



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

KRONİK HEMODİYALİZ HASTALARINDA
VEGF GEN POLİMORFİZMİ VE VEGF-A DÜZEYLERİ
İLE AV FİSTÜL FONKSİYON KAYBI ARASINDAKİ
İLİŞKİ

Prof. Dr. Ferhan CANDAN
YANDAL UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2010



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK HEMODİYALİZ HASTALARINDA
VEGF GEN POLİMORFİZMİ VE VEGF-A DÜZEYLERİ
İLE AV FİSTÜL FONKSİYON KAYBI ARASINDAKİ
İLİŞKİ**

Prof. Dr. Ferhan CANDAN
YANDAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mansur KAYATAŞ

SİVAS

2010

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi senatosu'nun 10.02.2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı karar ile kabul edilen “ Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi”ne göre hazırlanmıştır.

ONAY SAYFASI

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı-Nefroloji Bilim Dalı'nda Yandal Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

ÜYE : Prof. Dr. Mansur KAYATAŞ (Tez Danışmanı)

ÜYE : Prof. Dr. Hakan ALAGÖZLÜ

ÜYE :Yrd. Doç. Dr. Serhat İÇAĞASIOĞLU

Bu tez, tarih ve sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

DEKAN

Prof. Dr. Mehmet ŞENCAN

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık tezimin projesinden yazımına kadar bütün aşamalarındaki tüm katkılarından dolayı değerli danışman hocam Prof. Dr. Mansur KAYATAŞ'a, birlikte çalışma imkânı bulduğum Öğretim Üyesi arkadaşlarıma, tez çalışmamda bana yardımcı olan Prof.Dr. Zahir Bakıcı ve Mikrobiyoloji çalışanlarına, araştırmam için VEGF-A kitini temin eden Novartis AŞ.'ne ve tezimin hazırlanmasında manevi desteğini, yardımlarını esirgemeyen eşim Ferda'ya, sabırlarından dolayı kızlarım Merve ve Melis'e, beni yetiştiren aileme teşekkür ve sevgilerimi sunuyorum.

ÖZET

Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Vegf Gen Polimorfizmi ve Vegf-A Düzeyleri ile Av Fistül Fonksiyon Kaybı Arasındaki İlişki

Dr. Ferhan CANDAN

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları-Nefroloji , Yandal Uzmanlık Tezi Sivas, 2010

Hemodiyaliz hastalarında arteriovenöz fistül (AVF) kaybını kolaylaştıran en önemli neden AVF'ün venöz kısmındaki gelişen intimal hiperplazi sonucu darlık ve tromboz oluşumudur. VEGF'ün hasarlı vasküler yapılarda reendotelizasyonu hızlandırdığı, intimal kalınlaşmayı ve/veya mural trombüs oluşumunu azalttığı bildirilmektedir. Çalışma AV fistül operasyonundan sonra geç dönemde 2 veya daha fazla fistül trombozu epizodu geçiren 42 hastadan oluşan olgu grubu ile 3 yıl veya daha fazla sürede hiç AV fistül trombozu öyküsü olmayan 38 hemodiyaliz hastası kontrol grubu alınarak gerçekleştirildi. VEGF gen polimorfizmi ile VEGF-A düzeyinin hemodiyaliz hastalarında geç dönem AV fistül fonksiyon kaybı üzerindeki etkisini ortaya konması amaçlanmıştır. Kontrol grubunda büyük oranda VEGF 936CT genotipi (sıklığı 12/38, %31.6), olgu grubunda ise büyük oranda VEGF 936CC genotipi (sıklığı 138/42, %90.5) saptandı. Olgu grubunda VEGF 936CC genotipini taşıyan bireyler ise AVF trombozu için 5.54 kat artmış bir risk'e sahiptiler. VEGF-A düzeyleri olgu grubunda (27.33 ± 43.50 pg/ml), kontrol grubuna (70.69 ± 53.08 pg/ml) göre anlamlı olarak düşük saptandı. Olgu ve kontrol grubunda plazma VEGF-A düzeyine etki eden klinik parametreler değerlendirildiğinde; olgu grubunda plazma VEGF-A düzeyleri serum kolesterol ($r=0.40$), serum LDL($r=0.43$), beyaz küre sayısı ($r=0.47$) ve trombosit sayısı ($r=0.59$) arasında pozitif bir korelasyon saptandı. Kontrol grubunda sadece trombosit sayısı ($r=0.38$) pozitif bir korelasyon göstermekteydi. Sonuç olarak; VEGF 936CC genotipi taşıyanlarda artmış bir AV fistül tromboz riski vardır. Bu olgularda diğer tedavi modellerinin (periton diyalizi, preemtif transplantasyon) göz önünde tutulmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı; böylece fistül kaybına bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılması mümkün olacaktır.

Anahtar Sözcükler: AV fistül, hemodiyaliz, VEGF gen polimorfizmi, VEGF-A

ABSTRACT**Association of VEGF gene polymorphism and VEGF-A levels
with AV Fistula failure in hemodialysis patients****Dr. Ferhan CANDAN****Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Thesis of Nephrology Department
Sivas, 2010**

A major factor which facilitates arteriovenous fistula (AVF) failure is stenosis and thrombosis due to intimal hyperplasia developing in the venous segment of AVF. It has been reported that VEGF accelerated re-endothelialization, reduction of intimal thickening and/or mural thrombus formation in the injured vascular structures. The study was carried out with a phenomenon group of 42 patients who have experienced 2 or more fistula thrombosis in the late phase after the AVF operation and a control group of 38 patients who have not had any AVF thrombosis history for 3 years or more. In this study, we aimed to identify the effect of VEGF 936 gene polymorphism and VEGF-A levels on late session AVF failure in hemodialysis patients. VEGF 936CT genotypes were determined in large proportion in control group (frequency 12/38, 31.6%) while VEGF 936CC genotype were determined in large proportion in phenomenon group (frequency 38/42, 90.5%). Individuals carrying the VEGF 936CC genotype had an increase of 5.54 times risk of AVF thrombosis. The VEGF-A levels of phenomenon group (27.33 ± 43.50 pg/ml) were significantly lower than control (70.69 ± 53.08 pg/ml). When the effects of clinical parameters were evaluated on VEGF-A levels, plasma VEGF-A positively correlated with the serum cholesterol ($r=0.40$), LDL ($r=0.43$), white blood cell (0.47) and thrombocytes ($r=0.59$) in phenomenon group and also in control group with thrombocyte count ($r=0.38$). Consequently, there is an increased risk of AV fistula thrombosis in individuals having VEGF 936CC genotype. The other renal replacement modalities (peritoneal dialysis, preemptive transplantation) should be considered in patients having this genotype, Thus it will be possible to prevent the morbidity and mortality due to fistula failure.

Key words: AV fistula, hemodialysis, VEGF gene polymorphism, VEGF-A

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
SUMMARY	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı ve Yetmezliği.....	3
2.2. Hemodiyaliz.....	5
2.3. Arteriyovenöz (AV) Fistüller.....	6
2.3.1.Snuff-Box (Enfiye çukuru) Fistülleri.....	7
2.3.2.Brescia-Cimino Fistülleri.....	7
2.3.3.Brakio-Sefalik Antekübital Fistüller.....	8
2.3.4.Bazilik Ven Transpozisyonu.....	8
2.3.5. Hemodiyalizde AVF'ün Erken ve Geç Kayıplarının Tanımı.....	8
2.3.6. AVF Komplikasyonları.....	9
2.3.7. AVF Trombozu	9
2.3.8.Venöz İntimal Hiperplazi.....	9
2.4.Hemostaz.....	13
2.4.1.Kan Damarları.....	13

2.4.2.Trombositler.....	14
2.4.3.Pıhtılaşma Faktörleri.....	14
2.4.4.Pıhtılaşma Mekanizması.....	15
2.4.5.İntrensek Pıhtılaşma Sisten	15
2.4.6.Extrensek Pıhtılaşma Sistemi	16
2.4.7.Pıhtılaşma Tepkimelerinin Denetimi.....	16
2.4.7.1. Fibrinoliz	17
2.5.Trombofili.....	17
2.6. VEGF SİSTEMİ.....	19
2.6.1.VEGF Ailesi.....	19
2.6.2. VEGF Sentezi.....	21
2.7. VEGF Düzeyi ve Böbrek Yetmezliğinin Katkısı	22
3. MATERYAL VE METOD.....	23
4. BULGULAR	29
5.TARTIŞMA.....	38
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7.KAYNAKLAR.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE : Anjiyotensin converting enzim

ACEİ : Anjiyotensin converting enzim inhibitörü

APC : Active protein C

ARB : Anjiyotensin reseptör blokörü

AV : Arteriyovenöz

AVF : Arteriyovenöz fistül

AVG : Arteriyovenöz greft

bFGF : Basic fibroblast growth factor

DM : Diabetes mellitus

EDTA : Etilen diamin tetra asetik asit

ESA : Eritropoez stimulan ajan

EF: Ejeksiyon Fraksiyonu

FMF : Ailevi akdeniz ateşi

FV : Faktör V

FVIII : Faktör VIII

GFH : Glomerüler filtrasyon hızı

GN : Glomerülonefrit

HD : Hemodiyaliz

HIF-1 alpha : Hypoxia inducible factor-1 alpha

HT :Hipertansiyon

IGF-1 : İnsülin like growth factor-1

K/DOQI : Kidney Disease Outcomes Quality Initiative

KBH :Kronik böbrek hastalığı

KBY :Kronik böbrek yetmezliği

KVH : Kardiyovasküler hastalık

LDL : Düşük dansiteli lipoprotein

MMP-9: Matriks metalloproteinaz 9

MTHFR: Metilen tetrahidrofolat redüktaz

NBT :Nitroblue tetrazolium

NO: Nitrik oksit

PAI-1 : Plazminojen aktivatör inhibitörü 1

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PDGF : Platelet derived growth factor

PKBH:Polikistik böbrek hastalığı

PTH :Parathormon

SDBY : Son dönem böbrek yetmezliği

TFPI : Tissue factor pathway inhibitör

TGF-b : Transforming growth factor-beta

t-PA : Doku plazminojen aktivatörü

VCAM-1 : Vascular cell adhesion molecule-1

VDKH: Vasküler düz kas hücre

VEGF: Vasküler endotelyal growth faktör

VEGFR-1: Vasküler endotelyal growth faktör reseptör-1

VEGFR-2: Vasküler endotelyal growth faktör reseptör-2

VWF : Von Willebrand faktör

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. İntimal hiperplazi düz kas ve advensiyal hücrelerin rolü	11
Şekil 2.2. AV Greft ve AVF’de neointimal hiperplazi gelişim bölgeleri	12
Şekil 3.1. VEGF geni 936C>T polimorfizimini saptamak için NlaIII enzim kesim ürünlerinin %3’lül agaroz jelde görüntülenmesi.....	28
Şekil 4.1. Olgu grubunda Kolesterol ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı	36
Şekil 4.2. Olgu grubunda LDL ile VEGF arasındaki ilişkinin dağılımı.....	36
Şekil 4.3. Olgu grubunda Trombosit sayısı ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı.....	37
Şekil-4.4. Kontrol grubunda Trombosit sayısı ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı ..	37
Şekil-4.5. Olgu grubunda Beyaz küre sayısı ile VEGF(pg/ml) arasındaki ilişkinin dağılımı.....	38

TABLOLAR

Tablo 2.1. Kronik Böbrek Hastalığının Evreleri.....	3
Tablo 2.2. Türkiye’de Mevcut Hemodiyaliz Hastalarında Etyolojik Dağılım Oranları	4
Tablo 2.3. Türkiye’de 2008 Yılı Sonu İtibariyle Düzenli HD Programında Olan Hastalarda Damar Ulaşım Yolu ve Oranları	6
Tablo 2.5. Edinsel Trombofili Nedenleri	18
Tablo 2.6. Kalıtsal Trombofili Nedenleri.....	19
Tablo 4.1. Olgu ve Kontrol Gruplarının Genel Özelliklerinin Karşılaştırılması.....	29
Tablo 4.2. Olgu ve Kontrol Gruplarının Hemodiyaliz ve Laboratuar Degerlerinin Karşılaştırılması	31
Tablo 4.3. Olgu ve Kontrol Gruplarında VEGF Gen Polimorfizminin Dağılımı ve odds oranları	32
Tablo 4.4. Olgu ve kontrol gruplarında VEGF 936 genotipleri ile VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması	33
Tablo 4.5. Olgu ve kontrol grubundaki tüm bireylerin VEGF 936 genotiplerinin VEGF-A düzeyine etkisi	34
Tablo 4.6. Olgu ve kontrol gruplarında VEGF-A değerlerine etki edecek klinik parametrelerin regresyon analizleri	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek hastalığı temelde yatan böbrek hastalığının etyolojisi ne olursa olsun en az 3 ay süren objektif böbrek hasarı ve/veya glomerüler filtrasyon hızının (GFH) 60 ml /dk/1.73/m²'nin altına inmesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz, polikistik böbrek hastalığı, kronik piyelonefrit, glomerülonefritler, amiloidoz ve vezikoureteral reflü başlıca etyolojik sebepler arasındadır. Kronik böbrek hastalığı 5 ayrı kategoride incelenmekte olup; kreatinin klirensinin <15 ml/dakika olduğu grup son dönem böbrek hastalığı (SDBH) ya da kronik böbrek yetmezliği olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde diyabet, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi hastalıkların artışına paralel olarak KBH sıklığında da artışlar gözlenmektedir. SDBY olan bireylerde böbrek yerine koyma tedavisi olarak üç seçenek vardır. En doğala yakın olan böbrek nakli ülkemizde değişik sosyal, ekonomik ve organizasyon yetmezliklerine bağlı olarak henüz istenilen düzeye çıkartılamamıştır. Diğer bir yöntem periton diyalizi olup belli kriterler ve hasta ya da sahiplerinin eğitimini gerektirdiğinden ülkemiz koşullarında Kanada, Avustralya gibi ülkelerle kıyaslandığında olması gereken seviyenin oldukça altındadır. SDBY hastalarında ülkemizde en sıklıkla uygulanan tedavi şekli olarak hemodiyaliz tedavisi kalmaktadır. Hemodiyaliz tedavisi için hastaların bir damar erişimleri olması gerekmektedir. Damar erişimleri başlıca geçici ya da kalıcı kateterler, AV fistüller ve greftlerle sağlanmakta ise de en çok tercih edileni natif AV fistüllerdir. AV fistül kayıpları hasta, hasta sahipleri ve bu işle ilgili hekim ve yardımcı sağlık personelini en çok uğraştıran konu olup, iş gücü kaybı ve kurumlar üzerine binen ek maliyet yükünü de beraberinde getirmektedir. İyi bir damar erişiminin sağlanması bu grup hastaların yaşam kalitelerini en üst düzeyde tutmak, gereksiz zaman kayıplarını ve maliyet artışlarının engellemek açısından son derece önemlidir.

Diyaliz hastalarında yaşam kalitesini bozan vasküler giriş kaybının, önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olduğu bilinmektedir (1,2). Bu hasta grubunda görülen vasküler giriş kaybı nedenleri hakkında birçok çalışma yapılmasına rağmen olayın

etyolojisi net olarak açıklanamamıştır (3,4). Renal yerine koyma (RYK) tedavilerinde gelişmelere rağmen, vasküler giriş kayıplarının % 80-85'i AV giriş yeri trombozu nedeniyle olmaktadır. Bu olguların % 80'inden fazlasında AV birleşimin venöz tarafında darlık oluşmaktadır (5). AV anastomozun venöz bacağındaki stenozun sıklıkla nedeni intimal hiperplazi gelişimidir. İntimal hiperplazinin ilerlemesiyle ve AV bölgesinde kan akımının yavaşlaması ile en sonunda tromboz oluşmaktadır (6). Histolojik kesitlerde düz kas hücre proliferasyonu, mikrodamar oluşumu, ekstraselüler matriks protein depolanması ve VEGF-A, bFGF (basic fibroblast growth factor), TGF- β (transforming growth factor-beta), PDGF (platelet derived growth factor), IGF-1 (insülin like growth factor-1), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 α) ve MMP-9 (Matriks metalloproteinaz 9) gibi sitokinlerin tespit edildiği bildirilmiştir (7-10). Ateroskleroz ve restenozun oluşturulduğu hayvan modellerinde VEGF-A'nın inhibe edilmesiyle restenozun azaldığı bildirilmiştir (11). Zachary ve ark. yaptıkları derlemede; VEGF-A iki tirozin kinaz reseptörlerine (VEGFR-1, VEGFR-2) bağlanarak endotel hücre göçünü direkt olarak uyarma yeteneğine sahip olduğunu, endotelial progenitör hücrelerin kemik iliğinden VEGF aracılığı ile mobilize edilebildiği, endotel hasarın bu hücrelerce hızlı bir şekilde endotelize edildiği, VEGF'in endotel hücrelerin apoptozdan korunmaları, çoğalmalarını ve göçünü yöneten, hasarlı endotelin tekrar endotelizasyonunu ve kolleteral oluşumunu sağlayan bir sitokin olduğunu bildirmişlerdir (12). Zohny ve ark. yüksek serum VEGF düzeylerinin natif AVF trombozu ile birlikte olduğunu bildirmişlerdir (13). VEGF genin farklı bölgelerinde yapılan gen polimorfizmi çalışmalarında ise, VEGF düzeyinin farklı olduğu belirtilmiştir (14). Literatürde hemodiyaliz hastalarında VEGF gene polimorfizmi ve VEGF-A düzeyinin AVF fonksiyon kaybına etkisini araştıran çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada; VEGF 936 gene bölgesindeki polimorfizminin ve buna bağlı plazma VEGF-A düzeylerinin AVF fonksiyon kaybına etkisini saptamak suretiyle, AVF kararı alınacak son dönem böbrek yetmezliği hastalarında önceden olası AVF kaybının gelişme riskini öngörmede önemli olabilecek klinik verilere ulaşılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI VE YETMEZLİĞİ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), dünyada ve ülkemizde epidemi halini almış önemli bir halk sağlığı sorunudur. Giderek artan sıklığı, yol açtığı yüksek morbidite ve mortalite oranları, yaşam kalitesini ciddi şekilde etkilemesi ve tedavisi için gereken renal replasman tedavilerinin yüksek maliyeti nedeniyle toplumsal yükü giderek artan bir hastalıktır (15-19).

Temelde yatan böbrek hastalığının etyolojisi ne olursa olsun en az 3 ay süren objektif böbrek hasarı ve/veya glomerüler filtrasyon hızının (GFH) 60 ml /dk/1.73 m²'nin altına inmesi durumu KBH olarak tanımlanmaktadır (Tablo 2.1) (20). Böbrek hasarına ait kanıtlar yapısal veya fonksiyonel nitelikte olabilir; bu bulgular idrar, kan testleri, görüntüleme çalışmalarından ve böbrek biyopsisinden elde edilebilir. Glomerüler disfonksiyonla sonuçlanan böbrek hasarının en sık rastlanan ve kolayca saptanabilen göstergesi proteinürüdür. Proteinüri diyabet, hipertansiyon ve glomerüler hastalıklarda böbrek hasarının en erken belirtisidir. İdrar mikroskopisinde anormal sedimentin bulunması veya böbrek görüntüleme çalışmasında anormal yapıların gösterilmesi böbrek hasarının kanıtlarıdır (21,22). Kronik renal hastalıklar sonrası hastaların % 90'dan fazlasında SDBY gelişir (23).

