

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ ÜNİTESİ

HEMODİYALİZ HASTALARINDA KORONER ARTER KALSİYUM
SKORLAMA, KEMİK MİNERAL DENSİTOMETRİ PARAMETRELERİ VE
SERUM FETUİN-A DÜZEYİ İLİŞKİSİ

Dr. Alper KIRKPANTUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Bülent ALTUN

ANKARA

2007

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ ÜNİTESİ

HEMODİYALİZ HASTALARINDA KORONER ARTER KALSİYUM
SKORLAMA, KEMİK MİNERAL DENSİTOMETRİ PARAMETRELERİ VE
SERUM FETUİN-A DÜZEYİ İLİŞKİSİ

Dr. Alper KIRKPANTUR

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2007

ONAY SAYFASI

Tezin teslim edildiği enstitü ve üniversite ismi:

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Tez başlığı:

HEMODİYALİZ HASTALARINDA KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMA,
KEMİK MİNERAL DENSİTOMETRİ PARAMETRELERİ VE
SERUM FETUİN-A DÜZEYİ İLİŞKİSİ

Teslim eden:

UZM. DR. ALPER KIRKPANTUR

Tez savunma tarihi:

17-04-2007

Tez danışmanı:

PROF. DR. BÜLENT ALTUN

Diğer jüri üyeleri:

PROF. DR. SERHAT ÜNAL

PROF. DR. ÇETİN TURGAN

PROF. DR. ÜNAL YASAVUL

PROF. DR. YUNUS ERDEM

TEŞEKKÜR

Hayatımın her anında desteklerini ve varlıklarını hissettiğim, yaşam kaynağım olan en başta başöğretmenim annem olmak üzere babama, kızkardeşime ve bu çalışmanın yazıya dökümü sırasında bir an olsun yanımdan ayrılmayan ve desteğini hep hissettiğim biricik eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde ve sorumlu bir nefrolog olarak yetişmemde yaptıkları katkılardan dolayı başta Sayın Prof. Dr. Çetin Turgan ve Prof. Dr. Şali Çağlar olmak üzere, Prof. Dr. Ünal Yasavul, Prof. Dr. Yunus Erdem, Prof. Dr. Bülent Altun, Doç.Dr. Mustafa Arıcı, Doç. Dr. Ahmet Alper Kıyıkım, Uzm. Dr. Serkan Kahraman ve Uzm. Dr. Gültekin Gençtoy'a içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi adına, Sayın Prof.Dr. Deniz Akata ve Uzm. Dr. Tuncay Hazırolan, tez çalışmasının radyolojik tetkiklerinin yapılıp, yorumlanmasında; Hemodiyaliz Ünitemiz Başhemşiremiz Fadime Hanım başta olmak üzere hemşire hanımlarımız ve PCR Laboratuvarı teknisyenlerimiz Beyhan Hanım ve İlknur Hanım serum örneklerinin toplanmasında ve ayrıştırılmasında; Hematoloji Bilim Dalından Sayın Şerafettin Kirazlı da serum elisa testinin uygulanmasında ve Biyoistatistik Anabilim Dalından Dr. Anıl Hanım istatistiksel analiz sırasında çok değerli katkılarda bulunmuşlardır. Kendilerine bu vesile ile bir kez daha teşekkür ederim.

ÖZET

Kırkpantur A. Hemodiyaliz hastalarında koroner arter kalsifikasyonu, kemik mineral dansitometri ve serum fetuin-A düzeyi ilişkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Tezi, Ankara, 2007.

Giriş. Son dönem böbrek hastalığına ulaşan bireylerde arteriyel kalsifikasyon yaygın olarak gözlenmektedir. Birçok çalışma, aterosklerotik plak kalsifikasyonu ile kemik oluşumundan benzer mekanizmaların sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Karaciğerden sentezlenen fetuin-A, vasküler kalsifikasyonu önlemekle birlikte henüz tam anlamıyla aydınlatılmamış fonksiyonlara sahip olarak kemik dokuda bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı kemik mineral dansitometri (KMD) parametreleri, koroner arter kalsifikasyonu (KAK) ve serum fetuin-A düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Materiyal-Methodoloji. Bu çalışmaya 72 adet hemodiyaliz (HD) hastası dahil edilmiştir (39 kadın ve 33 erkek, ortalama yaş 54 ± 19 yıl, hepsi haftada 3 defa HD programında). Hastalara dual enerji X-ışını absorpsiyometri tekniği ile KMD analizi, electron-beam computed tomography (EBT) ile de koroner arter kalsiyum skorlaması (KAKS) yapılmıştır. KAKS değerlerine göre hastalar Grup 1 (KAKS=0-99 arası) ve Grup 2 (KAKS \geq 100) olmak üzere 2 gruba ayrılmışlardır. Hastalarda KMD parametreleri, KAKS ve serum fetuin-düzeyleri arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.

Sonuçlar. Radius proksimal bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değer üzerinde olan bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek KAKS ile sağ koroner arterde ve sol sirkümfleks arterde daha fazla hacim ve kitlede plaklara sahiptir. Femur boyun bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değer üzerinde olan bireylere göre hem sol ana koroner arterde hem de sağ koroner arterde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla hacim ve kitlede plaklara sahiptir. Femur trokanter bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değer üzerinde olan bireylere göre daha

yüksek KAKS değerlerine ve sol ön inen koroner arterde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla kitlede plaklara sahiptir. Sağ koroner arterdeki plakların kitlesi ve hacmi bu bölgede T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireylerde, T-skoru bu değer üzerinde olan bireylere göre daha yüksektir. Lomber vertebra L1-L4 bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değer üzerinde olan bireylere göre hem sol ana koroner arterde hem de sağ koroner arterde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla kitle ve hacimde plaklara sahiptir. Serum fetuin-A konsantrasyonları <0.6 g/L olan hastalarda KAKS değeri, serum fetuin-A konsantrasyonu >0.6 g/L olanlara göre daha yüksektir (328±25 ve 72±6.7, p<0.05). Benzer şekilde serum fetuin-A konsantrasyonu <0.6 g/L olan hastaların istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sol ana koroner arterlerinde (86±25 ve 12±8.3 mm³ ile 34±12 ve 4.9±1.6 gr) ve sağ koroner arterlerinde (72±18 ve 11±6 mm³ ile 33.9±23 ve 26.8±9 gr) daha fazla hacim ve kitlede plak bulunmaktadır. Serum fetuin-A konsantrasyonları <0.6 g/L olan hastalarda radius proksimal (-3.4±1.2 ve -1.8±1.4), femur trokanter (-2.5±1.6 ve -1.3±1.6) ve lomber vertebra L1-4 bölgelerindeki T-skorumları (-2.17±1.5 ve -1.3±1.2), serum fetuin-A konsantrasyonu >0.6 g/L olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür.

Tartışma. Bu çalışmaya göre, HD hastalarında azalmış kemik mineral dansitometri parametreleri ile artmış koroner arter kalsifikasyonu arasında birliktelik vardır. Fetuin-A, vasküler kalsifikasyonu inhibe etmesi ve kemik metabolizması üzerindeki etkileri ile bu birliktelikte önemli bir rol oynayabilir.

Anahtar kelimeler: Hemodiyaliz, vasküler kalsifikasyon, kemik mineral dansitesi, fetuin-A

ABSTRACT

Kirkpantur A. The association of coronary artery calcification, bone mineral densitometry and serum fetuin-A levels in maintenance hemodialysis patients. Hacettepe University School of Medicine, Thesis in Nephrology, Ankara, 2007.

Background. Patients with end stage renal disease have a very high prevalence and extent of arterial calcification. A number of studies suggest that similar pathophysiologic mechanisms are responsible for development and progression of the calcification of atherosclerotic plaque and bone formation. Fetuin-A of hepatic origin circulates in large amounts in serum, is a potent calcification inhibitor and also is expressed in bone, where it has not-yet well-defined functions. The aim of this study was to investigate the relation of bone densitometry parameters, coronary artery calcification and serum fetuin-A levels.

Material-Methods. Participants were 72 maintenance hemodialysis patients (39 women and 33 men, mean age 54 ± 19 years, on hemodialysis thrice a week) who had radius, hip and spine BMD assessed by dual-energy x-ray absorptiometry and coronary artery calcium score (CACS) measured by electron-beam computed tomography. Coronary artery calcium scores were grouped into Group 1 (CACS=0-99) and Group 2 (CACS \geq 100). The associations between site-specific BMD parameters, CACS and serum fetuin-A levels were studied.

Results. The CACS, the mass and the volume of plaques in right coronary artery (RCA) and left circumflex artery were significantly higher in patients with a T-score below (-2) than above that in the proximal region of the radius. The mass and the volume of plaques in left main coronary artery and in RCA were significantly higher in patients with a T-score below (-2) than above that in the neck region of the femur (hip). The CACS, the mass of plaques in left anterior descending artery, the mass and the volume of plaques in RCA were more likely to be high in patients with a T-score below (-2) than above that in the trochanter region of the femur ($p < 0,05$). Similarly, the mass and the volume of plaques in left main coronary artery

and in RCA were higher in patients with a T-score below (-2) than above that in the lumbar spine ($p < 0.05$). The CACS (328 ± 25 vs 72 ± 6.7 , $p < 0.05$), the mass and the volume of plaques in left main coronary artery (86 ± 25 vs 12 ± 8.3 mm³ and 34 ± 12 vs 4.9 ± 1.6 gr, $p < 0.05$) and right coronary artery (72 ± 18 vs 11 ± 6 mm³ and 33.9 ± 23 vs 26.8 ± 9 gr, $p < 0.05$) are higher in patients with serum fetuin-A levels < 0.6 g/L. Lower T-scores were observed in the proximal region of the radius (-3.4 ± 1.2 vs -1.8 ± 1.4), the trochanter region of the femur (-2.5 ± 1.6 vs -1.3 ± 1.6) and lumbar spine L1-4 (-2.17 ± 1.5 vs -1.3 ± 1.2) in patients with serum fetuin-A levels < 0.6 g/L.

Conclusion. The results of the study demonstrates an association between decreased BMD parameters and increased coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients. Fetuin-A, due to its effects in bone metabolism and vascular calcification, appears to be important in this association.

Key Words: Hemodialysis, vascular calcification, bone mineral density, fetuin-A

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. GİRİŞ	3
2. 2. VASKÜLER KALSİFİKASYONUN KLİNİK SONUÇLARI	3
2. 3. SON DÖNEM BÖBREK HASTALIĞINDA KARDİYO VASKÜLER KALSİFİKASYON VE KARDİYO VASKÜLER MORTALİTE	5
2. 4. VASKÜLER KALSİFİKASYON MEKANİZMALARI	6
2. 5. KALSİYUM VE FOSFORUN VASKÜLER DÜZ KAS HÜCRESİ MİNERALİZASYONUNDAKİ ROLLERİ	8
2. 6. HEMODİYALİZ HASTALARINDA KARDİYO VASKÜLER KALSİFİKASYONLARIN ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY İLE GÖRÜNTÜLENMESİ	10

2. 7.	ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY TEKNİĞİ İLE GÖRÜNTÜLEMENİN KLİNİK UYGULAMALARI	12
2. 8.	HEMODİYALİZ HASTALARINDA KEMİK MİNERAL DENSİTESİ	15
2. 9.	FETUİN-A	16
2. 10.	DİYALİZ HASTALARINDA FETUİN-A EKSİKLİĞİNİN KLİNİK ÖNEMİ	19
3.	HASTALAR VE YÖNTEM	20
3. 1.	HASTALAR	20
3. 2.	LABORATUVAR ÇALIŞMALARI	20
3. 2. 1.	BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR	21
3. 2. 2.	SERUM FETUİN-A DÜZEYİ TAYİNİ	21
3. 2. 3.	ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY TEKNİĞİ İLE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMASI	22

3. 2. 4.	KEMİK MİNERAL DANSİTOMETRİ	22
3. 2. 5.	İSTATİSTİKSEL ANALİZ	23
4.	BULGULAR	24
4. 1.	DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER, SERUM BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ VE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMA	24
4. 2.	KEMİK MİNERAL DANSİTOMETRİ	24
4. 3.	T-SKORLARINA GÖRE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMA BULGULARI	28
4. 3. 1.	RADİUS PROKSİMAL BÖLGE	28
4. 3. 2.	FEMUR BOYUN BÖLGESİ	28
4. 3. 3.	FEMUR TROKANTER BÖLGESİ	28
4. 3. 4.	LOMBER VERTEBRA L1-L4 BÖLGESİ	29

4. 4.	SERUM FETUİN-A DÜZEYLERİ	29
5.	TARTIŞMA	31
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	38
7.	KAYNAKLAR	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ca	Kalsiyum
CHO	Toplam kolesterol düzeyi
DKH	Vasküler düz kas hücresi
DXA	Dual-enerji- x-ışını absorpsiyometri
EBT	Electron beam computed tomography
HDL-C	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
KAKS	Koroner arter kalsifikasyon skoru
KB	Kan basıncı
KMD	Kemik mineral dansitesi
LDL-C	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
MGP	Matriks Gla protein
mM	Mili molar
OPN	Osteoprotegerin
Pit-1	Sodyuma bağımlı fosfor eş-taşıyıcısı
P _i	İnorganik fosfor
PTH	Serum intakt parathormon düzeyi
Runx2	Kemik üst-regülasyon geni
SD	Standart sapma
TG	Trigliserid
TGF- β	Transforming growth factor- β
VKİ	Vücut kitle indeksi

ŞEKİLLER

Şekil	Tanım	Sayfa
1	Vasküler kalsifikasyonun patofizyolojik mekanizmaları	7
2	Vasküler Düz kas hücresi matriksi mineralizasyonu üzerinde artmış Ca ve P düzeylerinin etkisi ile ilişkili öne sürülen model	9
3	Electron beam computerized tomography (EBT) sisteminin şematik görünümü	11
4	EBT görüntülerinin statin tedavisi altında progresyonu	14

TABLÖLAR

Tablo	Tanım	Sayfa
1	Fetuin-A'nın biyolojik özellikleri	17
2	Koroner arter kalsifikasyon skoruna göre hemodiyaliz hasta özellikleri	25
3	Koroner arter kalsiyum skorlarına (KAKS) göre kemik mineral dansitometri parametreleri	26
4	Çalışma hastalarına ait DXA ölçüm sonuçları	27

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Daha önceki çalışmalarda, hemodiyaliz hastalarının genel popülasyona kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük kemik mineral dansitesine sahip olduğu gösterilmiştir (1). Hatta, son dönem böbrek hastasının hemodiyaliz tedavisi altında izlendiği sürenin uzunluğu ile paralel olarak kemik mineral dansitesinde daha belirgin azalmalar saptanmıştır (1). Benzer şekilde genel popülasyona göre diyaliz hastalarında artmış ateroskleroz prevalansı ve insidansı mevcuttur (2).

