

**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA ACE GEN VE  
TROMBOFİLİK FAKTÖRLER GEN POLİMORFİZMİ  
İLE AV FİSTÜL FONKSİYON KAYBI ARASINDAKİ  
İLİŞKİ**

**Dr.Yahya GÜNGÖR**

**UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS**

**2009**

**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA ACE GEN VE  
TROMBOFİLİK FAKTÖRLER GEN POLİMORFİZMİ  
İLE AV FİSTÜL FONKSİYON KAYBI ARASINDAKİ  
İLİŞKİ**

**Dr. Yahya GÜNGÖR**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Mansur KAYATAŞ**

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından T-349 proje numarası ile desteklenmiştir. 2009-SİVAS

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurulunun 12.03.2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı, Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğünün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen “Tez Yazım Kılavuzu”na göre hazırlanmıştır.

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA**

Bu çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda “**TIPTA UZMANLIK TEZİ**” olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN** : Prof.Dr.Mehmet ŞENCAN

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

**ÜYE** : Yrd.Doç.Dr.İ.Serhat İÇAĞASIOĞLU

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

15/10/ 2009

**DEKAN**

**Prof.Dr.Mehmet ŞENCAN**

## TEŐEKKÜRLER

Uzmanlık tezimin projesinden yazımına kadar bütün aŐamalarındaki tüm katkılarından dolayı değerli danıŐman hocam Prof. Dr. Mansur KAYATAŞ'a, uzmanlık eğitim sũrecime bilgi ve deneyimleriyle katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet ŞENCAN, Prof. Dr. H.Sebila DŐKMETAOŐ, Prof. Dr. Ferhan CANDAN, Prof. Dr. Fũsun GũLTEKİN, Prof.Dr.Saniye Topçu, Prof. Dr. Hakan ALAGŐZLũ, Doç. Dr. A.Kerim YILMAZ, Doç. Dr. Őzlem YŐNEM, Yrd. Doç. Dr. İ.Serhat İÇAĒASIOĒLU ve Yrd. Doç. Dr. Cihat ŐARKIŐ'a, tez çalıŐmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik AD Őđretim gŐrevlisi Prof.Dr. Őztũrk ÖZDEMİR'e sonsuz saygı ve Őũkranlarımı sunuyorum.

Birlikte çalışma imkânı bulduğum asistan arkadaŐlarım, tez çalıŐmamda bana yardımcı olan Mikrobiyoloji çalıŐanlarım, tezimin hazırlanmasında manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen eŐim Dilek'e, sabırlarından dolayı kızlarım Ela ve Sena'ya, beni yetiŐtiren aileme teŐekkũr ve sevgilerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLOLAR VE ŞEKİLLER .....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı ve Yetmezliği.....	3
2.2. Hemodiyaliz.....	6
2.3. Arteriyovenöz (AV) Fistüller.....	7
2.3.1.Snuff-Box (Enfiye çukuru) Fistülleri.....	8
2.3.2.Brescia-Cimino Fistülleri.....	8
2.3.3.Brakio-Sefalik Antekübital Fistüller.....	9
2.3.4.Bazilik Ven Transpozisyonu.....	9
2.3.5.AVF Komplikasyonları.....	9
2.3.6.AVF Trombozu.....	9
2.4.Hemostaz.....	10
2.4.1.Kan Damarları.....	11
2.4.2.Trombositler.....	11
2.4.3.Pıhtılaşma Faktörleri.....	12
2.4.4.Pıhtılaşma Mekanizması.....	13

2.4.5.İntrensek Pıhtılaşma Sistemi.....	15
2.4.6.Extrensek Pıhtılaşma Sistemi .....	15
2.4.7.Pıhtılaşma Reaksiyonlarının Denetimi.....	16
2.5.Trombofili.....	18
2.6. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) Gen Polimorfizmi.....	20
2.7. Faktör V Gen Polimorfizmi.....	21
2.7.1. Faktör V Leiden Mutasyonu (FV G1691A).....	21
2.7.2. Faktör V R2 (H1299R) Polimorfizmi.....	22
2.8. Protrombin (Faktör II) Gen Polimorfizmi.....	22
2.9. Faktör XIII Gen Polimorfizmi.....	23
2.10. Beta Fibrinojen Gen Polimorfizmi.....	23
2.11. Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1 (PAI-1) Gen Polimorfizmi.....	24
2.12. . Glikoprotein (GP) IIIa Gen Polimorfizmi.....	24
2.13. Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni C677T Polimorfizmi.....	24
2.14. Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni A1298C Polimorfizmi.....	25
2.15.Homosistein.....	26
3. MATERYAL VE METOD.....	28
4. BULGULAR .....	37
5.TARTIŞMA.....	42
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
7.KAYNAKLAR.....	58

## ÖZET

Diyaliz hastalarında yaşam kalitesini bozan vasküler erişim yolu kayıplarının, önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olduğu bilinmektedir. Başlıca üç damar erişim yolu tipi; geçici ya da kalıcı kateterler, arteriyovenöz (AV) fistüller ve greftler olup, en sık kullanılanı ise AV fistüllerdir. Diyaliz hastalarında tüm hospitalizasyonların % 20-25'ini vasküler girişim yoluna ait komplikasyonlar oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde vasküler girişim yoluna ait komplikasyonların yıllık maliyeti 1 milyar dolardan fazladır. AV fistül ve greft yetmezliğinin önde gelen nedeni trombozlardır. Vasküler erişim yolu trombozunu kolaylaştıran birkaç kesinleştirilmiş risk faktörü tanımlanmıştır. Bu çalışma; tromboz oluşumunu kolaylaştıran faktörlerden ACE gen polimorfizmi, trombofilik faktörler gen polimorfizmi ve homosistein düzeyinin hemodiyaliz hastalarında erken dönem AV fistül fonksiyon kaybı üzerindeki etkisini ortaya koymayı amaçlamıştır.

Çalışma AV fistül operasyonundan sonra erken dönemde 3 veya daha fazla fistül trombozu epizodu geçiren 35 hastadan oluşan olgu grubu ile 3 yıl veya daha fazla sürede hiç AV fistül trombozu öyküsü olmayan 33 hastalık kontrol grubu ile gerçekleştirildi. İleri yaş, geçirilmiş serebrovasküler hastalık ve miyokard infarktüsü öyküsü, yaygın ateroskleroz, diyabete bağlı ileri düzeyde hedef organ hasarı, immobilizasyon, kalp yetmezliği, sık hipotansiyon atağı öyküsünün varlığı çalışmaya alınmama kriterleri olarak belirlendi.

Yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu. (p değerleri sırasıyla 0.946, 0.051, 0.756)

Her iki grup arasında kronik böbrek yetmezliği etyolojisi, akses lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V, CaXP, paratiroid hormon, hemoglobin, LDL, albumin değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu. (p değerleri sırasıyla; 0.113, 0.209, 0.254, 0.456, 0.172, 0.736, 0.069, 0.620, 0.094)

Homosistein düzeyleri için 5-15 mikromol/L arası değerler normal kabul edildi. Her iki grupta da homosistein düzeyleri normalin üstündeydi. Homosistein



düzeyleri olgu grubunda  $19.40 \pm 8.28$  mikromol/L, kontrol grubunda  $22.95 \pm 9.63$  mikromol/L ölçüldü. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (  $p = 0.116$ ).

Faktör V G1691A Leiden (  $p = 0.357$ ), Faktör V H1299R (R2) (  $p = 0.115$ ), Protrombin G20210A (  $p = 0.608$ ), Faktör XIII V34L (  $p = 0.358$ ), Beta-fibrinojen-455 G-A (  $p = 0.292$ ), Glikoprotein (GP) IIIa L33P (HPA-1) (  $p = 0.646$ ), Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T (  $p = 0.155$ ), Metilentetrahidrofolat redüktaz A1298C (  $p = 0.879$ ) gen polimorfizmleri açısından iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (  $p > 0.05$ ).

Olgu grubunda daha fazla Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) 4G-5G genotipi saptanırken, kontrol grubunda 4G-4G genotipi daha fazla saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlıydı (  $p = 0.014$ ). İki grup arasında 5G-5G genotipi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

Olgu ve kontrol grupları ACE gen polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda büyük oranda ID genotipi (sıklığı  $19/33, \%57.6$ ), olgu grubunda ise büyük oranda DD genotipi (sıklığı  $17/35, \%48.6$ ) saptandı; bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (  $p = 0.025$ ). II genotipi açısından iki grup arasında fark bulunmadı.

Anjiotensin konverting enzim inhibitörü veya anjiotensin reseptör blokörü kullanım sıklığı olgu grubunda  $\% 14.3$  ( $5/35$ ) iken, kontrol grubunda  $\%15.2$  ( $5/33$ ) olarak saptandı. Bu oranların istatistiksel bir anlamlılığa ulaşmadığı anlaşıldı.

PAI-1 4G-5G genotipini taşıyan bireyler 4G-4G ve 5G-5G genotipli bireyler ile karşılaştırıldıklarında; AVF tromboz riskinde  $5.03$  kat daha fazla bir artışın olduğu tespit edildi [ $\chi^2 = 7,08$   $p = 0,008$  ODS= $5,03$ , CI  $\%95$  ( $1,44:17,64$ )].

ACE DD genotipini taşıyan bireyler ise, II ve ID genotipini taşıyanlar ile karşılaştırıldıklarında; AVF trombozu için  $4.25$  kat artmış bir risk taşıdıkları saptandı [ $\chi^2 = 7,0$   $p = 0,008$  ODS= $4,25$  CI  $\%95$  ( $1,404:12,83$ )].

Sonuç olarak; PAI-1 4G-5G genotipi ve ACE DD genotipi taşıyanlarda artmış bir AV fistül tromboz riski vardır. Bu amaçla fistül kararından önce son dönem böbrek yetmezliği hastalarında bu polimorfizmlerin belirlenmesi ve PAI-1 4G-5G ve ACE DD genotiplerini taşıyanlarda diğer tedavi modellerinin (periton diyalizi, preemptiv transplantasyon) göz önünde tutulmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı; böylece fistül kaybına bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılması mümkün olacaktır.

**Anahtar Sözcükler: AV fistül, hemodiyaliz, ACE gen polimorfizmi, trombofili**

## SUMMARY

It is known that the losses of ways are used to gain access to the blood which ruin the life quality in dialysis patients are significant causes of mortality and morbidity. The three basic kinds of vascular access for hemodialysis are temporary or permanent catheters, arteriovenous (AV) fistulas and grafts, and the most frequently used one is AV fistulas. The complications belonging to vascular interference way constitute the 20-25% of all the hospitalizations in dialysis patients. The annual cost of the complications belonging to vascular interference is over 1 billion dollars in the United States of America. The major cause of AV fistula and graft deficiency are thrombosis. A few certain risk factors which facilitate vascular acces thrombosis are defined. In this study, it is aimed to identify the effect of three of the factors, namely ACE gene, thrombophilic factors and homocysteine level on early session AV fistula function losses in hemodialysis patients.

The study was carried out with a phenomenon group of 35 patients who have experienced 3 or more fistula thrombosis in the early phase after the AV fistula operation and a control group of 33 patients who have not had any AV fistula thrombosis history for 3 years or more. Advanced age, serebrovascular disease and miyocard infarctus experience, widespread atherosclerosis, advanced target organ damages caused by diabetes mellitus, immobilization, cardiac insufficiency, hypotension attack were determined as the rejection criteria for the study.

There were not any significant differences between the two groups in terms of age, gender, and smoking habits. ( p values, respectively, 0.964, 0.051, 0.756)

There were not any significant differences between the two groups in chronic renal insufficiency etiology, access localization, hemodialysis duration, Kt/V, CaXP, parathyroid hormone, hemoglobin, LDL, albumin values (p values, respectively, 0.113, 0.209, 0.254, 0.456, 0.172, 0.736, 0.069, 0.620, 0.094).

Homocysteine levels between 5-15 micromol/L were considered normal. The homocysteine levels were above the normal in both groups; (19.40±8.28 micromol/L

in phenomenon group, 22.95±9.63 micromol/L in control group) but a statistically significant difference between the two groups could not be determined. (p=0.116)

When the two groups are compared in terms of Factor V G1691A Leiden (p=0.357), Factor V H1299R (R2) (p=0.115), Prothrombin G20210A (p=0.608), Factor XIII V43L (p=0.358), Beta-fibrinogen-455 G-A (p=0.292), Glycoprotein (GP) IIIa L33p (HPA-1) (p=0.646), Methylenetetrahydrofolate reductase C677T (p=0.155), Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C (p=0.879) gene polymorphisms no significant statistical differences were determined (p>0.05).

While more Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) 4G-5G genotypes were identified in phenomenon group; more 4G-4G genotypes were identified in control group; the difference was statistically significant (p=0.014). No statistically significant differences were determined between the two groups in terms of 5G-5G genotype.

When the phenomenon and the control groups were compared with respect to ACE gene polymorphism; ID genotypes were determined in large proportion in control group (frequency 19/33, 57.6%) while DD genotype were determined in large proportion in phenomenon group (frequency 17/35, 48.6%), the difference was statistically significant (p=0.025). There were no difference between them in terms of II genotype.