Tablo 2.1. Kronik böbrek hastalığının evreleri.

Evre	Tanım	GFH, ml/dk/1,73 m ²	Prevalans (%)
1	Normal veya yüksek GFH ile birlikte böbrek hasarı	≥ 90	3.3
2	Hafif GFH azalması ile birlikte böbrek hasarı	60-89	3
3	Orta derecede GFH azalması	30-59	4.3
4	Ağır derecede GFH azalması	15-29	0.2
5	Böbrek yetmezliği	<15 (veya diyaliz)	0.1

GFH: Glomerüler filtrasyon hızı

Evre V; böbrek yetmezliği aşaması olup, GFH'nın 15 ml/dk/1.73 m²'nin altına indiği renal replasman tedavisinin gerekli olduğu evredir (20,21).

Kronik böbrek yetmezliği glomerüler filtrasyon değerindeki azalma sonucu böbreğin sıvı-solüt dengesini ve metabolik - endokrin fonksiyonları düzenlemede kronik ve ilerleyici bir bozulma hali olarak tanımlanabilir. Glomerüler filtrasyon hızındaki azalmanın süresi 3 ay veya daha uzundur. GFH, genellikle aylar veya yıllar içinde giderek azalır; bu azalma temelde yatan nedene ve hastaya göre büyük değişiklik gösterir (20).

ABD'de son dönem böbrek yetmezliği olan hasta sayısı 2004 yılında 336.000 iken 10 yılda 2 katına çıkacağı tahmin edilmektedir (24-26). Ülkemizde ise renal replasman tedavisi gerektiren kronik böbrek yetmezliği hasta sayısı 2006 yılında 40.000'i geçmiş olup son 15 yıllık dönemde ortalama yıllık artış hızı % 12 dir (19).

İleri endüstrileşmiş ülkelerde ve ABD'de en sık neden diyabetik nefropatidir, ülkemizde de geçmiş yıllara göre diyabetik nefropati sıklığı giderek artmış ve ilk sırayı almıştır (25). Tablo 2.2'de 2008 yılı yıl sonu itibari ile, ülkemizde mevcut hemodiyaliz hastalarının etyolojik dağılımı görülmektedir (20).

Tablo 2.2. Türkiye'de mevcut hemodiyaliz hastalarında etyolojik dağılım oranları.

Etyoloji	Oran %
Diabetes Mellitus	27.9
Hipertansiyon	26.4
Kronik Glomerülonefrit	8.7
Polikistik Böbrek Hastalığı	4.4
Pyelonefrit	4.2
Amiloidoz	2.1
Renal vasküler hastalık	1.2
Etyolojisi Bilinmeyen	16.1
Bilgi yok	1.3

Son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) tedavisi renal replasman yani eksik olanı yerine koyma tedavileri olarak tanımladığımız diyaliz yöntemleri ve böbrek transplantasyonudur (26). Son yıllarda immünsüpresif tedavi ve cerrahi teknikteki gelişmeler böbrek transplantasyonunu oldukça başarılı bir tedavi yöntemi haline getirmiştir (27). Ancak yeterli sayıda böbrek vericisi bulunmadığından hastaların çoğu diyaliz tedavisine devam etmektedir. Bu durumda diyaliz tedavisi SDBY hastalarında temel tedavi olma özelliğini sürdürmektedir. Diyaliz tedavisi hemodiyaliz ve periton diyalizi olmak üzere iki şekilde uygulanır (28). SDBY tedavisinde kullanılan yerine koyma yöntemleri (RRT) içinde en sık tercih edilen yöntem hemodiyalizdir. Türk nefroloji Derneğinin 2008 kayıt sistemi verilerine göre ülkemizde primer RYK yöntemi hemodiyaliz olup (%74.5), bunu sırasıyla böbrek transplantasyonu (%14.5) ve periton diyalizi (%10.7) izlemektedir (19).

2.2. HEMODİYALİZ

Hemodiyaliz (HD), yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyalizat arasında sıvı-solüt değişimini temel alan bir tedavi şeklidir. Sıvı-solüt hareketi genellikle hastanın kanından diyalizata doğrudur ve bu diyalizatın uzaklaştırılması ile hastada mevcut olan sıvı-solüt dengesizliği normal değere yaklaştırılır (29). 1946 yılında Willem Koff tarafından ilk hemodiyaliz uygulaması başlangıçta akut böbrek yetmezliğinin tedavisinde, 1960'lardan itibaren de giderek SDBY bulunan hastalarda uygulanmaya başlanmıştır (30).

Yeterli kan akımının sağlanması için kalıcı veya geçici vasküler giriş yolu sağlanmalıdır. Geçici vasküler giriş yolu sağlamak için günümüzde kullanılan en yaygın yöntem çift lümenli bir kateterin femoral, subklavyen veya internal juguler vene yerleştirilmesiyle elde edilmektedir. Kalıcı vasküler giriş yolları başlıca arteriyovenöz fistül ve AV greftle sağlanmaktadır (30).

Etkin bir hemodiyaliz için giriş yolunun diyaliz makinesi içinden geçen yeterli kan akımını sağlayabilmesi (minumum 200 ml/dk), kolay ve güvenle kanüle

edilmesi, mümkün olduğunca kısa sürede kullanıma uygun olması, tekrarlayan kanülasyonlara izin vermesi (haftada 3 kez veya daha fazla), komplikasyonların az olması ve uzun süre yeterliliğinin sağlanıyor olması gereklidir (31-33).

K/DOQI klavuzuna göre ABD'deki hastaların % 40-50'si giriş yolu olarak AVF kullanmaktadır (34). Türk Nefroloji Derneği'nin 2008 yılı verilerine göre ülkemizde AVF kullanımını % 86 kullanım oranı ile ilk sıradadır (Tablo 2.3) (19).

Tablo 2.3. Türkiye'de 2008 yıl sonu itibariyle düzenli HD programında olan hastalarda damara ulaşım yolu ve oranları.

Damar ulaşım yolu	Oran(%)
AV fistül (natif)	85.4
Kalıcı (tünelli) kateter	7.7
Geçici Kateter	4.0
AV Greft	2.9

2.3. ARTERİOVENÖZ FİSTÜLLER

A.V fistül en basit tanımıyla arter ile ven arasında bir pencere açılmasıdır (30). SDBY hastalarının hemodiyaliz tedavisi için AVF oluşturulması, 1966 yılında ilk kez Brescia ve Cimino tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada yazarlar, hastaların ön kolunda radial arter ve sefalik ven arasında bir fistül oluşturmuş ve sefalik ven yolu ile başarılı bir şekilde hemodiyaliz tedavisini gerçekleştirmişlerdir (34).

Aterosklerotik risk faktörlerinin varlığı, diabetes mellitus, hipertansiyon, lipid anormallikleri, koroner kalp hastalığı, sigara içimi, diyaliz amaçlı girişim başarısını ve greft açık kalım oranlarını etkileyen önemli faktörlerdir. Elektif şartlarda hemodiyaliz için oluşturulmuş bir AV fistülün 2 yıl için ortalama açık kalma oranı % 66 civarındadır (35,39).

AVF için en uygun yer, dominant olmayan üst ekstremitenin mümkün olan en distal yeridir. Daha sonraki seçeneklerde üst ekstremitenin distalinden başlanarak proksimaline doğru var olan damarlar kullanılabilir (35).

İdeal bir AVF veya hemodiyaliz kateteri; dakikada 200 ml kadar bir kan akım hızına sahip olmalıdır. Ayrıca fistül oluşturulmuş ven yeterli uzunlukta, yüzeysel ve kolay ulaşılabilir bir alanda olmalı ve rahatlıkla kanüle edilebilmelidir. Bu nedenle AV fistüllerde mutlak suretle yüzeysel venler tercih edilmelidir. Uzun dönem hemodiyalize girecek hastalara mümkün olduğunca otojen venler kullanılarak fistül oluşturmaya çalışılmalıdır. Çünkü natif venlerde yapılan AVF'ler hem daha uzun süre açık kalır, hem de daha az komplikasyona neden olurlar (36).

AV fistül oluşturma şekilleri; uç-yan, yan-yana, uç-uca, arter uç olarak vene yan anastomoz teknikleri ile yapılabilir. Ancak yan-yana anastomoz tekniği daha kolay ve torsiyon olasılığı daha az olduğundan en çok tercih edilen tekniktir; yan-yana anastomoz yapıldıktan sonra venlerin distal kısmı bağlanarak uç yan fistüller elde edilebilir (37).

2.3.1. Snuff-Box (enfiye çukuru; fovea radialis) Fistülleri

Radial arterin tenar dalı ile sefalik ven arasında yapılan fistüllerdir (37). Snuff-Box fistül lokalizasyonu üst ekstremitede AVF oluşturulabilecek en distaldeki anatomik lokalizasyon olduğundan, hastaların memnuniyeti açısından da son derece yüz güldürücü bir tekniktir. Bu nedenle Snuff-Box fistüller, SDBY hastalarında mümkün olduğunca ilk tercih edilmesi gereken fistül olmalıdır (38).

2.3.2. Brescia-Cimino (radiosefalik) Fistülleri

M J. Brescia ve JE Cimino tarafından 1966 yılında hemodiyaliz amacı ile ilk tanımlanan AVF'dür. Günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır (34). Bilek hizasındaki radial arter ve sefalik ven arasında yan yana veya uç-yan olacak şekilde

yapılır (37). V. Wong ve ark.nın 100 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, Brescia-Cimino fistüllerinin; 6,12 ve 36 aylık açık kalma oranları % 80, % 71 ve % 64 olarak bildirilmiştir (35).

2.3.3. Brakio-Sefalik Antekübital Fistüller

Dirsek ekleminde sefalik ven ile brakial arter arasında yapılan anastomozla oluşturulan fistüllerdir. İyi sonuçlar bildirilmesine rağmen, AVF akımındaki yüksek basınç ve hiperdinami; çalma (steal) sendromunun, kardiyak yüklenme bulgularının ve venöz hipertansiyon ve anevrizma bulgularının diğer fistüllere oranla daha fazla görülmesine neden olmaktadır. Bu fistüllerin uzun dönem başarıları % 80-85 arasındadır (37).

2.3.4. Bazilik Ven Transpozisyonu

Uzun ve serbest (operasyon sonrası) bazilik ven kasların üzerinden cilt altına ve kolun lateraline transpoze edilerek uç-yan şeklinde brakial ya da radial artere anastomoz edilir. Bu sayede uzun ve iyi çalışan bir fistül veni sağlanmış olur. Her iki kolda, daha distalde fistül oluşturulacak yer kalmadığında ve antekübital sefalik venlerin kullanılamaması durumunda, bazilik ven transpozisyonu alt ekstremitte fistüllerine ve greft kullanılarak oluşturulan fistüllere geçilmeden önce tercih edilmesi gereken bir yöntemdir (37).

2.3.5. Hemodiyalizde AVF'ün Erken ve Geç kayıpların tanımı

Erken AVF kaybı, bir AVF hemodiyaliz için kullanılabilir hale gelememiş veya ilk diyalizde kullanıldıktan sonraki ilk üç ay içerisinde hastanın hemodiyalize girmesi için AVF yerinin değişmesi ya da revize edilmesi için perkutan ya da cerrahi girişimlerin gerekmesidir. Erken AVF kayıp sık olup, % 20-60 arasındadır. Geç AVF

kaybı, Hemodiyaliz hastasının açılan AVF ile üç ay hemodiyalize girdikten sonraki AVF fonksiyon kaybıdır (40).

2.3.6. AVF Komplikasyonları

Başlıca komplikasyonlar; tromboz, kanama, venöz hipertansiyon, anevrizma oluşumu, çalma (steal) fenomeni, konjestif kalp yetmezliği, enfeksiyonlar ve sinir yaralanmalarıdır (38) .

2.3.7. AVF Trombozu

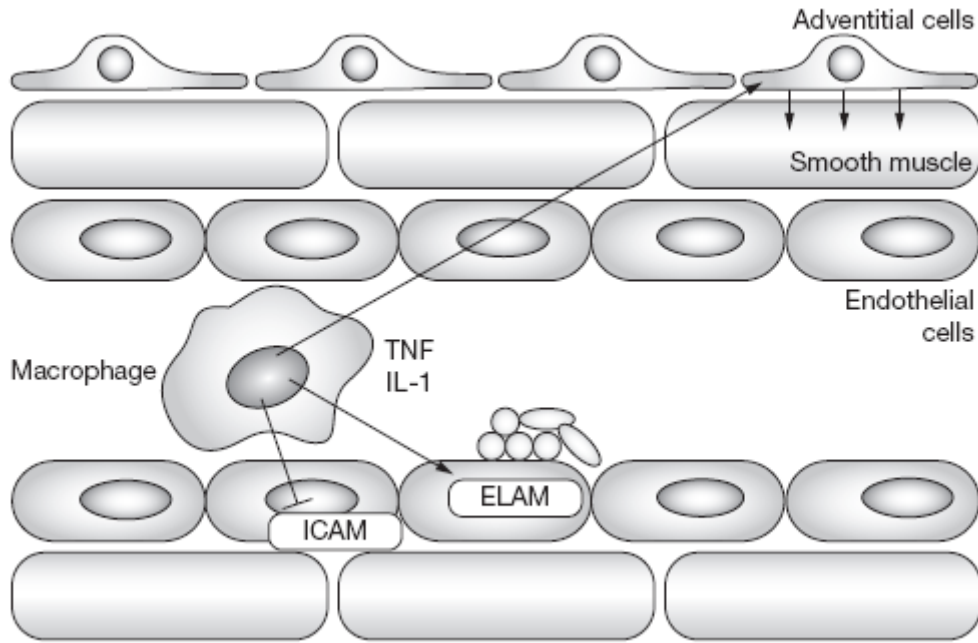
Hemodiyaliz amaçlı girişimlerde tromboz halen en sık görülen komplikasyon olup, erken ve geç dönemlerde görülebilir. Ortalama olarak AVF gerçekleştirilen hastaların % 20 sinde karşılaşılan bir sorundur (38). AVF'ün bu trombotik komplikasyonu % 80 den fazla olguda intimal hiperplaziye bağlı olarak ortaya çıkan venöz stenoza bağlı olarak gelişir (41). Erken dönemde görülen trombüs nedenleri; cerrahi teknik hata, koagülasyon bozukluğu, hipotansif ataklar ve kalp yetmezliğine bağlıdır. Uzun dönemde ise, en sık neden olarak venöz anastomoz akımında oluşan neointimal hiperplaziye bağlı olarak gelişen stenozdur. Yapay greftler otojen ven greftlerine göre daha çok tromboze olmaktadır (38).

2.3.8. Venöz İntimal Hiperplazi

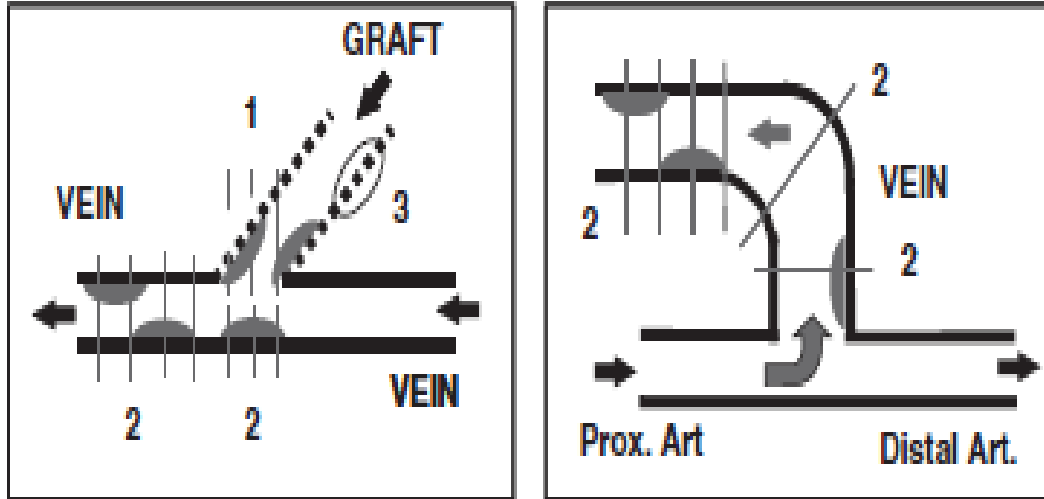
Venöz stenoz arteriovenöz greftte hem de natif AVF'de venöz kısımda neointimal hiperplaziye bağlı olarak gelişmektedir. Burada düz kas hücre/ myofibroblast migrasyonu ve proliferasyonu, mikrodamar oluşumu ve ekstraselüler matriks depolanması vardır (6). Neointimal hiperplazi patogenezinde yaygın olan görüş; media bölgesindeki düz kas hücrelerin proliferasyonu ve intimaya göçüdür. Diyaliz giriş yeri fonksiyon kaybının spesifik nedenleri arasında; cerrahi hasar, diyaliz işlemi sırasında diyaliz iğnelerin girişi, hemodinamik stres yapıcılar, özellikle

nonlaminar kan akımı, düşük shear stres oranları, greft-ven ve arteriovenöz anastomozda türbülant akım, özellikle intimal hiperplazi ve tromboz oluşumu belirtilmektedir (41,42). AVF açılmasında 3.5 ay gibi sürede AVF fonksiyon kaybı olan vakalarda intimal hiperplazi tespit edilmiştir. Neointimal hiperplazi yaygın olarak media bölgesindeki hücrelerin migrasyonu olarak bilinsede, son yıllarda yapılan çalışmalarda diyaliz giriş yeri stenozuna adventisiyal hücrelerin migrasyonun da katkısı olmaktadır (43,44). Arteriovenöz birleşim sağlandıktan sonra kan akımındaki artış, endotel hücrelerindeki siklooksijenaz ve nitrik oksit sentetazı uyararak prostasiklin ve nitrik oksit yapımını artırmaktadır. Sonuçta damarda vasodilatasyon oluşmaktadır. Artan shear stres süperoksid (O₂⁻) radikal yapımını ile ortamdaki nitrik oksitle birleşip peroksinitrit oluşumuna neden olur. Peroksinitrit MMP-9 yapımını uyararak internal elastik laminanın parçalanmasıyla beraber vasküler dilatasyonu artırır. Ancak ortamda yeteri kadar nitrik oksit bulunmazsa oluşan serbest radikaller doku hasarını artırmaktadır (44). Üremik hastalarda endotel fonksiyon bozukluğu yaygındır. Buna neden olarak hastalarda artan oksidatif stres , asimetrik dimetil arjinin(ADMA) gibi nitrik oksit sentez inhibitörlerinin varlığı, az sayıda ve fonksiyonu azalmış progenitör hücreler gösterilmiştir (45-47). Ayrıca, anjiotensin II aracılığı ile olan vasküler düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu, doku faktörlerin inhibisyonu ve inflamatuvar hücreler ile trombositlerin endotele yapışmasının inhibe edilmesi de vasodilatasyona katkıda bulunur (48). AVF açılmasından sonra bu duruma ters olarak; intraluminal basınç artışı damarda vasküler düz kas hücre proliferasyonuna ve damar duvar kalınlaşmasına yol açmaktadır. Anjiotensin dönüştürücü enzim endotel boşluklarında olan bir enzim olduğundan, damar hasarına duyarlı olup hemen yanıt verir. Bu nedenle anjiotensin II'nin vasküler giriş yerindeki vasküler düz kas hücre proliferasyonunda kritik bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Anjiotensin II endotel fonksiyonunu azaltır, doku faktörünü aktive eder, plazminojen aktivatör inhibitör-1'i veya doku plazminojen aktivatör inhibisyonu ile fibrinolitik faktörleri inhibe etmektedir (49,50). Aynı zamanda vasküler düz kas hücresinde vasokonstriksiyonu, hipertrofiyi ve proliferasyonu trombosit kaynaklı büyüme faktörü aracılığı ile artırmak için vasküler

düz kas hücre reseptörleriyle reaksiyona girmektedir (51,52). VDKH'leri intimaya göç ettiren sonra çoğalmaya başlarlar ve normal endotel üzerinde bulunan glycocalyx'den tamamen farklı bir glikoprotein matriksi yapmaya başladıkları tespit edilmiştir (48). VEGF'in endotel hücrelerin apoptozdan korunmalarını, çoğalmalarını ve göçlerini yöneten ve aynı zamanda hasarlı endotelin tekrar endotelizasyonunu ve kolleteral oluşumunu sağlayan bir sitokin olduğu bilinmektedir (12). VDKH çoğalması intimal hiperplazi gelişiminde bilinen bir mekanizma ise de, son zamanlarda advensiyel hücrelerinde rolü olduğu bildirilmektedir (53,54). Makrofajlardan salınan TNF ve IL-1 ve endotel hücreleri üzerindeki intraselüler adezyon molekülleri ile lökositlerin endotele yapışması sağlanır. Ayrıca bu sitokinler advensiyel hücrelerin çoğalmasını ve göçünü uyarmakta, düz kas hücrelerin yaptığına benzer şekilde intimada hiperplaziye yol açmaktadır (Şekil 2.1) (48).



