 380/1000 hasta yılına çıkmaktadır. SDBY hastalarında koroner arter hastalığı ve konjestif kalp yetmezliği sıklığı %40 iken, sol ventrikül hipertrofi sıklığı %75 dolaylarındadır. KBY'nin henüz erken dönemlerinden itibaren miyokard infarktüsü (MI) sıklığı normal popülasyona göre yüksektir. Diyaliz öncesi kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı (KAH) ve miyokard infarktüs öyküsü olanlarda diyaliz tedavisi altındaki süreçte mortalite 2-3 kat artmaktadır. Bütün bu bulgular aslında KBY'li hastalarda erken evrelerden itibaren kardiyovasküler hastalık riskinin bulunduğunu ve renal replasman tedavileri ile de bu riskin devam ettiğini göstermektedir (92,94,95).

Üremik hastalarda kardiyovasküler riskin belirleyicileri yaş, cinsiyet, aile hikayesi, hipertansiyon, sigara, diyabet, dislipidemi gibi geleneksel risk faktörleri ile sınırlı değildir; kronik böbrek yetmezliğinin neden olduğu üremiyle ilişkili ek risk faktörleri de bulunmaktadır. Bunlar volüm yüküne bağlı hipertansiyon, anemi, kalsiyum-fosfor metabolizma bozuklukları, hiperkatabolizma, kronik inflammasyon ve oksidatif stres olarak sıralanabilir. Üremik hastalarda artan proinflammatuar sitokinlerin ve oksidatif stresin ateroskleroz gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (11). Üremiyle ilişkili predispozan risk faktörlerinden özellikle oksidatif stres ve inflamasyonun vasküler kalsifikasyona olan katkısının araştırmak için sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (12,13,77). Ancak bu faktörlerin vasküler kalsifikasyona olan katkısı tam olarak ortaya konulamamıştır.

Yaş ve diyaliz süresi kalsifikasyon ve kardiyovasküler olaylar için bağımsız, değiştirilemeyen, önemli bir risk faktörü olarak kabul edilir ve bu bir çok çalışmada gösterilmiştir (41,59,60,79). Diyaliz hastalarında yaş arttıkça kalsifikasyon oranının da gittikçe arttığı açıkça gösterilmiş. Vasküler kalsifikasyon sadece yaşlı hastalar için değil aynı zamanda genç erişkin diyaliz hastaları (20-30 yaşlar arasında) için de problemdir. Bizim çalışmamızda yaş arttıkça kalsiyum skorunun da arttığı ve aralarında belirgin bir ilişki olduğu görüldü ( $r:0,458$ ,  $p:0,001$ ). Ancak benzer ilişki diyaliz süreleri ile kalsiyum skoru arasında çok zayıf bulundu ( $r:0,197$ ,  $p:0,08$ ). Ayrıca diyaliz yeterliliği konusunda üre temizlenmesinin ölçüsü olarak kullanılmakta olan Kt/V oranı ile koroner arter kalsiyum skoru arasında negatif korelasyon saptandı.

Bazı çalışmalarda serum kalsiyum, fosfor ve ikisinin çarpımı ile kardiyovasküler kalsifikasyonlar arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiş (4,5,14,42-44) iken diğer çalışmalarda bu ilişki konfirme edilememiştir (45-48). Bizim çalışmamızda koroner kalsiyum skoruyla CaxP arasında pozitif bir korelasyon saptanırken ( $r:0,246$ ,  $p:0,03$ ), kalsiyum ve fosfor arasında çok zayıf korelasyon saptandı ( $r:0,194$ ,  $p:0,08$  ;  $r:0,196$ ,  $p:0,08$ ).