While the frequency of angiotensin converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker usage frequency in phenomenon group was 14.3% (5/35), it was determined to be 15.2% (5/33) in the control group. It was seen that this did not reach to statistical significance.

When the individuals carrying PAI-1 4G-5G genotype were compared to the ones who are of 4G-4G and 5G-5G genotype, an increase of 5.03 times was determined in the risk of AVF thrombosis [  $\chi^2=7.08$ , p=0.008, ODS=5.03, CI 95% (1.44:17.64)].

When the individuals carrying the ACE DD genotype were compared with the ones carrying II and the ID, an increase of 4.25 times was determined in the risk of AVF thrombosis [ $\chi^2=7.0$   $p=0.008$  ODS=4.25 CI %95 (1.404:12.83)].

Consequently, there is an increased risk of AV fistula thrombosis in individuals having PAI-1 4G-5G genotype and ACE DD genotype. For that reason in end stage renal failure patients before the fistula operation these polymorphisms should be determined and if patients are carriers for PAI-1 4G-5G ve ACE DD genotypes, and the other renal replacement modalities (peritoneal dialysis, preemptive transplantation) should be considered. Thus it will be possible to prevent the morbidity and mortality due to fistula loss.

**Key words: AV fistula, hemodialysis, ACE gene polymorphism, thrombophilia**

## 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

**BCIP** : 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfat

**KVK** : Kalıcı vasküler kateter

**KVH** : Kardiyovasküler hastalık

**D/D** : Delesyon/Delesyon

**DM** : Diabetes mellitus

**EDTA** : Etilen diamin tetra asetik asit

**ESA** : Eritropoez stimulan ajan

**FMF** : Ailevi akdeniz ateşi

**FV** : Faktör V

**FVIII** : Faktör VIII

**GFH** : Glomerüler filtrasyon hızı

**GMN** : Glomerülonefrit

**HD** : Hemodiyaliz

**HMWK** : Yüksek molekül ağırlıklı kininojen

**HPA** : Human platelet alloantijen

**HT** :Hipertansiyon

**I/D** :İnsersiyon/Delesyon

**I/I** :İnsersiyon/İnsersiyon

**K/DOQI** : Kidney Disease Outcomes Quality Initiative

**KBH** :Kronik böbrek hastalığı

**KBY** :Kronik böbrek yetmezliği

**LDL** : Düşük dansiteli lipoprotein

**MTHFR**: Metilen tetrahidrofolat redüktaz

**NBT** :Nitroblue tetrazolium

**PAI-1** : Plazminojen aktivatör inhibitörü 1

**PCR** : Polimeraz zincir reaksiyonu

**PKBH**:Polikistik böbrek hastalığı

**PTH** :Parathormon

**SDBY** : Son dönem böbrek yetmezliği

**TFPI** : Tissue factor pathway inhibitör

**t-PA** : Doku plazminojen aktivatörü

**VAT** : Vasküler akses trombozu

**VWF** : Von Willebrand faktör

## TABLolar VE ŞEKİLLER

<b>Tablo 2.1.</b> Kronik B6brek Hastalđının Evreleri.....	4
<b>Tablo 2.2.</b> T6rkiye’de Mevcut Hemodiyaliz Hastalarında Etyolojik Dağılım Oranları .....	5
<b>Tablo 2.3.</b> T6rkiye’de 2007 Yılı Sonu İtibariyle D6zenli HD Programında Olan Hastalarda Damar Ulaşım Yolu ve Oranları .....	7
<b>Tablo 2.4.</b> Pıhtılaşma Fakt6rleri.....	12
<b>Tablo 2.5.</b> Edinsel Trombofili Nedenleri .....	19
<b>Tablo 2.6.</b> Kalıtsal Trombofili Nedenleri.....	20
<b>Tablo 2.7.</b> Renal Hastalıklarda Homosistein Y6kseklilğinin Olası Mekanizmaları....	26
<b>Tablo 4.1.</b> Olgu ve Kontrol Gruplarının Temel Karakteristiklerinin Karşılaştırılması.....	39
<b>Tablo 4.2.</b> Olgu ve Kontrol Gruplarında Trombofilik Fakt6rlere ait Gen Polimorfizmlerinin Dağılımı.....	40
<b>Tablo 4.3.</b> Olgu ve Kontrol Gruplarında ACE Gen Polimorfizminin Dağılımı.....	41
<b>Tablo 4.4.</b> PAI-1 Gen Polimorfizmi İçin Olgu ve Kontrol Gruplarının Odds Oranı Açısından Değerlendirilmesi.....	41
<b>Tablo 4.5.</b> ACE Gen Polimorfizmi İçin Olgu ve Kontrol Gruplarının Odds Oranı Açısından Değerlendirilmesi.....	41
<b>Şekil 2.1.</b> Koag6lasyon Kaskadı.....	14
<b>Şekil 2.2.</b> Fibrinolizde Streptokinaz ve 6rokinazın Etkin Olduğu B6lgeler.....	17
<b>Şekil 3.1.</b> Vienna Lab CVD Strip Assay.....	36



## 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/m<sup>2</sup>'nin altına inmesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz, polikistik böbrek hastalığı, kronik piyelonefrit, glomerülonefritler, amiloidoz ve veziköüreteral 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 nativ 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). Renin angiotensin sistemi ile vasküler endotelial fonksiyonlar arasında ve AV fistül ve greftin iş görme süresi arasında bir ilişki olduğunu gösteren bulgular mevcuttur (3). Diğer yandan renin anjiotensin gen polimorfizmi ile kronik böbrek yetmezliğinde görülen komplikasyonlar arasında bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (5,6). Venöz trombozun etyolojisinde çeşitli kazanılmış ve genetik faktörler rol alabilir. (7). Başka hastalıklarla trombofili yeterince araştırılmasına rağmen damar erişim yolu fonksiyonu ve trombofili arasındaki ilişki hala netlik kazanmamıştır. Bir çalışmada inflamatuvar barsak hastalarında tekli ya da kombine trombofilik defekt prevalansı yüksek bulunmuştur (7). Heterozigot Faktör V Leiden, protrombin 20210 varyantı ve hiperhomosisteinemi bireylerde derin ven trombozu riskinde bir artış olduğu gözlenmiştir (8,9). Plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerindeki artışın (10) ve ACE DD genotipinin koroner arter hastalığı riskini artırdığı gösterilmiştir (11). ACE DD genotipinde ise PAI-1 aktivitesindeki artış nedeniyle hipofibrinoliz gelişmektedir (12). Hemodiyaliz hastalarında hiperhomosisteineminin varlığı akses trombozu ile ilişkili bulunmuştur (13).

Literatürde hemodiyaliz hastalarında trombofilik parametreler ve ACE gen polimorfizminin AV fistül fonksiyonuna etkisini araştıran bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada; ACE gen, trombofilik faktörler gen polimorfizmi, homosistein düzeyinin AV fistül fonksiyonuna etkisini saptamak suretiyle, fistül kararı alınacak hastalarda önceden olası tromboz gelişme riskini tahmin etmede önemli olabilecek bazı faktörlere 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 (14-18).

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 m<sup>2</sup>'nin altına inmesi durumu KBH olarak tanımlanmaktadır (Tablo 2.1) (19). 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 (20,21) . Kronik renal hastalıklar sonrası hastaların % 90'dan fazlasında SDBY gelişir (22).

**Tablo 2.1.** Kronik böbrek hastalığının evreleri

Evre	Tanım	GFH, ml/dk/1,73 m <sup>2</sup>	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 m<sup>2</sup>'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 fonksiyonlar düzenlemede kronik ve ilerleyici bir bozulma hali olarak tanımlanabilir (23). 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 değişkenlik gösterir (19).

ABD'de son dönem böbrek yetmezliği olan hasta sayısı 2004 yılında 336.000 iken 10 yılda 2 katına çıkacağı tahmin edilmektedir (24,25). 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 (18).

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 (23). Tablo 2.2'de ülkemizde mevcut hemodiyaliz hastalarının etyolojik dağılımı görülmektedir (18).

**Tablo 2.2.** Türkiye’de mevcut hemodiyaliz hastalarında etyolojik dağılım oranları

<b>Etyoloji</b>	<b>Oran %</b>
Diabetes Mellitus	26.1
Hipertansiyon	24.4
Kronik Glomerülonefrit	9.4
Polikistik Böbrek Hastalığı	4.4
Pyelonefrit	4.1
Amiloidoz	2.4
Renal vasküler hastalık	1.0
Etyolojisi Bilinmeyen	22.5
Bilgi yok	1.8

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 2007 kayıt sistemi verilerine göre ülkemizde primer RRT yöntemi hemodiyaliz olup (%75.7), bunu sırasıyla böbrek transplantasyonu (%14.0) ve periton diyalizi (%10.2) izlemektedir (18).

## 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 (31).

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 (32).

K/DOQI klavuzuna göre ABD'deki hastaların % 40-50'si giriş yolu olarak AVF kullanmaktadır (33). Türk Nefroloji Derneği'nin 2007 yılı verilerine göre ülkemizde AVF kullanımı % 86 kullanım oranı ile ilk sıradadır (Tablo 2.3) (18).

**Tablo 2.3.** Türkiye’de 2007 yıl sonu itibariyle düzenli HD programında olan hastalarda damara ulaşım yolu ve oranları

<b>Damar ulaşım yolu</b>	<b>Oran(%)</b>
AV fistül (nativ) .....	86
Kalıcı (tünelli) kateter .....	7
Geçici Kateter .....	4.2
AV Greft .....	2.9

### **2.3.ARTERİYOVENÖZ FİSTÜLLER**

A.V fistül en basit tanımıyla arter ile ven arasında bir pencere açılmasıdır (31). SDBY hastalarının hemodiyaliz tedavisi için AVF oluşturulması, 1966 yılında ilk kez Bresica 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 nativ 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 (36).

### **2.3.1.Snuff-Box (enfiye çukuru; fovea radialis) fistülleri:**

Radial arterin tenar dalı ile sefalik ven arasında yapılan fistüllerdir (36). 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 (37).

### **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 (36). 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 (37).



### **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 (36).

### **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 artre 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 kullanılmaması durumunda, bazilik ven transpozisyonu alt ekstremitte fistüllerine ve greft kullanılarak oluşturulan fistüllere geçilmeden önce tercih edilmesi gereken bir yöntemdir (36).

### **2.3.5.AVF komplikasyonları:**

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

### **2.3.6.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 (40). 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. Suni greftler otojen ven greftlerine göre daha çok tromboze olurlar (38).

## 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 (41).

### **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 (42).

### **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 (41).

### 2.4.3. Pıhtılaşma Faktörleri:

Pıhtılaşma reaksiyonlarında yer alan faktörler Tablo 2.4’de görülmektedir.

**Tablo 2. 4.** Pıhtılaşma Faktörleri

Faktör I	Fibrinojen
Faktör II	Protrombin
Faktör III	Doku tromboplastini
Faktör IV	Kalsiyum
Faktör VI	Proakselerin
Faktör VII	Prokonvertin
Faktör VIII	Anti hemofilik faktör A
Faktör IX	Anti hemofilik faktör B
Faktör X	Stuart-prower faktör
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesedan
Faktör XII	Hageman faktörü
Faktör XIII	Fibrin stabilize edici faktör
Prekallikrein	
Yüksek molekül ağırlıklı kininojen	

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 (41).

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 (41).