Şekil 2.1. İntimal hiperplazide, advensiyel ve düz kas hücrelerinin rolleri.



Şekil 2.2 Greft ve Arteriovenöz Fistül'de neointima gelişim yerleri.

İntimal hiperplazi AVF'ün venöz bacağına meydana gelirken, AV greftte hem ven bacağına hemde greftin venle anastomoz yaptığı bölümde gelişmektedir. Zaman ilerledikçe intimal hiperplazi gelişen bölümlerden (Şekil 2.2) geçen kan akımı azalır ve düşük shear stres'in de katkısıyla tromboza eğilim artmaktadır (55). Artık hemodiyaliz hastaları etkin hemodiyaliz tedavisi alamazlar ve günün birinde AVF trombozu ile AVF kaybı yaşamaktadırlar. Normalde trombozun ortadan kaldırılması ya da organize olup vasküler yatağı tıkaması yara iyileşmesine benzer bir durum olduğu ifade edilmiştir. Trombozun organizasyonu hemen başlar ve vasküler kanalların oluşumu ile beraberdir. Rekanalizasyon gelişimi için birçok hücre uyarılır. Bunlar endotel hücreleri, makrofajlar, kemik iliği kaynaklı progenitörler'dir. VEGF'ün tromboz içinde vasküler kanalların oluşumunu hızlandırarak etki ettiği bildirilmiştir(56).

2.4. HEMOSTAZ

Hemostaz, damarlarda dolanan kanın sıvı olarak tutulmasını sağlayan fizyolojik bir mekanizmadır. Hemostaz işlevinin yetersizliği sonucu hemorajik diyatez ortaya çıkar. Hemostaz sürecinin amacından sapmış ve abartılı bir biçimde gelişimi sonucu tromboz oluşur.

Hemostaz işlevinde üç biyolojik sistem rol alır.

1-Kan damarları

2-Trombositler

3-Pıhtılaşma faktörleri

Bir damar travmatize olduğu zaman ilk önce refleks bir vazokonstriksiyonla kan akımı yavaşlatılır ve ardından trombositlerin oluşturduğu küme tarafından gedik kapatılır. Geçici olarak kanamanın durdurulmasını sağlayan bu sürece primer hemostaz denir.

Sekonder hemostazın sağlanması ise pıhtılaşma reaksiyonlarının sonunda fibrin oluşumuyla gerçekleşir. Hemostaz tıkaçının oluşumundan hemen sonra damarın onarımı başlar. Fibrin kütlesi fibrinolitik sistem tarafından kaldırılır, damardaki defekt endotel hücreleriyle örtülür (57).

2.4.1.Kan Damarları

Vasküler sistem hem antikoagülan hem de prokoagülan özelliği bir arada barındırır. Endotel; prostasiklin (trombosit adezyon ve agregasyonuna engel olarak), trombomodulin (Trombin trombomodulin ile birleşerek protein C'nin aktivasyonu ve aktive Protein C; FV ve FVIII'in inaktivasyonuna neden olarak) ve Doku Plasminojen Aktivatörü (tissue plasminogen activator t-PA) sentez ederek antikoagülan özelliğe sahip iken, diğer taraftan Von-Willebrand faktör (vWF) sentezi ile trombosit adezyonunu arttırdığı gibi, doku faktörü sentezi ile koagülasyon

mekanizmasının aktivasyonuna ve plasminogen aktivator inhibitör (PAI-1) sentezi ile fibrinoliz inhibisyonuna neden olmaktadır (57).

2.4.2. Trombositler

Endotel altı dokunun trombositlerle reaksiyona giren en önemli birimi kollajendir. Trombositlerin kollajene adezyonu, trombosit membranındaki kollajen reseptörleri (GP Ia/IIa) aracılığı ile olur. Glikoprotein Ib/IX/V reseptörleri adezyonun stabilitesinde rol alır. Adezyon sonrası trombositlerdeki yoğun granüllerinden salınan ADP, hasar bölgesinden geçen trombositleri, membranlarındaki reseptörlerini (GP IIb/IIIa) açığa çıkarmak suretiyle plazmadaki fibrinojeni bağlamalarına elverişli kılar (57). VEGF invitro endotel hücrelerinden vWF salınımına neden olabilmektedir (56).

2.4.3. Pıhtılaşma Faktörleri

Pıhtılaşma tepkimelerinde yer alan faktörlerden Faktör VIII dışında tüm pıhtılaşma faktörlerinin başlıca yapım yeri karaciğerdir. Faktör VIII'in pıhtılaşma aktivitesi gösteren parçası (VIII:C) karaciğerde, diğer parçasını oluşturan ve multimerik glikoprotein olan von Willebrand faktörü ise endotel ve megakaryositlerde sentez edilir. Von Willebrand faktörü multimerlerinin en önemli işlevlerinden biri Faktör VIII koagülan proteinin stabilizasyonunu ve dolaşımında taşınmasını sağlamak, diğeri ise trombositlerin endotel altı dokuya adezyonuna yardım etmektir (57).

Faktör II (protrombin), VII, IX, X karaciğerde sentezi sırasında K vitaminine gereksinim gösteren proteinlerdir. Bunlar "Protrombin grubu faktörler" olarak adlandırılırlar. K vitamini bu proteinlerdeki glutamik asid rezidülerinin karboksilasyonunu sağlar. Böylece fosfolipid yüzeylere bağlanabilme yeteneği kazanırlar (57).

Pıhtılaşma proteinleri glikoprotein yapısında olup, inaktif prekürsörlerdir. Çoğu aktive olunca sınırlı proteoliz yapan serin proteaz denilen enzimlere dönüşür ve

kendinden sonrakini aktive eder. Faktör V, VIII, III ise proteoliz reaksiyonlarını katalize eden kofaktörlerdir (57).

Plazma faktörleri dışında pıhtılaşma reaksiyonları için gerekli fosfolipid yüzeyler trombositler (trombosit faktör 3, TF3) ve hücre membranları tarafından sağlanır. Doku faktörü hücre membranlarının hemen hemen tümünde bulunan bir glikoproteindir (57).

2.4.4.Pıhtılaşma Mekanizması

Pıhtılaşma olayında 3 evre gözlenir; bunlar protrombinaz oluşumu, trombin oluşumu, fibrin oluşumudur. Protrombinaz oluşumu için faktör X'un aktive edilmesi gerekir. İn vitro olarak faktör X'un aktive edilmesi intrinsek ve ekstrinsek pıhtılaşma sistemleri tarafından sağlanabilir (57).

2.4.5. İntrensek Pıhtılaşma Sistemi

Bu sistemde pıhtılaşma, dolaşan kanda mevcut olan intrinsek komponentlerle meydana gelir. Faktör XII'nin yabancı bir yüzeyle temas sonucu aktive olması intrinsek pıhtılaşmayı başlatır. Faktör XII ile birlikte, prekallikrein ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK) intrinsek yolun başlangıcında (kontakt aktivasyon) yer alırlar. Faktör XII aktive olduktan sonra faktör XI'in aktivasyonunu sağlar. Faktör IX, aktive faktör XI tarafından aktive edildikten sonra faktör XIII:C ile birlikte faktör X'u aktive eder. Bu tepkime, birikim olmuş trombositlerin yüzeyinde oluşur. Faktörlerin trombosit fosfolipidlerine bağlanması kalsiyum iyonu köprüleri ile sağlanır. Trombosit membranı üzerinde faktör IX ve kofaktör VIIIa'dan oluşan komplekse "Tenase" adı verilir. Bu kompleksin işlevi faktör X'u aktive etmektir. Faktör X'un aktive olduktan sonra trombositlere bağlı faktör Va ile oluşturduğu kompleks "Protrombinaz" adını alır. Protrombinazın protrombini enzimatik olarak parçalamasıyla trombin oluşur. Güçlü bir enzim olan trombin fibrinojen

molekülünden küçük peptitleri ayırarak fibrin monomerini oluşturur. Bu monomerler birleşerek fibrin polimerini (fibrin pıhtısını) meydana getirirler. Trombin tarafından aktive edilen faktör XIII, kalsiyum iyonlarının aracılığıyla fibrin polimerlerini mekanik yönden sağlam bir şekle dönüştürür (57).

2.4.6. Ekstresek Pıhtılaşma Sistemi

Bu sistemde kanda bulunmayan doku faktörü (Faktör III) rol alır. Doku faktörü, faktör VII ve kalsiyum iyonu ile birlikte faktör X'u direkt olarak aktive eder. Faktör X'un aktivasyonundan sonraki trombin ve fibrin oluşum evreleri intrinsek sistemdeki ile ortaktır. Bundan dolayı bu evrelerdeki reaksiyon dizisi için "ortak yol" deyimini kullanılır.

Günümüzde koagülasyon mekanizmasını açıklayan yeni bilgilere dayanan hipoteze göre in vivo pıhtılaşma ekstresek yani doku faktörü yolu tarafından başlatılır (57).

2.4.7. Pıhtılaşma Tepkimelerinin Denetimi

Pıhtılaşma olayının vasküler hasar bölgesinin dışına taşmaması çeşitli denetim mekanizmalarıyla sağlanır. Normal plazmada pıhtılaşma faktörlerini nötralize eden inhibitörler vardır. Başlıcaları; Antitrombin III, Protein C, Protein S ve Doku faktörü yolu inhibitörüdür (TFPI: Tissue Factor Pathway Inhibitor).

Antitrombin III: Trombini nötralize eden en önemli inhibitördür. Ayrıca faktör IX, X, XI ve XII'nin aktive şekillerinin de nötralizasyonunu sağlar.

Protein C ve Protein S: K vitaminine bağımlı sentezi yapılan bu iki antikoagülan, protein C (proenzim) ve protein S (nonenzimatik kofaktör) faktör VIIa ve Va'nın inaktivasyonunda rol alırlar. Trombin-trombomodulin kompleksi protein C'yi aktive eder. Aktive protein C, kofaktörü protein S ile birlikte faktör VIIa ve Va'nın nötralizasyonunu sağlar.

Doku Faktörü İnhibitörü (TFPI) trombositlerde ve bol miktarda endotel yüzeyine bağlı olarak bulunur. Faktör Xa'yı ve doku faktörü/VIIa kompleksini inhibe eden bir inhibitördür (57,58).

2.4.7.1. Fibrinoliz

Koagülasyon süreci, doğal koagülasyon inhibitörlerinin yanı sıra fibrinolitik sistem ile de dengelenir. Fibrinolitik sistemin amacı fibrini parçalamaktır. Bu süreci aktif enzim plazmin ile yapar. Plazminojen ön enziminin aktivasyonu ile plazmin oluşur (59). Bu süreci katalizleyen t-PA (tissue plazminogen activator, doku plazminojen aktivatörü) ile onu inaktive eden PAI-1 (plazminogen activator inhibitor 1, plazminojen aktivatör inhibitör 1) arasındaki dinamik denge endojen fibrinolitik yanıtı belirler, t-PA ve PAI-1, vasküler endotelde sentezlenir (60,61). Fibrinoliz inhibitörleri, alfa-2 antiplazmin (plazmin inhibitörü) ve PAI-1'dir. Streptokinaz, ürokinaz, rekombinan t-PA gibi profibrinolitik ilaçlarla farmakolojik olarak fibrinoliz uyarılabilir ve bu yaklaşım günümüzde akut arteriyel ve venöz tromboz tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (60,62,63).

2.5. TROMBOFİLİ

Trombofili (thrombo-philia: trombozu sevmeye), tromboza eğilim oluşturan durumları tanımlamakta kullanılan bir terimdir. Tromboz gelişimi multifaktöriyeldir. Çok sayıda edinsel ve kalıtsal faktör farklı mekanizmalarla tromboza neden olur Arteriyel ve venöz sistemde trombus formasyonunun farklı olması, bu iki sistemde farklı etyolojilerin rol oynadığını düşündürmektedir. Arteriyel sistemde endotel hasarı ve trombositlerin fonksiyonel bozukluklarının rol oynadığı, venöz sistemde ise daha çok staz ve pıhtılaşma sistemine ait bozuklukların tromboz gelişimine neden olduğu bilinmektedir (64).

Kalıtsal trombofili nedenleri Tablo 2.6'da özetlenmektedir (63-70). Kalıtsal trombofili nedenlerini genetik olarak taşıyan bireylerde tromboz riski artmakla birlikte, yaşamları boyunca hiç bir trombotik atak geçirmemeleri de mümkündür.

Ayrıca bu kişilerde tekrarlayan trombotik ataklar arasında uzun süren asemptomatik dönemler olabilmektedir. Bu durum, tek başına kalıtsal nedenlerin yeterli olmadığını, tromboz gelişiminde bazı edinsel faktörlerin de katkısı olduğunu göstermektedir (69-72).

Tablo 2.5. Edinsel Trombofili Nedenleri.

Arteriyel tromboz nedenleri	Venöz tromboz nedenleri
İleri yaş	İleri yaş
Ateroskleroz	Genel cerrahi girişimleri
Sigara içme	Ortopedik cerrahi girişimleri
Hipertansiyon	Travma
Diabetes mellitus	İmmobilizasyon
Antifosfolipid sendromu	Antifosfolipid sendromu
LDL kolesterol yüksekliği	Konjestif kalp yetersizliği
Hipertrigliseridemi	Nefrotik sendrom
Sol kalp yetersizliği	Obezite
Atrial fibrilasyon	Malignite
Oral kontraseptif kullanımı	Varisler
Östrojen kullanımı	Gebelik
Lipoprotein(a) yüksekliği	Postpartum dönem
Polistemi	Oral kontraseptif kullanımı
Hiperviskozite sendromları	Östrojen kullanımı
Lökostazis sendromları	Behçet Hastalığı
Yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu	
Trombotik trombositopenik purpura	
Hemolitik üremik sendrom	
Vaskülitik sendromlar	

Tablo 2.6. Kalıtsal Trombofili Nedenleri.

Bozukluk	Toplumdaki sıklığı (%)	Trombozlu hastalardaki sıklığı (%)
Antitrombin eksikliği	0.02	1
Protein C eksikliği	0.2	3
Protein S eksikliği	0.1	1-2
APC direnci/FV Leiden mutasyonu	3-6	20
Hiperhomosisteinemi	5-10	10-25
Protrombin 20210A	1-2	6
FVIII yüksekliği	11	25

(APC: Aktive Protein C)

2.6. VEGF SİSTEMİ

2.6.1 VEGF Ailesi

Ailenin yedi üyesi vardır: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, Plasenta büyüme faktörü (PIGF) ve snake venom-derived VEGF (svVEGF). VEGF-E ve svVEGF dışındaki tüm üyeler memeli genomuna kodludur.

VEGF-A geni, kromozom 6p21.3'teki lokalizasyonda kodlanmıştır. Aynı zamanda Human-VEGF olarak bilinir. VEGF-A bazı makalelerde sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır (73). VEGF-A'nın şu ana kadar bilinen altı adet izoformu vardır. Bunlar VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ olarak isimlendirilmişlerdir ve isimlerindeki sayılar içerdikleri amino asit sayılarını göstermektedir. Bu izoformlardan VEGF₁₂₁ hariç, hepsi heparine bağlanmaktadır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅ ve VEGF₁₆₅ salgılandığında kolayca diffüze olur ve erimiş formları sıvılarda saptanabilir. VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ ise salgılandığı halde hücre aracılı olarak kalır ve varlıkları testlerle kolayca saptanamaz. VEGF₂₀₆, VEGF'ün

orijinal karakteristik formu olup, yaklaşık 34-46 kDa ağırlığında homodimerik bir glikoproteindir. VEGF₁₆₅, VEGF₁₂₁'in aksine hücre yüzeyindeki veya ekstrasellüler matriksteki proteoglikanlara ve heparine bağlanma özelliği olan ve biyolojik aktivite ve miktar bakımından dominant olan subtiptir. VEGF₁₈₉ heparin ve heparan sülfat proteoglikanına bağlanmayı tetikler ve artırır. VEGF-A VEGFR-1 ve VEGFR-2'ye bağlanırken, neuropilin-1'e hafif bağlanır. Fakat VEGFR-3'e bağlanma özelliği göstermez (73-75). VEGF-A'nın etkileri lokal konsantrasyonuna kuvvetle bağlıdır. Düşük fizyolojik VEGF-A miktarları kardiyovasküler hemostaz, endotel hücre ömrü, prostasiklin, nitrik oksit üretimi için gereklidir. Böylece, vasodilatasyon, antitromboz ve düz kas hücre proliferasyonunun baskılanması meydana gelmektedir. Daha yüksek konsantrasyonlar angiogenik ve vaskulogenik etkiler için gereklidir. VEGF-A'nın up regulasyonu yeterli perfüzyon ve endotel bütünlüğünü sağlamaktadır. VEGF-A ve diğer aile üyelerinin atherogenezin başlatılmasında rollerinin olmadığı, atherogenez sırasında sürekli VEGF-A yüksekliğinin büyüyen lezyonlarda hipoksi ve inflamasyona sekonder olduğu ileri sürülmüştür (76-78).