Kalsiyum skorunda artış ve hızlı progresyon bazı çalışmalarda dislipidemiyle (yüksek total kolesterol, yüksek LDL, düşük HDL, yüksek trigliseritler) ilişkilendirilmiştir (6,48,55). Ancak bazı çalışmalarda ise anlamlı bir ilişki saptanmamış (33,42). Bizim çalışmamızda da trigliserit ve total kolesterol ile koroner arter kalsiyum skoru arasında korelasyon saptanmadı ( $r: 0,077$ ,  $p:0,503$  ;  $r: 0,106$ ,  $p:0,354$  sırasıyla).

Üremik hastalarda sadece inflamasyon veya oksidatif stres değil, her ikisi de artmaktadır. Oberg ve arkadaşları evre 3-5 kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda birçok inflamasyon ve oksidatif stres göstergelerinin sağlıklı insanlara göre yüksek olduğunu göstermişlerdir (70). Diğer yapılan çalışmalarda diyaliz hastalarında serum CRP ve diğer inflamasyon marker düzeyleriyle oksidatif stress marker düzeyleri (F2-İsoprostane vd) arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (8,71,13). Üremide artmış olan bu iki durumun, yine üremik hastalarda artmış olan kardiyovasküler mortalite ve morbiditeye katkılarının olup olmadığı hususunda çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Yüksek serum CRP, fibrinojen, düzeyleri SDBY'de kardiyovasküler kalsiyum skorlarıyla pozitif olarak koreledir (51,57,65,66). Üremik hastalarda yükselmiş olan inflamasyon göstergelerinin (özellikle IL-6, TNF- $\alpha$  ve CRP) gelişecek olan

kardiyovasküler mortalite ve morbidite için bağımsız ve güçlü bir prediktörü olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (8,67,68,72-76). Bizim çalışmamızda koroner arter kalsiyum skoruyla TNF- $\alpha$  arasında nispeten orta derecede bir korelasyon varken (r:0,246, p:0,03), diğerleriyle çok zayıf bir korelasyon saptandı.