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

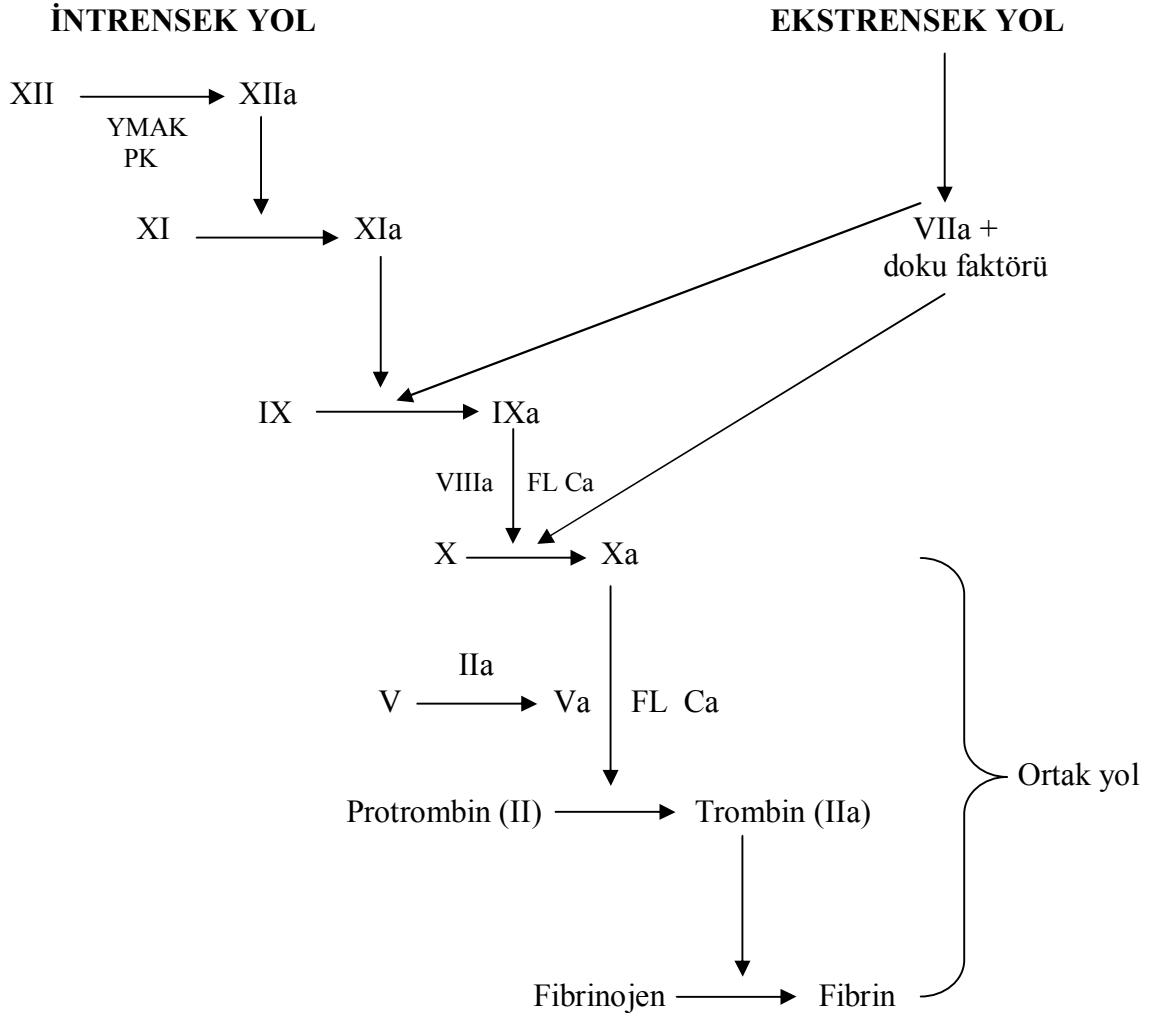
kendinden sonrakini aktive eder. Faktör V, VIII, III ise proteoliz reaksiyonlarını katalize eden kofaktörlerdir (41).

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 (41).

#### **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 (Şekil 2.1) (41).

Şekil 2.1. Koagülasyon Kaskadı



(YMAK: yüksek molekül ağırlıklı kininojen, PK: prekallikrein, FL: fosfolipid, a: aktive)

#### **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 reaksiyon agregre olmuş trombositlerin yüzeyine 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 (41).

#### **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 sistemdekinin aynıdır. 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 (41).

#### 2.4.7. Pıhtılaşma Reaksiyonlarının 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.

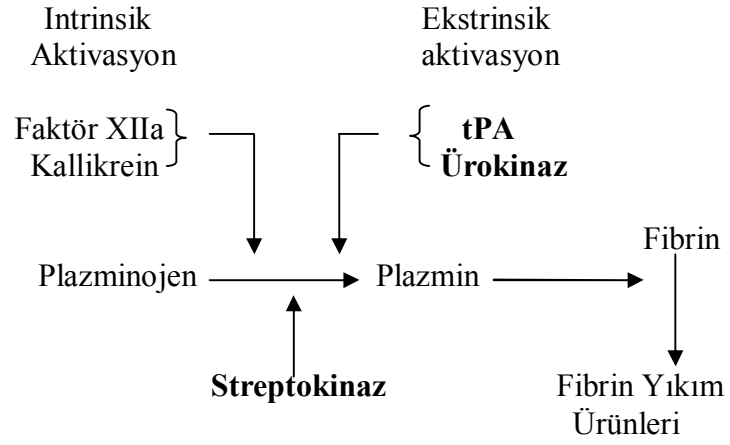
Protein C ve Protein S: K vitaminine bağımlı sentezi yapılan bu iki antikoagülan, protein C (proenzim) ve protein S (nonenzimatik kofaktör) faktör VIIa ve Va'nın inaktivasyonunda rol alırlar. Trombin-trombomodulin kompleksi protein C'yi aktive eder. Aktive protein C, kofaktörü protein S ile birlikte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

Doku Faktörü İnhibitörü (TFPI) trombositlerde ve bol miktarda endotel yüzeyine bağılı olarak bulunur. Faktör Xa'yı ve doku faktörü/VIIa kompleksini inhibe eden bir inhibitördür (41).

Fibrinoliz: Koagülasyon süreci, doğal koagülasyon inhibitörleri yanı sıra fibrinolitik sistem ile dengelenir. Fibrinolitik sistemin amacı fibrini parçalamaktır. Bu süreci aktif enzim plazmin ile yapar. Plazminojen ön enziminin aktivasyonu ile plazmin oluşur (43). 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 (44,45). 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 (Şekil 2.2) (44,46).



**Şekil 2.2.** Fibrinolizde streptokinaz ve ürokinazın etkin olduğu bölgeler



(tPA: Doku plazminojen aktivatörü)

## 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 (Tablo 2.5 ve Tablo 2.6) (48). Arteriyel ve venöz sistemde trombüs 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 (47).

Kalıtsal trombofili nedenleri Tablo 2.6'da özetlenmektedir (47-50,51-62). 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 (47,50,51,53-55).

**Tablo 2.5.** Edinsel trombofili nedenleri

<b>Arteriyel tromboz nedenleri</b>	<b>Venöz tromboz nedenleri</b>
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

<b>Bozukluk</b>	<b>Toplumdaki sıklığı (%)</b>	<b>Trombozlu hastalardaki sıklığı (%)</b>
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.ACE GEN POLİMORFİZMİ:**

Endotel hücrelerinde hücre zarına bağlı olarak bulunan ACE, Anjiyotensinojen I'ın AII'ye dönüşümünü ve bradikininin parçalanmasını sağlayarak dolaşımdaki homeostazda önemli rol oynar. Fonksiyonel olarak benzer, birbiri ile ilişkili endokrin ve lokal olmak üzere iki renin anjiyotensin sistemi (RAS) vardır. Renin; endokrin RAS'ın aktivitesinde, doku ACE; lokal RAS'ın aktivitesinde daha etkilidir (63,64).

ACE geni insanda 17. kromozomun uzun kolunun 23. bölgesinde (17q23) lokalizedir. Bu gen 21 kilobaz büyüklüğünde olup 26 ekzon ile 25 introndan oluşur. Onaltıncı introndaki 287. baz çiftinin olup olmamasına bağlı olarak "İnsersiyon/ Delesyon (ID)" polimorfizmi oluşmaktadır. Buna göre Delesyon/Delesyon (DD), İnsersiyon/ Delesyon (ID) ve İnsersiyon/ İnsersiyon (II) olmak üzere 3 genotip vardır (65,66).

ACE kuvvetli vazokonstrüktif etkileri, fibrinolizin azalması, trombosit aktivasyonu ve agregasyonundaki etkileri nedeniyle tromboembolizme yol açmaktadır (67).

ACE DD genotipine sahip hastalarda ortalama plazma ACE düzeyleri II genotipinde olanlara göre yaklaşık iki mislidir ve bu da DD genotipine sahip hastalarda tromboemboli riskini arttırmaktadır. Ayrıca ACE DD genotipinin kuvvetli bir şekilde postoperatif venöz tromboz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (68,69). ACE DD genotipinin belirgin bir şekilde trombofilik değişikliklere ve predispozan faktörlere sahip olmayan kişilerde trombozun hassas bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür. Bazı çalışmalarda ACE DD genotipinin venöz tromboemboli nüksü için bir predispozan faktör olduğu varsayılmıştır (69,70).

## **2.7.FAKTÖR V GEN POLİMORFİZMİ**

Faktör V (FV), protrombinin trombine çevrilmesinde rol oynayan önemli bir pıhtılaşma faktörüdür. Aktive protein C ise, FV’i inaktive ederek pıhtılaşmanın kontrolsüz bir şekilde devam etmesini engelleyen bir antikoagülan sistem elemanıdır. FV aktive protein C’nin (APC) kofaktörü olarak fonksiyon yapar. APC ile birlikte Faktör VIIIa’i inaktive eder ve ayrıca Faktör V’in kendi aktive formu, protrombinin proteolitik aktivasyonunda kofaktör olarak rol oynar ve protrombinin trombine dönüşmesini sağlar (71).

### **2.7.1.Faktör V Leiden mutasyonu (FV G1691A):**

FV Leiden mutasyonu (G1691A veya R506Q) kalıtsal bir pıhtılaşma bozukluğudur. FV genindeki 1691.pozisyonda bulunan guaninin adenine değişimi (Leiden mutasyonu) ve 506. pozisyondaki arjinin aminoasidi yerine glutamin aminoasidi gelmesiyle oluşmaktadır. Bu da FV’in APC’ye direnç göstermesine ve böylece tromboza bir eğilim olmasına neden olmaktadır (72).

Bu mutasyonun popülasyonda tahmini sıklığı Avrupa ve Amerika’da yaklaşık olarak % 2-7 arasında değişmekte olup, kalıtsal trombofili ve trombozlu olguların yaklaşık olarak % 20-50’sinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır (73).

Heterozigotlarda yaklaşık olarak % 5-10 kat artmış tromboz riski olduğu düşünülürken, homozigotlar 50-100 katlık riske sahiptirler. Ana klinik bulgu derin ven trombozudur. Protein C veya Protein S eksikliği gibi diğer trombofilik durumlarla beraberlik veya oral kontraseptiflerin kullanımı tromboz riskini artırır (74).

VAT gelişen ve gelişmeyen, karşılaştırmalı bir çalışmada, VAT olan grupta Faktör V leiden mutasyonu anlamlı düzeyde daha yüksek oranda (% 13’e karşı % 4), saptanmıştır (75).

### **2.7.2.Faktör V R2 (H1299R) polimorfizmi:**

Faktör V H1299R gen mutasyonu tüm dünyada etnik gruplar arasında farklılıklar arz etmekle birlikte, prevalansının % 9.5-15.2 gibi yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (76). Bu mutasyon daha hafif bir APC rezistansı oluşturur (77).

## **2.8.PROTROMBİN (FAKTÖR II) GEN POLİMORFİZMİ**

Otozomal dominant kalıtım gösterir. Protrombin geninin translasyona uğramayan 3’-ucunda 20210 pozisyonunda guaninden adenine baz değişimi protrombin düzeylerinde yükselme ile sonuçlanır. Bu artış da mutasyonla trombofili ilişkisini desteklemektedir. Protrombin 20210A mutasyonu gerek arteriyel, gerek venöz trombozlara eşlik etmektedir. Faktör V Leiden ve protrombin G20210A’nın birlikteliği venöz tromboembolizm açısından daha büyük risk oluşturur (74).

Protrombin G 20210A mutasyonunun heterozigot formunda VAT prevalansı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (% 9-% 0) (75).

## **2.9.FAKTÖR XIII GEN POLİMORFİZMİ**

Faktör XIII, koagülasyon kaskatının son basamağında fibrin stabilizasyonundan sorumlu bir transglutaminaz enzimidir (78). Faktör XIII'ün arteriyel veya venöz tromboembolide risk taşıyan formu Faktör XIII-A'dır. Bugüne kadar faktör XIII-A ile ilişkili 5 çeşit gen polimorfizmi tanımlanmıştır. Bunlar içerisinde en sık rastlanılanı Faktör XIII-A geninin 34. pozisyonunda valin yerine lösinin geçmesiyle ortaya çıkan polimorfizm (faktör XIII-A subünit Val34Leu) dir. Faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizminin sıklığına yönelik yapılan çalışmalarda heterozigot % 32-43, homozigot ise % 4-10 olarak bildirilmiştir (79,80).

## **2.10.BETA FİBRİNOJEN GEN POLİMORFİZMİ**

$\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmiyle ilişkili olarak yaklaşık 10 mutasyon tanımlanmış olmakla birlikte vasküler patolojide rolü daha iyi anlaşılmış olan  $\beta$ -Fibrinojen -455G/A ( $\beta$  Hae III) gen polimorfizmidir (81-83). Humphries ve ark. plazma kan fibrinojen konsantrasyonları ile  $\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi incelemişler ve en fazla artışı -455G/A gen varyantında bulmuşlardır (83).

Beta-fibrinojen -455G/A gen polimorfizminin venöz trombozla ilişkisi olmadığı, ancak obezite ve FV Leiden mutasyonu ile ilgili tromboz riskini arttırdığı öne sürülmektedir (84,85,86).