VEGF-B, başlangıçta VEGF-A ile %23'ü homolog olan bir sinyal peptidinin bölünmesinden sonra, 186 amino asitli bir protein olarak oluşur. Sonra, ekson-6'da oluşan bir alternatif splicing ile tamamen farklı terminal COOH- grupları içeren 167 amino asitli bir proteine dönüşür (77). VEGF-B, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)'e bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmalarında rol alır (74).

VEGF-C, VEGF-benzeri protein olarak da bilinir. VEGF-A ile %16'sı benzeyen 388 amino asitten oluşmuştur. Lenfatik damarların oluşmasında (lenfanjiogenez) rol oynamaktadır. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotelial hücrelerde mitojenik etki yapar (75).

VEGF-D, 334 amino asitten oluşan ve VEGF-A'ya % 31 oranında aynı amino asitler içeren bir proteindir (19). C-terminal uçlarında zengin sistein domainleri içerir. Bu da VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak VEGF-C ile benzer işlevler yapar (74,75).

VEGF-E, VEGF-A ile amino asit dizilimi % 25 oranında aynı olan bir polipeptittir. Güçlü bir mitojen ve permeabilite arttırıcı faktördür. VEGFR-1'e bağlanmayı başaramaz ama VEGFR-2'ye seçici olarak bağlanarak etkisini gösterir (75-77).

PlGF, VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesidir. Sinyal peptitlerinin bölünmesi sırasında önce 131 amino asite sahiptir. Daha sonra yeni amino asitlerin eklenmesiyle VEGF-A ile benzeşen ve 152 amino asit içeren son şekli oluşur. VEGF-B gibi VEGFR-1'e bağlanarak etki gösterir (77).

Sv VEGF, Japonya'nın güneyinde görülen Habu yılanından elde edilen Habu toksini, yılan venonumda bulunmaktadır. svVEGF sıkı bir şekilde VEGFR-1'e bağlanırken, zayıf bir şekilde VEGFR-2'ye bağlanmaktadır. Sonuç olarak kuvvetli vasküler geçirgenlik ile hafif bir angiogenik aktivite oluşmaktadır (73,74).

2.6. 2. VEGF Sentezi

Endotel hücreleri için önemli bir mitojen olan ve migrasyon etkisine sahip bu faktör, fizyolojik olarak ovulasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu arttırırken, ovulasyondan sonra bu salgılama görevini korpus luteum üstlenir. Erken implantasyon döneminde embriyo trofoblastlarınca salgılanır (79). Embriyolojik gelişimin ilk dönemlerinin sonuna doğru VEGF biraz azalırken, organogenez döneminde oldukça yükselir. Yine VEGF yetişkinde akciğer alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde gösterilmiştir (80,81). Ayrıca, adrenal korteksin tüm hücrelerinde ve testiste testosteron üreten Leydig hücrelerinde VEGF yapımına ait mRNA'ların sentezlendiği gösterilmiştir. VEGF'ün gösterilmesi için yapılan immunositokimyasal çalışmalarda aktive makrofajlarda, arteriollerini çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde, koroid pleksus epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde varlığı gösterilmiştir (73).

VEGF mRNA'sının transkripsiyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), epidermal büyüme faktörü (EGF),

tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) ve interlökin- β 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Böylece bu maddelerin mitojenik olmadığı, VEGF salgılanmasına yol açarak mitojeniteyi arttırdıkları gösterilmiştir (74,78). Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan en etkili stimuluslardan biridir. Buna örnek olarak, büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilmiştir. Yine, tıkalı kalp damarlarına bağlı olarak gelişen hipoksi sonrasında da, VEGF ekspresyonu artmaktadır. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir (82,83). Ayrıca hiperglisemi, oksidatif stres, angiotensin II ve ileri derecede glikolize olmuş son ürünler (AGE) VEGF düzeyini arttırmaktadırlar (84,85).

2.7. VEGF DÜZEYİ ve BÖBREK YETMEZLİĞİNİN KATKISI

Trombositler, dolaşımdaki VEGF düzeyinin ana kaynağı olarak bilinmektedirler (86). Bu nedenle serum VEGF düzeyi, plasma düzeylerinden yüksek bulunmaktadır (87,88). Hemostatik tıkaç oluşumu ve pıhtılaşma sırasında ve inflamatuvar uyarıya yanıt olarak VEGF düzeyi artmaktadır (89,90). Obesitenin anlamlı olarak VEGF-A düzeyini arttırdığını bildirilmiştir (91). Plazma VEGF düzeyi ile hiperkolesterolemi ve hipertansiyon arasında pozitif bir korelasyon bildirilmiştir (91-95). Kusumanto ve ark. nötrofil aktivasyonunda, nötrofillerin toplam dolaşan VEGF düzeyine katkısının % 60 kadar olduğu bildirmişlerdir (96). VEGF üremik hayvanlarda ve üremik hastalarda yüksek düzeylerde bulunmuştur (40,41,97). Bu durum anjiogenik proteinin yetersiz renal klirensininden kaynaklandığı bildirilmiştir (41). Hemodiyaliz hastalarında serum VEGF düzeyinin yüksek olduğunu, bunun yanında VEGF düzeyinin farklı olmadığını bildirenler de olmuştur (6,98,99).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklemin Özellikleri

Çalışmamızda Cumhuriyet Üniversitesi Nefroloji Bilim Dalı Polikliniği Hemodiyaliz ve Periton Diyalizi Üniteleri, Sivas Numune Hastanesi ve Sivas'daki Özel Diyaliz Merkezlerinde izlenen toplam 520 hasta taranarak olgu ve kontrol grupları oluşturuldu. Tüm hastalar çalışma konusunda bilgilendirilerek yazılı onam formu alındı. Çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi Etik Kurulunca 07.04.2009 tarih ve B.30.2.CUM.0.1H.00.00-09/33 sayılı kararla onandı. Çalışmanın mali kaynağı araştırmacının kendisi ve VEGF-A kit için Novartis AŞ tarafından sağlandı.

Çalışmaya alınmama kriterleri: ileri yaş, geçirilmiş SVH ve MI öyküsü, yaygın ateroskleroz, böbrek yetmezliği dışında diyabete bağlı ileri düzeyde hedef organ hasarı (yaygın ateroskleroz, görme kaybı, periferik arter hastalığı, diyabetik ayak), immobilizasyon, kalp yetmezliği, hipotansiyon atağı öyküsü olarak belirlendi.

Olgu grubu, AV fistül operasyonundan sonraki üç ay süresince AV fistülü fonksiyone iken, daha sonraki zaman süresinde en az 2 kez AV fistül fonksiyon kaybı yaşayan 42 hasta ile oluşturuldu. Olgu grubu cerrahi teknik, anevrizma, infeksiyon gibi nedenler ekarte edilerek fistül fonksiyon kaybının nedeni olarak trombozun saptanmış olduğu olgulardan oluşmaktaydı. Fistül trombozları öykü, fizik muayenenin yanı sıra doppler USG ve/veya fistülografi ile doğrulandı.

Kontrol grubu ise ilk AV fistül operasyonundan sonra en az 3 yıl süreyle ve sonrasında hiç AV fistül fonksiyon kaybı yaşamamış, yani en az 3 yıl boyunca AV fistülü intakt olan 38 hasta ile oluşturuldu. Kontrol grubu ve olgu grubundaki AV fistül operasyonları tek merkezde ve aynı cerrahi ekip tarafından gerçekleştirilmiş olması hastaların seçiminde belirleyici bir kriterdi. Hastalar retrospektif olarak değerlendirildi.

İki grup için yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı, çalışma esnasında kullanılan ilaçlar (ACEİ-ARB, D-vitamini, ESA, fosfor bağlayıcı, anti-platelet ilaçlar, B kompleks vitamin preparatları, folik asit, parenteral demir) gibi parametreler kayda alındı. Son dönem böbrek yetmezliğinin etyolojisi diabetes mellitus, hipertansiyon, glomerülonefrit, polikistik böbrek hastalığı, FMF, nefrolitiazis ve diğer nedenler olarak kategorize edildi. Hemodiyaliz parametrelerinden Kt/V, hemodiyaliz süresi ve mevcut çalışır durumdaki damaryolu ulaşım yeri değerlendirildi. Akses lokalizasyonu ön kol proksimal, ön kol distal ve ön kol orta hat olarak sınıflandırıldı.

Laboratuvar parametrelerinden CaXP, PTH, LDL, hemoglobin, albumin değerleri hasta dosyalarından yararlanılarak tespit edildi. Plazma VEGF-A düzeyi ölçümü için, hastalardan sabah aç karnına ve hemodiyaliz seansı öncesi EDTA içeren vacutainer'li tüplere 4 cc kan alındı. Numuneler soğuk zincir ile korunarak 30 dakika içinde 1000g 'de 15 dakika santrifüj edilerek ölçümler yapılana kadar -20 °C da saklandı.

Plazma VEGF-A Human düzeyi, VEGF immunoassay ELİSA kiti (DVE00 96 kuyucuklu plate: Plate no:2727268, Son kullanım tarihi: 09.02.2011, Quantikine Human VEGF kit Lot no: 273509, son kullanım tarihi:08.11.2010, R&D systems, Minneapolis MN,USA) ile TriTurus Mikro ELİSA Cihazıyla (Grifols for invitro diagnostic use, Serino:053-110-1058, Diagnostic Grifols, SA Passeig Fluvial24.08150 Parets del valle's, SPAIN) otomatik olarak Cumhuriyet Üniversitesi hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında kit talimatına göre yapıldı. Kalibratör RD64 ile minimum tayin edilebilen düzey 9.0 pg/ml 'den düşükdü.

3.2. DNA izolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan olgulardan, 1 cc 0,5 M Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Sigma, ABD) içeren tüp içerisine, 5 cc kan örneği alındı. Alman kan örneği falkon tüpü içerisinde 25 cc RBC (Red Blood Cell) lizis solüsyonu [155 mM Amonyum Klorid (AppliChem, Almanya); 10 mM Sodyum Bikarbonat (Merck,

Almanya); 0,5 mM EDTA (AppliChem, Almanya)] ile karıştırılarak 20 dk buzda bekletildi. Daha sonra +4°C’ de 4000 rpm’ de 20 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edildikten sonra süpernatant dökülüp, pellet üzerine tekrar 25 cc RBC Lizis solüsyonu eklendi. Bu işlem tüm eritrositler giderilene kadar tekrarlandı. Dipte kalan lökositler üzerine 1000 µl RBC lizis solüsyonu eklenip, bu karışımın 800 µl’si ependorf tüpüne alınarak stok olarak saklandı. Geriye kalan 200 µl’ lik karışım ependorf tüpüne alınarak üzerine 20 µg/ml olacak şekilde Proteinaz K enzimi (MBI Fermentas, Litvanya), son derişim % 0,5 olacak şekilde % 10’ luk Soydum Dodesil Sülfat (Merck, Almanya) ve lökosit hacminin 2,5 katı olacak şekilde nükleaz solüsyonu [10 mM Trisklorid (Amresco, ABD) pH: 8; 100 mM Sodyum Klorid (Merck, Almanya), 1 mM EDTA (AppliChem, Almanya) pH: 8] eklenerek bir gece 56 °C’ de sıcak su banyosunda (Kotterman, Almanya) bekletildi. İkinci gün 1:1 oranında Fenol/Kloroform (Fenol (Merck, Almanya), Kloroform (Merck, Almanya)), İzoamilalkol (Merck, Almanya) eklenerek 10 dk çalkalandı. Buz içerisinde 20 dk bekletildikten sonra +4 °C 4000 rpm’de 20dk santrifüj edildi. İki faza ayrılan karışımın üst kısmı başka bir ependorf tüpüne alınarak üzerine toplam hacmin 1/10’ u kadar 3 M Sodyum Asetat (Sigma, ABD) ve toplam hacmin 2 katı kadar %95’ lik alkol (Tekel, Türkiye) eklendi. Ependorf tüpü alt–üst edilerek DNA görünür hale getirildikten sonra -20 °C’ de bir gece bekletildi. Üçüncü gün +4 °C 4000 rpm’de 20 dk santrifüj edilerek DNA çöktürüldü. Süpernatant kısmı dökülerek tüpe 500 µl %70’lik alkol eklenerek, +4°C’de 4000 rpm’de 20 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda alkol dökülerek, tüp kurumaya bırakıldı. Kurutulduktan sonra tüp içerisine Tris-EDTA (10 mM TrisHCl, 1 mM EDTA) solüsyonu eklenip, 37 °C’ de bir gece bekletilerek DNA’ nın çözülmesi sağlandı. İzole edilen DNA +4 °C’ de saklandı.

3.3. VEGF geni 936 C>T Mutasyon Taraması

VEGF geni 936C>T polimorfizimini saptamak için VEGF geninin gen değişimini içeren bölgesi F: 5’ AGGGTTCGGGAACCAGATC 3’ ve R: 5’

CTCGGTGATTTAGCAGCAAG 3' primerleri kullanılarak PCR tekniği ile çoğaltılarak ve 260 bp lik PCR ürünleri elde edildi.

PCR' da sıcaklık koşulları; 95 °C' de 5 dk denatürasyon, 35 döngü olarak 95 °C' de 1 dk denatürasyon, 58 °C'de 1 dk hibridizasyon , 72 °C' de 1 dk uzama ve 72 °C' de 7 dk son uzama olarak gerçekleştirildi (Mycycler, BIORAD).

PCR sonrası ürünleri, % 2'lik agoroz jele, 5µl yüklenerek agoroz jel elektroforezinde kontrol edildi. Jel için 0,6 gr agoroz tartılarak, TBE 1X solüsyonu ile 30 ml toplam hacme tamamlandı. TBE 1X solüsyonu ise, stok olarak hazırlanan TBE 5X solüsyonundan 1/5 oranında seyreltilerek hazırlandı. TBE 5X solüsyonu; 54 g Tris (Merck, Almanya), 27,5 g Borik asit (AppliChem, Almanya), 20 mililitre 0,5 M EDTA (AppliChem, Almanya) dH2O ile 1 litre hacme tamamlanarak hazırlandı. Agoroz istenilen derişimde hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatılarak (Vestel, Türkiye), içerisine 2µl Etidyum Bromid (AppliChem, Almanya) ilave edilerek, iyice karıştırdıktan sonra jel tabağına dökölüp, Agorozun donması için 25-30 dk beklendi. PCR ürünlerinden 5µl Brom-fenol mavisi (Merck,Almanya) ile muamele edilerek jele yüklendi. 90-100V akımda 30-50 dk kadar yürütölerek (Biogen, ABD), ultraviyole ışıktta (Spectroline, ABD) incelendi.

VEGF gen bölgesinin amplifikasyonu için beklenen 260 bp'lik ürün görölduğünde restriksiyon endonükleaz ile kesim işlemleri yapıldı.

3.4. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz İle Kesimi

VEGF geni 936C>T polimorfizimini saptamak için NlaIII (Fermentas, Litvanya) enzimi kullanıldı. 936 C>T polimorfizimi taşıyan bireylerde NlaIII enzimi kesim bölgesi oluşmaktadır. 260 bp'lik PCR ürünü 210 ve 50 bp olmak üzere iki parçaya bölündü. Normal bireylere ait PCR ürünü NlaIII enzimi kesim bölgesi taşımadığı için PCR ürünü kesilmeden kaldı.

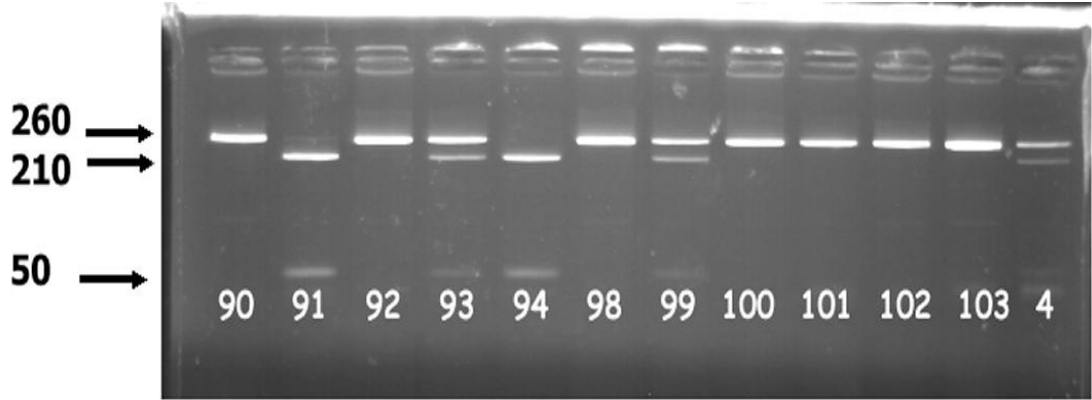
10 µl hacimdeki PCR ürünleri, 2 µl 10X RE tamponu, 8 µl distile su ve her birey için 10 ünite/µl NlaIII olacak şekilde hazırlanan enzim karışımı ile muamele edildi. PCR ürünü-enzim-tampon karışımı enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 37°C'de 14-16 saat inkübasyona bırakıldı.

3.5. NlaIII Restriksiyon Endonükleazı için Agoroz Jel Elektroforezi

Restriksiyon enzim kesim sonuçları %3' lük agoroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 0,9 gr agoroz tartılıp, TBE 1X solüsyonu ile 30 ml total hacme tamamlandı. Agoroz istenilen derişimde hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı (Vestel, Türkiye) ve içerisine 2µl Etidyum Bromid (AppliChem, Almanya) ilave edilip, iyice karıştırıldıktan sonra jel tabağına dökülüp, Agorozun donması için 25-30 dk beklendi.

NlaIII enzimi ile kesim yapılmış ürünlere, 2 µl Bromo-fenol mavisini (Merck,Almanya) eklenerek jele yüklendi. 90-100 V akımda 30-50 dakika kadar yürütülüp (Biogen, ABD), Ultraviyole ışıkta (Spectroline, ABD) incelendi.

% 3'lük agoroz jelde yürütülen örnekler Ultraviyole ışık altında değerlendirildiğinde; her iki allelde bu polimorfizmi taşımayan (normal, 936 C/C) bireylerde 260 bp'lik band, polimorfizmi tek allelde taşıyan (heterozigot, 936 C/T) bireylerde 260, 210, 50 bp'lik bantlar; iki allelde de bu polimorfizmi taşıyan (homozigot, 936 T/T) bireylerde ise 210 ve 50 bp'lik bantlar olduğu gözlemlendi (Şekil 3.1) (100).