Yakın zamanda yapılan araştırmalara göre kemik metabolizması anormallikleri ile vaskülopati arasında yakın bir ilişki mevcuttur. Menapoz sonrası dönemde olan kadınlarda aterosklerozun progresyonu ile kemik mineral dansitesinde azalma arasında kuvvetli bir ilişki gösterilmiştir (3). Ek olarak, yaşa göre düzeltilmiş veya kalp yetmezliği kaynaklı mortalite oranları ile kemik mineral dansitesi arasında anlamlı bir korelasyon mevcuttur (4). Bununla birlikte, hemodiyaliz hastalarında kemik mineral dansitesi ve aterosklerozla ilişkisini detaylı olarak inceleyen çalışmaların sayısı da giderek artmaktadır.

Arteriyel kalsifikasyon, birçok görüntüleme tekniği ile non-invazif olarak değerlendirilebilmektedir (5). Electron-beam computed tomography, bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (5). Bu teknikle, incelenen arteriyel yapıdaki kalsifikasyonun miktarı ve progresyonu hakkında yorum yapılabilen ve Agatson skorlama sistemi ile de kalsifiye plak alanı ve yoğunluk katsayısı hesaplanabilmektedir (6).

Fetuin-A, dolaşıma özgü arteriyel kalsifikasyon inhibitörüdür (7). In vitro çalışmalarda fetuin-A'nın kalsiyum-fosfatın hem oluşmasını hem de çökmesini engelleyerek, hidroksi apatit kristalizasyonunu önlediği gösterilmiştir (8). Mekanizmadan bağımsız olarak giderek artan kanıtlar, kronik böbrek yetmezliğine eşlik eden vasküler kalsifikasyonda fetuin-a eksikliğinin önemli bir rol oynadığı yönündedir. Bununla beraber fetuin-A'nın negatif bir akut

faz reaktanı olduğunu ve inflamasyonla birlikte ekspresyonunun azaldığı da ifade edilmektedir.

Literatüre bakıldığında, hemodiyaliz hastalarında aterosklerozun bir belirteci olarak koroner arteriyel sistemdeki kalsifikasyon ile kemik mineral dansitometri parametreleri arasındaki ilişkiyi ve ilişki bulunması halinde patofizyolojiyi açıklayabilecek bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla, bu ilişkiyi incelemek amacıyla Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Ünitesine bağlı Hemodiyaliz Merkezinde düzenli olarak tedavi gören hastalarda:

- 1- Koroner arter kalsifikasyonunun non-invazif olarak electron-beam computed tomography tekniği ile değerlendirilmesi
- 2- Kemik mineral dansitometrisinin (radius distali, femur boyun, femur intertrokanter bölge, lomber vertebra-L1 ve L4 arası) dual enerji X-ışını absorpsiyometri tekniği ile değerlendirilmesi
- 3- Hastalardan elde edilecek kan örneğinden serum fetuin-A düzeyi çalışılması
- 4- Hemoglobin, hematokrit, üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, albumin, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü, düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü, trigliserid ve intakt parathormon düzeylerinin ölçülmesi
- 5- Çalışılan parametreler arasında korelasyonun yanısıra risk grup ile faktörlerinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. GİRİŞ

Kardiyovasküler yapıların patolojik kalsifikasyonu, son dönem böbrek hastalığında yaygın olarak görülmektedir. Biyoapatit şeklinde kalsiyum fosfat çökmesi, kan damarları, myokard dokusu ve kalp kapakçıklarında gözlenebilir. Kalsifiye depozitler, altta yatan patoloji ile ilintili olarak kan damarlarının farklı tabakalarına çökebilirler. İntimal kalsifikasyon aterosklerotik lezyonlarda görülmekte (9) iken Monckeberg'in mediyal sklerozu olarak da adlandırılan mediyal kalsifikasyon ise yaşa, diyabete ve son dönem böbrek hastalığına ikincil olarak ortaya çıkan vasküler sertleşme ve arteriyoskleroza eşlik etmektedir (10). İntimal kalsifikasyon, mediyal kalsifikasyondan bağımsız olarak ortaya çıkabilir. Son dönem böbrek hastalığına ulaşan bireylerde, damarsal yapılarda intimal ve mediyal kalsifikasyon birarada görülmektedir (11).

2.2. VASKÜLER KALSİFİKASYONUN KLİNİK SONUÇLARI

Vasküler kalsifikasyon, yaygınlığına ve yerleşim yerine göre ilerleyici organ disfonksiyonuna neden olabilmektedir. Kalpte, kalp kapakçıklarının kalsifikasyonu neticesinde hem orijinal hem de bioprotez kapaklarda fonksiyon kaybı ortaya çıkabilmektedir (12). Vasküler kalsifikasyon, diyaliz hastalarında oldukça yüksek oranda mortaliteye sahip olan ve nekrotizan deri tutulumu ile karakterize kalsifik üremik arteriyolopatiden sorumlu tutulmaktadır (13). Ek olarak, genetik olarak pirofosfat düzeylerinde azalma sonucu idiyopatik infantil arteriyel kalsifikasyon denen klinik tabloya yol açmakta ve sonuç olarak yenidoğanda ölümle sonuçlanabilen arteriyel kalsifikasyon, fibrozis ve stenoz gelişmektedir (14).

Başlangıçta, yaşlanmaya, son dönem böbrek hastalığına, diyabete ve ateroskleroza eşlik eden vasküler kalsifikasyon selim bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Ancak, electron beam computed tomography gibi vasküler kalsifikasyonu konvansiyonel olarak değerlendirilebilen yeni tekniklerin gelişmesiyle birlikte vasküler kalsifikasyonun yaygınlığı ve riskleri hakkındaki görüşler tersine dönmüştür. Koroner arterlerde kalsifikasyon, aterosklerotik plak yükü (15), artmış miyokard enfarktüsü riski (16), ve plak instabilitesi (17) ile pozitif korelasyona sahiptir. Bu bulgular, vasküler kalsifikasyonun bizzat kendisinde kardiyovasküler hastalığı başlatabileceği veya ilerlemesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu olasılık, son dönem böbrek hastalığına eşlik eden koroner kalsifikasyon konusunda oldukça akla yatkın olarak görünmektedir.

Büyük arterlerin mediya tabakasındaki vasküler kalsifikasyon, damarın sertliğinde de artışa yol açarak damarın kompliyansında azalmaya neden olur. Sonuç olarak arteriyel nabız dalga hızı ve nabız basıncı artar. İlerleyen dönemde kalbin ard yükü artarak sol ventrikül hipertrofisi oluşur. Sol ventrikül hipertrofisi de koroner dolaşımı azaltıcı yönde etki gösterir (18).

Mediyal arteriyel kalsifikasyon, Tip 1 Diyabetes Mellituslu hastalarda koroner arter hastalığı ve gelecek kardiyovasküler olaylarla güçlü bir korelasyon gösterir (19) ve son dönem böbrek hastalıklı bireylerde kardiyovasküler mortalite açısından önemli bir prognostik belirteçtir (20). Bu nedenle, vasküler kalsifikasyonun kardiyovasküler fonksiyon üzerinde önemli bir etkisi vardır.

2. 3. SON DÖNEM BÖBREK HASTALIĞINDA KARDİYOVASKÜLER KALSİFİKASYON VE KARDİYOVASKÜLER MORTALİTE

Son dönem böbrek hastalığına ulaşan bireylerde, ölümlerin yarısından fazlası kardiyovasküler sistem hastalığından köken almaktadır. Erişkin son dönem böbrek hastalarında kardiyovasküler hastalık mortalitesi genel popülasyona kıyasla 20 ile 30 kat daha yüksektir (21). Bu konuda elde edilen son kanıtlara göre bu hasta grubunda artan kardiyovasküler hastalık riski, bir bakıma bu popülasyonun vasküler kalsifikasyon geliştirmeye yatkınlığı ile açıklanabilmektedir. Hiperfosfatemi ve artmış Ca x P iyon çarpımı, vasküler kalsifikasyonu hızlandırmakla kalmayıp, son dönem böbrek hastalıklı bireylerde bütün nedenlere ve kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite ile yakından ilişkilidir (22). Bir saha çalışmasında, Goodman ve arkadaşları (23) vasküler kalsifikasyonun normal popülasyondan dekadlar önce son dönem böbrek hastalıklı genç bireylerde ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Bu grup hastalarda, vasküler kalsifikasyonun progresyonu, serum P düzeyleri, Ca x P iyon çarpımı, ve günlük Ca tüketimi ile pozitif korelasyon göstermiştir (23). Benzer bulgulara, Eifinger ve arkadaşları (24) ile Oh ve arkadaşları (25) da çocukluk çağında son dönem böbrek hastalığına yakalanan genç erişkinlerde rastlamışlardır. Ek olarak, Raggi ve arkadaşları koroner arter kalsifikasyonunun erişkin hemodiyaliz hastalarında yaygın ve ciddi düzeyde olduğunu ve bu hadisenin iskemik kardiyovasküler hastalıkla anlamlı bir şekilde korelasyon gösterdiğini saptamışlardır (26). Son olarak, son dönem böbrek hastalıklı bireylerde kardiyovasküler mortalite için önemli bir belirteç olan arteriyel mediyal kalsifikasyon, artmış serum Ca, P, Ca x P, ve Ca alımı ile yakın ilişki göstermektedir (18).

2. 4. VASKÜLER KALSİFİKASYON MEKANİZMALARI

Vasküler kalsifikasyon, altında çok çeşitli fizyopatolojik mekanizmaların yattığı, aktif olarak kontrol edilen bir olaydır (27). Şekil 1’de gösterildiği üzere farklı mekanizmaların vasküler kalsifikasyonu başlattığı ileri sürülmektedir. İnsanda ve farelerde yapılan çalışmalar, kan damarlarının normal şartlar altında mineralizasyonu inhibe eden pirofosfat ve matriks gla protein gibi maddeler içerdiği ve bu moleküllerin eksikliğinde (inhibisyonun kaybı) vasküler kalsifikasyonun ortaya çıktığı ve mortalitenin arttığı anlaşılmıştır (28):

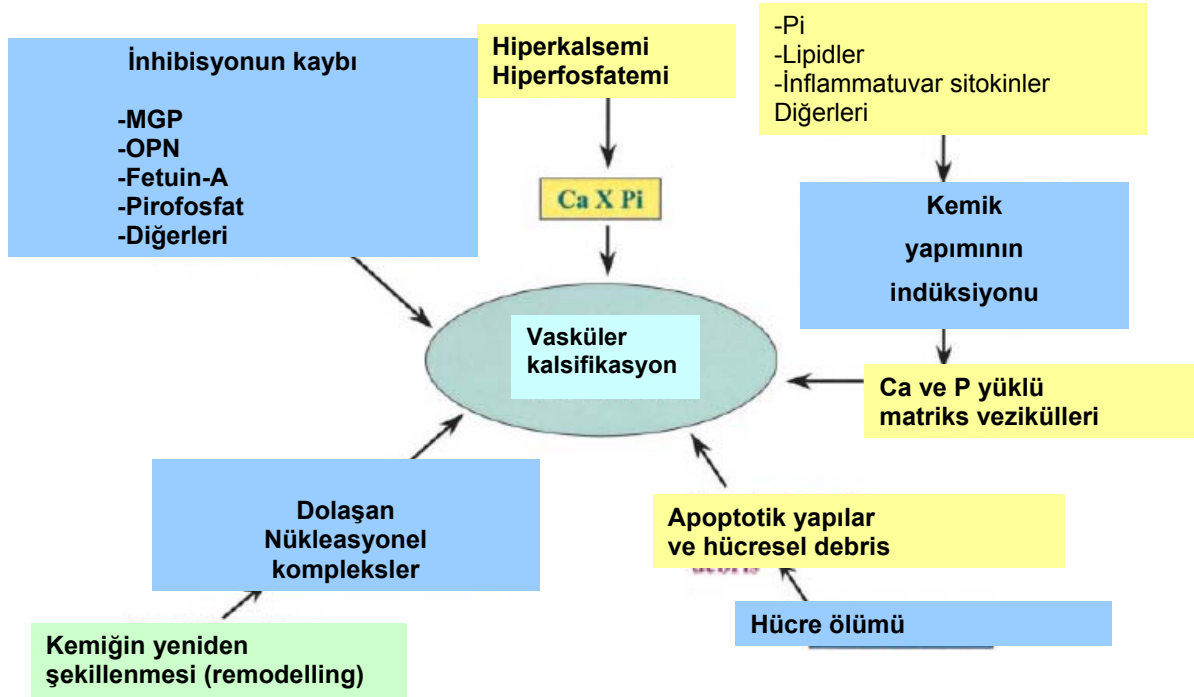
1-Fetuin-A, dolaşımda bulunan ve apatitin oluşmasını engelleyen en önemli proteinlerdendir. Azalmış fetuin-A düzeyleri hemodiyaliz hastalarında artmış kardiyovasküler hastalık mortalitesi ile yakın korelasyon göstermektedir (29).