## **2.11.PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRÜ-1 (PAI-1) GEN POLİMORFİZMİ**

PAI-1 geni 7. kromozomun uzun kolunda (7q21. 3q22) lokalize olmuştur, 9 ekzon ve 8 intron içerir. Birçok polimorfizmin tanımlanmış olmasının yanında, tek bir baz değişimini içeren 4G/5G polimorfizmi promotor bölgesinde yer alır (87,88). PAI-1 379 aminoasitten oluşan ve 48.000 D moleküler ağırlıkta olan lineer bir glikoproteindir. Asıl görevi fibrinolizisi azaltmaktır (87). 4G alleli yüksek plazma PAI-1 seviyesinden sorumludur (87,89). PAI-1 ekspresyonunun diyaliz hastalarındaki fistül stenozunda arttığı gösterilmiştir (90).

## **2.12.GLİKOPROTEİN (GP) IIIa GEN POLİMORFİZMİ**

Glikoprotein IIIa (GPIIIa) platelet membranı üzerinde bulunan fibrinojen reseptörüdür. Normal allel A1(a) olarak ifade edilir. A2 (b) alleli erken yaşta akut koroner olaylara, miyokard infarktüsüne ve inmeye (stroke) yatkınlıkta önemlidir (91). Beyaz popülasyonda A1 tipine % 85 oranında rastlanmaktadır (92).

## **2.13.METİLENTETRAHİRDİFOLAT REDÜKTAZ GENİ C677T POLİMORFİZMİ**

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR), folat metabolizmasında önemli bir enzimdir ve 656 aminoasitten oluşmaktadır. Bu enzim, homosisteinin remetilasyon döngüsünde görev yapar (homosisteini, transsülfürasyon ve remetilasyon yollarını kullanarak metabolize eder). MTHFR enzimi, vitamin folat (folik asit/vitamin B 9) ile ilgili kimyasal bir reaksiyon için önemlidir. Bu reaksiyon homosisteini metiyonine çeviren çok basamaklı bir süreç için gereklidir. İnsan vücudu, proteinleri ve diğer önemli bileşikler yapmak için metiyonini kullanmaktadır (93).



C677T polimorfizmi MTHFR proteininin N terminal katalitik bölgesini etkileyen 4. ekzonda meydana gelir (71). MTHFR C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C (Sitozin)'in T (Timin)'e dönüşmesi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır. Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda alanin aminoasitinin yerine valin aminoasitinin geçmesine neden olur.

Bunun sonucu olarak MTHFR aktivitesi azalır. Azalan MTHFR aktivitesi, 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya ve homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artmaya neden olur (94).

MTHFR'nin C677T mutasyonunda, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (95).

Homosisteinin sülfidril grubunun, hipometilasyon ve açilleme etkisi nedeniyle, homosisteinin, damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu bilinmektedir (96). TT genotipin venöz tromboziste önemli bir risk faktörü olduğunun ileri sürülmesine rağmen, bu görüşü desteklemeyen çalışmalar da mevcuttur (93,97,98).

337 hemodiyaliz hastasını içeren retrospektif bir çalışmada TT genotipinde CC ve CT genotipine göre VAT riskinde anlamlı düzeyde artış saptanmıştır (ODDS oranı 3.2, %95 güven aralığı, 1.5-6.7) (99).

#### **2.14.METİLENTETRAHİRDOLFOLAT REDÜKTAZ GENİ A1298C POLİMORFİZMİ**

MTHFR geninde belirlenen başka bir mutasyon da, MTHFR proteininin C-terminal regülatör bölgesini etkileyen 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan adeninin yerine sitozinin gelmesi nedeniyle MTHFR proteinindeki glutamin alanine dönüşmektedir. Bu mutasyonda da diğer mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR

aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin, plazma homosistein konsantrasyonunu, MTHFR C677T polimorfizmi kadar etkilememektedir. Ancak, bu polimorfizmin önemi tam olarak açıklanamamıştır (93).

## 2.15.HOMOSİSTEİN

Homosistein, vücuttaki tüm hücrelerde, diyetle alınan metioninden demetilasyon sonucunda oluşan, sülfür yapıda ve esansiyel olmayan bir aminoasittir. Remetilasyon yoluyla tekrar metiyonine dönüşerek ya da transsülfürasyon yoluyla sistein, metilmalonik asid ve 2-metilsitrik aside dönüşerek metabolize edilir (100,101,102,103).

Normal sağlıklı popülasyonda açlıkta bakılan homosistein için normal sınırlar 5-15 mikromol/L'dir (high performance liquid chromatography yöntemi ile) (102).

Kronik böbrek yetmezliği hiperhomosisteineminin bir nedenidir, bir sonucu değildir. Hiperhomosisteinemi ile seyreden homosistinürik bireylerde artmış KBY insidansı tariflenmemiştir (104,105). Renal hastalıklarda homosistein yüksekliğinin olası mekanizmaları Tablo 2.7 de verilmiştir (107).

**Tablo 2.7.** Renal hastalıklarda homosistein yüksekliğinin olası mekanizmaları

---

Azalmış sistemik klirens
Bozulmuş renal metabolizma
Enzim inhibisyonu
MTHF redüktaz enzim polimorfizmi
B6 veya B12 eksikliği
Folik asidin tam ya da kısmi eksikliği
Azalmış folat absorpsiyonu
İntrasellüler folat inhibisyonu
Hemodiyaliz hastalarında artmış folat kaybı

---

Hiperhomosisteineminin nasıl aterosklerotik ve trombotik vasküler hastalıkların gelişimini arttırdığı açık değildir. Bununla birlikte invitro insan endotel hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda homosisteinin endotel hücre lizisine neden olduğu, düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu arttırdığı, düz kas hücre proliferasyonunu indüklediği, tromboksan aracılı platelet agregasyonunu arttırdığı, faktör V'in endotel hücre aktivasyonunu indüklediği, arteriyel ve venöz endotel hücrelerinde protein C aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (100,102,104,106).

Yüksek homosistein düzeylerinin KBY'li hastalarda A-V fistül ya da greftlerin trombozunda da rol oynayabileceğini bildiren çalışmaların yanı sıra bu birlikteliği gösteremeyen çalışmalarda bildirilmiştir (108,109). Shemin ve ark. diyaliz hastalarında her 1 µmol/L'lik homosistein artışının vasküler giriş yolu trombozu oluşum riskini % 4 (% 95 CI; % 1-6) arttırdığını ileri sürmektedirler (108).

### **3.MATERYAL METOT**

#### **3.1.ÖRNEKLEMİN ÖZELLİKLERİ:**

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 08.01.2008 tarih ve B.30.2.CUM.0.1H.00.00-07/116 sayılı kararla onandı. Çalışmanın mali kaynağı Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 26.02.2008 tarih ve 7 sayılı kararla 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, ilk AV fistül operasyonundan sonraki bir hafta süresince AV fistülü fonksiyone iken, daha sonraki iki ay içinde en az 3 kez AV fistül fonksiyon kaybı yaşanan 35 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 doğrulanmıştır. Kontrol grubu ise ilk AV fistül operasyonundan sonra en az 3 yıl süreyle hiç AV fistül

problemi yaşamamış, yani en az 3 yıl boyunca AV fistülü intakt olan 33 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. Retrospektif olarak hastalar değerlendirildi.

İki grup için yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı, çalışma esnasında kullanılan ilaçlar (ACEİ-ARB, D-vit, ESA, fosfor bağlayıcı, anti-platelet ajan, 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 bilinmeyen nedenler olarak kategorize edildi. Hemodiyaliz parametrelerinden Kt/V, hemodiyaliz süresi ve mevcut intakt akses lokalizasyonları 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 homosistein düzeyi analizi AXSYM (Abbott) cihazı ile Abbott Homosistein Kiti kullanılarak Macro ELİSA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile mikrobiyoloji laboratuvarında yapılmıştır.

### **3.2. KVH (KARDİOVASKÜLER HASTALIK) GENETİK MUTASYON ANALİZİ:**

#### **3.2.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar**

Hibridizasyon cihazı (Profiblot T48, Tecan)

Thermal Cycler (Applied Biosystems, 2720)

Kuru ısı bloğu (CHB-202, Bioer)

Santrifüj (Micro 120, Hettich)

1000'lük, 200'lük ve 10'lük mikropipetler (Eppendorf ve Gilson)

DNA izolasyon kiti (Invitek, Invisorb Spin Blood Kit)  
FMF Strip Assay PCR ve hibridizasyon kiti (Vienna Lab)  
Elektroforez (Biorad, Midi)  
Güçkaynağı (Biorad)  
Taq DNA polimeraz (Fermentas)  
Ethidium Bromide (EtBr)  
TAE tamponu (Appllichem)  
Agaroz (Nu micropor, Prona)  
Otoklav indikatörü  
Tüp (K3- EDTA, Vacuette)  
Eppendorf tüp (1.5, 2 ve 0.2 ml, Sarstedt)  
Mikropipet uçları (beyaz, sarı ve mavi, Biosphere Filter Tips)  
Etil alkol (Merck)  
Yükleme boyası (Fermentas)

### **3.2.2. DNA İzolasyonu:**

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. Bunun için Invitek Invisorb Spin Blood DNA İzolasyon kiti kullanıldı. Yaklaşık 200 µl periferik kan dokusunun kullanıldığı teknik sonrasında 30–50 ng /µl ultrapür genomik DNA izole edildi (A260:A280 oranı 1,7- 2 arası). İzolasyon için kullanılan 50 hastalık kit içeriği aşağıdaki gibidir;

1) Proteinaz K, 1ml (10µg/µl)

- 2) Liziz tamponu (Lysis Buffer A), 15ml
- 3) Bağlanma tamponu (Binding Buffer B6), 30ml
- 4) Elüsyon tamponu (Eluotion Buffer D), 15ml
- 5) Yıkama Tamponu I, 30 ml (Kullanılmadan önce 30ml % 100'lük etil alkol eklenir)
- 6) Yıkama Tamponu II,18 ml (Kullanılmadan önce 42ml % 100'lük etil alkol eklenir)
- 7) 2.0 ml'lik toplama tüpleri, 100 adet
- 8) 1.5 ml'lik toplama tüpleri, 50 adet
- 9) Filtreler, 50 adet

### **3.2.3. Kan Dokusundan DNA İzolasyonu Protokolü:**

Çalışmadan önce örnek sayısına yetecek kadar elüsyon tamponu (eluotion buffer D) 56 °C'ye ısıtıldı.

Kodlaması yapıldıktan sonra 1,5'luk ependorf tüpe 200 µl EDTA'lı kan, 200 µl liziz tamponu (lysis buffer A) ve 20 µl proteinaz K konuldu. Kapağı kapatılarak tüp 10 sn vortekslendi ve 56 °C de 10 dk inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası tüp ortamına 400 µl bağlama tamponu (binding buffer B6) tüpe eklendi, 3-4 kez pipetaj yapıldıktan sonra lizatın tamamı filtrelili toplama tüpüne aktarıldı. Filtre toplama tüpü daha sonra 3 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12 000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi.

Filtre yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, üzerine 500 µl yıkama tamponu 1 (wash buffer I) eklendi ve 12000 rpm'de 1dk santrifüj edildi. Toplama tüpü tekrar değiştirildi, filtre üzerine 800 µl yıkama tamponu 2 (wash buffer II) eklenerek ve 12

000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Filtre üçüncü kez olarak 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, 14 000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek yıkama tamponlarından gelen alkolden arındırıldı. Alkolden tamamen arındırmak için filtre dördüncü ve son kez yeni 1,5'lük tüpe yerleştirildi ve 3 dk kapağı açık biçimde oda sıcaklığında bekletildi.

Daha sonra filtre membranının tam ortasına 200 µl elüsyon tamponu (elution buffer-D) eklendi, 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tüp 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi, filtredeki DNA çözeltisi toplama tüpüne aktarıldı, etiketlendi ve -20 °C'de çalışılmak üzere muhafaza edildi.

#### **3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu:**

MTHFR geninin ilgili bölgelerinin çoklu (multipleks) amplifikasyonu için Vienna Lab CVD PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. Kit, bir amplifikasyon karışımı (gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir) ve Taq DNA polimeraz tamponundan oluşmaktadır.

PCR anakarışım, her hasta için etiketlenmiş 0.2 ml eppendorf tüp ortamı;

Amplifikasyon karışımı : 15 µl

Taq DNA polimeraz seyreltici tampon: 4,6 µl

Taq DNA polimeraz : 0,4 µl

Kalıp DNA : 5 µl

Toplam hacim : 25 µl şeklinde hazırlandı.

Multipleks PCR koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı:

95 °C'de.....2 dk (ilk denatürasyon)

95 °C'de.....15 sn (denatürasyon)



56 °C'de.....30 sn (bağlanma)

72 °C'de.....30 sn (uzama)

72 °C'de.....3 dk (son uzama)

35 döngüden sonra elde edilen PCR ürünleri strip test tekniğinde değerlendirilmek üzere +4 °C'de saklandı.

### **3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi:**

Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4 µl) %1'lik elektroforezde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10 µl ürün revers hibridizasyon analiz için kullanıldı.

### **3.2.6. Revers-Hibridizasyon:**

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon ProfiBlot T48 (Tecan) hibridizasyon cihazı kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerlerle çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitroselluloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasına dayanan bir tekniktir.