Şekil 3.1. VEGF geni 936C>T polimorfizimini saptamak için NlaIII enzim kesim ürünlerinin % 3'lük agaroz jelde görüntülenmesi. 91 ve 94 nolu bireyler 936 T/T; 4, 93 ve 99 nolu bireyler 936 C/T; diğer bireyler 936 C/C genotipine sahiptir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın verileri SPSS (Versiyon:14.0) programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde bağımsız gruplarda iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, Man-Whitney U testi, Khi-kare testi, Fisher kesin Khi-kare testi, korelasyon analizi, lojistik regresyon analizi kullanılmış ve ODS oranları hesaplanmıştır. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma, denek sayısı ve % şeklinde belirtilip, yanılma düzeyi 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Olgu ve kontrol gruplarının genel özellikleri Tablo 4.1 gösterilmiştir. Olgu grubu, AV fistül trombozu olan 42 hastadan, kontrol grubu ise hiç AV fistül trombozu gelişmemiş 38 hastadan oluşturuldu.

Tablo 4.1. Olgu ve kontrol gruplarının genel özelliklerinin karşılaştırılması

	OLGU	KONTROL	SONUÇ	
	(n= 42)	(n=38)		p
Yaş (Yıl)	58.42 ± 12.96	52.15 ± 16.88	t= 1.84	0.069
Cinsiyet E/K	16/26	21/17	x ² =2.36	0.124
VKİ (Kg/m²)	26.26 ± 7.97	23.55 ± 5.27	t= 1.77	0.081
Sigara				
Bırakmış	10 (23.8)	10 (26.3)	x ² =2.01	0.365
İçiyor	2 (4.8)	5 (13.2)		
İçmiyor	30 (71.4)	23 (60.5)		
İlaçlar				
ACEİ-ARB	5 (11.9)	4 (10.5)	x ² =0.038	1.00
ESA	24 (57.1)	19 (50.0)	x ² =0.409	0.522
Fosfor Bağlayıcı	37 (88.1)	35 (92.1)	x ² =0.356	0.550
Antiplatelet	3 (7.1)	-	x ² =2.820	0.242
B kompleks	40 (95.2)	34 (89.5)	x ² =0.956	0.416
Folikasit	39 (92.9)	36 (94.7)	x ² =0.120	1.00
Parenteral Demir	21 (50.0)	12 (31.6)	x ² =2.79	0.095
KKB	4(9.5)	4(10.5)	x ² =0.022	1.00
β Blokör	7(16.7)	4(10.5)	x ² =0.630	0.426
KBY Etiyoloji				
Diabetes Mellitus	8 (19.0)	7 (18.4)	x ² = 11.50	0.063
Hipertansiyon	15 (35.7)	6 (15.8)		
Glomerülonefrit	4 (9.5)	1 (2.6)		
Polikistik böbrek hastalığı	1 (2.4)	4 (10.5)		
Ailevi Akdeniz ateşi	-	4 (10.5)		
Taş	1 (2.4)	1 (2.6)		
Bilinmeyen	13 (31.0)	5(38.4)		

(ESA : Eritrosit stimulan ajan, KKB:Kalsiyum Kanal Blokör)

Tablo 4.1 görüldüğü gibi, olgu ve kontrol grupları, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), sigara alışkanlığı açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırasıyla; 0.069, 0.124, 0.080, 0.365). Ayrıca her iki grup arasında KBY etyoloji, hemodiyaliz süresi, Kt/V, CaxP, PTH, hemoglobin, beyaz küre (BK), hemoglobin (Hb), trombosit, kolesterol, trigliserid, LDL, HDL, Albumin, CRP, ferritin, transferritin saturasyonu (trans sat), ejeksiyon fraksiyonu, sol atrial çap değerleri de anlamlı farklılık göstermedi (p değerleri sırasıyla; 0.063, 0.799, 0.464, 0.569, 0.477, 0.266, 0.568, 0.346, 0.544, 0.891, 0.784, 0.552, 0.924, 0.940, 0.814, 0.256, 0.406, 0.599).

Tablo 4.2’de ise olgu ve kontrol gruplarının, diyaliz ve laboratuvar değerleri verilmiştir. Tablo da görüldüğü gibi olgu ve kontrol gruplarının, vasküler giriş yeri ve VEGF-A düzeylerinde arasında fark gözlenirken, diğer parametrelerde bir fark saptanmamıştır.

Vasküler giriş yeri açısından olgu ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.001). Olgu grubundaki hastaların % 85’i ön kolda açılan AVF ile hemodiyalize girerken, kontrol grubundaki hemodiyaliz hastaların % 68.4’ü ön kol distalinden açılan AVF ile hemodiyalize girmektedir.

Olgu grubunun VEGF-A düzeyleri (27.33 ± 43.50), kontrol grubu (70.69 ± 53.08) ile kıyaslandığında ise, olgu grubunun ortalama VEGF-A düzeyi anlamlı olarak düşük tespit edildi (p=0.001).

Tablo 4.2. Olgu ve kontrol gruplarının diyaliz ve laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

	OLGU	KONTROL	SONUÇ	
	(n= 35)	(n=33)		p
Hemodiyaliz Süresi (Yıl)	8.80 ± 10.52	8.34 ± 4.25	t= 0.25	0.799
Akses Lokalizasyon			x ² = 51.81	0.001*
Önkol proksimal	36 (85.7)	4 (10.5)		
Önkol orta	6 (14.3)	8 (21.1)		
Önkol distal	-	26 (68.4)		
Kt/V	1.53 ± 0.20	1.50 ± 0.16	t= 0.73	0.464
Ca x P	46.10 ± 12.83	47.68 ± 11.69	t= 0.57	0.569
PTH (pg/dl)	267.54± 229.54	311.36 ± 316.08	t= 0.71	0.477
Hb (g/dl)	11.63 ± 1.49	11.28 ± 1.29	t= 1.12	0.266
BK (10³/uL)	6.60 ± 2.62	6.25 ± 2.91	t= 0.573	0.568
Trombosit (10³/uL)	200.11 ± 59.84	186.52 ± 68.31	t=0.94	0.346
Kolesterol (mg/dl)	166.95 ± 45.30	160.86 ± 43.68	t=0.61	0.544
Trigliserit (mg/dl)	181.78 ± 84.70	170.13 ± 84.69	t=0.13	0.891
LDL (mg/dl)	98.02± 35.12	95.92 ± 32.98	t=0.27	0.784
HDL (mg/dl)	33.90 ±13.01	32.39 ± 8.90	t= 0.59	0.552
Albumin (gr/dl)	3.75 ± 0.29	3.76 ± 0.26	t=0.09	0.924
CRP (mg/L)	12.62 ± 16.56	12.35 ± 16.31	t=0.07	0.940
Ferritin (ng/ml)	855.06 ± 714.92	890.63 ± 619.07	t=0.23	0.814
% Transferin saturasyonu	35.31 ± 19.01	42.60 ± 36.12	t=1.14	0.256
Plazma VEGF Düzeyi (pg/ml)	27.33 ± 43.50	70.69 ± 53.08	t=4.01	0.001*
% EF	61.38 ± 4.13	60.04 ± 9.38	t=0.83	0.406
Sol Atrial çap (cm)	3.69 ± 0.39	3.63 ± 0.47	t=0.52	0.599

(* p<0.05)

Tablo 4.3’de görüldüğü gibi, olgu ve kontrol grubu VEGF 936 genotipleri yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.011$). Olgu grubunda % 90.5 oranında VEGF 936CC genotip hakim iken, kontrol grubunda ise, VEGF 936CC genotip % 31.6 oranında hesaplanmıştır. VEGF 936CC genotipi ile diğer VEGF 936 genotipleri, AVF kaybı riski açısından karşılaştırıldığında, olgu grubunda; VEGF 936CC genotipinin pozitif olması durumunda, kontrollere göre 5.54 kez daha fazla AVF tromboz riski bulunduğu saptandı (ODDS: 5.54, % 95 CI: 1.63-18.82). VEGF 936CT genotipi ile diğer VEGF 936 genotipleri risk yönünden karşılaştırıldığında, kontrollerde VEGF 936CT genotipi hastalara göre 0.28 kez daha fazla görülmektedir. VEGF 936CT genotipini taşıyanlar AVF trombozu yönünden 0.28 kat daha az riske sahip olduğu gözlemlendi (ODDS: 0.28, %95 CI: 0.06-0.78). VEGF 936TT genotipi yalnızca kontrol grubunda tespit edildiğinden bu genotip için odds oranı hesaplanamamıştır.

Tablo 4.3. Olgu ve kontrol gruplarında VEGF genotiplerinin dağılımı ve odds oranı açısından değerlendirilmesi

VEGF 936 Genotipi	Olgu (%)	Kontrol (%)	Toplam	Sonuç	
CC	38 (90.5)	24 (63.2)	62 (77.5)	$\chi^2= 8.98$ $p=0.011$	ODDS=5.54 CI %95 (1,63-18,28)
CT	4 (9.5)	12 (31.6)	16 (20.0)		ODDS=0.28 CI %95 (0.06-0.78)
TT	-	2 (5.3)	2 (2.5)		
Toplam	42 (100)	38 (100)	80 (100)		

VEGF-A düzeylerine, VEGF 936 genotiplerin etkisi karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar Tablo 4.4’de gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, olgu ve kontrollerde, VEGF 936CC genotipine göre, VEGF-A düzeyleri karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p=0.001$). VEGF 936CT genotipine göre her iki

grubun VEGF-A düzeyleri karşılaştırıldığında ise farklılık önemsiz bulunmuştur ($p=0.222$). Olgu gurubu kendi içinde değerlendirildiğinde VEGF 936CC ve VEGF 936CT genotiplerinin VEGF-A düzeyine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p=0.706$). Benzer şekilde kontrol grubu da, kendi içinde değerlendirildiğinde VEGF 936CC ve VEGF 936CT genotiplerinin, VEGF-A düzeyine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p=0.655$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Olgu ve kontrol gruplarında VEGF 936 genotipleri ile VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması

VEGF 936 Genotipi	Olgu		Kontrol		Sonuç
	n	VEGF-A Düzeyi	n	VEGF-A Düzeyi	
CC	38	27.16±43.06	24	70.42±55.21	p=0.001*
CT	4	28.93±54.75	12	72.74 ± 54.47	p=0.222
TT	-	-	2	61.607 ± 36.20	-
Sonuç		p=0.706		p=0.655	

(* $p<0.05$)

İstatistik olarak sağlıklı bir değerlendirmede en az üç değer olması gerekmektedir. Bu nedenle VEGF 936TT genotipi, sadece kontrol grubunda iki bireyde tespit edildiğinden değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Tablo 4.5’de görüldüğü gibi, çalışma gurubunun tüm bireylerinde VEGF 936CC ve VEGF 936CT genotipinin VEGF-A düzeyine etkisi değerlendirildiğinde fark önemsiz bulunmuştur ($p=0.233$). Ancak VEGF 936CC genotipine sahip olan bireylerin VEGF-A düzeyleri daha düşüktür.

Tablo 4.5. Olgu ve kontrol grubundaki tüm bireylerin VEGF 936 genotiplerinin VEGF-A düzeyine etkisi

VEGF 936 Genotipi	VEGF-A Düzeyi	Sonuç
CC (n=62)	43.91±52.20	p=0.233
CT (n=16)	61.78±56.20	
TT (n=2)	61.60±36.20	

Olgu ve kontrol gruplarında VEGF-A değerlerine etki edecek klinik parametrelerin regresyon analizleri yapılarak, sonuçlar Tablo 4.6’da verilmiştir.

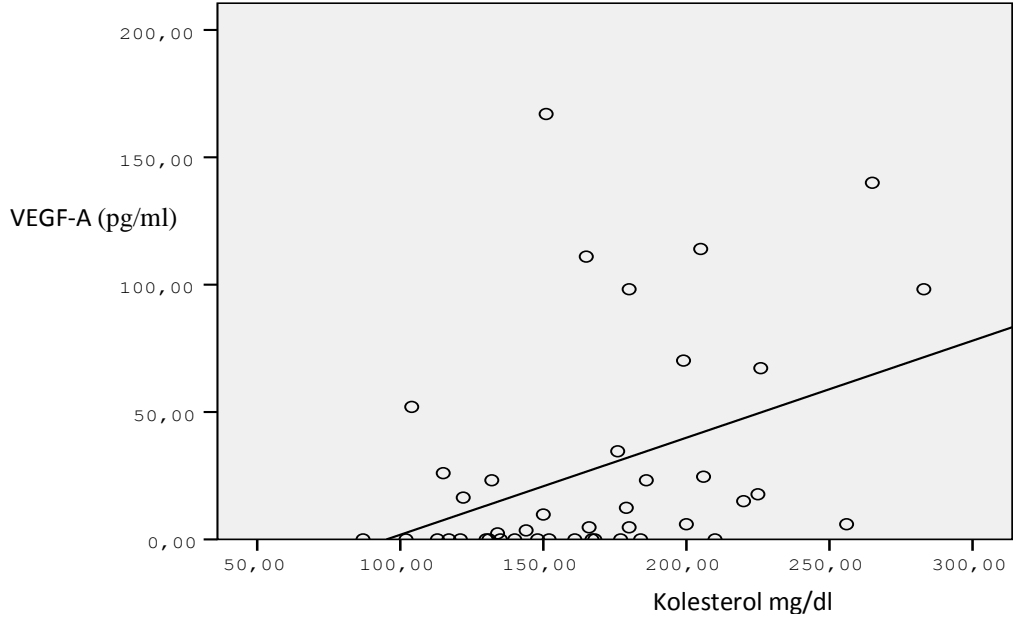
Tablo 4.6’da görüldüğü gibi, olgu grubunda plazma VEGF-A düzeyleri ile serum kolesterolü ($r=0.40$, $p=0.009$), LDL ($r=0.43$, $p=0.004$), BK ($r=0.47$, $p=0.002$) ve trombosit sayısı ($r=0.59$, $p=0.001$) arasında aynı yönlü bir ilişki (korelasyon) saptandı. Bu katsayılar istatistiksel olarak önemlidir. Buna göre bu değerlere ilişkin ölçümler arttıkça plazma VEGF-A düzeyleri artacaktır. Fakat istatistiksel olarak önemli bulunmasına rağmen bir ilişki ölçütü olarak trombosit değişikliği dışındakiler küçüktür (%50’nin üzerinde olması beklenir). Kontrol grubunda ise plazma VEGF-A ile trombosit arasında $r=0.38$ aynı yönlü bir ilişki (korelasyon) bulunmuştur. Bu ilişkide istatistiksel olarak önemlidir. Fakat ölçüt olarak korelasyon zayıftır .

Tablo 4.6. Olgu ve kontrol gruplarında VEGF-A değerlerine etki edecek klinik parametrelerin regresyon analizleri

DEĞİŞKENLER	OLGU		KONTROL	
	r	p	r	p
Yaş	- 0.07	0.664	0.23	0.166
VKİ	0.05	0.757	0.23	0.161
Hemodiyaliz Süresi	0.13	0.414	0.06	0.684
Kt/V	-0.08	0.619	0.01	0.979
%URR	0.07	0.634	- 0.03	0.822
PTH	-0.26	0.099	0.03	0.880
Hb	-0.23	0.142	0.22	0.176
Htc	- 0.15	0.334	0.16	0.352
BK	0.47*	0.002	0.04	0.825
Trombosit	0.59*	0.001	0.38*	0.017
Kolesterol	0.40*	0.009	0.24	0.147
Trigliserit	0.27	0.102	0.20	0.226
LDL	0.43*	0.004	0.08	0.621
HDL	- 0.11	0.498	- 0.08	0.621
Albumin	- 0.17	0.298	- 0.10	0.542
CRP	0.21	0.175	- 0.09	0.595
Ferritin	- 0.18	0.249	- 0.16	0.324
% EF	- 0.04	0.788	0.11	0.499
Sol Atrial çap	- 0.24	0.121	- 0.10	0.551

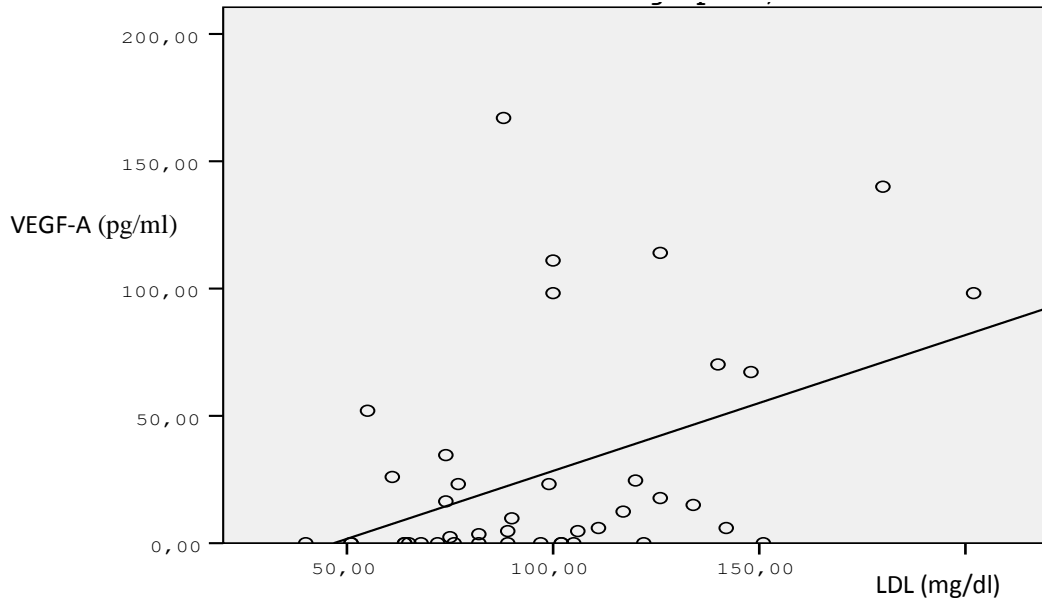
(* p<0.05)

Şekil-4.1 'de görüldüğü gibi Olgu grubunda, serum kolesterolü ile plazma VEGF-A düzeyi arasında ve pozitif bir korelasyon (r=0.40, p=0.009) saptanmıştır.