2-Ayrıca, kalsifiye vasküler lezyonlardaki kemiksi ve kıkırdak yapılar içinde osteopontin (30), osteokalsin (31) ve Kemik Morfogenetik Protein-2’nin (32) varlığının gösterilmesi, vasküler lezyonlarda osteojenik mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir (33). Aslında, vasküler yapılardan elde edilen hücreler, in vitro olarak pek çok değişik şartlar altında, kemik ve kıkırdağa benzer bir fenotipik değişiklik ve kalsifikasyon göstermektedir (34,35).

3-Menapoz sonrası kadınlarda, vasküler kalsifikasyon ve osteoporozu açıklamak adına ileri sürülen bir mekanizma da, kemik yıkımı sonrasında ortaya çıkan ve dolaşıma geçen nükleasyonal komplekslerdir (36,37).

4-Hücre ölümü, fosfolipidden zengin membranöz artık maddeler ve apoptotik yapılar, özellikle ateroskleroz gibi nekroz ve apoptozisin hakim olduğu hastalıklarda apatit çekirdeğin oluşmasına katkıda bulunabilir (38,39).

Şekil 1: Vasküler kalsifikasyonun patofizyolojik mekanizmaları.(Vascular calcification mechanisms, Cecilia M. Giachelli, J Am Soc Nephrol 2004;15: 2959-2964, “Figure 1. Schematic illustrating four, non–mutually exclusive theories for vascular calcification” dan alınmıştır.)



Son olarak, yüksek Ca, P düzeyleri, ve Ca x P iyon çarpımı pasif mekanizmalar olarak adlandırılan termodinamik mekanizmalar yoluyla, apatit nükleasyonuna ve kristal büyümesine katkıda bulunarak, yukarıda bahsedilen mekanizmalardan herhangi birisinin uyardığı vasküler kalsifikasyonu hızlandırabilir. Son zamanlarda araştırmalar, Ca ve P'un vasküler hücreler üzerindeki ilave etkileri ile mineralizasyona eğilim oluşturduğu yönünde kanıtlar sunmaktadır.

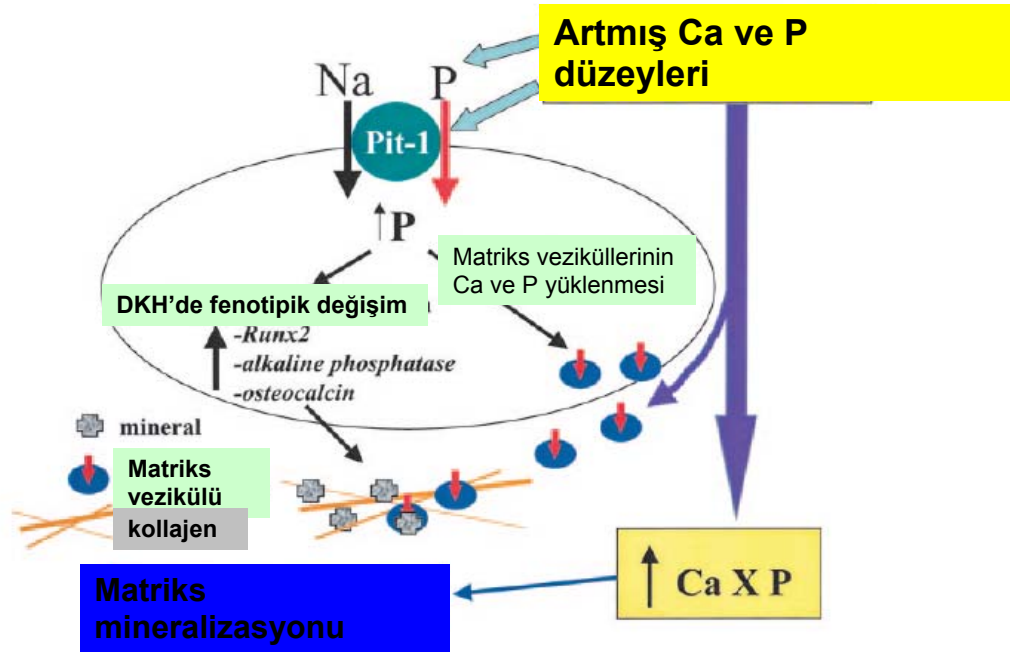
2. 5. KALSİYUM VE FOSFORUN VASKÜLER DÜZ KAS HÜCRESİ MİNERALİZASYONUNDAKİ ROLLERİ

Daha önceden belirtildiği üzere, artmış serum P, Ca düzeyleri, ve artmış Ca yükü, son dönem böbrek hastalıklı bireylerde hem vasküler kalsifikasyon hem de kardiyovasküler mortalite ile korelasyon göstermektedir. Yükselen Ca veya P düzeylerinin direkt olarak hücresel yolla kontrol edilen vasküler kalsifikasyon üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmak üzere vasküler düz kas hücreleri kültür sistemleri kullanılmıştır. Hiperfosfatemide olduğu gibi kültür ortamında inorganik P düzeylerinin artırılması (>2.4 mM), hücrelerin etrafını çeviren ekstrasellüler matriksde apatit depolanmasına neden olmaktadır (40,41). Mineralizasyon süreciyle, hücreler düz kasa özgül gen ekspresyonunun kaybı ve osteokalsin, osteopontin ve Runx2'yi içeren kemiksel farklılaşmayı sağlayan genlerin aktivasyonu ile karakterize fenotipik değişikliğe uğramaktadır. Bu fikri destekleyecek gözlemler, in vivo olarak vasküler kalsifikasyonun insan ve hayvan modellerinde gösterilmiştir (42,43). Artmış P düzeyi ile indüklenen fenotipik değişim süreci ve mineralizasyonun, sodyum bağımlı fosfat taşıyıcısına, Pit-1, bağlı olduğu bu aktivitenin fosfonoforik asit ve Pit-1 specific small interfering RNA ile inhibe edilmesiyle gösterilmiştir (Giachelli ve Li, yayımlanmamış veri).

Benzer şekilde, kültür ortamında artmış Ca düzeyleri (>2.6 mM) de vasküler düz kas hücrelerinde hem mineralizasyonda hem de fenotipik değişimde artışa yol açmaktadır (44). Kalsiyumla indüklenen mineralizasyonun ilerlemesi de sodyum-bağımlı fosfat taşıyıcısına bağlıdır. Artmış serum Ca düzeyleri, hücrelere P alımını akut dönemde arttırmamakla birlikte düz kas hücre kültürlerinin yüksek Ca seviyelerine sürekli maruz kalması, Pit-1 mRNA seviyelerini artırır. Dolayısıyla yüksek Ca düzeyleri vasküler düz kas hücrelerinin P'a olan hassasiyetini ayarlayabilir. Proudfoot ve arkadaşlarının çalışmaları bu yorumları doğrulamıştır (45). Bu çalışmalarda, yüksek Ca düzeyleri (1.8-5.0 mM) in vitro olarak insan düz kas hücre

kalsifikasyonunu uyardığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, yüksek Ca düzeyleri insan düz kas hücrelerinden mineralizasyon ile ilişkili matriks veziküllerinin salınımına neden olmakta ve diltiazem and BAPTA gibi hücre içi Ca akışı inhibitörleri de düz kas mineralizasyonunu engellemektedirler. Hücre içi Ca düzeyinin yükselmesi, alkalen fosfataz aktivitesinde değişmeye, matriks Gla protein (MGP)'de azalmaya ve fetuin düzeylerinde artmaya neden olur. Bütün bu açıklamalar ışığında, artan Ca düzeyleri, basitçe Ca x P iyon çarpımını arttırmanın ötesinde, pro-mineralizan etkilere sahiptir. Şekil 2'de artmış serum Ca and P düzeylerinin vasküler düz kas kalsifikasyonu üzerindeki olası etkileri gösterilmiştir.

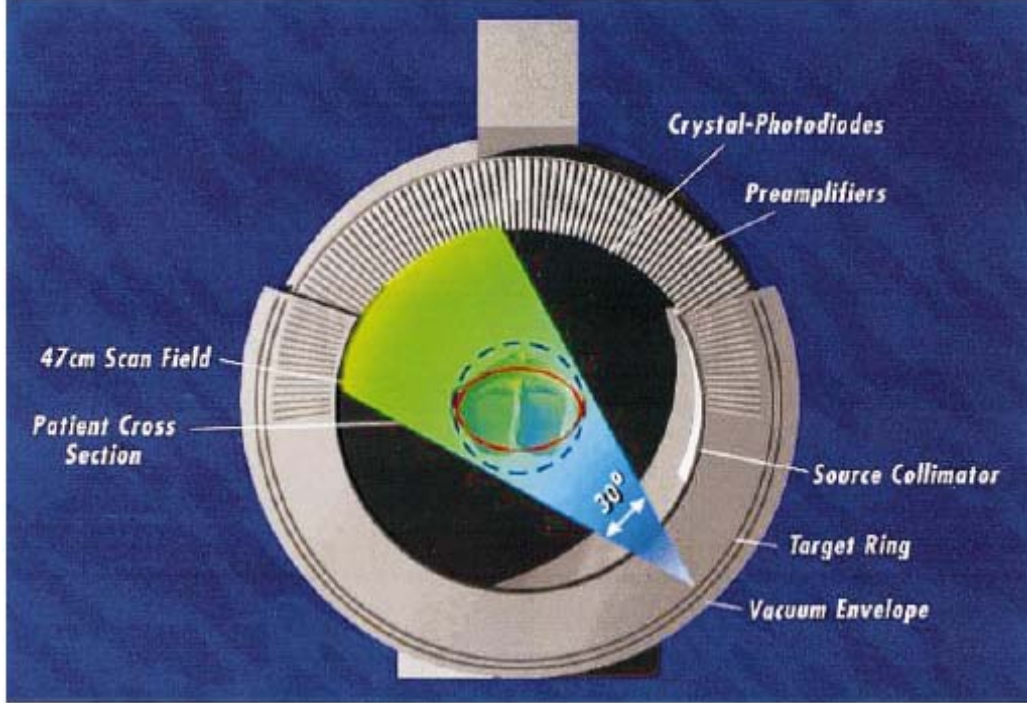
Şekil 2: Vasküler Düz kas hücresi (DKH) matriksi mineralizasyonu üzerinde artmış Ca ve P düzeylerinin etkisi ile ilişkili öne sürülen model. (Vascular calcification mechanisms, Cecilia M. Giachelli, J Am Soc Nephrol 2004;15: 2959-2964, "Figure 2. Proposed model for the effects of elevated Ca and P on vascular smooth muscle cell matrix mineralization" dan alınmıştır.)



2.6 HEMODİYALİZ HASTALARINDA KARDİYOVASKÜLER KALSİFİKASYONLARIN ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY İLE GÖRÜNTÜLENMESİ

Electron beam computed tomography (EBT), yakın zamanda geliştirilen bir radyolojik teknik olup, kardiyovasküler kalsifikasyonları hem görüntüleyebilmekte hem de miktarsal yorum yapılmasına olanak vermektedir (46). Bu yöntem, spiral bilgisayarlı tomografi teknolojisine kıyasla daha üst düzeyde rezolüsyona sahip olup, dördüncü nesil bilgisayarlı tomografi teknolojisi olarak adlandırılmaktadır. EBT dizaynında, bir X-ışını fanı hastanın vücudu etrafında dönerken (Şekil 3), konvansiyonel spiral bilgisayarlı tomografide ise X-ışını kaynağı ile bir detektörden ibaret mekanik bir aksam insan vücudu etrafında dönmektedir. Dolayısıyla, yavaş mekanik teknolojinin handikapı olan kalp görüntüsünün hareket ve netlik problemi EBT dizaynında daha sorunsuz bir hale ulaşmaktadır.