#### **3.2.6.1. Revers Hibridizasyon Basamakları ve Kullanılan Solüsyonlar:**

Strip test tekniğinde Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

1) Strip üzerindeki proplar ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon: Cihazın örnek yükleme bölgesine (trey) yüklenen 10 µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10 µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi. Treye strip yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın sallanan platformunda, 45 °C sıcaklıkta (yaklaşık) 1 ml hibridizasyon tamponu ile 20 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

2) Yıkama: Hibridizasyon sonrasında ortamda bulunması istenmeyen PCR ürünleri ve non-spesifik bağlanma yapan oligonükleotidler kuvvetli bir yıkayıcı olan yıkama solüsyonu A (1ml) ile 45 °C'de 15 dakikalık üç yıkama periyodu ile ortamdan uzaklaştırıldı.

3) Renk oluşumu: Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15 dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalan fosfataz, biyotin işaretli hibrit DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı.

Konjugat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10, 5 ve 5 dakikalık üç periyotta temizlendi.

Strip üzerindeki hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortama 1ml alkalan fosfatazın subtratı olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfatdan (BCIP) oluşan renk geliştiricisi (color developer) eklendi, oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona tabi tutuldu. Strip son olarak distile su ile yıkandı, kağıt havlu ile kurutulduktan sonra değerlendirme tablosuna (Collector) özenle yerleştirildi.

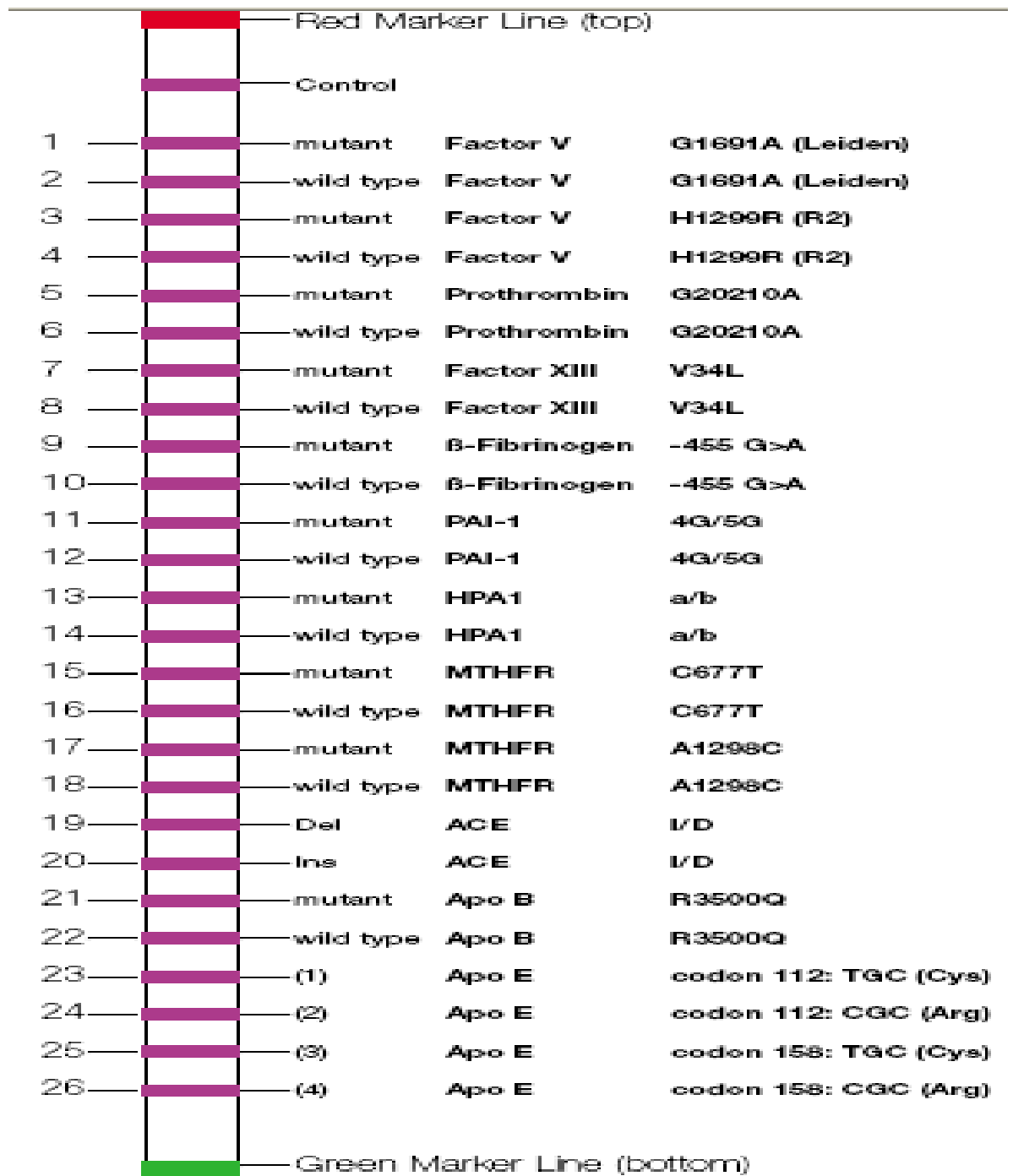
### **3.2.7. Striplerin Değerlendirilmesi:**

Her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası striplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmazlar.

Yabanıl tip gen bölgesine ait 1 prob stripin alt kısmında, mutant gen bölgesine ait 1 prob ise stripin üst kısmında sinyal verecek şekilde dizayn edilmişlerdir (Şekil 3.1). Hibridizasyon sonrası yabanıl tip bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgesine ait bantın bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir. Mutant gen bölgelerine ait bantda sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabanıl tip kodonuna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Mutasyonun yabanıl tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon heterozigot, mevcut olmaması durumunda ise homozigot olarak değerlendirilir.

### **3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Çalışmamızın verileri SPSS (Versiyon:14.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, Khi-kare testi 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 edilmiştir.



Şekil 3.1. Vienna Lab CVD Strip Assay (Manufactured by: ViennaLab Vienna, Austria)

## 4.BULGULAR

Olgu ve kontrol gruplarının temel karakteristikleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Olgu grubu AV fistül trombozu olan 35 hastadan, kontrol grubu hiç AV fistül trombozu gelişmemiş 33 hastadan oluşturuldu.

Yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (p değerleri sırasıyla; 0.946, 0.051, 0.756).

Her iki grup arasında KBY etyoloji, akses lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V, CaXP, PTH, hemoglobin, LDL, albumin değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu.(p değerleri sırasıyla; 0.113, 0.209, 0.254, 0.456, 0.172, 0.736, 0.069, 0.620, 0.094).

Homosistein düzeyleri için 5-15 mikromol/L arasındaki değerler normal kabul edildi. Her iki grupta Homosistein düzeyleri normalin üstündeydi. Olgu grubunda ortalama homosistein düzeyi  $19.40 \pm 8.28$  mikromol/L iken, kontrol grubunda ortalama homosistein düzeyi  $22.95 \pm 9.63$  mikromol/L olarak ölçüldü. Kontrol grubunda ortalama değerler daha yüksek olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (  $p=0.116$ ).

Olgu ve kontrol gruplarında trombofilik faktörlere ait gen polimorfizmlerinin dağılımı Tablo 4.2’ de gösterilmiştir. Faktör V G1691A Leiden ( $p=0.357$ ), Faktör V H1299R (R2)( $p=0.115$ ) , Protrombin G20210A ( $p=0.608$ ), Faktör XIII V34L ( $p=0.358$ ) Beta-Fibrinojen-455 G-A ( $p=0.292$ ), GPIIIa L33P (HPA-1) ( $p= 0.646$ ),

MTHFR C677T (p=0.155), MTHFR A1298C (p=0.879) gen polimorfizmleri açısından iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Olgu grubunda daha fazla PAI-1 4G-5G genotipi saptanırken, kontrol grubunda 4G-4G genotipi daha fazla oranda saptandı (p=0.014). Ancak; iki grup arasında 5G-5G genotipi açısından anlamlı farklılık yoktu (Tablo 4.2).

Olgu ve kontrol grupları ACE gen polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında; Kontrol grubunda büyük oranda ID genotipi saptanmış iken (19/33,%57.6), olgu grubunda büyük oranda DD genotipi (17/35, %48.6) saptandı (p=0.025). Diğer taraftan ACE II genotipi açısından iki grup arasında fark yoktu (Tablo 4.3).

ACEİ-ARB kullanımı olgu grubunda (5/35, % 14.3), kontrol grubunda (5/33, %15.2) saptandı.

PAI-1 4G-5G genotipini taşıyan bireyler 4G-4G ve 5G-5G genotipli bireyler ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 5.03 kat artış saptandı [ $\chi^2= 7,08$  p=0,008 ODS=5,03 CI %95 (1,44:17,64)] (Tablo 4.4).

ACE DD genotipini taşıyan bireyler II ve ID ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 4.25 kat artış saptandı. [ $\chi^2=7,0$  p=0,008 ODS=4,25 CI %95 (1,404:12,83)] (Tablo 4.5).

**Tablo 4.1. Olgu ve kontrol gruplarının temel karakteristiklerinin karşılaştırılması**

	OLGU	KONTROL	SONUÇ	
	(n= 35)	(n=33)		p
<b>Yaş</b>	45.97 ± 10.78	45.75 ± 14.75	t= 0.06	0.946
<b>Cinsiyet E/K</b>	15/20	22/11	x <sup>2</sup> =3.81	0.051
<b>Sigara</b>				
Bırakmış	8 (22.9)	7 (21.2)	x <sup>2</sup> =0.56	0.756
İçiyor	5 (14.3)	7 (21.2)		
İçmiyor	22 (62.9)	19 (57.6)		
<b>İlaçlar</b>				
ACEİ-ARB	5 (14.3)	5 (15.2)	x <sup>2</sup> =0.07	0.792
D-vit	9 (25.7)	10 (30.30)	x <sup>2</sup> =0.48	0.487
ESA	14 (40.0)	14 (42.4)	x <sup>2</sup> =0.04	0.839
Fosfor Bağlayıcı	28 (80.0)	27 (81.8)	x <sup>2</sup> =0.04	0.849
Antiplatelet	9 (25.7)	8 (24.2)	x <sup>2</sup> =0.02	0.889
B kompleks	9 (25.7)	9 (27.3)	x <sup>2</sup> =0.02	0.884
Folikasit	13 (37.1)	8 (24.2)	x <sup>2</sup> =1.32	0.250
Parenteral Demir	6 (17.1)	4 (12.1)	x <sup>2</sup> =0.34	0.559
<b>KBY Etiyoloji</b>				
DM	7 (20.0)	2 (6.1)	x <sup>2</sup> = 10.27	0.113
HT	6 (17.1)	6 (18.2)		
GMN	1 (2.9)	7 (21.2)		
PKBH	3 (8.6)	3 (9.1)		
FMF	3 (8.6)	2 (6.1)		
Taş	5 (14.3)	1 (3.0)		
Bilinmeyen	10 (28.6)	12 (36.8)		
<b>Akses Lokalizasyon</b>				
Önkol proksimal	1 (2.9)	4 (12.1)	x <sup>2</sup> = 3.13	0.209
Önkol orta	3 (8.6)	5 (15.2)		
Önkol distal	31 (88.6)	24 (72.7)		
<b>Hemodiyaliz Süresi</b>	5.24 ± 4.84	6.48 ± 3.98	1.15	0.254
<b>Kt/V</b>	1.38 ± 0.29	1.42 ± 0.13	0.74	0.456
<b>Ca x P</b>	47.39 ± 13.90	53.16 ± 20.18	1.37	0.172
<b>PTH</b>	412.13 ± 429.78	446.07 ± 387	0.33	0.736
<b>Hb</b>	11.40 ± 1.69	12.09 ± 1.34	1.84	0.069
<b>LDL</b>	89.42 ± 31.53	85.54 ± 32.66	0.49	0.620
<b>Albumin</b>	3.82 ± 0.69	4.06 ± 0.44	1.69	0.094
<b>Homosistein</b>	19.40 ± 8.28	22.95 ± 9.63	1.59	0.116

(ESA: Eritropoez Stimulan Ajan)