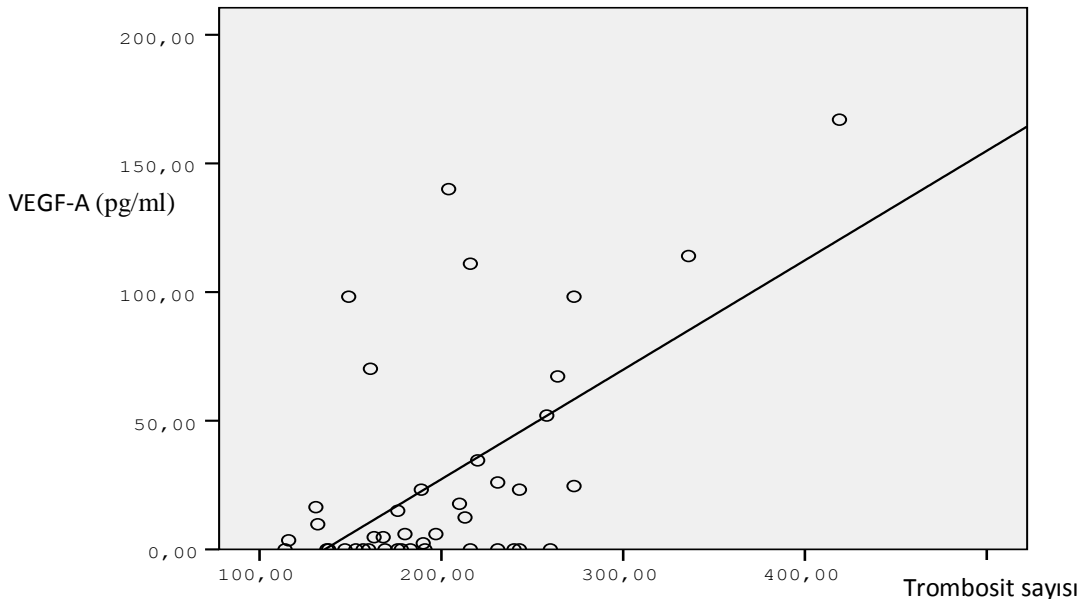
Şekil-4.1. Olgu grubunda Kolesterol ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı

Şekil-4.2’de görüldüğü gibi Olgu grubunda, serum LDL ile plasma VEGF-A düzeyi arasında ve pozitif bir korelasyon ($r=0.43$, $p=0.004$) saptanmıştır.



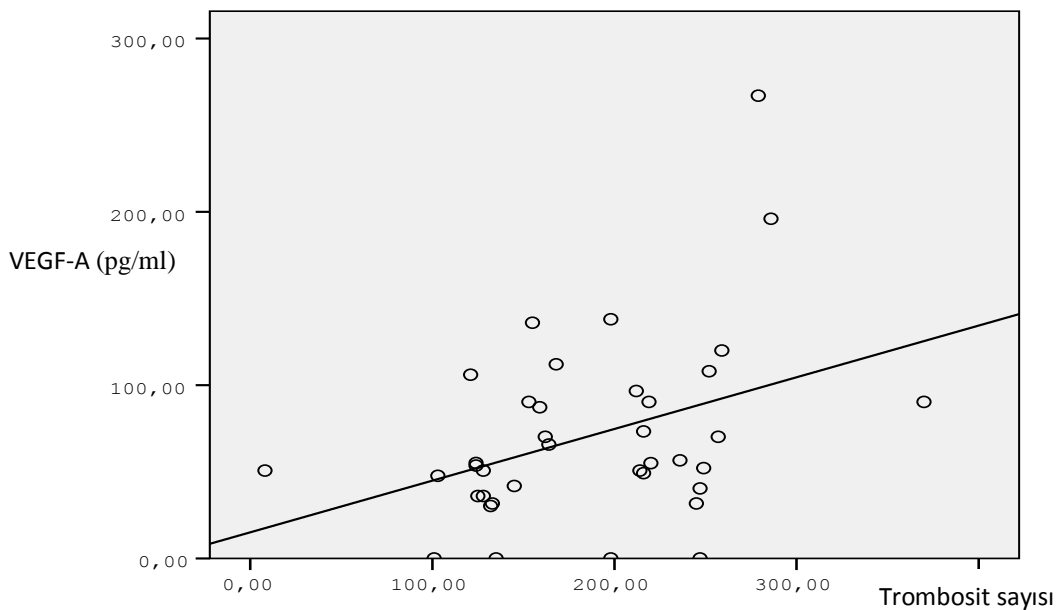
Şekil-4.2. Olgu grubunda LDL ile VEGF arasındaki ilişkinin dağılımı

Şekil-4.3’de görüldüğü gibi Olgu grubunda, Trombosit sayısı ile plazma VEGF-A düzeyi arasında ve pozitif bir korelasyon ($r=0.59$, $p=0.001$) saptanmıştır.



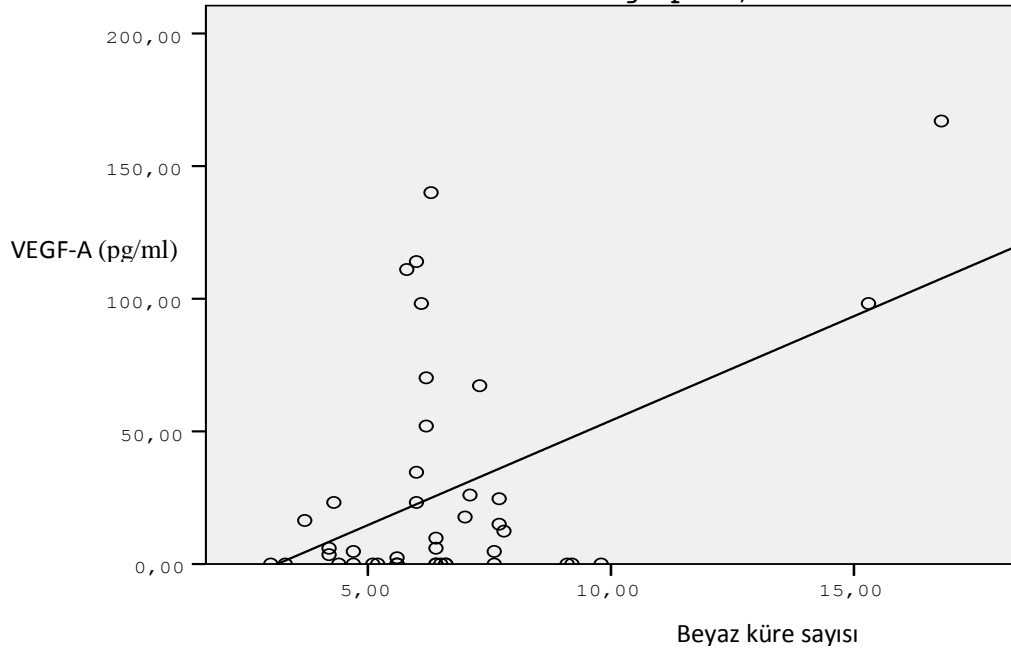
Şekil-4.3. Olgu grubunda Trombosit sayısı ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı

Şekil-4.4’de görüldüğü gibi Kontrol grubunda, Trombosit sayısı ile plazma VEGF-A düzeyi arasında ve pozitif bir korelasyon ($r=0.38$, $p=0.017$) saptanmıştır.



Şekil-4.4. Kontrol grubunda Trombosit sayısı ile VEGF-A arasındaki ilişkinin dağılımı

Şekil-4.5’de görüldüğü gibi Olgu grubunda, Beyaz küre sayısı ile plasma VEGF-A düzeyi arasında ve pozitif bir korelasyon ($r=0.47$, $p=0.002$) saptanmıştır.



Şekil-4.5. Olgu grubunda Beyaz küre sayısı ile VEGF(pg/ml) arasındaki ilişkinin dağılımı

5.TARTIŞMA

Son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyaliz işlemi yapılan hastalarda düzenli ve yeterli bir diyaliz için, vasküler erişim yolunun açık kalması ve yeterli bir kan akımı sağlaması çok önemlidir. Tüm dünyada ve ülkemizde hemodiyaliz hastalarının çoğunluğunda vasküler erişim için AV fistül veya sentetik AV greft kullanılmaktadır (101). Natif AVF'ler AV greftlere göre daha uzun süre açık kalmakta, daha az enfeksiyon ve vasküler erişimin sürdürülmesi için daha az girişim gerektirdiği için günümüzde tercih edilen erişim yoludur (102). AV fistül veya yapay AV greft fonksiyon kaybı hemodiyaliz hastalarında önemli bir maliyet yükü ve hastanın sık hastaneye yatışına neden olmaktadır (103).

Hemodiyaliz hastalarında vasküler erişim kaybına etki eden değişik faktörler vardır. Bunlar içinde klinik faktörler (Diabetes mellitus, ateroskleroz, ileri yaş), biyokimyasal (sitokinler, kolesterol, apolipoproteinler, kalsiyum fosfat ve albumin) anormallikler, vasküler faktörler (damar çapı, azalmış kan akımı, hemostaz ile ilgili bozukluklar, intimal hiperplazi ve ateroskleroz) ve genetik (ACE gen ve polimorfizimleri) üzerine çalışmalar yapılanlardır (104-110). AVF ve AVG kaybının %80-85'i tromboz nedeniyle oluşurken, tromboz gelişen vakalarında %80'i AVF yada AVG'in venöz kısmında oluşan vasküler darlık ana nedenlerdendir (111). Vasküler erişim yeri trombozunun patofizyolojisinde bilinen klasik görüş; endotel hücre hasarı, staz, hiperkoagulibilitenin olmasıdır. Vasküler giriş yeri tromboz epizodlarının büyük çoğunluğunun nedeni herhangi bir şekilde oluşan endotel hasarı ve özellikle AVF açılmasından 3 ay sonra gelişen myointimal hiperplazi sonucu vasküler yatakta stenoz oluşmasıdır. AVF'ün venöz kısmında gelişen bu stenoz nedeniyle kan akımında düşüş ve türbulans sonucu tromboz olurken, bazen tromboz bu anatomik anormallikler olmadan da gelişmektedir (112-114). Bununla birlikte AVF kaybı olan hemodiyaliz hastalarında myointimal hiperplazinin neden veya nedenleri açık bir şekilde anlaşılamamıştır.

VEGF/VEGF-A, günümüzde en kuvvetli anjiogenik faktör olarak bilinmekte ve endotel hücre bütünlüğünün korunması, endotel hücre çoğalması ve göçünü sağlayan bir sitokindir (115). Endotel hasarı oluşturulmuş hayvan çalışmalarında, lokal VEGF uygulanması endotel yenilenmesini, endotel bağımlı gevşemeyi hızlandırmakta, intimal hiperplaziyi ve trombüs oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (12,116). Bunun yanında VEGF-A, monosit kemotaksisini ve plak neo-vaskülarizasyonunu artırarak ateroskerozu ilerlettiğine dair çalışmalarda bildirilmiştir (76,117).

Literatürde hemodiyaliz hastalarında VEGF936 gen polimorfizmi ve VEGF-A düzeyinin AVF fonksiyon kaybına etkisini araştıran çalışma yoktur. Bu çalışmada, VEGF936 gene polimorfizminin ve plazma VEGF-A düzeylerinin AVF fonksiyon kaybına etkisini, retrospektif bir olgu-kontrol çalışması ile araştırılması amaçlandı.

Trombofililer, doğuştan veya kazanılmış tromboz risk faktörleridirler ve diyaliz akses trombozunun olası nedeni olarak gösterilmişlerdir (118,119,120). Ancak yapılan güncel çalışmalar çelişkili olup, bazılarında anlamlı ilişki bulunurken (121-125), bazılarında bulunamamıştır (126-128). VEGF, kuvvetli anjiogenik bir sitokin olarak trombüsün doğal gerilemesi sırasında ortamda bulunduğu belirtilmektedir. Recombinant VEGF proteini veya plazmid içeren VEGF genin trombüs rekanalizasyonunu ve gerilemesini hızlandırmaktadır (129-131). VEGF aynı zamanda makrofajları etkileyerek, ekstraselüler matriks dönüşümünü ve hücrelerin dolanımını düzenleyen birçok proteazın (plazminojen aktivatörleri ve matriksmetalloproteinazları), büyüme faktörlerini, kemokinlerin üretimini sağlamaktadır (11). Modari ve ark. adenovirüs aracılığı ile VEGF gene aktarımı yapılması ile ratlarda venöz trombüsün rekanalize olup gerilediğini ortaya koymuşlardır (132). Böylece VEGF'in trombofilik vakalarda oluşan trombüsün rekanalizasyonun sağlamada önemini ortaya koymaktadır. Belki de trombofilik faktörler ve VEGF içeren çalışmalarla, neden bazı trombofilik vakalarda trombozun oluşmadığı açıklanabilecektir.

Genel popülasyonda VEGF -2578, 936 ve -1154 gen polimorfimi ile koroner kalp hastalığını araştıran bir çalışmada, ilgili gen polimorfizmleri ile koroner kalp hastalığının ciddiyeti arasında bir ilişki tespit edilememiştir (133). Eaton ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 13 yıllık bir izlem süresinde takip olunan 325 vakadan 46 hasta, koroner kalp hastalığından ölmüştür. Bu vakaların ortalama serum VEGF-A düzeyleri oldukça yüksek tespit edilmiştir (134).

Koroner arter darlığının ciddiyeti ile plazma VEGF düzeylerin karşılaştırıldığı bir çalışmada; önemli derecede koroner arter darlığı olan vakalarda yüksek plazma VEGF değerleri bulunmuştur (135). Fakat diğer çalışmada koroner darlık ciddiyeti ile VEGF arasında fark bulunamamıştır (136). Bu çalışmada ki farklı bulgunun, ilgili çalışmada vakaların statin kullanmalarına bağlı olabilceği belirtilmiştir.

Koroner arter hastalığı ile VEGF gen polimorfizmlerinin (VEGF-2578A, -1154A, 936T) arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, sadece VEGF-2578 gene polimorfizminin koroner arter hastalığının ciddiyeti ile ilişkili olduğu bulunmuştur. VEGF-2578AA genotipi üç damar hastalığı olanlarda yüksek sıklıkta tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada, -2578AA genotip ile düşük VEGF protein üretimi (ateroskleroz için bir risk faktörü olarak düşünülebilir) ile ilişkili bulunurken, yüksek VEGF düzeyleri -2578CC genotipi ise ateroskleroza koruyucu olabileceği ileri sürülmüştür (137). Yapılan başka bir epidemiyolojik çalışmada, VEGF-A polimorfizminin yüksek VEGF-A düzeyi olanlarda düşük koroner arter hastalığı riski olduğu bildirilmiştir (76).

VEGF'in birden çok tek-nükleotid polimorfizmlerinin gen uyarımını etkilediği bildirilmiştir. Bizim de çalışmamızda araştırdığımız VEGF936C>T polimorfizmi, 3-untranslated bölgede bulunmaktadır (138). Tip 2 diyabetli 398 hastayı içeren bir çalışmada 936 TT genotipini taşıyanlarda plazma VEGF düzeyleri daha yüksekti ve retinopati varlığı ile ilişkiliydi. Araştırmacıların, bu gen bölgesini çalışmalarındaki nedenlerinin, Asya nüfusunda bu gen polimorfizminin yaygın olduğunun belirtmiş olmasıdır (139). Renner ve ark. ise 936T aleli taşıyanlarda, düşük VEGF düzeyinin olduğunu bildirmişlerdir (140). Ancak Kamoun ve ark. Behçet hastalarında yaptıkları

çalışmada, 936TT dışında tüm genotiplerde yüksek serum VEGF düzeyi ve oküler inflamasyon birlikteliği tespit etmişlerdir. 936TT’de ise düşük VEGF düzeyi bulmuşlardır. Bu durumun oküler inflamasyon için koruyucu olabileceğini ifade etmişlerdir (141). Bir diğer çalışmada; Akut respiratuvar distres sendrom (ARDS)’lu olgularda, 939T alelini taşıyanlarda VEGF düzeyi epitelyal sıvıda düşük bulunmuş, plazmada ise kontrollere göre fark tespit edilmemiştir. Ayrıca T alel ile VEGF düzeyi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Sonuçta T alel taşıyıcının ARDS açısından bir risk oluşturduğunu belirtmişlerdir (142). Eroğlu ve ark., 36 tromboembolisi olan kanserli olgu ile 60 tromboembolisi olmayan kanserli olguda T alel taşıyıcılığı saptanmazken, CC genotipi her iki grupta sırasıyla % 72.2 ve % 88.3 olarak tespit etmişlerdir. CT genotipini tromboemboli grubunda % 27.8 oranında anlamlı olarak yüksek sıklıkta bulmuşlardır. Ayrıca, CT genotipinin kanserli hastalardaki artmış trombotik olaylarla ilişkili bulmuşlardır (143).

Çalışmamızda, VEGF936 genotip dağılımı, AVF trombozu nedeniyle AVF kaybı olan olgu grubunda, CC genotipi % 90.5, CT genotipi % 9.5 iken, AVF trombozu olmayan ve dolaylı ile AVF fonksiyon kaybı yaşamayan kontrol grubunda ise CC genotipini % 63.2, CT genotipi % 20 olarak tespit ettik. TT genotipi ise sadece kontrol grubunda iki olguda bulundu. Tromboz öyküsü olan olgu grubunda, CC genotipinin taşıyıcılığı, tromboz gelişimi açısından 5.54 kat riski artışı ile beraberdi. Kontrol grubunda, CT taşıyıcılığı 0.28 kat AVF trombozu açısından koruyucu olarak değerlendirildi. Literatürde benzer bir çalışma bulunmadığından verilerin karşılaştırılma olanağı bulunamadı. VEGF-A düzeyi açısından 936 genotipler karşılaştırıldığında ise CC genotipi, anlamlı olarak düşük VEGF-A düzeylerine sahipti. Kontrol grubunda, CC ve CT genotiplerinde benzer yüksek değerler tespit edildi. Çalışma grubunun tüm üyelerinde genotiplere göre VEGF-A düzeyleri arasında bir ilişki tespit edilemedi. Zohny ve ark., 34 AVF trombozu, 28 trombozu olmayan hemodiyaliz hastasında serum VEGF düzeylerini çalıştıklarında, tromboz olan grupta serum VEGF düzeylerini yüksek bulmuşlardır (13). Bizim çalışmamızda ise tromboz olan grupta, plazma VEGF değerleri düşüktü. Zohny ve ark., VEGF düzeyini, serumda ölçerek yüksek bir değer bulmuşlardır. Ancak, serum

VEGF değerleri, trombosit ve beyaz küre sayılarından etkilenmektedir. Biz bu nedenle, ilgili etkilerden arınmak amacıyla, plazma VEGF-A düzeyinin olęmn yaptık.