Şekil 3: Electron beam computerized tomography (EBT) sisteminin şematik görünümü (“Imaging of Cardiovascular Calcifications With Electron Beam Tomography in Hemodialysis Patients, Raggi P, Figure 1” den alınmıştır.).



EBT görüntüleme kalsifiye aterosklerotik plaklar ve kalp kapakları için oldukça hassas bir tekniktir. Aterosklerotik plağın kalsifiye kısmı toplam plak hacminin sadece %20'sini temsil etmektedir. Dolayısıyla, arteriyel kalsifikasyonun olmaması tamamen ateroskleroz olasılığını ortadan kaldırmamaktadır. Aslında, tıkaçıcı koroner arter lezyonlarının %2-4'lük kısmında kalsifikasyon gözlenmeyebilir ve bu bulgu EBT görüntülemeye gözden kaçabilir (47). Buna rağmen, EBT tekniği halen diğer görüntüleme teknolojilerine kıyasla daha iyi yol göstermektedir (48).

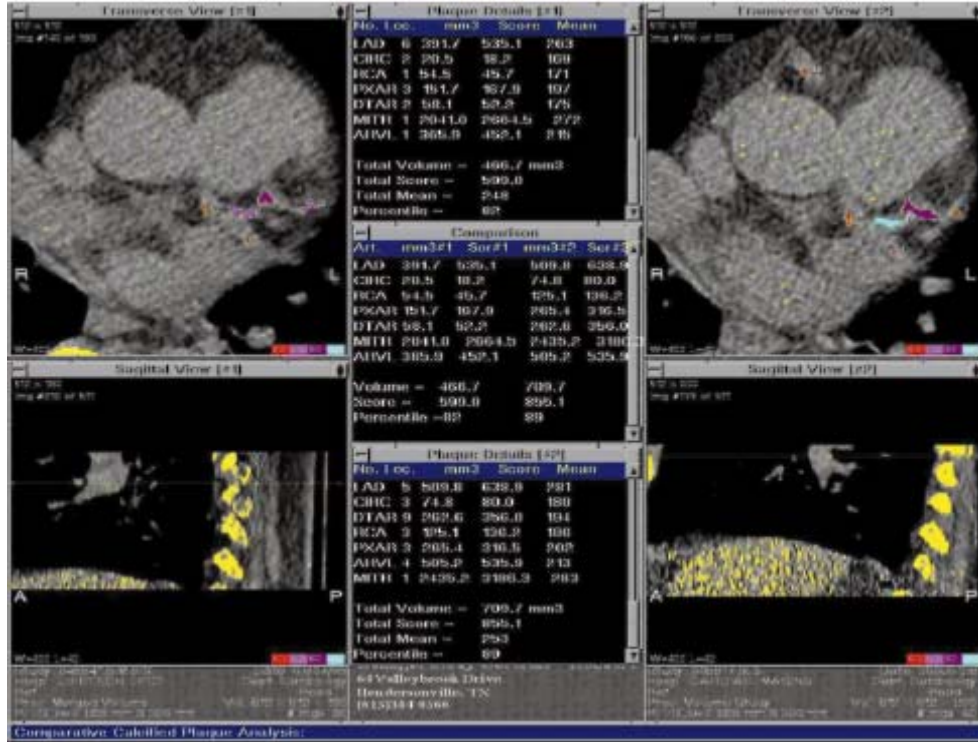
2. 7. ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY TEKNİĞİ İLE GÖRÜNTÜLEMENİN KLİNİK UYGULAMALARI

Koroner kalsifikasyonun yaygınlığı, kalsiyum skorlama ile değerlendirilmekte ve bu ölçüm, otopsi çalışmaları sırasında gözlenen toplam plak yükü ile yüksek oranda korelasyon göstermektedir (15). Kalsiyum skorunun değeri ile altta yatan tıkaçıcı koroner hastalık ihtimali arasında iyi bir ilişki mevcuttur ve bu konuda yönlendirici kılavuzlar yakın zamanda yayımlanmıştır (49). Çok düşük EBT koroner kalsiyum skorları (0-10 arası), düşük ihtimalli tıkaçıcı koroner arter hastalığını düşündürmektedir. Kalsiyum skoru 11-100 arası ve 101-400 arası değerler sırasıyla hafif ve orta derecede aterosklerotik plak varlığı ile uyumludur. Tıkaçıcı koroner arter hastalığı olasılığı kalsiyum skorundaki artışa paralellik göstermektedir. Kalsiyum skoru 400 ve üzerinde olan hastalar asemptomatik olsalar bile yaygın ve ileri derecede aterosklerotik hastalık açısından şüphe edilmelidirler. Bu hastalarda yoğun bir şekilde risk faktörü modifikasyonu yapılmalı ve iskemik kalp hastalığı açısından ileri inceleme göz önüne alınmalıdır. Asemptomatik hastalarda koroner kalsifikasyon varlığı kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından güçlü bir uyarıcıdır. Detrano ve arkadaşları (50) 491 hastada yaptıkları izlem çalışmasında hastalar hem koroner anjiyografi hem de EBT görüntüleme ile incelenmişlerdir. Kalsiyum skoru medyan değerinin üzerinde olan (medyan: 75.3) hastalar, medyan değerinin altında olan hastalara göre altı kat daha fazla miyokard infarktüsü veya kalp kökenli ölüm riskine sahip olmuşlardır. Yaş, cinsiyet, anjiyografik olarak gösterilen hastalıklı damar sayısı ve kalsiyum skorunun logaritmasını içeren lojistik regresyon analizlerinde, sadece kalsiyum skorunun logaritması kardiyak olay için bağımsız öngörücü faktör olmuştur. Benzer sonuçlara, Arad ve arkadaşları tarafından daha büyük bir kohortta (1173 hasta, ortalama 19 ay takip süresi) da ulaşılmıştır (51). Daha yakın tarihli bir çalışmada, Raggi ve arkadaşları mutlak kalsiyum skorunun yanısıra yaşa ve cinsiyete göre

beklenen kalsiyum skorundan daha yüksek değerlerin kısa sürede yaşanabilecek kardiyak olay ve ölüm için güçlü bir öngörücü olduğunu belirtmiştir (52).

Kardiyovasküler olaylar diyaliz hastalarında en başta gelen ölüm nedeni olup, ölümlerin yaklaşık olarak yarısından sorumlu tutulmaktadır. Bunun yanısıra, serum fosfor düzeylerinde ve Ca x P iyon çarpımındaki artışların diyaliz hastalarında yaygın kardiyovasküler kalsifikasyon süreci ile ve artmış morbidite ve mortalite riski ile birliktelik gösterdiği bilinmektedir (53). Dolayısıyla, EBT son dönem böbrek hastalıklı bireylerde altta yatan aterosklerotik hastalığın yaygınlığını göstermede ve eşlik edebilecek kardiyovasküler olay riskini tahmin etmede yararlı bir tetkik olabilir. Diyaliz hastalarında istenmeyen yumuşak doku kalsifikasyonlarını önlemek ve azaltmak üzere Ca x P iyon çarpımının sıkı kontrolü önerildiği için tedavinin etkinliğini göstermek adına EBT görüntüleme diyaliz hastalarında kullanılmaktadır. Aslında, seri EBT görüntüleme hali hazırda lipid düşürücü tedaviye alınan ve koroner kalsifik depozitleri olan hastalarda klinik takip için kullanılmıştır (54). İlk yayımlanan çalışmada, 149 tane asemptomatik koroner kalsifikasyonları olan hastada 1 yıllık gözlem süresince seri EBT incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Statin tedavisi ile vasküler kalsifikasyonun progresyonu yavaşlatılmış olup, kalsifiye koroner plak hacminde regresyon gözlenmiştir (şekil 4) . Aksine, tedavi almayan hastalarda ise progresyon gözlenmiştir.

Şekil 4: EBT görüntülerinin statin tedavisi altında progresyonu: Sol üst kadranda ilk ölçülen KAKS değerinin 466'dan 709'a çıkışı (sağ üst kadrant) ile karakterize sol ön inen koroner arter EBT görüntülemesi ("Imaging of Cardiovascular Calcifications with Electron Beam Tomography in Hemodialysis Patients, Raggi P, Figure 2" den alınmıştır.)



2. 8. HEMODİYALİZ HASTALARINDA KEMİK MİNERAL DENSİTESİ

Kemik mineral dansitesi (KMD), en sık olarak dual-enerji- x-ışını absorpsiyometri (DXA) yöntemi ile ölçülmektedir. DXA ölçümler ile kemiğin mineral içeriği/dansitesi hızlı, kesin ve konvansiyonel olarak ölçülebilmekte ve osteopeni/osteoporoz değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Sıklıkla ölçümler proksimal femur, radius ve lateral veya ön-arka vertebralardan yapılmaktadır. Ölçüm yapılan bölgeler arasında KMD değerleri farklılık göstermektedir ve risk faktörleri değerlendirilirken mutlaka hangi bölgeden ölçüm yapılırsa o bölgenin standart değerleri göz önüne alınmalıdır. KMD ölçümleri genel popülasyonda kırık riskinin ön görülmesinde güçlü bir parametre olup, tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır (55).

Azalmış KMD, diyaliz hastalarında sık olarak görülmektedir (56). Diyaliz hastaları, genel popülasyona kıyasla daha yüksek oranda kalça kırığı geliştirme şansına sahiptir (57). KMD, Evre 3 ve 4 kronik böbrek hastalıklı bireylerde yüksek döngülü kemik hastalığının biyo-belirteçleriyle korelasyon göstermektedir. Bütün bu bilgilere rağmen, DXA yöntemi kemik yıkımı veya kalitesi hakkında özel bir bilgi vermediği gibi kemik histolojisi ile iyi derecede korelasyon göstermemektedir.

Birçok çalışmada KMD ile kırıklar arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (58). Buna rağmen bazı çalışmalara göre vertebral veya fragilite kırıklı kronik böbrek hastaları ile kırığı olmayan kronik böbrek hastaları benzer KMD değerlerine sahiptirler (59). KMD ölçüm yeri ve tekniği bu çelişkiden sorumlu tutulmaktadır. Spinal KMD ölçümleri kronik böbrek hastalıklı bireylerde sıkça gözlenen aort kalsifikasyonundan etkilenebilir. Ek olarak, trabeküler kemik sklerozu da vertebra KMD'sinde artışa yol açabilmektedir.

Seri olarak yapılan KMD ölçümlerinin analiziyle hastanın iskeletsel demineralizasyonunun seyri hakkında bilgi sahibi olunabilir. Ancak bu bilgi, teşhisin

koyulmasında ve tedavinin şekillendirilmesi sırasında klinik değerlendirme, kemik ve mineral biyo-belirteçler ve mümkünse kemik histolojisi ile birlikte değerlendirilmelidir.

2. 9. FETUIN-A

Fetuin-A, hepatositler tarafından salgılanan, moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 60 kDa olan ve dolaşımında konsantrasyonu (0.4–1.0 g/l)'ye kadar çıkabilen protein yapıda bir moleküldür (60). Yaklaşık olarak 25 yıl kadar önce, Lebreton ve arkadaşları düşük fetuin-A düzeyleri ile akut inflamasyon arasındaki ilişkiyi göstererek, bu proteini negatif akut faz reaktanı olarak tanımlamışlardır (61). Diğer biyolojik etkilerinden bahsetmek gerekirse, fetuin-A, transforming growth factor- β antagonisti olarak etki göstermekte ve hücrelerde insulin reseptör tirozin kinaz aktivitesini etkilemektedir (62).

DeneySEL verilere göre etidronat verilen sıçanlarda fetuin-A, Ca-P mineralleri ile yüksek moleküler ağırlıklı (18%), proteinlerle (80%) ve matriks GLA proteiniyle (MGP) (2%) kompleksler oluşturmaktadır (63). Bu sonuç, tüm detaylarıyla henüz anlaşılacakla beraber, fetuin-A'nın küçük Ca-P çökeltilerinin yumuşak dokulardan klirensinde ve istenmeyen kalsifikasyonların önlenmesinde bir role sahip olduğunu düşündürebilir. Ancak, unutulmaması gereken bir nokta henüz bu şekilde yüksek molekül ağırlıklı fetuin-A içeren komplekslerin klinik olarak insana ait verisinin olmamasıdır. Fetuin-A'nın eldeki veriler ışığında bilinen fonksiyonları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Fetuin-A'nın biyolojik özellikleri

Kinetik (fizikokimyasal) olarak CaxP çökmesinin inhibisyonu
Kalsiprotein partiküllerinin oluşmasıyla kalsiyum fosfat kristallerinin stabilizasyonu
Yüksek molekül ağırlıklı kalsiyum, fosfat, fetuin-A ve MGP kompleksinin oluşumu
Salgılanan matriks veziküllerinin bağlanması
Negatif akut faz reaktanı olarak regülasyonu
Çözünür TGF- β tip 2 reseptörüne etki ederek TGF- β inhibisyonu
İnsülinle indüklenen insülin reseptör otofosforilasyonunu ve tirozin kinaz aktivitesini inhibe ederek insülin hassasiyetinin artırılması

MGP, matriks G1a protein; TGF- β , transforming growth factor- β .