**Tablo 4.2. Olgu ve kontrol gruplarında trombofilik faktörlere ait gen polimorfizmlerinin dağılımı**

	<b>OLGU</b>	<b>KONTROL</b>	<b>SONUÇ</b>	
	<b>(n= 35)</b>	<b>(n=33)</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>Faktör V G1691A (Leiden)</b>				
Heterozigot	4 (11.4)	1 (3.0)		0.357
Homozigot				
Normal	31 (88.6)	32 (97.0)		
<b>Faktör V H1299R (R2)</b>				
Heterozigot	11 (31.4)	5 (15.23)		0.155
Homozigot				
Normal	24 (68.6)	28 (84.8)		
<b>Protrombin G20210A</b>				
Heterozigot	1 (2.9)	2 (6.1)		0.608
Homozigot				
Normal	34 (97.1)	31 (93.9)		
<b>Faktör XIII V34L</b>				
Heterozigot	20 (57.1)	21 (63.6)	x <sup>2</sup> = 2.05	0.358
Homozigot	1 (2.9)	3 (9.1)		
Normal	14 (40.0)	9 (27.3)		
<b>Beta Fibrinojen (455 G-A)</b>				
Heterozigot	17 (48.6)	11 (33.3)	x <sup>2</sup> = 2.46	0.292
Homozigot		1 (3.0)		
Normal	18 (51.4)	21 (63.6)		
<b>PAI-1 4G/5G</b>				
4G-5G	31 (88.6)	20 (60.6)	x <sup>2</sup> =8.55	0.014
4G-4G	2 (5.7)	11 (33.3)		
5G-5G	2 (5.7)	2 (6.1)		
<b>GPIIIa L33P (HPA-1)</b>				
Heterozigot	9 (25.7)	6 (18.2)	x <sup>2</sup> = 0.87	0.646
Homozigot	1 (2.9)	2 (6.1)		
Normal	25 (71.4)	25 (75.8)		
<b>MTHFR C677T</b>				
Heterozigot	12 (34.2)	5 (15.2)	x <sup>2</sup> =3.73	0.155
Homozigot	6 (17.1)	9 (27.3)		
Normal	17 (48.5)	19 (57.6)		
<b>MTHFR A1298C</b>				
Heterozigot	16 (45.7)	17 (51.5)	x <sup>2</sup> =0.25	0.879
Homozigot	4 (11.4)	3 (9.1)		
Normal	15 (42.9)	13 (39.4)		



**Tablo 4.3. Olgu ve kontrol gruplarında ACE gen polimorfizminin dağılımı**

ACE Genotipi	Olgu (%)	Kontrol (%)	<b>x<sup>2</sup>= 7.40</b>	<b>0.025</b>
I/D	11 (31.4)	19 (57.6)		
D/D	17 (48.6)	6 (18.2)		
I/I	7 (20.0)	8 (24.2)		
<b>Toplam</b>	<b>35 (100)</b>	<b>33 (100)</b>		

**Tablo 4.4. PAI-1 gen polimorfizmi için olgu ve kontrol gruplarının odds oranı açısından değerlendirilmesi**

Gruplar	4G-5G Sayı (%)	4G-4G ve 5G-5G Sayı (%)	TOPLAM	<b>x<sup>2</sup>=7,08</b> <b>p=0,008</b> <b>ODS=5,03</b> CI %95 (1,44:17,64)
<b>Olgu</b>	31 (88,6)	4 (11,4)	35 (100)	
<b>Kontrol</b>	20 (60,6)	13 (39,4)	33 (100)	
<b>TOPLAM</b>	51 (75,0)	17 (25,0)	68 (100)	

**Tablo 4.5. ACE gen polimorfizmi için olgu ve kontrol gruplarının odds oranı açısından değerlendirilmesi**

Gruplar	DD Sayı (%)	II ve ID Sayı (%)	TOPLAM	<b>x<sup>2</sup>=7,0</b> <b>p=0,008</b> <b>ODS=4,25</b> CI %95 (1,404:12,83)
<b>Olgu</b>	17 (48,6)	18 (51,4)	35 (100)	
<b>Kontrol</b>	6 (18,2)	27 (81,8)	33 (100)	
<b>TOPLAM</b>	23 (33,8)	45 (66,2)	68 (100)	

## 5.TARTIŞMA

Vasküler akseslerin yeterli bakımı hemodiyaliz hastalarının yaşamı için çok önemlidir. ABD’de hemodiyaliz hastalarının çoğunluğunda vasküler erişim için AV fistül veya sentetik AV greft kullanılmaktadır (110). Diyaliz hastalarında tüm hospitalizasyonların % 20-25’inden vasküler akses komplikasyonları sorumludur ve yıllık maliyeti 1 milyar dolardan fazladır (111,112). Tromboz AV fistül ve greft yetmezliğinin en önde gelen nedenidir (112). Buna rağmen akses trombozuna yol açan birkaç tane kesinleştirilmiş risk faktörü vardır (113). Akses tromboz epizodlarının büyük çoğunluğunun nedeni fibromuskuler ve intimal hiperplazi nedeniyle oluşan stenoza bağlı iken, bazan akses trombozu bu anatomik anormallikler olmadan da gelişmektedir (112,114-116). Anatomik anormallikleri olan bazı hastalarda tromboz gelişip, bazılarında gelişmemesinin nedeni tam olarak bilinmemektedir (117).

Trombofililer doğuştan veya kazanılmış tromboz risk faktörleridirler ve diyaliz akses trombozunun olası nedeni olarak gösterilmişlerdir (113,118,119). Güncel çalışmalar çelişkilidir, bazılarında anlamlı ilişki bulunmuştur (75,99,108,120-124), bazılarında bulunamamıştır (125-128). Bizde bu durumdan yola çıkarak akses trombozunun olası diğer nedenlerini eradike ederek, akses trombozu üzerinde ACE gen ve trombofilik faktörler gen polimorfizmi ile homosistein düzeylerinin etkisini, retrospektif bir olgu-kontrol çalışması dizayn ederek saptamak istedik.

ACE I/D polimorfizmi kronik böbrek hastalığında çok yaygın olarak

çalışılmıştır. Daha önceki çalışmalarda DD genotipi olan diyaliz hastalarında kardiyovasküler olay sıklığında artış ile birlikte mortalite riskinde artış, diyabetik hastalarda renal hastalığın progresyonunda bir artış olduğu gösterilmiştir (129-131). Yakın zamanda intimal hiperplazi ve progresif stenoz gibi anatomik anomalilerin akses trombozuna yol açtığı çok iyi bir şekilde anlaşılmıştır (112,119). ACE konsantrasyonları ile direkt bir fonksiyonel ilişkisi tespit edilememesine rağmen, DD genotipine sahip olanlar en yüksek, II genotipine sahip olanlara en düşük plazma ACE aktivitesine sahiptirler. ID genotipine sahip olanlarda ise orta dereceli düzeyler görülür (132). ACE'in kuvvetli vazokonstrüktif etkileri, fibrinolizin azalması, trombosit aktivasyonu ve agregasyonundaki etkileriyle tromboembolizme yol açtığı düşünülmektedir (67). Plazma ACE düzeyleri DD genotipine sahip hastalarda II genotipine sahip olanların yaklaşık iki katı kadardır (133). Bu nedenle DD genotipinde daha fazla Anjiotensin II oluşur. Bu da Anjiotensin II'ye bağlı doku hasarını artırır. ACE geninin I/D polimorfizmi yapısal arteryel değişiklikler ile de ilişkilidir (134). DD genotipi aynı zamanda artmış PAI-1 aktivitesi nedeniyle hipofibrinoliz ile de ilişkili bulunmuştur (12,135). Buna rağmen hemodiyaliz hastalarında ACE I/D polimorfizmi ve AV fistül trombozu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sınırlıdır.

Genel popülasyonda ACE I/D polimorfizmi ve tromboembolizm arasındaki bağlantıyı inceleyen çalışmaların verileri çelişkilidir (138,140). Dilley ve arkadaşları, Afrikan-Amerikan popülasyonunda ACE DD genotipi ve venöz tromboembolizm arasında anlamlı bir ilişki rapor etmişlerdir (DD ye karşı ID ve II) (OR: 2.8, CI:1.2-6.2 p=0.01) (136).

Fakat Gonzalez ve arkadaşları Kafkas kökenli 148 venöz tromboemboli ve 240 kişilik kontrol grubundan oluşan çalışma popülasyonunda olgu ve kontrol grupları arasında DD genotipi açısından anlamlı bir farklılık bulmamışlardır (p=0.65) (68). Bu farklı bulgular ACE gen polimorfizminin etnik gruplar arasındaki farklı dağılım ve etkisinden kaynaklanabilir.

K. Thomas ve arkadaşları, tedavi almamış hipertansiyon hastalarında ACE DD genotipinin endotelial hasar ve hiperkoagülabilité aracılığı ile hemostatik dengeyi bozduğunu göstermişlerdir (137).

S. Claire ve arkadaşları total kalça artroplastisi yapılan hastalarda ACE DD genotipinin tromboz için potent bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (138).

Venöz tromboembolizm öyküsü olan 517 hasta ile 478 kişilik kontrol grubunun karşılaştırıldığı bir çalışmada; gruplarda ACE DD, II, ID genotiplerinin dağılımı incelenmiştir. DD genotipi olgu grubunda % 27.3, kontrol grubunda % 28.2 oranında saptanmıştır. D alleli sıklığı olgu grubunda 0.53 (%95 güven aralığı 0.50-0.56) ve kontrol grubunda 0.54 (%95 güven aralığı 0.50-0.57) saptanmıştır. D alleli için ODS oranı 0.97 (%95 güven aralığı 0.81-1.16) saptanmıştır. Böylece ACE I/D polimorfizminin venöz tromboembolizmi olan hastalarda bir risk faktörü olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (139).

Bir başka çalışmada İşbir ve arkadaşları hemodiyaliz hastalarında ACE I/D gen polimorfizmi ve AVG trombozu arasında bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada ID genotipinde, II ve DD genotipi ile karşılaştırıldığında AVG tromboz riski daha yüksek bulunmuştur (141). Ancak örneklemin sınırlı sayıda hasta içermesi bu çalışmanın sınırlayıcı özelliğidir. Ayrıca sadece sentetik greft fistülleri ele alması, bizim çalışmamızdaki gibi nativ AVF'lerle çalışılmamış olması bu çalışmanın farklı yönünü oluşturmaktadır.

Radiyosefalik bilek AV füstülü (RCAVF) trombozunda hem erken hem de geç postoperatif dönemde koagülasyon bozukluğu, hipotansif ataklar, kalp yetmezliği gibi sistemik faktörler rol oynar. İntimal hiperplazi ve tromboza bağlı venöz akım obstrüksiyonu geç dönem yetmezliğinin en sık nedenleridir. Venöz neointimal hiperplazi düz kas hücrelerinin proliferasyonu, mikrodamar oluşumu (anjiogenez) ve ekstraselüler matriks komponentlerinin artışı ile karakterizedir. DD genotipinde ACE düzeyindeki artış düz kas proliferasyonuna ve vazoreaktivitede artışa neden

olmaktadır (142-145).

Radiyosefalik bilek AV füstülünde (RCAVF) devamlılığın ACE gen polimorfizmi ile ilişkisini belirlemek için tasarlanan bir retrospektif olgu-kontrol çalışmasında, 56 hasta (24 erkek, 32 kadın, ort.yaş 49.8, yaş aralığı 12-81) vasküler akses açılış operasyonundan 2 ay geçtikten sonraki dönemde (geç dönem fistül fonksiyon bozukluğu) RCAVF leri hala açık durumda olanlar seçilerek izlemeye alınmıştır. Hastaların ortalama izlem süresi 71.3 aydır (8-222 ay arası). Vasküler oklüzyonlar anjiografi ile doğrulanmıştır. 18 hastada AV fistül açıldıktan sonra ortalama oklüzyon zamanı 33.6 ay (2-72 ay arası) bulunmuştur. AV fistül trombozları DD genotipine sahip olanlarda diğer ikisine kıyasla daha fazla oranda saptanmıştır. Ancak ACE polimorfizmi ve RCAVF trombozu arasında anlamlı istatistiksel bir fark bulunamamıştır. (ki kare=1.027, df:2, p=0.598) (142). İntimal hiperplazi olsun ya da olmasın geçişteki yetersizliğin tromboz olarak kabul edilmesi bu çalışmada kısıtlayıcı bir faktör olarak düşünülmektedir. Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan farklı yönü, geç dönem fistül fonksiyon kaybını ele almış olmasıdır. Öyle görülmüştür ki geç dönem trombozlarında da ACE DD genotipi bir risk faktörü olabilir.

Son derece özelleşmiş merkezlerde bile AVF operasyonundan sonra, girişimsel işlem yapılmaksızın fistülün fonksiyone kalma oranı % 62.2 olarak saptanmıştır (147). Daha çok fistülün venöz anastomoz ve vene kan akışı bölgesinde gelişen stenozlar fistül fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Stenozların % 80-85'inin nedeni ise AV akses trombozlarıdır (148,149).

Güncel retrospektif bir analiz, ACE inhibisyonunun AV greft yetmezliğini azaltabileceğini göstermiştir; fakat sonraki bir olgu-kontrol gruplu çalışma bu bulguyu desteklememiştir (150,151). Sonuç olarak DOPPS (Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study) çalışmasında ACE inhibisyonunun sekonder AV fistül patensini (fistülün ilk açılmasından tam kaybına veya yeni akses açılıncaya kadar geçen süre) artırdığı, buna karşın primer AV fistül patensi (ilk akses trombozuna

veya ilk kurtarma işlemine kadar geçen süre) artışında ve primer veya sekonder AV greft patensinde ACE inhibisyonunun yararı olmadığı gösterilmiştir (152).