Yetişkinlerde VEGF-A resptrleri, tüm vaskülarize dokularda, özellikle pencerele ve sinüzoidal kan damarlarına sahip endokrin ve salgısal organlarda, aynı zamanda büyük damarlar, iskelet kası ve kalp kasında bulunmaktadır. Genel vasküler hemostaz sürdürülmesi için, düşük fizyolojik VEGF-A düzeylerine gereksinim vardır (76). VEGF-A'nın balon hasarından sonra VDKH'lerinde gösterilmesi VEGF-A'nın restonotik lezyonların gelişiminde rol oynayabileceğini dşndrmştir. VEGF-A, doku faktörünün uyarımını artırmaktadır. Doku faktörü koagulasyonun majör başlatıcısıdır (143). SVEGFR-1, VEGF-A'ya yüksek oranda bağlanarak VEGF-A'nın yıkımını sağlamakta ve etkilerini inhibe etmektedir (145). Hemodiyaliz greft stenozunda artan shear stresin, VEGF-A, VEGF-1, VEGFR-2, MMP-2, MMP'ı artırdığı ve intimal hiperplazide önemli rolü olduğu ve VEGFR-1'in yüksekliğinin artan düz kas kitlesini yansıtığı belirtilmiştir (8). Çalışmamızda, AVF tromboz olan olgu grubumuzda, düşük VEGF-A düzeyinin sık AVF tromboz olan hastalarda artan VDKH kitlesi ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. İşkemik kalp hastalığı olan ve olmayan 185 hemodiyaliz hastasının, serum VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2 düzeyi araştırılmış. İşkemik hastalarda, sVEGFR-2 düşük iken, gruplar arasında serum VEGF ve sVEGFR-1 değerleri yönünden fark bulunmamıştır. Ayrıca, sVEGFR-1 inflamasyonla ilişkili bulunurken, yüksek düzeyde sVEGFR-1 her türlü mortalite için bağımsız bir risk faktörü olarak olduğu ifade edilmiştir (146).

KDOQI, Evre 4-5 Kronik böbrek hastalarında hemodiyaliz için iyi bir erişim yolu olan radyosefalik AVF' ilk ve en iyi tercih olarak tavsiye etmiştir. Eğer bu anatomik yer uygun değilse sırasıyla, brakiosefalik AVF', sonra basilik ven transpozisyonunu dominant olmayan koldan açılması önerilmiştir. Radyosefalik AVF'lerde erken kayıp insidansı söz konusudur. Bu durumun prediyaliz öncesi dönemden itibaren başlayan intimal hiperplazi ilişkisini ortaya koymak için, retrospektif olarak hasta dosyalarından yapılan değerlendirmede artmış oranda radyal

arterde intimal hiperplazi tespit edilmiştir (147). Tüm açılan fistüllerde 1 yıllık açık kalım % 55-78 arasındadır (148,149). AVF açılması planlandığında bazı venlerin daha önce olan stenoz yada trombus nedeniyle uygun olmadığı görülmektedir. Örneğin sefalik vende sık kan alınması ile stenoz gelişmiş olabilir. Subklavian ve juguler venlerde sıklıkla geçici kateter konulan yerler olduğundan stenotik olabilirler. Nefrolog ve Kalp Damar cerrahları AVF kararı vermeden gerekirse girişimsel radyolojiden bilgi almalıdırlar. Ön kol AVF'leri 4-5 yıl sağ kalım oranları vardır ve en az girişim gerektirmektedirler (103). Hastanemiz Kalp Damar Cerrahi Bölümünce 1991-2006 yılları arasında 1081 olguda açılan AVF erişim yerleri 524'i snuff-box (% 47) 469'u radio-sefalik (% 36), 27'si unla-basilik (% 2), 119'u brachio-sefalik(% 10), 26'si fistül kapama(%2), 19'u anatomik uygunsuzluk nedeni ile fistül açılmadan kapatılan (% 1.6), 1'i safeno-femoral (% 0.09), 14'ü greft (% 1.2) şeklinde gerçekleşmiş idi (150). Bu veriler literatürle uyumlu idi (147). Çalışmamızda giriş yeri açısından değerlendirdiğimizde iki grup arasında anlamlı fark vardı. Çünkü olgu grubu sık AVF trombozu nedeniyle, fazla cerrahi girişim uygulandığından erişim yeri daha proksimale kaymıştı. Kontrol grubu ise AVF trombozu geçirmeyen grup üyeleri olduğundan, hastaların çoğu ilk açılan AVF ile diyalize girmektedir.

Mallamaci ve ark., hemodiyaliz hastalarında VEGF düzeylerinin sol ventrikül hipertrofisi, sistolik fonksiyon ve kötü prognoz ile birlikte olduğunu bildirmişlerdir (151). Bizim çalışmamızda, olgu ve kontrol grubu arasında kalp yetmezliği açısından değerlendirildiğinde sol ventrikül fonksiyon göstergesi olan EF ve volüm yükünün göstergesi olan sol atrial çap arasında fark yoktu.

Yapılan araştırmalarda, plazma VEGF'in hiperkolesterolemi, hipertansiyon arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (93-95,152). Çalışmamızda serum kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL yönünden bir fark saptanmadı. Ancak olgu grubunda plazma VEGF-A düzeyi ile serum kolesterolü, trigliserid ve LDL ile pozitif bir korelasyon saptandı. Bu durum literatürle uyumluydu (92-95). Aynı zamanda trombosit sayısı ile her iki grupta plazma VEGF-A düzeyi arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktaydı. Olgu grubumuz da beyaz küre sayısı ile plazma

VEGF-A düzeyi arasında aynı yönlü bir ilişki saptandı. Bu parametrelerin, plazma VEGF-A düzeyine katkısının olduğu daha önce yapılan çalışmalarla da bildirilmiştir (86-88,96).

Sonuç olarak çalışmamızda, AV fistül operasyonundan sonra geç dönemde 2 veya daha fazla fistül trombozu epizodu geçiren 38 hastadan oluşan olgu grubu ile 3 yıl veya daha fazla sürede hiç AV fistül trombozu öyküsü olmayan 42 hemodiyaliz hastası kontrol grubu olarak karşılaştırılmıştır. Temel demografik özellikler (yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, ilaç kullanımı, sigara öyküsü, KBY etyolojisi), hemodiyaliz parametreleri (AVF lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V), laboratuvar parametreleri (CaXP, PTH, Hb, Kolesterol, trigliserid, LDL, HDL albumin, CRP, ferritin, transferin saturasyonu, % EF, sol atrial çap, Hb, beyaz küre ve trombosit) açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmazken iki grup arasında plazma VEGF-A düzeyleri yönünden anlamlı fark vardı. Olgu grubunda 936CC genotipi büyük oranda AVF trombozu için risk yaratmaktaydı. Yine 936 CC genotipi taşıyanlar, düşük VEGF-A düzeyine sahiptiler. Yapılan literatür taramalarından, geç dönem AVF trombozu üzerinde VEGF936 gen polimorfizmini araştıran başka bir çalışma bulunmadığı saptanmıştır. Çalışmamızın kısıtlayıcı yönleri sVEGFR-1, sVEGFR-2'nin çalışma kapsamında olmaması ve hastaların prediyaliz dönemde yada AVF açılırken intimal hiperplazilerin var olup olmadığının tespit edilmemiş olmasıdır. Çalışmamızda VEGF 936 CC genotipi AVF trombozu riskini önemli ölçüde arttırdığını saptadık. Olgu grubunda anlamlı olarak plazma VEGF-A düzeylerinin düşük olması, sık AVF trombozu geçiren vakaların VDKH kitlesinin zaman içinde artış gösterdiğini ve buna bağlı olarak artmış olabilecek sVEGFR-1'in plazma VEGF-A'nın düşüklüğüne neden olduğu düşüncesindeyiz. Ancak bu konuda net bir karar verebilmek için, olgu grubunda, yeni açılacak AVF sırasında alınacak doku ve plazma örneklerinde VEGF-A, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2'nin ölçümünü kapsayan çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Erken dönem AV fistül trombozu riski açısından yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, ilaç kullanımı, sigara öyküsü, KBY etyolojisi), hemodiyaliz parametreleri (AVF lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V), laboratuvar parametreleri (CaXP, PTH, Hb, Kolesterol, trigliserid, LDL, HDL albumin, CRP, ferritin, transferrin satürasyonu, % EF, sol atrial çap, Hb, beyaz küre ve trombosit) açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmazken, plazma VEGF-A düzeyleri yönünden anlamlı fark tespit edildi.

2. Olgu grubunda VEGF 936CC genotipi 5.54 kat AVF trombozu için risk yaratmaktaydı. Kontrol grubu için VEGF 936CT genotipi düşük oranda da olsa koruyucu olarak gözlemlendi.

3. Çalışma gurubunun tüm bireylerinde VEGF 936CC ve VEGF 936CT genotipinin VEGF-A düzeyine etkisi değerlendirildiğinde fark önemsiz bulunmuştur.

4. Olgu grubunda, plazma VEGF-A düzeyleri ile serum kolesterolü ($r=0.40$), LDL ($r=0.43$), BK ($r=0.47$) ve trombosit sayısı ($r=0.59$) arasında aynı yönlü bir ilişki (korelasyon) saptandı. Kontrol grubunda sadece trombosit sayısı ile plazma VEGF-A düzeyi arasında aynı yönlü bir ilişki bulundu.

5. Bulgularımız VEGF936 CC genotipine sahip hastalarda geç dönem AVF tromboz riskinde bir artışın olduğuna işaret etmektedir. Bu polimorfizmin AVF operasyon kararından önce belirlenmesi sonucunda aşağıdaki yararlar sağlanabilir;

a-Gereksiz damar girişim ve damar kaybının önüne geçilmesi

b-Daha uygun renal replasman tedavi modelinin (periton diyaliz, preemtif transplantasyon) öncelikli düşünülmesi

c-AVF'e bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılması

6. VEGF 936 gen polimorfizminin AVF fonksiyonuna etkisinin çok iyi belirlenebilmesi; özellikle geç dönem tromboz ve fistül fonksiyon kayıpları üzerine

olan etkilerinin araştırılması, prospektif olarak doku ve plazma örneklerinde VEGF-A, SVEGFR-1 ve SVEGFR-2'yi içeren, olgu-kontrollü, uygun örneklem büyüklüğünde tasarlanmış yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Ravani P, Spergel LM, Asif A, Roy-Chaudhury P, Besarab A. Clinical epidemiology of arteiovenous fistula in 2007. *J Nephrol*, Mar-Apr; 20(2):141, 2007.
2. Mendelssohn DC, Ethier J, Elder SJ, Saran R, Port FK, Pisoni RL. Haemodialysis vascular access problems in Canada: result from the dialysis outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS II). *Nephrol Dia Transplant*, Mar;21(3):721-728, 2006.
3. Sajgure A, Choudhury A, Ahmed Z, Choudhury D. Angiotensin converting enzyme inhibitors maintain polytetrafluroethylene graft patency. *Nephrol Dial Transplant*, May;22(5):1390-1398, 2007.
4. Kats M, Hawxby AM, Barker J, Allon M. Impact of obesity on arteriovenous fistula outcomes in dialysis patients. *Kidney Int*, Jan;71(1):39-43. 2007.
5. Hayasi R, Huang E, Nissenson AR. Vascular Access for hemodialysis. *Nature Clin Pract Nephrol*, Sempt; 2(9):504-513, 2006.
6. Roy-Chaudhury P, Lee TC. Vascular stenosis and interventions. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 16:516-522, 2007.
7. Rotmans JI, Pasterkamp G, Verhagen HJM, Pattynama PMT, Blankestijn PJ, Stroes ESG. Hemodialysis access greft failure: Time to revist an unmet clinical need? *J Nephrol*, 18:9-20, 2005.
8. Misra S, Fu AA, Puggioni A, Karimi KM, Mandrekar JN, Glockner JF, et al. Increased shear stres with upregulation of VEGF-A and its receptors and MMP-2, MMP-9, and TIMP-1 in venous stenosis of hemodialysis grafts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294:H2219-H2230, 2008.

9. Stracke S, Konner K, Köstlin I, Friedl R, Jehle PM, Hombach V, et. al. Increased expression of TGF-beta1 and IGF-I in inflammatory stenotic lesions of hemodialysis fistulas. *Kidney Int*, 61:1011-1029, 2002.
10. Misra S, Fu AA, Rajan DK, Juncos LA, Mckusick MA, Bjarnason H, et.al. The rat femoral arteriovenous fistula model: increased expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 at the venous stenosis. *Vasc Interven Radiol*, 19(4):587-94, 2008.
11. Ohtani K, Egashira K, Hiasa K, Zhao Q, Kitamota S, Ishibashi M, et.al. Blockade of vascular endothelial growth factor suppresses experimental restenosis after intraluminal injury by inhibiting recruitment of monocyte lineage cells. *Circulation*, 110:2444-2452, 2004.
12. Zachary I, Mathur A, Yla-Herttuala S, Martin J. Vascular Protection. A novel nonangiogenic cardiovascular role for vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20:1512-1520, 2000.
13. Zohny SF, Abd el-Fattah M. Evaluation of circulating vascular endothelial growth factor and soluble adhesion molecules as reliable predictors of native arteriovenous fistula thrombosis in chronic hemodialysis patients. *Clin Biochem*, 41(14-15):1175-80, 2008.
14. Steffensen KD, Waldstrom M, Brandslund I, Jacobsen A. The relationship of VEGF polymorphism with serum VEGF levels and progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 117:109-116, 2010.
15. Nahas ME, Bello AK. Chronic kidney disease; the global challenge. *The Lancet*, 365:331-40, 2005.
16. Levey AS, Andreoli SP, DuBose T, Provenzano R, Collins AJ. CKD: Common, harmful, and treatable-World Kidney Day 2007. *Am J Kidney Dis*, 49:175-9, 2007.

17. Levey AS, Atkins T, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt K-H, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives: A Position Statement from KDIGO. *Kidney Int* , 72:247-59, 2007.
18. Gilbertson DT, Liu J, Xue JL, Louis TA, Solid CA, Eben JP, et al. Projecting that number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2015. *J Am Soc Nephrol*, 15:3736-41, 2005.
19. Erek E, Süleymanlar G, Serdengeçti K ve TND Registry grubu, Türk Nefroloji Derneği Kayıt Sistemi Raporları 1992-2007. İnternet adresi: <http://www.tsn.org.tr/registry>.
20. Süleymanlar G. Kronik böbrek hastalığı ve yetmezliği: Tanımı, Evreleri ve epidemiyolojisi: Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri, Nefroloji, p:1-7, 2007
21. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*, 39(2) (suppl 1):S1-S266, 2002.
22. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) *Kidney Int*, 67:2089-2100,2005.
23. Yeksan M, Tonbul HZ. Kronik Böbrek Yetmezliği. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (Çeviri Editörü: Sağlık Y.). Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, sayfa:1551-1562, 2004.
24. Yalçın Uğur A, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği. Nefroloji El Kitabı. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, sayfa:283-324, 2007.
25. Obrador GT, Pereria BJG. Epidemiology of chronic kidney disease and screening recommendations. *UpToDate* (15.3), 2007.

26. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, Asberg A, Powe NR, Rosmundstard S, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol*, 17:2275-84, 2006.
27. Akpolat T, Utaş C. Böbrek Yetmezliği: Genel Bilgiler. Akpolat T, Utaş C. Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı. Kayseri: Anadolu Yayıncılık, s:1-10, 2001.
28. Fenton SSA, Schaubel DE, Desmeules M, Morrison HI, Mao Y, Copleston P, et al. Hemodialysis versus peritoneal dialysis: a comparison of adjusted mortality rates. *Am J Kidney Dis*, 30:334-42, 1997.
29. Tokgöz B. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Renal Replasman Tedavileri. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 1(21)82-87, 2005.
30. Akpolat T, Utaş C. Diyaliz: Genel Bilgiler : Akpolat T, Utaş C . Hemodiyaliz El Kitabı. 2.Baskı, Kayseri: Anadolu Yayıncılık, p.15-22, 2001.
31. Daugirdas JT, Second generation logarithmic estimates of single pool volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol*, 4: 1205-1213, 1993.
32. Akpolat T, Utaş C. Renal Replasman Tedavisi.Nefroloji El Kitabı, Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, sayfa:324-339, 2007.
33. Kolf WJ, Berk HT, ter Welle M, van der LEY AJ, van Dijk EC, van Noordwijk J. The artificial kidney: a dialyser with a great area. 1944. *J Am Soc Nephrol*, 8(12):1959-65, 1997.
34. Reddan D, Klassen P, Frankenfield DL, Szczech L, Schwab S, Coladonato J, Rocco M, Lowrie EG, Owen WF Jr; National ESRD CPM Work Group. National profile of practice patterns for hemodialysis vascular access in the United States. *J Am Soc Nephrol*, 13(8):2117-24,2002.
35. Brescia MJ, Cimino JE, Appel K, Hurwich BJ. Chronic hemodialysis using venipuncture and a surgically created arteriovenous fistula. *New Eng J Med*, 275:1080-92, 1966.

36. Gülay H. Hemodiyaliz için damar yolu. Haberal M. Haberal Eğitim Vakfı. 1. Baskı; B1;3-13, 1990.
37. Dalgıç A, Ekici Y, Hemodiyaliz için Damar Yolu. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Nefroloji Vol:2, sayı/no:4, sayfa:13-23, 2006.
38. Haberal M, Gülay H, Kaynaroğlu V, et al. Snuff-Box Vascular Access for Hemodialysis. Dia Trans and Burn, 1:63-7, 1983.
39. M Haberal. Yanlış kesi uygulamaları ve komplikasyonlar, Hemodiyaliz için damar yolu, M Haberal, ed. Haberal Eğitim Vakfı, B17:69-75, 1990.
40. Allon M., Monitoring and surveillance of hemodialysis arteriovenous fistulas to prevent thrombosis. 2010 Uptodate, www.uptodate.com.
41. Roy-Chaudhury P ve ark. Roy-Chaudhury P, Spergel LM, Besarb A, Asif A, Ravani P. Biology of arteriovenous fistula failure. J Nephrol, 20:150-163, 2007.
42. Unnikrishnan S, Huynh TN, Brott BC, Ito Y, Cheng CH, Shih AM, Allon M, Anayiotos AS. Turbulent flow evaluation of the venous needle during hemodialysis. J Biomech Eng, 127:1141-1146, 2005.
43. Roy-Chaudhury P, Sukhatme VP, Cheung AK. Hemodialysis vascular access dysfunction: a cellular and molecular viewpoint. J Am Soc Nephrol; 17:F-PO1056, 2006.
44. Misra S, Doherty MG, Woodrum D, Homburger J, Mandrekar JN, Elkouri S, Sabater EA, Bjarnason H, Fu AA, Glockner JF, Grene EL, Mukhopadhyay D. Adventitial remodelling with increased matrix metalloproteinase-2 activity in a porcine arteriovenous polytetrafluoroethylene grafts. KI, 68:2890-2900, 2005.
45. Himmelfarb J. Uremic toxicity, oxidative stress, and hemodialysis as renal replacement therapy. Semin Dial, 22:636-643, 2009.