Fetuin-A geninin farelerde delesyonu (fetuin-A^{-/-}) ekstraosseöz kalsifikasyona yol açarken, kalsifikasyonun yoğunluğu hayvanların genetik yapısıyla yakın ilişki göstermektedir (64). Fetuin-A^{-/-} farelerde C57Bl/6 genotipi, kalsifikasyona bağıl olarak dirençli olup, dokularda Ca-P çökmesi için vitamin D tedavisi gibi ek uyaranlara gereksinim duymaktadır (64). Fetuin-A^{-/-} farelerde kalsifikasyona meyil yaratan DBA/2 genotipi, kendiliğinden ciddi ve ilerleyici vasıfta yumuşak doku ve organ kalsifikasyonlarına neden olmakta ve sonuç olarak da intratübüler obstrüksiyon ve ikincil hiperparatiroidizme bağıl olarak böbrek yetmezliğine neden olmaktadır (64). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, üremi, mineral yükü ve kalsifikasyon inhibitör eksiklikleri C57BL/6 genotipli fetuin-A^{-/-} farelerde araştırılmıştır (65). Bu çalışmalarda, göreceli olarak kalsifikasyona dirençli olan bu hayvanlarda üremi ve P yükünün ne ölçüde ekstraosseöz kalsifikasyonları indüklediği sorusuna cevap aranmaya çalışılmıştır. Toplamda 8 grup fare çalışılmıştır: Doğal ve fetuin-A^{-/-} fareler

, böbrek yetmezliği yok veya oluşturulmuş (5/6-nefrektomi ile oluşturulmuş) halde, fosfor diyeti normal veya kısıtlanmış ortamlarda çalışmaya alınmışlardır. Böbrek yetmezliği sürecinde ve yüksek P diyeti altında izlenen fareler, çalışmanın dikkat çekici sonuçlarına katkıda bulunmuşlardır. Bu tip uygulamalara maruz bırakılan doğal tip (wild-type) farelerde, serum Ca x P çarpımı $10 \text{ mmol}^2/\text{l}^2$ değerinin üzerine çıkmasına rağmen, böbrek dışında doku kalsifikasyonu gözlenmemiştir. Bununla birlikte, daha düşük Ca x P çarpım değerlerine rağmen ($<6 \text{ mmol}^2/\text{l}^2$) fetuin-A -/- farelerde miyokarda, akciğerlerde ve kalp kapaklarında anlamlı derecede kalsifikasyonlar gelişmiştir. Bunun anlamı, ciddi kalsifikasyon inhibitör eksikliklerinde Ca ve P hızlı bir şekilde dokulara çöküp, depolanması ve bunun sonucu olarak da serum Ca ve P konsantrasyonlarında yükselme saptanamamasıdır. Dolayısıyla, bu şartlar altında serum Ca ve P düzeyleri yanıltıcı olabilmektedir.

Bir diğer önemli konu, vasküler kalsifikasyonun başlaması ve ilerlemesinde P ile indüklenen osteojenik farklılaşmadır. Bu kavram Giachelli ve arkadaşları tarafından vasküler düz kas hücre kültürü çalışmaları sırasında ortaya atılmıştır. Bu çalışmalarda, hücre dışı P konsantrasyonundaki artışa eşlik eden hücre içi P konsantrasyonu artışıyla beraber vasküler düz kas hücrelerinde osteoblast hücrelerine benzer bir hücreye fenotipik bir değişim gösterilmiştir (66). Böylece, P ile uyarılan hücreler matriks vezikülleri salgılayabilen ve alkalin fosfataz, osteopontin ve osteokalsin gibi kemik proteinlerini üretebilen bir hale gelirler. Yakın zamanda Reynolds ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda Ca ve P'a maruz kalma, vasküler düz kas hücrelerinde osteoblast benzeri fenotipin ortaya çıkmasını kolaylaştırmıştır (67). İlginç olarak, insan serumunu içeren kültür ortamında, salınan matriks veziküllerinin serum kökenli fetuin-A içerdiği, bununda küçük presipitasyon matriksleriyle fetuin-A'nın süratle etkileştiği sonucunu doğurduğu saptanmıştır (67). Bu bulgu fetuin-A'nın da vasküler düz kas hücrelerine girebileceğini düşündürse de şu anda elde bunu destekleyecek bir kanıt bulunmamaktadır.

2. 10. DİYALİZ HASTALARINDA FETUİN-A EKSİKLİĞİNİN KLİNİK ÖNEMİ

Üçyüz oniki tane hemodiyaliz hastasını içeren yakın tarihli kesitsel bir çalışmada (29), serum fetuin-A düzeyleri hemodiyaliz süresi açısından uzun ya da kısa dönemli hastalarda, normal renal fonksiyona sahip kontrol bireylere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu kohorttan seçilen diyaliz hastalarından ve kalsifilaksi geçiren hastalardan elde edilen serumlar ex-vivo assay'de Ca-P kristal oluşumunu önlemede normal seruma göre daha az etkili bulunmuş olup, saflaştırılmış fetuin-A ilavesini takiben bu nisbi yetersizlik tersine çevrilmiştir (29).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3. 1. HASTALAR

Bu kesitsel çalışmaya, tamamı haftada 3 defa hemodiyaliz tedavisine girmekte olan 72 tane son dönem böbrek hastası (38 erkek ve 34 kadın, ortalama yaş: 50.4±13.2 yıl, ortalama hemodiyaliz süresi: 48±12 ay) dahil edilmiştir. Hastaların hepsi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Ünitesine bağlı olarak hizmet veren Hemodiyaliz Merkezinde düzenli tedavi görmektedirler. Son dönem böbrek hastalığının etyolojisi, 22 hastada kronik glomerülonefrit, 17 hastada nefroskleroz, 11 hastada kronik pyelonefrit, 7 hastada diyabetik nefropati ve 6 hastada polikistik böbrek hastalığı olup, 9 hastada ise son dönem böbrek hastalığının nedeni bilinmemektedir. Hastalar, F6HPS ve F7HPS polisülfon diyalizörlerle (Fresenius AG, Bad Homburg, Almanya) haftada 3 defa 4'er saatlik konvansiyonel hemodiyalize alınmaktadırlar. Hemodiyaliz işlemi bikarbonatlı diyalizatla gerçekleştirilmekte ve standart antikoagülasyon için konvansiyonel heparin ya da düşük molekül ağırlıklı heparin kullanılmaktadır. Hemodiyaliz işlemi süresince ortalama kan akım hızı 250 ml/dakikadır (aralık: 200-280 ml/dakika). Diyalizat sıvı içeriği ise sodyum 140 mEq/L, potasyum 1-3 mEq/L, kalsiyum 3 mEq/L, ve bikarbonat 33 mEq/L'den ibarettir.

Hastalarda kuru ağırlığın optimal olması, hemodiyaliz tedavisi ile 2 diyaliz seansı arasında hastaların ortopne, dispne ve ödem bulunmaması ile sağlanmıştır. Üre (Kt/V) değerleri Daugirdas'ın ikinci jenerasyon formülüne göre hesaplanmıştır (68). Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığına bağlı olarak çalışan Tıbbi ve Cerrahi Araştırmalar Etik Kurulundan gerekli izin alınmıştır (HEK 06/174-47 Karar Nolu). Çalışma öncesinde bütün hastalar aydınlatılmış onam formunu okuyup, imzalamışlardır.

3. 2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

3. 2. 1. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

Venöz kan örnekleri bütün hastalardan bir gecelik açlığı takiben alınmıştır. Kan örneği, hastaların programlanmış hemodiyaliz seansının hemen öncesinde direkt olarak arteriyovenöz fistül üzerinden alınmıştır. Biyokimyasal çalışmaların hepsi Hacettepe Üniversitesi 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 kinetik ultraviolet assay (Roche, Hitachi system, Indianapolis, IN, Amerika Birleşik Devletleri) ile çalışılmıştır. Plazma glukoz konsantrasyonu, glukoz oksidaz metodu (Boehringer–Mannheim, Mannheim, Almanya) ile tayin edilmiştir. Serum trigliserid (TG) ve toplam kolesterol düzeyleri (CHO) de ticari kolorometrik assay metodu ile (GPO-PAP and CHODPAP kitleri, Boehringer–Mannheim kitleri, Almanya) ölçülmüştür. Plazma HDL kolesterol (HDL-C) düzeyi ise method of precipitation with fosfotungustik asit ile çökme metodu ile çalışılmış ve LDL kolesterol (LDL-C) düzeyi ise Friedewald formülünden hesaplanmıştır ($LDL-C = CHO - TG/5 - HDL-C$).

3. 2. 2. SERUM FETUİN-A DÜZEYİ TAYİNİ

Serum fetuin-A düzeyi, enzyme-linked immunosorbent assay kiti (ELISA) (Biovendor Laboratory Medicine, Inc., Modrice, Çek Cumhuriyeti) ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesine bağlı olarak hizmet veren Hematoloji Laboratuvarında ölçülmüştür. 30 tane, çalışma kohortu ile aynı yaş grubundaki sağlıklı kontrol bireylerde serum fetuin-A değerleri 0.92 ± 0.10 g/L olarak ölçülmüştür. Intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları sırasıyla % 4.8 ve % 7.4'dür.

3. 2. 3. ELECTRON BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY TEKNİĞİ İLE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMASI

Bütün EBT görüntülemeleri 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'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 matrisinde %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. 2. 4. KEMİK MİNERAL DENSİTOMETRİ

Kemik mineral dansitometri çalışması, dual-enerji X-ışını absorpsiyometri yöntemi ile (Hologic QDR-2000, Waltham, MA, USA) ile radyus proksimali, anterior posterior lumbal vertebra ve femur bölgesinde çalışılmıştır.

3. 2. 5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızda, sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların saptanmasında Mann-Whitney U-testi veya Student T-testi kullanılmıştır. Korelasyonların değerlendirilmesinde Spearman testinden yararlanılmıştır. Değerlendirme esnasında 0.05'in altında olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bütün istatistiksel incelemeler SPSS for Windows (10.0, SPSS Company, Illinois, USA) istatistik programı yardımıyla yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER, SERUM BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ VE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMA

Çalışmaya katılan hastalara ait demografik özellikler ve serum biyokimyasal parametreler Tablo 2’de gösterilmiştir. Bu çalışmada ortalama KAKS 229 ± 154 olarak saptanmıştır. Daha sonra hastalar KAKS’a göre düşük kalsifikasyon skorlu hastalar ($KAKS < 100$, Grup 1), ve yüksek kalsiyum skorlu ($KAKS \geq 100$, Grup 2) hastalar olmak üzere 2 gruba ayrılmışlardır. Grup 1 hastaları, Grup 2’ye göre daha genç hastalardan oluşmaktadır (Tablo 2). Bunun dışında diğer demografik özellikler ve serum biyokimyasal parametreleri açısından her 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Kemik mineral dansitometri parametreleri her 2 grupta benzerdir (Tablo 3).

4.2. KEMİK MİNERAL DANSİTOMETRİ

Çalışma hastalarının kemik mineral dansitometri ölçümlerine ait bulgular Tablo 4’de gösterilmiştir. T skoru -2.0’nin altında olan bireyler, radius ölçümlerine göre % 61.2, femur boyun ölçümlerine göre % 67.2, femur trokanter bölgesine göre % 63.3 ve lomber 1-4 vertebra ölçümlerine göre % 50 olarak bulunmuştur. Normal T- skorları radius ölçümlerine göre % 17.2, femur boyun ölçümlerine göre % 24.2, femur trokanter bölgesine göre % 21.5 ve lomber 1-4 vertebra ölçümlerine göre % 32 olarak bulunmuştur.