Yine diyaliz hastalarında artmış oksidatif stress düzeylerinin de kardiyovasküler mortaliteyle ilişkili olduğuna dair veriler elde edilmiştir (12,77). Öte yandan bazı çalışmalarda ise koroner arter kalsiyum progresyonuyla lipid ve protein oksidasyon ürünleri arasında ilişki saptanamamıştır (96). Bizim çalışmamızda da oksidatif stres göstergesi olan nitrotirozin ile toplam kalsiyum skoruyla arasında korelasyon bulunmadı. Kalsifikasyon skorları arttıkça nitrotirozin düzeyleri de artmaktaydı, ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu bulgular vasküler kalsifikasyon gelişiminde oksidatif stresin ön planda rol oynamayabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak burada çalışmaya aldığımız 78 hemodiyaliz hastasının koroner arter kalsiyum skorununun çeşitli faktörlerle olan ilişkisine baktık. Yaş, Kt/V, CaxP, TNF- $\alpha$  ile koroner arter kalsiyum skoru arasında anlamlı ilişki saptandı. Yine oksidatif stres göstergesi olan nitrotirozin ile sadece koroner arterin sirkumfleks dalı arasında bir ilişki saptandı. Diğer faktörlerle koroner arter kalsiyum skoru arasında net bir ilişki saptanamamıştır. Bu bulgular vasküler kalsifikasyon gelişiminde inflamasyonun rol oynayabileceğini, oksidatif stresin major bir katkısının olmadığını düşündürmektedir. Bu konuda daha büyük ölçekli ve prospektif, tedavi amaçlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Esas olarak gösterilmeye çalıştığımız oksidatif stres ve inflamasyonunun koroner arter kalsifikasyonu ile olan ilişkisi çok zayıf bulunmuştur. Nitrotirozinin koroner arterin tüm dallarının toplam kalsiyum skoruyla değil de sadece sirkumfleks arterin kalsiyum skoruyla pozitif korelasyon göstermesinin çok fazla klinik bir önemi olmadığını düşünüyoruz. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda özellikle oksidatif stres marker'larıyla koroner arter kalsifikasyonu arasındaki ilişki konusunda çelişkili sonuçlar çıkması koroner kalsifikasyonun esas belirleyicilerinin oksidatif stres ve/veya inflamasyon olmadığını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Collins AJ. Cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Am J Med Sci.* 2003
2. US Renal Data System: USRDS annual report. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S81-S88.
3. Davies MR, Hruska KA: Pathophysiological mechanisms of vascular calcification in end-stage renal disease. *Kidney Int* 60:472–479, 2001
4. London GM, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC: Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 15:1943–1951, 2004
5. Oh J, Wunsch R, Turzer M, Bahner M, Raggi P, Querfeld U, Mehls O, Schaefer F: Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adults with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation* 106:100–105, 2002
6. Kronenberg F, Mundle M, Langle M, Neyer U: Prevalence and progression of peripheral arterial calcifications in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 41:140–148, 2003
7. Himmelfarb J, Hakim RM: Oxidative stress in uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 12:593–598, 2003
8. 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. *Am J Kidney Dis* 42:286–294, 2003
9. Goodman WG, London G, Amann K, Block GA, Giachelli C, Hruska KA, Ketteler M, Levin A, Massy Z, McCarron DA, Raggi P, Shanahan CM, Yorioka N: Vascular calcification in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 43:572–579, 2004
10. Vattikuti R, Towler DA: Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E686–E696, 2004
11. Dericci, Ulver & El Nahas, A. Meguid Vascular Calcifications in Uremia: Old Concepts and New Insights. *Seminars in Dialysis* 19 (1), 2006. 60–68
12. Himmelfarb J, Ikizler TA, Stenvinkel P, Hakim RM: The elephant in uremia: reflections on oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 62:1524–1538, 2002
13. Handelman GJ, Walter MF, Adhikarla R, Gross J, Dallal GE, Levin NW, Blumberg JB: Elevated plasma F2-isoprostanes in patients on long-term hemodialysis. *Kidney Int* 51:1960–1966, 2001
14. Moe SM, O'Neill KD, Duan D, Ahmed S, Chen NX, Leapman SB, Fineberg N, Kopecky K: Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int* 61:638–647, 2002
15. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, Weissberg PL: High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 93:2393–2402, 1994

16. Chen NX, O'Neill KD, Duan D, Moe SM: Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 62:1724–1731, 2002
17. Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, Morii H, Giachelli CM: Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 87:E10–E17, 2000
18. Parhami F, Morrow AD, Balucan J, Leitinger N, Watson AD, Tintut Y, Berliner JA, Demer LL: Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:680–687, 1997
19. Tintut Y, Patel J, Parhami F, Demer LL: Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation* 102:2636–2642, 2000
20. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H: 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. *Circulation* 98:1302–1306, 1998
21. Hirata M, Katsumata K, Endo K, Fukushima N, Ohkawa H, Fukagawa M: In subtotaly nephrectomized rats 22-oxacalcitriol suppresses parathyroid hormone with less risk of cardiovascular calcification or deterioration of residual renal function than 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>. *Nephrol Dial Transplant* 18:1770–1776, 2003
22. Watson KE, Parhami F, Shin V, Demer LL: Fibronectin and collagen I matrixes promote calcification of vascular cells in vitro, whereas collagen IV matrix is inhibitory. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:1964–1971, 1998
23. Watson KE, Bostrom K, Ravindranath R, Lam T, Norton B, Demer LL: TGF- $\beta$  1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. *J Clin Invest* 93:2106–2113, 1994
24. Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, Tanaka N, Yamamoto H: Advanced glycation endproducts accelerate calcification in microvascular pericytes. *Biochem Biophys Res Commun* 258:353–357, 1999
25. Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Shanahan CM, Weissberg PL: Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Re* 87:1055–1062, 2000
26. Ketteler M, Vermeer C, Wanner C, Westenfeld R, Jahnen-Dechent W, Floege J: Novel insights into uremic vascular calcification: role of matrix Gla protein and alpha-2-Heremans Schmid glycoprotein/fetuin. *Blood Purif* 20:473–476, 2002
27. Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, Lannuzel B, Rogez JP, Humbert G: Serum concentration of human alpha 2 HS glycoprotein during the inflammatory process: evidence that alpha 2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *J Clin Invest* 64:1118–1129, 1979
28. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Bohm R, Metzger T, Wanner C, Jahnen-Dechent W, Floege J: Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 361:827–833, 2003

29. Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, Muller-Esterl W, Schinke T, Jahnen-Dechent W: The serum protein alpha 2-Heremans Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 112:357–366, 2003
30. Mehrotra R, Westenfeld R, Christenson P, Budoff M, Ipp E, Takasu J, Gupta A, Norris K, Ketteler M, Adler S: Serum fetuin-A in nondialyzed patients with diabetic nephropathy: relationship with coronary artery calcification. *Kidney Int* 67:1070–1077, 2005
31. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G: Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 386:78–81, 1997
32. Bostrom K, Tsao D, Shen S, Wang Y, Demer LL: Matrix GLA protein modulates differentiation induced by bone morphogenetic protein-2 in C3H10T1/2 cells. *J Biol Chem* 276:14044–14052, 2001
33. Jono S, Ikari Y, Vermeer C, Dissel P, Hasegawa K, Shioi A, Taniwaki H, Kizu A, Nishizawa Y, Saito S: Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography. *Thromb Haemos* 91:790–794, 2004
34. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK: Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1610–1616, 2001
35. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS: Osteoprotegerindeficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 12:1260–1268, 1998
36. Steitz SA, Speer MY, McKee MD, Liaw L, Almeida M, Yang H, Giachelli CM: Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am J Pathol* 161:2035–2046, 2002
37. Spicer SS, Lewis SE, Tashian RE, Schulte BA: Mice carrying a CAR-2 null allele lack carbonic anhydrase II immunohistochemically and show vascular calcification. *Am J Pathol* 134:947–954, 1989
38. Strewler GJ: The physiology of parathyroid hormone-related protein. *N Engl J Med* 342:177–185, 2000
39. Du P, Ye Y, Seitz PK, Bi LG, Li H, Wang C, Simmons DJ, Cooper CW: Endogenous parathyroid hormone-related peptide enhances proliferation and inhibits differentiation in the osteoblast-like cell line ROS 17/2.8. *Bone* 26:429–436, 2000
40. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI: Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 390:45–51, 1997
41. Yildiz A, Tepe S, Oflaz H, Yazici H, Pusuroglu H, Besler M, Ark E, Erzen F. Carotid atherosclerosis is a predictor of coronary calcification in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004 19:885–891

42. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, Chertow GM: Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Col Cardio* 39:695–701, 2002
43. Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S, Bommer J, Holzer H, Burke SK: Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 19:1489–1496, 2004
44. Kimura K, Saika Y, Otani H, Fujii R, Mune M, Yukawa S: Factors associated with calcification of the abdominal aorta in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 71:S238–S241, 1999
45. Moe SM, O'Neill KD, Fineberg N, Persohn S, Ahmed S, Garrett P, Meyer CA: Assessment of vascular calcification in ESRD patients using spiral CT. *Nephrol Dial Transplant* 18:1152–1158, 2003
46. Salusky IB, Goodman WG: Cardiovascular calcification in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 17:336–339, 2002
47. Russo D, Palmiero G, De Blasio AP, Balletta MM, Andreucci VE: Coronary artery calcification in patients with CRF not undergoing dialysis. *Am J Kidney Dis* 44:1024–1030, 2004
48. Tamashiro M, Iseki K, Sunagawa O, Inoue T, Higa S, Afuso H, Fukiyama K: Significant association between the progression of coronary artery calcification and dyslipidemia in patients on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 38:64–69, 2001
49. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK: Association of serum phosphorus and calcium-phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 31:607–617, 1998
50. Goldsmith D, Ritz E, Covic A: Vascular calcification: a stiff challenge for the nephrologist: does preventing bone disease cause arterial disease? *Kidney Int* 66:1315–1333, 2004
51. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F: Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 15:1014–1021, 2000
52. Chertow GM, Burke SK, Raggi P: Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 62:245–252, 2002
53. Braun J, Asmus HG, Holzer H, Brunkhorst R, Krause R, Schulz W, Neumayer HH, Raggi P, Bommer J: Long-term comparison of a calciumfree phosphate binder and calcium carbonate-phosphorus metabolism and cardiovascular calcification. *Clin Nephrol* 62:104–115, 2004
54. Haydar AA, Hujairi NM, Covic AA, Pereira D, Rubens M, Goldsmith DJ: Coronary artery calcification is related to coronary atherosclerosis in chronic renal disease patients: a study comparing EBCT-generated coronary artery calcium scores and coronary angiography. *Nephrol Dial Transplant* 19:2307–2312, 2004
55. Matsuoka M, Iseki K, Tamashiro M, Fujimoto N, Higa N, Touma T, Takishita S: Impact of high coronary artery calcification score (CACs) on survival in patients on chronic hemodialysis. *Clin Exp Nephrol* 8:54–58, 2004
56. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B, Adda H: Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 18:1731–1740, 2003

57. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM: Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 38:938–942, 2001
58. Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Kim M, Shoji T, Nakatani T, Inaba M, Nishizawa Y: Different risk factors for peripheral vascular calcification between diabetic and non-diabetic haemodialysis patients—importance of glycaemic control. *Diabetologia* 45:1446–1448, 2002
59. Adragao T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Goncalves M, Negrao AP: A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 19:1480–1488, 2004
60. Meema HE, Oreopoulos DG, deVeber GA: Arterial calcifications in severe chronic renal disease and their relationship to dialysis treatment, renal transplant, and parathyroidectomy. *Radiology* 121:315–321, 1976
61. Mody N, Parhami F, Sarafian TA, Demer LL: Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic Biol Med* 31:509–519, 2001
62. Parhami F, Tintut Y, Ballard A, Fogelman AM, Demer LL: Leptin enhances the calcification of vascular cells: artery wall as a target of leptin. *Circ Res* 88:954–960, 2001
63. Kletzmayer J, Horl WH: Iron overload and cardiovascular complications in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 17(suppl 2):25–29, 2002
64. Arici M, Walls J: End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* 59:407–414, 2001
65. Stompor T, Pasowicz M, Sulłowicz W, Dembinska-Kiec A, Janda K, Wojcik K, Tracz W, Zdzienicka A, Klimeczek P, Janusz-Grzybowska E: An association between coronary artery calcification score, lipid profile, and selected markers of chronic inflammation in ESRD patients treated with peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 41:203–211, 2003
66. Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Maekawa K, Izumotani T, Yamakawa T, Jono S, Shoji T, Shioi A, Inaba M, Massry SG, Nishizawa Y: C-reactive protein is a significant predictor of vascular calcification of both aorta and hand arteries. *Semin Nephrol* 24:408–412, 2004
67. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulträ F, *et al*: Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 51:1899–1911, 1999
68. Stenvinkel P: Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif* 10:53–61, 2001
69. Descamps-Latscha B, Drueke T, Witko-Sarsat V: Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 14:193–199, 2001
70. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J: Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 65:1009–1016, 2004
71. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, Witko-Sarsat V, Drueke TB, Lacour B, Thevenin M: Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 16:335–340, 2001
72. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C: Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 55:648–658, 1999

73. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA: C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 35:469–476, 2000
74. Pecoits-Filho R, Bárány P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P: Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 17:1684–1688, 2002
75. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, Cruz I, Yanovski JA, Veis JH: Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 54:236–244, 1998
76. Kimmel PL, Chawla LS, Amarasinghe A, Peterson RA, Weihs KL, Simmens SJ, Alleyne S, Burke HB, Cruz I, Veis JH: Anthropometric measures, cytokines and survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 18:326–332, 2003
77. Boaz M, Mataz Z, Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M, Smetana S: Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney Int* 56:1078–1083, 1999
78. London GM, Marchais SJ, Safar ME, Genest AF, Guerin AP, Metivier F, Chedid K, London AM: Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure. *Kidney Int* 37:137–142, 1990
79. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, Wang Y, Chung J, Emerick A, Greaser L, Elashoff RM, Salusky IB: Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 342:1478–1483, 2000
80. Yildiz A, Memisoglu E, Oflaz H, Yazici H, Pusuroglu H, Akkaya V, Erzenegin F, Tepe S. Atherosclerosis and vascular calcification are independent predictors of left ventricular hypertrophy in chronic haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, April 1, 2005; 20(4): 760 - 767.
81. Ribeiro S, Ramos A, Brandao A, Rebelo JR, Guerra A, Resina C, Vila-Lobos A, Carvalho F, Remedio F, Ribeiro F: Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 13:2037–2040, 1998
82. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM: Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 99:2434–2439, 1999
83. Salgueira M, del Toro N, Moreno-Alba R, Jimenez E, Areste N, Palma A: Vascular calcification in the uremic patient: a cardiovascular risk? *Kidney Int Suppl* 85:S119–S121, 2003
84. Arad Y, Spadaro LA, Goodman K, Newstein D, Guerci AD: Prediction of coronary events with electron beam computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 36:1253–1260, 2000
85. Keelan PC, Bielak LF, Ashai K, Jamjoum LS, Denktas AE, Rumberger JA, Sheedy IP, Peyser PA, Schwartz RS: Long-term prognostic value of coronary calcification detected by electron-beam computed tomography in patients undergoing coronary angiography. *Circulation* 104:412–417, 2001
86. Raggi P, Shaw LJ, Berman DS, Callister TQ: Prognostic value of coronary artery calcium screening in subjects with and without diabetes. *J Am Coll Cardiol* 43:1663–1669, 2004
87. McCullough PA, Sandberg KR, Dumler F, Yanez JE: Determinants of coronary vascular calcification in patients with chronic kidney disease and endstage renal disease: a systematic review. *J Nephrol* 17:205–215, 2004

88. National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 42:S1– S201, 2003
89. Celermajer DS: Noninvasive detection of atherosclerosis. *N Engl J Med* 339:2014–2015, 1998
90. Raggi P: Effects of excess calcium load on the cardiovascular system measured with electron beam tomography in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 17:332–335, 2002
91. Shaw LJ, Raggi P, Schisterman E, Berman DS, Callister TQ: Prognostic value of cardiac risk factors and coronary artery calcium screening for all-cause mortality. *Radiology* 228:826-833, 2003.
92. Menso J. Nube. The acute phase respons in chronic haemodialysis patients: a marker of cardiovascular disease ? *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (Suppl 3):19-23
93. Paparello J, Kshirsagar A, Batlle D. Comorbidity and cardiovascular risk factors in patients. *Semin Nephrol.* 2002 Nov; 22(6): 494-506. Review.
94. Culleton BF, Larson MG, Wilson PW, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int.* 1999 Dec;56(6):2214-9.
95. Garg AX, Clark WF, Haynes RB, House AA. Moderate renal insufficiency and the risk of cardiovascular mortality: results from the NHANES I. *Kidney Int.* 2002 Apr;61(4):1486-94.
96. Krasniak A, Drozd M, Pasowicz M et al. Factors involved in vascular calcification and atherosclerosis in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 515–521