Hemodiyaliz tedavisi alan 137 hastayı içeren uzun bir kohort çalışmada ana sonlanım noktası müdahalesiz akses açıklığı olarak belirlenmiştir (fistül açıldıktan ilk yetmezlik epizodu gözlenene kadar geçen süre). Fistül operasyonundan 12 ay sonra fonksiyone fistül DD genotipinde %72, ID'de % 65, II'da % 73 saptanmıştır (p=0.33). Uzun dönem ACE inhibitörü veya AT-1 reseptör blokörü tedavisi fistül açıklığını artırmada yetersiz bulunmuştur (p=0.33) Bu çalışmada renin-anjiyotensin inhibisyonunun arteriyovenöz fistül stenozunu önlemede kısıtlı bir değerinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (146). Bu çalışmada II genotipini taşıyan hastaların daha az olması ve ACEİ, AT-1 antagonisti kullanımı ile ilgili bazı hastaların bilgilerinin eksik olması kısıtlayıcı faktörlerdir. Biz de çalışmamızda ACEİ ve ARB kullanımının erken dönem AV fistül trombozunu önlemediğini gözledik.

Son 12 ayda 2 veya daha fazla vasküler akses trombozu (VAT) varlığı USG, fistülogram ve fizik muayene ile saptanmış olduğu 60 hemodiyaliz hastası ile 3 yıl içinde hiç VAT geçirmemiş 41 kişilik kontrol grubunun karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, ACE I/D polimorfizmi VAT ile ilişkili bulunmamıştır. Heterozigot ID genotipi her iki grupta da daha sık olarak saptanmıştır (>%50) (153) . Bu çalışmada arteriyovenöz fistül, arteriyovenöz greft, kalıcı vasküler kateter gibi tüm akses yolları değerlendirilmiştir, olgu grubunda daha fazla kalıcı vasküler kateterli hasta bulunması bu çalışmanın güvenilirliğini etkilemektedir. Ayrıca örneklem büyüklüğü sınırlıdır ve retrospektif değerlendirme yapılmıştır. Diğer bir sınırlayıcı faktör ise kontrol grubundakilerin 3 yıldan önce bir VAT geçirmiş olup olmadıklarının sorgulanmamış olmasıdır.

Prospektif 155 hemodiyaliz hastası ile yapılan bir başka çalışmada ise 58 aylık izlem süresince müdahalesiz AV fistül intakt kalma oranları DD genotipinde % 47.0, ID genotipinde % 71.8, II genotipinde % 82.9 bulunmuştur (p<0.01). Bu çalışmada DD genotipli hastalarda, ACE inhibisyonu ve ARB kullanımının AVF

fonksiyonlarının sürdürülmesi üzerine koruyucu bir rolü gözlenmiştir (p=0.03). (154). Biz ACEİ ve ARB kullanımının erken dönem AV fistül trombozunu önleyici bir etkisini saptamadık. Bu çalışmanın prospektif olarak dizayn edilmesi, geç dönem AV fistül trombozlarını ele alması ACEİ, ARB kullanımının koruyucu etkisinin ortaya çıkmasının sebebi olabilir.

Bizim çalışmamızda 3 veya daha fazla AV fistül trombozu oluşan olgu grubu hastalarının 17'sinde (% 48.6) DD genotipi, 11'inde (% 31.4) ID genotipi, 7'sinde II genotipi saptanmıştır. Fistül operasyonundan sonra en az 3 yıl süreyle hiç VAT geçirmemiş kontrol grubunda ise 19 hasta (% 57.6) ID genotipi, 6 hasta (% 18.2) DD genotipi, 8 hasta II genotipi taşımaktaydı. İki grup karşılaştırıldığında olgu grubunda büyük oranda DD genotipi, kontrol grubunda büyük oranda ID genotipi saptandı, iki grup arasında II genotipi açısından fark yoktu. DD genotipi olgu grubunda, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı (ki kare=7.40, p=0.025). ACE DD genotipini taşıyan bireyler II ve ID ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 4.25 kat artış saptandı. [ $\chi^2=7,0$  p=0,008 ODS=4,25 CI %95 (1,404:12,83)]. Çalışmamızda ACE inhibitörü ve ARB kullanımı olgu grubunda 5/35 %14.3, kontrol grubunda 5/33 %15.2 oranındaydı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmadı (p=0.792). İlk fistül operasyonundan itibaren hastaların ACE inhibitörü ve ARB tedavisi almasına rağmen, bu tedavilerin erken dönem AV fistül tromboz riskini azaltmadığını gözledik. Bu etkinin ortaya çıkarılabilmesi için geniş örneklem büyüklüğüne sahip, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

ACE DD genotipinin, venöz tromboembolizm, hipertansif hastalarda endotelial hasar ve hiperkoagülabilité, AVF trombozu için risk faktörü olduğunu rapor eden çalışmaların (136,137,138,142,154) sonuçlarına paralel olarak biz de DD genotipini erken dönemde rekürren AVF tromboz epizodu geçiren olgu grubumuzda daha büyük oranda saptadık. Bu veriler ışığında ACE DD genotipinin erken dönem AVF trombozu için potent bir risk faktörü olduğunu söyleyebiliriz. Fakat I/D polimorfizminin AVF trombozu, VAT, venöz tromboemboli ile ilişkili

olmadığı sonucuna ulaşan çalışmalarda mevcuttur (141,153,68). ACE I/D polimorfizminin AVF trombozuna etkisinin daha iyi belirlenebilmesi için olgu sayısının fazla olduğu prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör-1) enzimi düzeyi sağlıklılara göre daha yüksek oranda saptanmış ve bu nedenle KBY hastalarında trombogenezis ve damar içi trombotik olayların daha sık görüldüğü saptanmıştır (155).

Stegnar ve arkadaşları venöz tromboembolizmi olan 158 hasta ve 145 kontrol grubunu içeren bir çalışmada, 4G/5G polimorfizmi ile PAI-1 seviyesi arasında DVT li hastalar açısından bir ilişki bulunduğu, fakat her iki grupta 4G-5G genotiplerinin benzer dağılım gösterdiğini saptamışlardır. Bu nedenle DVT için bu polimorfizmin bir risk faktörü olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (156).

Yılmaz ve arkadaşlarına ait başka bir çalışmada derin ven tromboembolisi olan Türk hastalarda protrombin G20210A ve PAI-1 4G/4G genotiplerini birlikte taşıyan bireylerde tromboz riskinin 3,4'den 8,46'ya yükseldiği gösterilmiştir (157). Pfeffer ve arkadaşları miyokard infarktüsli hastalarda PAI-1 4G alleli varlığının fibrinolitik aktiviteyi azalttığını göstermişlerdir (158). Akar ve arkadaşları çalışmalarında PAI-1 4G allelini heterozigot veya homozigot halde taşıyanlarda derin ven trombozu riskinin olmadığını; 4G allelinin homozigot olduğu bireylerde Faktör V G1691A varlığında bu riskin arttığını iddia etmişlerdir (159).

Lazo Langer ve arkadaşları akses trombozu gelişen ve gelişmeyen hastaların karşılaştırıldığı çalışmalarında TGF-Beta 1 haplotipi üretiminin akses trombozu için risk faktörü olduğu ve PAI-1 4G-4G genotipinin varlığında ilave bir risk oluşacağını saptamışlardır (OR 8.23; 95% CI 1.47-45.97; p=0.016). Oysa PAI-1 4G/5G polimorfizmi tek başına değerlendirildiğinde olgu ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Yine bu çalışmada VAT ile faktör V Leiden ve protrombin 20210A mutasyonları arasında bir ilişki bulunmamıştır (160). Bu çalışmada olgu grubunun yalnızca bir kez akses trombozu oluşan hastalardan



seçilmesi, trombozların sadece fizik muayene ile tespit edilmesi, olgu grubunda akseslerin daha çok alt kolda, kontrol grubunda daha çok üst kolda yer alması ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olması ( $p<0.05$ ), akses tromboz dönemlerinin belirlenmemesi (erken-geç dönem) sınırlayıcı faktörlerdir. Bu faktörler PAI-1 4G/5G polimorfizminin akses tromboz riski üzerindeki belirleyiciliğini azaltmaktadır. Oysa bizim çalışmamızda olgu grubunu erken dönemde, en az üç kez AV fistül trombozu oluşan hastalar oluşturmuştur. Fistül trombozları fizik muayene ve öyküsün yanı sıra doppler USG, fistülografi gibi tanı değeri daha yüksek olan yöntemlerle belirlenmiştir. Lazo-langer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki sınırlayıcı faktörleri içermeyen çalışmamızda PAI-1 4G-5G genotipinin erken dönem AV fistül tromboz riskini 5.03 kat artırdığını saptadık. Bu çalışmanın sonuçlarıyla paralel olarak bizim çalışmamızda da AVF trombozu ile faktör V Leiden ve protombin 20210 A mutasyonları arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Emiroğulları yaptığı tez çalışmasında fistül trombozu gelişen ve gelişmeyen KBY hastalarını karşılaştırmış olup, PAI-1 4G-5G genotipinin AV fistül tromboz riskini 4.2 kat artırdığını saptamıştır (161). Bu çalışmada nedeni bilinmeyen AV fistül tıkanması yaşayan 31 hasta ile olgu grubu, fistül tıkanması görülmeyen 51 hasta ile kontrol grubu oluşturulmuştur. Hasta seçiminde kalp yetmezliği, hipotansif atak gibi fistül trombozuna neden olabilecek sistemik faktörler elimine edilmemiştir. Yine Lazo Langer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada olduğu gibi fistül tromboz dönemleri belli değildir. Trombozların nasıl tespit edildiğine açıklık getirilmelidir. Bu çalışmada kontrol grubunda fonksiyone fistül süresinin belirlenmemesi, fistül trombozlarının cerrahi nedenlere bağlı olup olmadığının bilinmemesi diğer sınırlayıcı faktörlerdir. Bu çalışmada AV fistül trombozu olan ve olmayan hastalarda MTHFR, Protrombin, Faktör V ve PAI-1 polimorfizmleri çalışılmasına karşın, bizim çalışmamızda bu polimorfizmlere ilave olarak Faktör V H1299R, Faktör XIII V34L, Beta Fibrinojen -455 G/A, GPIIIa L33P, ACE gen polimorfizmleri çalışılmıştır. Böylece çalışmamızda daha fazla trombofilik parametrenin fistül trombozu üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda olgu grubunda PAI-1 4G-5G genotipi 31 hastada (% 88.6), 4G-4G genotipi 2 hastada (% 5.7), 5G-5G genotipi 2 hastada (% 5.7), kontrol grubunda 20 hastada (% 60.6) 4G-5G genotipi, 11 hastada (% 33.3) 4G-4G genotipi, 2 hastada (% 6.1) 5G-5G genotipi saptanmıştır. Olgu grubunda daha fazla 4G-5G genotipi saptanırken, kontrol grubunda 4G-4G anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p=0.014). PAI-1 4G-5G genotipini taşıyan bireyler 4G-4G ve 5G-5G genotipli bireyler ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 5.03 kat artış saptanmıştır. [ $\chi^2= 7,08$  p=0,008 ODS=5,03 CI %95 (1,44:17,64)]

Emiroğullarının yaptığı tez çalışmasının sonuçlarına paralel olarak (161), bizim çalışmamızda da PAI-1 4G-5G genotipinin (heterozigot tip) akses tromboz riskini artırdığını söyleyebiliriz. Fakat genel popülasyonda 4 G allel mevcudiyetinin derin ven trombozu riskini artırdığını gösteren çalışmalar olmasına rağmen, PAI-1 gen polimorfizmi ile akses trombozunun ilişkisiz olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (157- 156,160).

Hiperhomosisteineminin artmış venöz trombotik olaylarla birlikteliği de pek çok retrospektif olgu kontrol çalışmasında gösterilmiştir. Açlık hiperhomosisteinemisi olanlarda venöz tromboz gelişimi için relatif riskin 2.95 olduğunu belirten çalışmalar vardır (100,104).

Yüksek homosistein düzeylerinin KBY'li hastalarda AV fistül ya da greftlerin trombozunda da rol oynayabileceğini bildiren çalışmaların yanı sıra bu birlikteliği gösteremeyen çalışmalarda vardır (108,109). Shemin ve ark. diyaliz hastalarında her 1  $\mu\text{mol/ L}$ 'lik homosistein artışının vasküler giriş yolu trombozu oluşum riskini % 4 (%95 CI; % 1-6) arttırdığını ileri sürmüşlerdir (108).

Bizim çalışmamızda olgu grubunda homosistein düzeyi  $19.40 \pm 8.28$ , kontrol grubunda  $22.95 \pm 9.63$  bulunmuştur. İki grup arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır (p=0.116). Fakat her iki grupta homosistein düzeyleri normal aralığın üstündedir. Bu KBY'de beklenen bir durumdur. Bu sonuçlara göre hiperhomosisteineminin VAT

riskini artırdığı söylenemez.