Tablo 2: Koroner arter kalsifikasyon skoruna göre hemodiyaliz hasta özellikleri

Parametre	Tüm popülasyon n=72	KAKS* Grup 1 n=40	KAKS Grup 2 n=32	P değeri
Yaş, yıl	50.4±13.2	42.8±10.4	57.2±13.4	<0.001
Erkek Sayı (%)	33 (%46)	19 (%47)	14 (%44)	0.889
VKİ(kg/m²)**	21.4±3.2	22.5±2.2	21.8±2.7	0.664
Diyaliz süresi (ay)	48±12	50±13	49±9	0.993
Ca, mg/dl	9.4±0.6	9.3±0.6	9.4±0.8	0.775
P, mg/dl	4.3±1.7	4.3±1.6	4.4±1.1	0.258
Ca x P mg²/dl²	43.7±9	44±8	42±8	0.324
PTH,† pg/ml	229±154	217±145	251±178	0.457
Diyabet,n(%)	7 (%9.7)	4 (%10)	3 (%9.3)	0.676
Sigara tüketimi,n(%)	15 (%21)	9 (%22.5)	6 (%18.8)	0.340
KB†† yüksekliği,n(%)	39 (%54.2)	20 (%50)	19 (%59)	0.556
Dislipidemi,n(%)	28 (%39)	14 (%35)	14 (%43)	0.320
Kt/V	1.34±0.13	1.39±0.04	1.30±0.06	0.760

*KAKS, Koroner arter kalsiyum skorlama; ** VKİ, Vücut kitle indeksi; † serum intakt parathormon düzeyi; †† Kan basıncı.

Tablo 3: Koroner arter kalsiyum skorlarına (KAKS) göre kemik mineral dansitometri parametreleri†

	GRUP 1 KAKS<100	GRUP 2 KAKS≥100	GRUP 1 KAKS<100	GRUP 2 KAKS≥100
Parametre	KMD* (g/cm²) Ortalama±SD**	KMD* (g/cm²) Ortalama±SD**	T-SKORU Ortalama±SD	T-SKORU Ortalama±SD
Radius bölgesi	0.55±0.13	0.56±0.11	-3.75±2.58	-3.54±1.79
Femur boyun bölgesi	0.63±0.13	0.61±0.14	-2.89±1.34	-3.12±1.34
Femur trokanter bölgesi	0.53±0.14	0.50±0.14	-2.05±1.53	-2.65±1.31
Lomber vertebra L1-4 bölgesi	0.92±0.20	0.87±0.23	-1.29±1.83	-1.72±1.70

† Grup 1 ve Grup 2 arasında, kemik mineral dansitesi ve T-skorumları arasında istatistiksel fark yoktur.

* KMD, Kemik mineral dansitesi; ** SD, standart deviasyon (sapma)

Tablo 4: Çalışma hastalarına ait DXA ölçüm sonuçları

Parametre	KMD* (g/cm²) Ortalama±SD**	T-SKORU Ortalama±SD
Radius bölgesi	0.56±0.13	-3.67±2.21
Femur boyun bölgesi	0.62±0.13	-2.94±1.23
Femur Trokanter bölgesi	0.52±0.13	-2.35±1.35
Lomber vertebra L1-4 bölgesi	0.91±0.20	-1.48±1.84

* KMD, Kemik mineral dansitesi; ** SD, standart deviasyon (sapma)

4.3. T-SKORLARINA GÖRE KORONER ARTER KALSİYUM SKORLAMA BULGULARI

4.3.1. RADIUS PROKSİMAL BÖLGE

Radius proksimal bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değerin üzerinde olan bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek KAKS (418,2±211,4 ve 132,5±119,4) ile sağ koroner arterde (156±91 ve 89±28,5 mm³ ile 33,9±23 ve 26,8±12,9 gr, sırasıyla) ve sol sirkümfleks arterde (91,7±56 ve 48,1±26,8 mm³ ile 27±14,5 ve 14±5,9 gr, sırasıyla) daha fazla hacim ve kitlede plaklara sahiptir.

4.3.2. FEMUR BOYUN BÖLGESİ

Femur boyun bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değerin üzerinde olan bireylere göre hem sol ana koroner arterde (190±61 ve 114±38,2 mm³ ile 35,7±22 vs 29,6±8 gr, sırasıyla) hem de sağ koroner arterde (146±64,3 ve 78,4±41,6 mm³ ile 25±12 ve 18,2±9 gr, sırasıyla) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla hacim ve kitlede plaklara sahiptir.

4.3.3. FEMUR TROKANTER BÖLGESİ

Femur trokanter bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değerin üzerinde olan bireylere göre daha yüksek KAKS değerlerine (414,6±219,4 ve 355,2±142, p<0.05) ve sol ön inen koroner arterde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla kitlede plaklara sahiptir (36,2±11 gr ve 23,2±14). Sağ koroner arterdeki plakların kitlesi ve hacmi bu bölgede T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireylerde, T-skoru bu değerin üzerinde olan

bireylere göre daha yüksektir (165±99,3 ve 68,5±34 mm³ ile 28,7 ±15 vs 11,5±6 gr, sırasıyla, p<0.05)

4.3.4. LOMBER VERTEBRA L1-L4 BÖLGESİ

Lomber vertebra L1-L4 bölgesinde T-skoru (-2.0)'nin altında olan bireyler, T-skoru bu değerin üzerinde olan bireylere göre hem sol ana koroner arterde (17,5±9,7 ve 14,3±4 mm³ ile 3,7±2 ve 2,5±1,6 gr, sırasıyla) hem de sağ koroner arterde (178,2±104 vs 90±47,9 mm³ and 31,2±16 vs 14,8±7,7 gr, sırasıyla) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla kitle ve hacimde plaklara sahiptir.

4.4. SERUM FETUİN-A DÜZEYLERİ

Çalışma grubunda ölçülen ortalama serum fetuin-A konsantrasyonu, çalışma kohortu ile benzer yaş grubundaki sağlıklı kontrol bireylere ait (n=30) serum fetuin-A değerlerine göre düşük olarak ölçülmüştür (0.68±0.22 ve 0.92±0.10 g/L, p<0.05).

Serum fetuin-A düzeyleri, tüm çalışma grubuna ait mediyan serum fetuin-A konsantrasyon değeri olan 0.6 g/L'den daha düşük olan hastalarda KAKS değeri, serum fetuin-A konsantrasyonu >0.6 g/L olanlara göre daha yüksektir (328±25 ve 72±6.7, p<0.05). Benzer şekilde serum fetuin-A konsantrasyonu <0.6 g/L olan hastaların istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sol ana koroner arterlerinde (86±25 ve 12±8.3 mm³ ile 34±12 ve 4.9±1.6 gr) ve sağ koroner arterlerinde (72±18 ve 11±6 mm³ ile 33.9±23 ve 26.8±9 gr) daha fazla hacim ve kitlede plak bulunmaktadır. Ek olarak serum fetuin-A düzeyleri ile KAKS skoru (r=-0.88, p<0.001) ve sol ana koroner arter (r=-0.638, p<0.001, r=-0.636, p<0.001), sol ön inen koroner arter (r=-0.793, p<0.001, r=-0.809, p<0.001), sağ koroner arter (r=-0.769, p<0.001, r=-0.772, p<0.001) ve sirkümfleks koroner arterdeki (r=-0.736, p<0.001, r=-0.853, p<0.001) plakların kitle ve hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyonlar mevcuttur.

Serum fetuin-A konsantrasyonları <0.6 g/L olan hastalarda radius proksimal (-3.4 ± 1.2 ve -1.8 ± 1.4), femur trokanter (-2.5 ± 1.6 ve -1.3 ± 1.6) ve lomber vertebra L1-4 bölgelerindeki T-skorları (-2.17 ± 1.5 ve -1.3 ± 1.2), serum fetuin-A konsantrasyonu >0.6 g/L olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, son dönem böbrek hastalığı sürecinde olan bireylerde, koroner arter kalsifikasyonu, serumda bulunan vasküler kalsifikasyon inhibitörü fetuin-A ile kemik mineralizasyonunun belirteci olarak kullanılan kemik mineral dansitesi ve T-skoru arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. Çalışmanın sonunda:

- 1- Koroner kalsifiye plakların hacmi ve kitlesi ve kemik densitometrisi arasında ve
- 2- Vasküler kalsifikasyon inhibitörü olan fetuin-A düzeyleri ile koroner kalsifikasyon arasında güçlü ve ters yönde ilişkiler saptanmıştır.
- 3- Çalışmada ek olarak, osteopeniyi telkin eden bölgeye özel T-skorlarında azalmaya paralel olarak eşlik eden serum fetuin-A konsantrasyonunda azalmalar gösterilmiştir.

Vasküler kalsifikasyon ile iskelet sistemi bozuklukları arasında bir ilişki olduğu yönündeki kanıtlar her geçen gün artmaktadır. Deneysel çalışmalar, arteriyel dokunun kalsifikasyonunun, kemiğin mineralizasyonundan sorumlu olan mekanizmalara benzer mekanizmaların rol aldığı, organize ve kontrollü bir süreç neticesinde geliştiğini göstermişlerdir. Hidroksiapatit, arteriyel duvarda ve kemiğin yapısında mevcut olan ortak mineral olup, gözle görülür bir şekilde kalsifik depozit içinde trabekül ve lakunalarla birlikte yapısal organizasyon sergilemektedir (69). Moleküler biyolojik çalışmalar da arteriyel duvarın bazı hücrelerinde kontrollü osteogenezin gelişebileceğini göstermişlerdir (32). Hem osteoblastik hem de osteoklastik potansiyele sahip olan hücrelere ek olarak kalsifiye lezyonlarda kemik ile ilişkili proteinler vasküler dokularda tariflenmiştir (32,70). Benzer şekilde, genetik yapıları üzerinde oynanan ve kalsifiye aterosklerotik lezyonlar geliştirmeye müsait hale getirilen deney hayvanlarında düşük kemik dansiteleri ölçülürken, aksine aterosklerotik lezyon geliştirmeye dirençli bir yapıya sahip hayvanlarda ise daha yüksek kemik dansite değerleri bulunmuştur (71).

Yukarıda bahsedilen deneysel verileri desteklemek adına, pek çok epidemiyolojik çalışma kemik mineralizasyonu ile vasküler kalsifikasyon arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir

(72,73). Framingham Kalp Çalışmasında, abdominal aort kalsifikasyonunun progresyonu, kemik kaybının şiddeti ile korelasyon göstermiştir (72). Benzer şekilde menapozal sonrası dönemde olan kadınlarda dual enerji X-ışını absorpsiyometri veya bilgisayarlı tomografi ile yapılan değerlendirme sonucu ölçülen kemik kalsiyum içeriği ile aort veya koroner arter kalsifikasyonu arasında ters ilişki gösterilmiştir (74,75).

Çalışmamız, genel popülasyondaki vasküler kalsifikasyon ile kemik mineralizasyonu arasındaki ilişkiye benzer bulguların son dönem böbrek hastalığı popülasyonunda da geçerli olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde kronik böbrek hastalığı sürecinde de kemik mineral metabolizması ile kardiyovasküler sistem arasındaki karmaşık ilişkinin devam ettiğini düşündüren bulgular mevcuttur. Anormal kemik metabolizması olarak tariflenen osteodistrofi ve kardiyovasküler hastalık (örneğin kalp yetmezliği, ani kardiyak ölüm, akut koroner sendrom ve periferik arter hastalığı) Evre 5 kronik böbrek hastalığının sık görülen komplikasyonlarıdır (76,77). Hem yüksek kayıplı (high turnover) osteitis fibrosa sistikada hem de dinamik kemik hastalığında dolaşımda fazla miktarda mineral bulunmaktadır. Epidemiyolojik veriler, artmış serum Ca, P ve PTH düzeylerinin, yüksek kardiyovasküler mortaliteye eşlik ettiğini göstermektedir (78,79). Ayrıca in vitro çalışmalarda insan vasküler düz kas hücrelerinin yüksek konsantrasyonda P, Ca veya her ikisine birden maruziyeti halinde, kalsifiye oldukları saptanmıştır (34,80). Bu bulgular, evre 5 kronik böbrek hastalıklı bireylerde vasküler kalsifikasyonun, mineral metabolizması ve kardiyovasküler hastalık arasındaki bağlardan biri olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda, kemik mineralizasyonu değerlendirmek üzere dual enerji X-ışını absorpsiyometri yöntemiyle belirlenen, bölgeye özel T-skoru ile koroner arter kalsifikasyonunun yoğunluğu arasındaki ters ilişki saptanmıştır. Braun ve arkadaşları da yaptıkları kesitsel çalışmada, diyaliz hastalarında bilgisayarlı tomografi yöntemi ile saptadıkları kemik mineral yoğunluğunda azalma ile EBT tekniğiyle ölçtükleri koroner arter