46. Kielstein JT, Fliser D, Veldink H. Asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine: axis of evil or useful alliance? *Semin Dial*, 22:346-350, 2009.
47. Eizawa T, Murakami Y, Matsui K, Takahashi M, Muroi K, Amemiya M, et.al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients. *Curr Med res Opin*, 19:627-633, 2003.
48. Diskin CJ, Stokes TJ, Radcliff L, Carte TB. Understanding the pathophysiology of hemodialysis Access problems as a prelude to developing innovative therapies. *Nat Clin Prac Nephrol*, 4(11):628-635, 2008.
49. Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest*, 95:995-1001, 1995.
50. Geisterfer AA, Peach MJ, Owens GK. Angiotensin produces hypertrophy, not hyperplasia, of aortic smooth muscle cells. *Circ Res*, 62:749-756, 1988.
51. Capron L, Heudes D, Chajara A, Bruneval P. Effect of rampril, an inhibitor of angiotensin converting enzyme on the response of rat thoracic aorta to injury with a balloon catheter. *J Cardiovasc Pharmacol*, 18: 207–211, 1991.
52. O'Donohoe MK, Schwartz LB, Radic ZS, Mikat EM, McCann RL, Hagen PO. Chronic ACE inhibition reduces intimal hyperplasia in experimental vein grafts. *Ann Surg*, 214: 727–732, 1991.
53. Jahnke T, Karbe U, Schäfer FK, Bolte H, Heuer G, Rector L, et.al. Characterization of a new double-injury restenosis model in the rat aorta. *J Endovasc Ther*, 12: 318–331, 2005
54. Kubo-Inoue M, Egashira K, Usui M, Takemoto M, Ohtani K, Katoh M, et.al. Long-term inhibition of nitric oxide synthesis increases arterial thrombogenicity in rat carotid artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 282, H1478–H1484, 2002.

55. Roy-Chaudhury P, Wang Y, Krishnamoorthy M, Zhang J, Banerjee R, Munda R, et.al. Cellular phenotypes in human stenotic lesions from haemodialysis vascular Access. *Nephrol Dial Transplant*, 24(9):2786-91, 2009.
56. Wakefield TW, Linn MJ, Henke PK, Kadell AM, Wilke CA, Wroblewski SK, et. al. Neovascularization during venous thrombosis organization: a preliminary study. *J Vasc Surg*, 30(5):885-92, 1999.
57. Pekçelen Y, Hemostaz bozuklukları, İç Hastalıkları Cilt 1; Editör Büyükoztürk Kemalettin, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, sayfa:743-768, 2007.
58. Ferhanoğlu B. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Kanama ve Tromboza Eğilim Sempozyum Dizisi No:36, s:9-16, 2003.
59. Herrovoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1(PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *Br J Haematol*, 125:12-23, 2004.
60. Colvin BT. Physiology of haemostasis. *Vox Sang*, 87 Suppl1:43-6, 2004.
61. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet*, 355:1627-32, 2000.
62. Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. Pettit J.E. Platelet, blood coagulation and haemostasis in *Essential Haematology*, P:264-277, 2006.
63. Rosendaal FR: Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*, 353:1167, 1999.
64. Küçükkaya D.R., Aydın M. Trombofili genetiği, Türk Hematoloji Derneği, Moleküler Hematoloji Kursu, p:39-43, 2006.
65. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M: Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes and management. *Blood*, 87: 3531, 1996.
66. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA.: Inherited thrombophilia: Part-1. *Thromb Haemost*, 76: 651, 1996.

67. Makris M, Rosendaal FR, Preston FE: Familial thrombophilia: Genetic risk factors and management. *J Int Med*, 242: 9, 1997.
68. Kolodziej M, Comp PC: Hypercoagulable states due to natural anticoagulant deficiencies. *Curr Op Hematol*, 301, 1993.
69. Rodgers G.M.: Thrombosis and antithrombotic therapy. In: Wintrobe's Clinical Hematology, 10th Edition. Williams and Wilkins Comp, p:1781-1818, 1998.
70. Bauer K.A.: The Hypercoagulable state. Williams Hematology 5th edition, McGraw Hill inc, p:1531-1549, 1995.
71. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA.: Inherited thrombophilia: Part-2. *Thromb Haemost*, 76: 824, 1996.
72. Bick RL, Kaplan H: Syndromes of thrombosis and hypercoagulability. *Med Clin North Am*, 82:409, 1998.
73. Bren EC. VEGF in biological control. *J Cell Biochem*, 102:1358-1367, 2007.
74. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. *BMB reports*, 41(4):278-286, 2008.
75. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular Research*, 65:550-563, 2005.
76. Yla-Herttuala S, Rissanssen TT, Vajanto I, Hartikainen J. Vascular endothelial growth factors. Biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*, 49:1015-1026, 2007.
77. Ortega N, L'Faqihi FE, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell*, 90:381-390, 1998.
78. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the receptor family. *Semin Thromb Hemost*, 26:561-569, 2000.

79. Tamanini C, De Ambrogi M,. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest Anim*, 39:206-216, 2004.
80. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rattissues. *Am J Physiol*, 264:C995-C1002, 1993.
81. Thomas KA. VEGF, a potent and selective angiogenic agent. *J Biol Chemistry*, 271:603-606 , 1996.
82. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: Examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacolgy*, 68:1017-1021, 2004.
83. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359:843-845, 1992.
84. Deguchi T, Hashiguchi T, Horinouchi S, Uto T, Oku H, Kimura K, et.el. Serum VEGF increases in diabetic polyneuropathy, particularly in the neurologically active symptomatic stage. *Diabet Med*, 26:247-252, 2009.
85. Granger DN, Vowinkel T, Petnehazy T. Modulation of the inflammatory response in cardiovascular disease *Hypertens*, 43:924-931, 2004.
86. Gunsilius E, Petzer A, Stockhammer G, et al. Thrombocytes are major sourece for soluble vascular endothelial growth factorin peripheral blood. *Oncology*, 58:169-174, 2000.
87. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C, et.al. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer*; 77(6):956-64, 1998.

88. Vermulen PB, Salven P, Benoy I, Gasparini G, Dirix LY. Blood platelets and serum VEGF in cancer patients. *Br J Cancer*.79(2):370-3, 1999.
89. Weltermann A, Woltz M, Petersmann K, et al. Large amount of vascular endothelial growth factor at the site of hemostatic plug formation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19:1757-1760, 1999.
90. Webb NJ, Bottemley MJ, Watson CJ, Brenchley PE. Vascular endothelial growth factor(VEGF) is released from platelets during blood clotting: implication for measurement of circulating VEGF levels in clinical disease. *Clin Sci*, 94:395-404, 1998.
91. Nuria García de la Torre, Miguel A. Rubio, Elena Bordiú, Lucio Cabrerizo, Eugenio Aparicio J, Carmen Hernández, et al. Effects of weight loss after bariatric surgery for morbid obesity on vascular endothelial growth factor-A, adipocytokines, and insulin. *Clin Endocrinol Metab*, 93:4276, 2008.
92. Blann AD, Belgore FM, Plasma vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in patients with hyperlipidemia and atherosclerosis and the effects of fluvastatin or fenofibrate. *Am J Cardiol*, 87:1160-1163, 2001.
93. Felmeden DC, Spencer CG, Belgore FM, Blann AD, Beevers DG, Lip GY. Endothelial damage and angiogenesis in hypertensive patients: relationship to cardiovascular risk factors and risk factor management. *Am J Hypertens*. 16(1):11-20, 2003.
94. Felmeden DC, Spencer CG, Chung NA, Belgore FM, Blann AD, Beevers DG, et.al. Relation of thrombogenesis in systemic hypertension to angiogenesis and endothelial damage/dysfunction (a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial [ASCOT]). *Am J Hypertens*. 92:400-405, 2003.
95. Felmeden DC, Spencer CG, Blann AD, Beevers DG, Lip GY. Physical activity in relation to indices of endothelial function and angiogenesis factors in

- hypertension: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT). *Intern Med*, 253:81–91, 2003.
96. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GA, Meijer C, Mulder NH. Platelets and granulocytes, in particular neutrophils, from important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis*, 6:283-287, 2003.
97. Harper SJ, Downs L, Tomson CR, Dwight JS, Bolton C. Elevated plasma vascular endothelial growth factor levels in non-diabetic predialysis uraemia. *Nephron*. 90(3):341-3, 2002.
98. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Possible new role of monocyte chemoattractant protein-1 in hemodialysis patients with cardiovascular disease. *Am J Nephrol*. 24(6):635-40, 2004.
99. Stompor T, Zdzienicka A, Motyka M, Dembinska-Kiec A, Davies SJ, Sulowicz W. Selected growth factors in peritoneal dialysis: their relationship to markers of inflammation, dialysis adequacy, residual renal function, and peritoneal membrane transport *Perit Dial Int*, 22:670-676, 2002.
100. Cosín R, Gilabert-Estellés J, Ramón LA, España F, Gilabert J, Romeu A, Estellés A. Vascular endothelial growth factor polymorphisms(-460C/T, +405G/G, and 936C/T) and endometriosis: their influence on vascular endothelial growth factor expression. *Fertil*, 92(4):1214-1220, 2009.
101. US Renal Data System: Excerpts from the USRDS 2003. Annual Data Report: Atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis*. 42: S1–S230, 2003.
102. Polkinghorne KR, McDonald SP, Atkins RC, Kerr PG. Epidemiology of vascular access in the Australian hemodialysis population. *Kidney Int*. 64(5):1893-902, 2003.

103. Hayashi R, Huang E, Nissenson AR. Vascular access for hemodialysis. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2(9):504-13, 2006 .
104. Knoll GA, Wells PS, Young D, Perkins SL, Pilkey RM, Clinch JJ, et.al. Thrombophilia and the risk for hemodialysis vascular access thrombosis. *J Am Soc Nephrol.* 16(4):1108-14, 2005.
105. Lazo-Langner A, Knoll GA, Wells PS, Carson N, Rodger MA. The risk of dialysis access thrombosis is related to the transforming growth factor-beta1 production haplotype and is modified by polymorphisms in the plasminogen activator inhibitor-type 1 gene. *Blood.* 108(13):4052-8, 2006.
106. Moon JY, Jeong KH, Paik SS, Han JJ, Lee SH, Lee TW, et.al. Arteriovenous fistula patency associated with angiotensin-converting enzyme I/D. *Nephron Clin Pract.* 111:110-6, 2009.
107. Kim YO, Yang CW, Yoon SA, Chun KA, Kim NI, Park JS. Access blood flow as a predictor of early failures of native arteriovenous fistulas in hemodialysis patients. *Am J Nephrol.* 21(3):221-5, 2001.
108. Girndt M, Heine GH, Ulrich C, Köhler H; DialGene Consortium. Gene polymorphism association studies in dialysis: vascular Access. *Semin Dial.* 20(1):63-7, 2007.
109. Lin CC, Yang WC. Prognostic factors influencing the patency of hemodialysis vascular access: literature review and novel therapeutic modality by far infrared therapy. *J Chin Med Assoc.* 72(3):109-116, 2009.
110. De Marchi S, Falletti E, Giacomello R, Stel G, Cecchin E, Sepiacci G, et.al. Risk factors for vascular disease and arteriovenous fistula dysfunction in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 7(8):1169-77, 1996.

111. Windus DW. Permanent vascular access: a nephrologist's view. *Am J Kidney Dis.* 21(5):457-71, 1993.
112. Schwab SJ: Vascular access for hemodialysis. *Kidney Int.* 55: 2078–2090, 1999.
113. Schwab SJ, Oliver MJ, Suhocki P, McCann R: Hemodialysis arteriovenous access: Detection of stenosis and response to treatment by vascular access blood flow. *Kidney Int.* 59:358–362, 2001.
114. Moist LM, Churchill DN, House AA, Millward SF, Elliot JE, Kribs SW, Deyoung WJ, Blythe L, Stitt LW, Lindsay RM: Regular monitoring of access flow compared with monitoring of venous pressure fails to improve graft survival. *J Am Soc Nephrol.* 14: 2645–2653, 2003.
115. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int.* 56(3):794-814, 1999.
116. Baumgartner I, Ísner JM. Somatic gene therapy in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol.* 63:427-450, 2001.
117. Roy H, Bhardwaj S, Ylä-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett.* 580(12):2879-87, 2006.
118. Casserly LF, Dember LM: Thrombosis in end-stage renal disease. *Semin Dial.* 16: 245–256, 2003.
119. Tripodi A, Mannucci PM: Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem.* 47: 1597–1606. 2001
120. Paulson WD: Prediction of hemodialysis synthetic graft thrombosis: Can we identify factors that impair validity of the dysfunction hypothesis? *Am J Kidney Dis.* 35: 973–975, 2000.

121. Atac B, Yakupoglu U, Ozbek N, Ozdemir FN, Bilgin N: Role of genetic mutations in vascular access thrombosis among hemodialysis patients waiting for renal transplantation. *Transplant Proc.* 34:2030–2032, 2002.
122. Fukasawa M, Matsushita K, Kamiyama M, Mikami Y, Araki I, Yamagata Z, Takeda M: The methylentetrahydrofolate reductase C677T point mutation is a risk factor for vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 41:637–642, 2003.
123. Nampoory MR, Das KC, Johny KV, Al Hilali N, Abraham M, Easow S, Saed T, Al Muzeirei IA, Sugathan TN, Al Mousawi M: Hypercoagulability, a serious problem in patients with ESRD on maintenance hemodialysis, and its correction after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis.* 42: 797–805, 2003.
124. O'shea SI, Lawson JH, Reddan D, Murphy M, Ortel TL: Hypercoagulable states and antithrombotic strategies in recurrent vascular access site thrombosis. *J Vasc Surg.* 38: 541–548, 2003.
125. LeSar CJ, Merrick HW, Smith MR: Thrombotic complications resulting from hypercoagulable states in chronic hemodialysis vascular access. *J Am Coll Surg.* 189: 73–81, 1999.
126. Palomo I, Pereira J, Alarcon M, Vasquez M, Pierangeli S: Vascular access thrombosis is not related to presence of antiphospholipid antibodies in patients on chronic hemodialysis. *Nephron.* 92: 957–958, 2002.
127. Hojs R, Gorenjak M, Ekart R, Dvorsak B, Pecovnik-Balon B: Homocysteine and vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Ren Fail.* 24:215–222, 2002
128. Fodinger M, Mannhalter C, Pabinger I, Koizar D, Rintelen C, Horl WH, Sunder-Plassmann G: Resistance to activated protein C (APC): Mutation at ARG of coagulation factor V and vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 11: 668–672, 1996.

129. Waltham M, Burnand KG, Collins M, Smith A. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor are found in resolving venous thrombi. *J Vasc Surg.* 32(5):988-96, 2000.
130. Waltham M, Burnand KG, Collins M, McGuinness CL, Singh I, Smith A. Vascular endothelial growth factor enhances venous thrombus recanalisation and organisation. *Thromb Haemost.* 89(1):169-76, 2003.
131. Waltham M, Burnand K, Fenske C, Modarai B, Humphries J, Smith A. Vascular endothelial growth factor naked DNA gene transfer enhances thrombus recanalization and resolution. *J Vasc Surg.* 42(6):1183-9, 2005.
132. Modarai B, Humphries J, Burnand KG, Gossage JA, Waltham M, Wadoodi A, et al. Adenovirus-mediated VEGF gene therapy enhances venous thrombus recanalization and resolution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20;28(10):1753-9, 2006.
133. Biselli PM, Guerzoni AR, de Godoy MF, Pavarino-Bertelli EC, Goloni-Bertollo EM. *Heart Vessels.* 23(6):371-5, 2008.
134. Eaton CB, Gramling R, Parker DR, Roberts MB, Lu B, Ridker PM. Prospective association of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) with coronary heart disease mortality in southeastern New England. *Atherosclerosis.* 200(1):221-7, 2008.
135. Kucukardali Y, Aydogdu S, Ozmen N, Yonem A, Solmazgul E, Ozyurt M, et al. The relationship between severity of coronary artery disease and plasma level of vascular endothelial growth factor. *Cardiovasc Revasc Med.* 9(2):66-70, 2008.
136. Alber HF, Frick M, Dulak J, Dörler J, Zwick RH, Dichtl W, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) plasma concentrations in coronary artery disease. *Heart.* 91(3):365-366, 2005.

137. Howell WM, Ali S, Rose-Zerilli MJ, Ye S. VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis. *J Med Genet.* 42(6):485-490, 2005.
138. Awata T, Inoue K, Kurihara S. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes.* 51, 2002.
139. Kim HW, Ko GJ, Kang YS, Lee MH, Song HK, Kim HK, Cha DR. Role of the VEGF 936 C/T polymorphism in diabetic microvascular complications in type 2 diabetic patients. *Nephrology.* 14:681-688, 2009.
140. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res.* 37(6):443-8, 2000.
141. Kamoun M, Houman MH, Hamzaoui A, Hamzaoui K. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and serum levels in Behçet's disease. *Tissue Antigens.* 72(6):581-7, 2008.
142. Medford AR, Godinho SI, Keen LJ, Bidwell JL, Millar AB. Relationship between vascular endothelial growth factor + 936 genotype and plasma/epithelial lining fluid vascular endothelial growth factor protein levels in patients with and at risk for ARDS. *Chest.* 136(2):457-64, 2009.
143. Eroglu A, Gulec S, Akar N. Vascular endothelial growth factor C936T polymorphism in cancer patients with thrombosis. *Am J Hematol.* 82(2):174, 2007.
144. Blum S, Issbrücker K, Willuweit A, Hehlhans S, Lucerna M, Mechtcheriakova D, et al. An inhibitory role of the phosphatidylinositol 3-kinase-signaling pathway in vascular endothelial growth factor-induced tissue factor expression. *J Biol Chem.* 276(36):33428-34, 2001

145. Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun.* 226(2):324-8, 1996.
146. Prabir RC, Burnett SK, Ashwath N, Pankaj D, Murad M, Rino M, Heather D, Sue CH: Hemodialysis vascular access dysfunction from basic biology to clinical intervention. *Advances in Renal Replacement Therapy.* 9: 74-84, 2002.
147. Ku YM, Kim YO, Kim JI, Choi YJ, Yoon SA, Kim YS, et al. Ultrasonographic measurement of intima-media thickness of radial artery in pre-dialysis uraemic patients: comparison with histological examination. *Nephrol Dial Transplant.* 21(3):715-20, 2006.
148. Guo Q, Carrero JJ, Yu X, Bárány P, Qureshi AR, Eriksson M, et al. Associations of VEGF and its receptors sVEGFR-1 and -2 with cardiovascular disease and survival in prevalent haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 24(11):3468-73, 2009.
149. Biuckians A, Scott EC, Meier GH, Panneton JM, Glickman MH. The natural history of autologous fistulas as first-time dialysis access in the KDOQI era. *J Vasc Surg.* 47(2):415-421, 2008.
150. Mandus Ş, Katrancıoğlu N, Karahan O, Sapmaz İ, Doğan K., Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve damar cerrahisi anabilim dalında yapılan hemodiyaliz amaçlı A-V Fistül oluşturulması ameliyatlarının sonuçları. *C.Ü Tıp Fakültesi Dergisi*, 30(1): 28-32, 2008
151. Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Cutrupi S, Pizzini P, Stancanelli B, et al. Vascular endothelial growth factor, left ventricular dysfunction and mortality in hemodialysis patients. *J Hypertens.* 26(9):1875-82, 2008.
152. Stumpf C, Jukic J, Yilmaz A, Raaz D, Schmieder RE, Daniel WG, et al. Elevated VEGF-plasma levels in young patients with mild essential hypertension. *Eur J Clin Invest.* 39(1):31-36, 2009.