kalsifikasyonunda artış arasında anlamlı bir korelasyon bulmuşlardır (81). Diyaliz hastalarını içeren başka bir kohortta da, kemik mineral yoğunluğu ile karotid arter intima-mediya kalınlığı arasında güçlü bir negatif korelasyon saptanmıştır (82). Ayrıca, kronik böbrek hastalıklı bireylerde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise vasküler kalsifikasyonun düzeyinin hiperfosfatemik hastalarda ve yüksek dönüşümlü renal osteodistrofiye göre adinamik kemik hastalığı tarzı renal osteodistrofide daha ağır olduğu saptanmıştır (83). Bu gözlemi destekleyen hayvan çalışmaları mevcuttur (84). 1994 yılında Hutchinson ve arkadaşları, adinamik kemik hastalığı tanısı biyopsi ile kanıtlanmış bir grup periton diyalizi hastasında düz grafilerde %90 oranında vasküler kalsifikasyon saptarken, biyopside adinamik kemik hastalığı bulgularının saptanmadığı hastalarda ise düz grafilerde vasküler kalsifikasyon görülme oranı %35'dir. Yakın zamanda, London ve arkadaşları da hemodiyaliz hastalarında yarı kantitatif (semiquantitative) bir ultrasonografik skorlama ile vasküler kalsifikasyonu; kemik biyopsisi ve histomorfometrik yöntemle de kemik yapıyı değerlendirip, karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, geçirilmiş paratiroid bez cerrahisi öyküsünden bağımsız olarak, kemik oluşumu açısından düşük tarafta olan ve osteoblast yüzeyleri daha az olan hastalarda, daha ciddi ve yoğun periferik arter kalsifikasyonları saptanmıştır. Burada öne sürülen mekanizma, adinamik kemiğin akut kalsiyum yükünü kemiğe transfer edememesidir. Kurz ve arkadaşları aktif yeniden şekillenen kemiğin kalsiyum yükünü transfer etmede problem yaşamadığını radyo-işaretleli Ca ile göstermişlerdir. Çalışmamızda, kemik biyopsisi ve histomorfometrik bir analiz yer almadığından hastalarımızın kesin bir şekilde kemik döngülerini ve dolayısıyla adinamik kemik hastalığı tanısını tanımlayamamaktayız. Ancak, evre 5 kronik böbrek hastalıklı bireylerde 65 pg/ml değerinin altında serum parathormon değerlerinin düşük döngülü kemik hastalığı için yüksek düzeyde öngörücü olduğu göz önüne alınırsa, çalışma hastalarımızda düşük döngülü kemik hastalığını telkin edecek serum parathormon değerleri mevcut değildir. Serum intakt parathormon düzeyleri 150-450 pg/ml

arasında yer alan hastalarımızın, bu değerlerin yüksek döngülü kemik hastalığı için de yüksek düzeyde hassas olmaması nedeniyle Kurz ve arkadaşlarının belirttiği şekilde kesin olarak aktif yeniden şekillenen kemik kategorisine girememesi söz konusudur. Ayrıca, Kurz ve arkadaşlarının ifade ettiklerine ters düşecek şekilde, fazla miktarda kemik rezorpsiyonun olduğu hayvan modellerinde, osteoklast aktivitesinin bisfosfonat tedavisi gibi girişimlerle inhibisyonu ile kemiğin yeniden şekillenmesinin azaltılması, vasküler kalsifikasyondan koruyucu bir etkiyle sonuçlanmıştır. Bu da ciddi kemik döngüsünün hakim olduğu kemik hastalığının da vasküler kalsifikasyona meyilli olduğunu düşündürmektedir.

Fetuin-A veya $\alpha 2$ -Heremans Schmid glikoproteini, karaciğerde sentezlenen ve serumda yeterli miktarda bulunan bir moleküldür. Aynı zamanda kemikte de ekspresse edilen fetuin-A, bu yapı içerisinde birikime uğrayarak transforming growth factor- β ve kemik morfogenetik proteinleri inhibe etmektedir. Yakın zamanda nefroloji araştırmalarının önemli bir kısmı, diyaliz hastalarında alışılmış kardiyovasküler risk faktörlerinin dışında olan, düşük serum fetuin-A düzeylerinin potansiyel önemine yoğunlaşmıştır. Güçlü bir kalsifikasyon inhibitörü olan fetuin-A'nın deneysel ortamlarda genetik olarak ayrıştırıldığı farelerde, yoğun kemik dışı kalsifikasyonlar gözlenmiştir (64). Normal renal fonksiyona sahip olan sağlıklı kontrol bireylere göre serum fetuin-A düzeyleri hemodiyaliz tedavisi altındaki süre farketmeksizin hemodiyaliz hastalarında anlamlı derecede daha düşüktür (29). Bunun yanısıra, hemodiyaliz hastalarından elde edilen serum örneği, kalsiyum ve fosfatın birlikte çökmesini engelleyememekte ve tampon ortama saflaştırılmış fetuin-A'nın eklenmesi ile bu durum tersine döndürülebilmektedir (29).

Son dönem böbrek hastalığına ulaşan bireylerde düşük fetuin-A seviyeleri ile koroner kalsifikasyon (85), karotid plakların prevalansı (86) ve kardiyak valvüler kalsifikasyon (87) arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Çalışmamızda ise literatür ile uyumlu olarak, EBT yöntemi ile tespit edilen koroner arter kalsiyum skorlama, koroner arterlerde plak kitlesi ve hacmi ile anlamlı ters korelasyonlar saptanmıştır.

Çalışmamızda görülen serum fetuin-A eksikliği ve vasküler kalsifikasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde, fetuin-A'nın vasküler düz kas hücresinde bazı etkileri de çok yakın bir zamanda yayımlanan bir makalede değerlendirilmiştir (67). Bu çalışmaya göre fetuin-A öncelikle, canlılığını yitiren vasküler düz kas hücrelerinden köken alan sinyal yollarını kesmekte ve vasküler düz kas apoptozisini inhibe etmektedir. Ayrıca, fetuin-A, vasküler düz kas hücreleri tarafından dolaşımdan alınıp, hücre içi veziküllere depolanmakta ve çözünmeyen Ca-P'in nükleasyonunu önlemektedir. Bunun yanısıra, fetuin-A, apoptotik yapıların, komşuluğunda bulunan canlı hücrelere bağlanmasını arttırarak, bu apoptotik yapıların klirensini hızlandırmakta ve bunların hücre dışı matriksde çözünmeyen Ca-P'i bağlamasını engellemektedir. Fetuin-A'nın bu etkileri serumda Ca ve P'u stabilize edip, çökmesini engelleyici etkisinden bağımsızdır (88). Ek olarak, fetuin-A, fagositoz sonrasında makrofajların inflamatuvar yanıtını inhibe etmektedir (89). Etkin bir fagositoz son dönem böbrek hastalığına ulaşan kişilerde ivmelenmiş aterosklerozun sınırlanmasında oldukça önemli olabilir (90). Son olarak da, fetuin-A, henüz tam olarak anlaşılacakla birlikte, artmış hücre dışı Ca konsantrasyonu halinde matriks veziküllerinde daha fazla birikmektedir. Serum fetuin-A düzeyi düşük tarafta olan çalışma hastalarının vasküler kalsifikasyona daha meyilli olması, bahsedilen mekanizmaların yeterince işlevsel olamamasıyla da açıklanabilir.

Kemik döngüsü ile vasküler ve diğer yumuşak doku kalsifikasyonları son dönem böbrek hastalığında birbirine fizyolojik olarak bağlı olan süreçlerdir (91). Reynolds ve arkadaşları, fetuin-A'nın, Ca ve P'dan zenginleştirilmiş kültür ortamında vasküler düz kas hücre

kalsifikasyonunu inhibe etmesinin yanı sıra aynı şartlar altında Saos2 osteoblastlarında ve 293 böbrek epitel hücrelerinde de kalsifikasyonu inhibe etmiştir (67). Ayrıca, in vitro deneylerde fetuin-A'nın primer sıçan kalvaria hücrelerinde, mineralizasyon süresince bazik Ca-P çökmesini engelleyerek ve apatit oluşumunu düzenleyerek mineralizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (64). Bahsedilen bu gözlemler fetuin-A'nın mineral metabolizmasında daha genel bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Yine fetuin-A'dan genetik müdahale sonrasında yoksun bırakılan farelerde kemik mineralizasyonunda düzensizlik yaşanması ve fetuin-A'nın kemiğin önemli bir bileşeni olması, fetuin-A hakkında yapılan bu tür yorumları daha da kuvvetlendirmektedir (67,92).

Son dönem böbrek hastalığına ulaşan bireylerde fetuin-A eksikliği, yükselen Ca ve P düzeyleri karşısında osteoblast apoptozisini arttırarak kemik yapısı üzerinde olumsuz bir etkiye neden olabilir (92). Çalışmamızda serum fetuin-A konsantrasyonları <0.6 g/L olan hastalarda radius proksimal, femur trokanter ve lomber vertebra L1-4 bölgelerindeki T-skorlarının, serum fetuin-A konsantrasyonu >0.6 g/L olanlara göre, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olarak bulunması, bu düşüncüyü desteklemektedir. Bununla beraber, fetuin-A'nın vasküler düz kas kalsifikasyonu ve kemik biyolojisi üzerinde başka etkileri de bulunmaktadır. Fetuin-A, transforming growth factor- β /kemik morfogenetik protein aktivitesini baskılayabilmektedir (93). Fetuin-A eksikliğinde osteogenezi uyaracak tarzda, transforming growth factor- β /kemik morfogenetik protein sistemi üzerindeki inhibisyon kalkmaktadır (94). Dolayısıyla, serum fetuin-A düzeylerinin azalması kemik metabolizması üzerinde osteoblast apoptozisi ve transforming growth factor- β /kemik morfogenetik protein sistemi üzerinden de osteo-indüktif etkilere yol açabilmektedir. Bu görüşü, doğrular tarzda Coen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, serum fetuin-A düzeyleri, kemik histomorfometrik değerlendirme bazında hem kemik oluşumu hem de kemik yıkımı parametreleriyle ters ilişki içinde olarak bulunmuştur (94). Sonuç olarak, kemik yıkımı ya da

yapımının ağır basmasının genel klinik tabloyu şekillendireceği düşünülürse, elimizde histopatolojik ve histomorfometrik bulgular olmamasına rağmen, çalışma sonuçlarımız osteoblast apoptozisinin daha hakim olduğu yönündedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, genel popülasyonda olduğu gibi son dönem böbrek hastalığına ulaşan ve renal replasman tedavisi altında izlenen bireylerde de radyolojik olarak saptanan osteopeni bulguları ile koroner arter kalsifikasyonu arasında ters bir ilişki saptanmıştır. Serum fetuin-A düzeylerinin daha düşük olması, beraberinde koroner arter kalsifikasyonunda artışa ve düşük kemik yoğunluğuna eşlik etmektedir. Çalışmamızda saptanan bulgular, kemik ve mineral metabolizması bozuklukları ve kötü kardiyovasküler prognoz arasındaki yakın ilişkiye bir örnek olarak gösterilebilir. Vasküler kalsifikasyon üzerine etkili patofizyolojik mekanizmaları göz önüne alarak hemodiyaliz popülasyonunda genel tedavi yaklaşımlarının optimal yapılması ve bunu yaparken bir parantezinde özellikle de serum Ca, P ve intakt parathormon düzeylerinin uygun takibi için açılması önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Fontain MA, Albert A, Dubois B et al: Fracture and bone mineral density in hemodialysis patients. Clin Nephrol 2000;54:218–226.
- 2- Kawagishi T, Nishizawa Y, Konishi T et al: High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia. Kidney Int 1995;48:820–826.
- 3- Uyama O, Yoshimoto Y, Yamamoto Y et al: Bone changes and carotid atherosclerosis in postmenopausal women. Stroke 1997;28:1730–1732.
- 4- Von der Recke P, Hansen MA, Hassager C: The association between low bone mass at the menopause and cardiovascular mortality. Am J Med 1999;106:273–278.
- 5- Raggi P: Imaging of cardiovascular calcifications with electron beam tomography in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2001;37, No 1, Suppl 2 (January), S62-S65.
- 6- Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, et al: Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. J Am Coll Cardiol 1990;15:827-832.
- 7- Ketteler M: Fetuin-A and extraosseous calcification in uremia. Curr Opin Nephrol Hypertens 2005;14:337–342.
- 8- Heiss A, DuChesne A, Denecke B, et al: Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A: formation of colloidal calciprotein particles. J Biol Chem 2003; 278:13333–13341.
- 9- Hunt JL, Fairman R, Mitchell ME, Carpenter JP, Golden M, Khalapyan T, Wolfe M, Neschis D, Milner R, Scoll B, Cusack A, Mohler ER 3rd: Bone formation in carotid plaques: A clinicopathological study. Stroke 2002;33: 1214–1219.
- 10- Edmonds ME, Morrison N, Laws JW, Watkins PJ: Medial arterial calcification and diabetic neuropathy. Br Med J Clin Res Ed 1982;284(6320): 928–930.

- 11-**Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, Mall G, Amann K: Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15: 218–223.
- 12-**Schoen FJ, Levy RJ: Founder’s Award, 25th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, perspectives. Providence, RI, April 28–May 2, 1999. Tissue heart valves: Current challenges and future research perspectives. *J Biomed Mater Res* 1999;47: 439–465.
- 13-**Coates T, Kirkland GS, Dymock RB, Murphy BF, Brealey JK, Mathew TH, Disney AP: Cutaneous necrosis from calcific uremic arteriolopathy. *Am J Kidney Dis* 1998;32: 384–391.
- 14-**Rutsch F, Ruf N, Vaingankar S, Toliat MR, Suk A, Hohne W, Schauer G, Lehmann M, Roscioli T, Schnabel D, Epplen JT, Knisely A, Superti-Furga A, McGill J, Filippone M, Sinaiko AR, Vallance H, Hinrichs B, Smith W, Ferre M, Terkeltaub R, Nurnberg P: Mutations in ENPP1 are associated with “idiopathic” infantile arterial calcification. *Nat Genet* 2003;34: 379–381.
- 15-**Sangiorgi G, Rumberger JA, Severson A, Edwards WD, Gregoire J, Fitzpatrick LA, Schwartz RS: Arterial calcification and not lumen stenosis is highly correlated with atherosclerotic plaque burden in humans: A histologic study of 723 coronary artery segments using nondecalcifying methodology. *J Am Coll Cardiol* 1998;31: 126–133.
- 16-**Puentes G, Detrano R, Tang W, Wong N, French W, Narahara K, Brundage B, Baksheshi H: Estimation of coronary calcium mass using electron beam computed tomography: A promising approach for predicting coronary events? *Circulation* 1995;92: I313.

- 17-** Fitzgerald PJ, Ports TA, Yock PG: Contribution of localized calcium deposits to dissection after angioplasty: An observational study using intravascular ultrasound. *Circulation* 1992;86: 64–70.
- 18-** Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F: Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1014–1021.
- 19-** Lehto S, Niskanen L, Suhonen L, Ronnema T, Laakso M: Medial artery calcification. A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16: 978–983.
- 20-** 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* 2003;18: 1731–1740.
- 21-** Foley RN, Parfrey PS: Cardiovascular disease and mortality in ESRD. *J Nephrol* 1998;11: 239–245.
- 22-** Block GA: Prevalence and clinical consequences of elevated Ca x P product in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2000;54: 318–324.
- 23-** 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* 2000;342:1478–1483.
- 24-** Eifinger F, Wahn F, Querfeld U, Pollok M, Gevargez A, Kriener P, Gronemeyer D: Coronary artery calcifications in children and young adults treated with renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15: 1892–1894.
- 25-** 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* 2002;106: 100–105.

- 26-** 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 Coll Cardiol* 2002;39: 695–701.
- 27-** Speer MY, Giachelli CM: Regulation of cardiovascular calcification. *Cardiovasc Pathol* 2004;13: 63–70.
- 28-** Luo G DP, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, and G Karsenty: Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 386 1997;(March 6): 78–81.
- 29-** Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Bohm R, Metzger T, Wanner C, Jahnke-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* 2003;361(9360): 827–833.
- 30-** Giachelli CM, Bae N, Almeida M, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM: Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1993;92: 1686–1696.
- 31-** Levy RJ, Schoen FJ, Levy JT, Nelson AC, Howard SL, Oshry LJ: Biologic determinants of dystrophic calcification and osteocalcin deposition in glutaraldehyde-preserved porcine aortic valve leaflets implanted subcutaneously in rats. *Am J Pathol* 1983;113:143–155.
- 32-** Bostrom K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL: Bone morphogenic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1993;91: 1800–1809.
- 33-** Mohler ER 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS: Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103: 1522–1528.

- 34-** 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* 2000;87: E10–E17.
- 35-** Parhami F, Basseri B, Hwang J, Tintut Y, Demer LL: Highdensity lipoprotein regulates calcification of vascular cells. *Circ Res* 2002;91: 570–576.
- 36-** Price PA, Faus SA, Williamson MK: Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21: 817–824.
- 37-** Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK: Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21: 1610–1616.
- 38-** 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 Res* 2000;87: 1055–1062.
- 39-** Schoen FJ, Tsao JW, Levy RJ: Calcification of bovine pericardium used in cardiac valve bioprostheses. *Am J Pathol* 1986;123:134–145.
- 40-** Wada T, McKee MD, Stietz S, Giachelli CM: Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: Inhibition by osteopontin. *Circ Res* 1999;84: 1–6.
- 41-** Chen NX, O’Neill KD, Duan D, Moe SM: Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 2002;62: 1724–1731.
- 42-** Moe SM, Duan D, Doehle BP, O’Neill KD, Chen NX: Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. *Kidney Int* 2003;63: 1003–1011.

- 43-** 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* 2002;61: 638–647.
- 44-** Yang H, Curinga G, Giachelli CM: Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro. *Kidney Int*, 2004, in press.
- 45-** Proudfoot D, Skepper JN, McNair R, Johannides A, Weissberg PL, Shanahan CM: Mineral ion-induced release of mineralization-competent matrix vesicles from human vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Pathol* 2004;13[3 Suppl]: S186.
- 46-** Wexler L, Brundage B, Crouse J, Detrano R, Fuster V, Maddahi J, Rumberger J, Stanford W, White R, Taubert K: Coronary artery calcification: pathophysiology, epidemiology, imaging methods, and clinical implications. A statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1996;94:1175-1192.
- 47-** Rumberger JA, Sheedy PF, Breen JF, Fitzpatrick LA, Schwartz RS: Electron beam computed tomography and coronary artery disease: scanning for coronary artery calcification. *Mayo Clin Proc* 1996;71:369-377.
- 48-** Kajinami K, Seki H, Takekoshi N, Mabuchi H: Noninvasive prediction of coronary atherosclerosis by quantification of coronary artery calcification using electron beam computed tomography: Comparison with electrocardiographic and thallium exercise stress results. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1209-1221.
- 49-** Rumberger JA, Brundage BH, Rader DJ, Kondos G: Electron beam computed tomographic coronary calcium scanning: A review and guidelines for use in asymptomatic persons. *Mayo Clin Proc* 1999;74: 243-252.
- 50-** Detrano R, Hsiai T, Wang S, Puentes G, Fallavollita J, Shields P, Stanford W, Wolfkiel C, Georgiou D, Budoff M, Reed J: Prognostic value of coronary calcification and

angiographic stenoses in patients undergoing coronary angiography. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:285-290.

- 51-** Arad Y, Spadaro LA, Goodman K, Lledo-Perez A, Sherman S, Lerner G, Guerci AD: Predictive value of electron beam computed tomography of the coronary arteries. 19-month follow-up of 1173 asymptomatic subjects. *Circulation* 1996;93: 1951-1953.
- 52-** Raggi P, Callister TQ, Cooil B, He ZX, Lippolis NJ, Russo DJ, Zelinger A, Mahmarian JJ: Identification of patients at increased risk of first unheralded acute myocardial infarction by electron-beam computed tomography. *Circulation* 2000;101: 850-855.
- 53-** Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK: Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998;31: 607-617.
- 54-** Callister TQ, Raggi P, Cooil B, Lippolis NJ, Russo DJ: Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med* 1998;339:1972-1978.
- 55-** Black DM, Cummings SR, Genant HK, Nevitt MC, Palermo L, Browner W: Axial and appendicular bone density predict fractures in older women. *J Bone Miner Res* 1992;7:633-638.
- 56-** Stein MS, Packham DK, Ebeling PR, Wark JD, Becker GJ: Prevalance and risk factors for osteopenia in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996;28:515-522.
- 57-** Coco M, Rush H: Increased incidence of hip fractures in dialysis patients with low serum parathyroid hormone. *Am J Kidney Dis* 2000;36:1115-1121.
- 58-** Atsumi K, Kushida K, Yamazaki K, Shimuzu S, Ohmura A, Inoue T: Risk factors for vertebral fractures in renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 1999;33:287-293.

- 59-** Jamal SA, Chase C, Goh YI, Richardson R, Hawker GA: Bone density and heel ultrasound testing do not identify patients with dialysis-dependent renal failure who have had fractures. *Am J Kidney Dis* 2002;39:843-849.
- 60-** Ketteler M, Wanner C, Metzger T, et al. Deficiencies of calcium-regulatory proteins in dialysis patients: a novel concept of cardiovascular calcification in uremia. *Kidney Int Suppl* 2003; 84:S84–S87.
- 61-** Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, et al. 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* 1979;64:1118–1129.
- 62-** Mathews ST, Singh GP, Ranalletta M, et al. Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Ahsg gene. *Diabetes* 2002;51:2450–2458.
- 63-** Price PA, Thomas GR, Pardini AW, et al. Discovery of a high molecular weight complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in the serum of etidronate-treated rats. *J Biol Chem* 2002;277:3926–3934.
- 64-** Schafer C, Heiss A, Schwarz A, et al. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 2003; 112:357–366.
- 65-** Westenfeld R, Smeets R, Schaefer C, et al. The impact of fetuin-A, phosphate and uremia on the induction of extraosseous calcification in mice [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:270A.
- 66-** Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2959–2964.
- 67-** Reynolds JL, Joannides AJ, Skepper JN, et al: Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium

and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2857–2867.

- 68-** Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: An analysis of error. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4: 1205-13.
- 69-** Schmid K, McSharry WO, Pameijer CH, Binette JP: Chemical and physiochemical studies on the mineral deposits of the human atherosclerotic aorta. *Atherosclerosis* 1980;37:199–210.
- 70-** Gijssbers BL, van Haarlem LJM, Soute BAM, Ebbeink RHM, Vermeer C: Characterization of a Gla-containing protein from calcified human atherosclerotic plaques. *Arteriosclerosis* 1990;10:991–995.
- 71-** Naito S, Ito M, Sekine I, Ito M, Hirano T, Iwasaki K, Niwa M: Femoral head necrosis and osteopenia in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSPs). *Bone* 1993;14:745–753.
- 72-** Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW: Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: The Framingham Heart Study. *Calcif Tissue Int* 2001;68: 271–276, 2001; erratum in *Calcif Tissue Int* 2004;74: 208.
- 73-** Frye MA, Melton LJ, Beyant SC, Fitzpatrick LA, Wahner HW, Schwartz RS, Riggs BL: Osteoporosis and calcification of the aorta. *Bone Miner* 1992;19: 185–194.
- 74-** Banks LM, Lees B, MacSweeney JE, Stevenson JC: Effect of degenerative spinal and aortic calcification on bone density measurements in postmenopausal women: links between osteoporosis and cardiovascular disease? *Eur J Clin Invest* 1994;24:813–817.
- 75-** Kiel DP, Hannan MT, Cupple LA, Wilson PWF, Levy D, Clouse MF, Krueger-Lovy K, O'Donnell CJ: Low bone mineral density (BMD) is associated with coronary artery calcification. *J Bone Miner Res* 2000;15:S160.

- 76-** Fukagawa M et al: Renal osteodystrophy and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 (Suppl 10): S2–S5.
- 77-** Moe SM: Current issues in the management of secondary hyperparathyroidism and bone disease. *Perit Dial Int* 2001;21 (Suppl 3): S241–S246.
- 78-** Block GA et al: Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 2208–2218.
- 79-** Stevens LA et al: Calcium, phosphate, and parathyroid hormone levels in combination and as a function of dialysis duration predict mortality: evidence for the complexity of the association between mineral metabolism and outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:770–779.
- 80-** Li X et al: Role of the sodium-dependent phosphate cotransporter, Pit-1, in vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2006;98: 905–912.
- 81-** Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC: Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996;27:394–401.
- 82-** Nakashima A, Yorioka N, Tanji C, Asakimori Y, Ago R, Usui K, Shigemoto K, Harada S: Bone mineral density may be related to atherosclerosis in hemodialysis patients. *Osteoporos Int* 2003;14:369-373.
- 83-** London GM, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC: Arterial calcification and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1943-1951.
- 84-** Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G: Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking GLA protein. *Nature* 1997;386:78-81.

- 85-** Moe SM, Reslerova M, Ketteler M et al: Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int* 2005; 67:2295–2304.
- 86-** Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR et al: Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int* 2005; 67:2383–2392.
- 87-** Wang AY, Woo J, Lam CW et al. Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:1676–1685.
- 88-** Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grotzinger J, Yamamoto K, Renne T, Jahn-Dechent W: Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A: Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem* 2003;278: 13333–13341.
- 89-** Wang H, Zhang M, Bianchi M, Sherry B, Sama A, Tracey KJ: Fetuin (alpha2-HS-glycoprotein) opsonizes cationic macrophage deactivating molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95: 14429–14434.
- 90-** Jersmann HP, Dransfield I, Hart SP: Fetuin/alpha2-HS glycoprotein enhances phagocytosis of apoptotic cells and macropinocytosis by human macrophages. *Clin Sci (Lond)* 2003;105: 273–278.
- 91-** Goodman WG: Vascular calcification in chronic renal failure. *Lancet* 2001;358: 1115–1116.
- 92-** Adams CS, Mansfield K, Perlot RL, Shapiro IM: Matrix regulation of skeletal cell apoptosis. Role of calcium and phosphate ions. *J Biol Chem* 2001;276: 20316–20322.

- 93-**Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, Tenenbaum HC, Dennis JW: Fetuin/ α 2-HS glycoprotein is a transforming growth factor- β type II receptor mimic and cytokine antagonist. *J Biol Chem* 1996;271:12755-12761.
- 94-**Coen G, Ballanti P, Balducci A, MD, Grandi F, Manni M, Mantella D, Pierantozzi A, Ruggeri M, Sardella D, Sorbo G, Bonucci E: Renal osteodystrophy: α -Heremans Schmid glycoprotein/Fetuin-A, matrix GLA protein serum levels, and bone histomorphometry. *Am J Kidney Dis* 2006;48:106-113.