Fukasawa ve arkadaşları KBY hastalarında VAT ile MTHFR 677 CT nokta mutasyonunu ilişkilendirmişlerdir. TT genotipinin VAT ile en fazla ilişkili, CC genotipinin en az ilişkili olduğunu bulmuşlardır (99). Biz çalışmamızda rekürren erken dönem AVF trombozu ile MTHFR 677 CT gen polimorfizmi arasında bir ilişki saptamadık.

Mallamaci ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada homozigot TT genotipinin sadece yüksek homosistein konsantrasyonları ile değil ayrıca yüksek sıklıkta VAT ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13) .

Brophy ve arkadaşları 60 VAT lu, 41 hastalık kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada MTHFR 677 CT ve VAT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamıştır (p=0.78) (153). Bizim çalışmamızda da MTHFR 677 CT ve 1298 AC polimorfizmlerinin erken dönem AVF trombozu oluşumu üzerine bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (p=0.155, p=0.879).

F V G1691A (Leiden) mutasyonu toplumda en yaygın karşılaşılan kalıtsal bir prokoagülan bozukluktur (162). İshimitsu ve arkadaşları bu mutasyonun insidansını 152 hemodiyaliz hastasında çalışmışlardır. Bu mutasyon açısından heterozigot olan 7 (%5) hastada kalıcı vasküler kateter veya fistül trombozuna ait herhangi bir bulguya rastlamamışlardır (131). Bununla birlikte bu çalışmada örneklem büyüklüğü sınırlıdır. Homozigot arg506 mutasyonu olan hasta çalışma grubunda yoktur. Vasküler akses olarak KVK ve AVF'ü olan hastalar çalışma grubunu oluşturmuştur. Ataç ve arkadaşları tarafından yürütülen bir başka çalışmada ise, 46 VAT'lu hasta ile bu komplikasyonu olmayan 44 hasta karşılaştırılmıştır; VAT olanlarda Arg506 mutasyonu prevanlansı daha yüksek saptanmıştır (Olgu grubu % 13 - kontrol grubu % 4). Aynı çalışmada Protrombin 20210A heterozigot mutasyonu VAT'u olanlarda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur (% 9'a, % 0) (75). Ayrıca bir olgu

sunumunda Faktör V Leiden mutasyonunun tekrarlayan fistül trombozundaki rolü desteklenmiştir (163).

Protrombin 20210A mutasyonu venöz tromboza predispozisyon oluşturan ikinci sıklıkta koagülasyon bozukluğudur. Faktör V Leiden ve Protrombin 20210A mutasyonlarının derin ven trombozu için risk faktörü oldukları çok iyi belirlenmiştir, fakat bu mutasyonların arteriyel sistemdeki trombotik olaylar için prediktif değeri çok iyi bilinmemektedir (164). Bizim çalışmamızda erken dönem fistül trombozu ve Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A gen polimorfizmleri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Bunu her iki polimorfizm açısından olgu ve kontrol grubundaki hastaların büyük oranda ( $> \%88$ ) normal genotip taşımalarına bağlıyoruz.

Renal transplant bekleyen KBY li hastalarda yapılan bir çalışmada 3 yıllık izlem süresinde Faktör V Leiden mutasyonunun akses trombozu ile ilişkisinin anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p=0.01$ ). Bu çalışmada Protrombin 20210A, MTHFR ve ACE gen mutasyonları açısından anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir. Periton diyalizi tedavisi alan 36 hasta ile 73 hemodiyaliz hastası prospektif olarak değerlendirilmiştir. İzlem süresince 109 hastadan 62'sinde vasküler akses trombozu gelişmiştir (165). Periton diyalizi hastalarında akses trombozlu hastalar arasında yer alıp almadığı, akses trombozlarının nasıl tespit edildiği ve hangi dönemde kaç kez oluştuğu belirtilmemiştir. Biz ACE DD genotipinin erken dönem AV fistül tromboz riskini 4.25 kat artırdığını saptadık. Fakat Faktör V Leiden, Protrombin 20210A, MTHFR gen polimorfizmlerinin erken dönem fistül trombozu oluşumuna bir etkisinin olmadığını gözlemledik.

Brophy ve arkadaşlarının en az 3 yıl hemodiyaliz tedavisi alan hastalar arasından 12 ay içinde fistülogram, doppler USG ve fizik muayene ile tespit edilmiş 2 veya daha fazla VAT atağı geçiren veya 2 yıl içinde yeni diyaliz akses gereksinimi doğan veya AVG ve AVF patensi 2 aydan kısa süren ve kalıcı vasküler kateter ve periton diyalizne yönlendirilen 60 hasta ve 3 yıl içinde hiç akses trombozu

gelişmemiş 41 hasta ile dizayn ettikleri olgu-kontrol çalışmasında VAT ile Faktör V Leiden ve Protrombin 20210A mutasyonları arasında bir ilişki bulunmamıştır (153). Belirtmek gerekirken; bu çalışmada akses trombozu gelişen hastalarda, tromboz dönemleri sinonim değildir. Öyle görülüyorki bazı hastalarda eken dönemde bazı hastalarda geç dönemde akses trombozu gelişmiştir. Yine akses lokalizasyonları açısından iki grup arasında anlamlı farklılık vardır, olgu grubunda AVG (% 49.2), kontrol grubunda AVF (% 45) daha fazla bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bizim çalışmamızda da Faktör V Leiden ve Protrombin 20210A mutasyonları AVF trombozu ile ilişkisiz bulunmuştur. Fakat bizim çalışmamızda erken dönem AVF’u olan hastalar olgu grubunu oluşturmuştur ve akses lokalizasyonları açısından olgu ve kontrol grubumuz arasında bir farklılık yoktur. AV fistül trombozlarının tanısında aynı yöntemlerin kullanılmış olması bu çalışmanın bizim çalışmamızla benzer yönünü oluşturmaktadır.

Biz çalışmamızda Faktör V Leiden mutasyonu ile AV fistül erken dönem trombozu arasında bir ilişki saptamadık. Çalışma popülasyonumuzun içinde Faktör V Leiden mutasyonu açısından homozigot birey yoktu. Olgu ve kontrol gruplarındaki bireylerin çoğu (>%88) normal genotipteydi. Diğer taraftan Protrombin 20210 A mutasyonu ile AV fistül trombozu arasında anlamlı bir ilişki saptayamadık ( $p=0.608$ ). Yine hastalarımızın çoğu normal genotipi taşımaktaydılar (>%93). Örneklem büyüklüğümüzün sınırlı olmasında bu sonuçlara katkıda bulunabilir. Bizimle aynı sonuca ulaşan çalışmalar olduğu gibi (153,160), Faktör V Leiden ve Protrombin 20210A mutasyonlarının akses tromboz riskini artırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (75,165).

Yapılan birçok çalışma plazma artmış fibrinojen seviyeleriyle iskemik kalp hastalığı, periferik arter hastalıkları, inme ve venöz tromboz arasında anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir (166-169). Daha sonra yüksek plazma fibrinojen seviyeleri görülen iskemik kalp hastalıkları ve iskemik inmeli hastalarda,  $\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmi incelenmiş ve -455 G/A taşıyıcılarında bu artışın belirgin olduğu tespit edilmiştir.  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizmi oranı İngilterede % 19, İsveçte

% 25, Japonlarda % 11 olarak bildirilmiştir, Türkiye’de bu konuda bir çalışma yoktur (170). Çalışmamızda erken dönem AV fistül tromboz riskine  $\beta$ -Fibrinojen - 455 G/A polimorfizminin bir etkisi olmadığını gözledik. İki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu (  $p=0.292$ ).

Akses trombozu olan 107 hasta ve 312 tromboz gelişmeyen kontrol grubu ile yapılan bir başka çalışmada, Faktör V Leiden, protrombin 20210A mutasyonu, faktör XIII genotipi, MTHFR genotipi, lupus antikoagülanı, antikardiyolipin antikolar, Faktör VIII düzeyi, homosistein ve lipoprotein (a) çalışılmıştır. Primer analizin nihayi modelinde bazı değişkenler düzeltildikten sonra akses trombozu için ODS, eklenen her trombofili için anlamlı seviyede artış göstermiştir [Düzeltilmiş ODS 1.87 (%95 güven aralığında 1.34-2.61;  $p<0.0001$ )]. Önemli faktörler için düzeltme yapıldıktan sonra herhangi bir trombofilik bozukluğun varlığının akses tromboz riskinde orta derecede (ODS oranı  $< 3$ ) bir artışla ilişkili olabileceği bulunmuştur (171).

Sonuç olarak çalışmamızda AV fistül operasyonundan sonra erken dönemde 3 veya daha fazla fistül trombozu epizodu geçiren 35 hastadan oluşan olgu grubu ile 3 yıl veya daha fazla sürede hiç AV fistül trombozu öyküsü olmayan 33 hastalık kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Temel demografik özellikler (yaş, cinsiyet, ilaç kullanımı, sigara öyküsü, KBY etyolojisi), hemodiyaliz parametreleri (fistül lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V), laboratuvar parametreleri (CaXP, PTH, Hb, LDL, albumin), bazı trombofilik faktör gen polimorfizmleri ( F V G1691A (Leiden), Faktör V H1299R (R2), Protrombin 20210A, FXIII V34L, B- Fibrinojen - 455 G/A, GP IIIa L33P (HPA-1), MTHFR C677T, MTHFR A1298C) açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bizim bilgilerimize göre erken dönem fistül trombozu üzerinde bu ölçüde genetik polimorfizmleri araştıran başka bir çalışma bulunmamaktadır. Diyabetli hastaların olgu grubunun % 20 sini oluşturması, prospektif bir çalışma olmaması ve örneklem büyüklüğümüzün sınırlı olması kısıtlayıcı faktörler olarak düşünülmüştür.

Çalışmamızda ACE DD genotipi ve PAI-1 4G-5G genotipinin fistül trombozu riskini önemli ölçüde artırdığını saptadık. ACE ve trombofilik faktörler gen polimorfizmlerinin akses trombozu üzerine etkilerinin netleştirilmesi için prospektif, gözleme dayalı, çok merkezli geniş örneklem büyüklüğüne sahip çalışmalara ihtiyaç vardır. Gelecekte trombofilik açıdan genetik risk yapısı taşıyan KBY'li olgular periton diyaliz veya preemptiv transplantasyon gibi diğer tedavi yöntemlerine yönlendirilebilir. Trombofilik genetiğe sahip bu hastalarda antiplatelet, antikoagulan, ACEİ-ARB gibi tedavilerin etkinliğinin ortaya konması için ayrı prospektif çalışmaların yapılmasına da ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Erken dönem AV fistül trombozu riski açısından yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Her iki grup arasında KBY etyolojisi, akses lokalizasyonu, hemodiyaliz süresi, Kt/V, CaXP, PTH, hemoglobin, LDL, albumin değerleri, homosistein düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı.

2. Faktör V G1691A (Leiden), Faktör V H1299R (R2) , Protrombin G20210A, Faktör XIII V34L, B-Fibrinojen-455 G-A, GPIIIa L33P (HPA-1), MTHFR C677T, MTHFR A1298C gen polimorfizmleri açısından iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

3. Olgu grubunda daha fazla PAI-1 4G-5G genotipi saptanırken, kontrol grubunda 4G-4G genotipi anlamlı derecede yüksek saptandı ( $p=0.014$ ,  $p<0,05$ ). İki grup arasında 5G-5G genotipi açısından anlamlı farklılık yoktu. PAI-1 4G-5G genotipini taşıyan bireyler 4G-4G ve 5G-5G genotipli bireyler ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 5.03 kat daha fazla artış saptandı [ $\chi^2= 7,08$   $p=0,008$  ODS=5,03 CI %95 (1,44:17,64)].

4. Olgu ve kontrol grupları ACE gen polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında; Kontrol grubunda büyük oranda ID genotipi (19/33,%57.6),



olgu grubunda büyük oranda DD genotipi (17/35, %48.6) saptandı (p=0.025). Diğer taraftan ACE II genotipi açısından iki grup arasında fark yoktu. ACE DD genotipini taşıyan bireyler II ve ID ile karşılaştırıldığında AVF tromboz riskinde 4.25 kat artış saptandı [ $\chi^2=7,0$  p=0,008 ODS=4,25 CI %95 (1,404:12,83)].

5. Bulgularımız ACE DD Genotipi ve PAI-1 4G-5G genotipine sahip hastalarda erken dönem AVF tromboz riskinde bir artışın olduğuna işaret etmektedir. Bu polimorfizmlerin 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, preemptiv transplantasyon) öncelikli düşünülmesi

c-Fistüle bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılması

Bu yararların ötesinde, AVF trombozu için riskli hastalarda ACEİ-ARB, antikoagülan-antiplatelet, gen tedavileri fistül patensini sağlamak amacı ile araştırma konusu olabilir.

6. ACE ve trombofilik faktörler gen polimorfizmlerinin AV fistül fonksiyonuna etkisinin çok iyi belirlenebilmesi; özellikle geç dönem tromboz ve fistül fonksiyon kayıpları üzerine olan etkilerinin araştırılması için çok merkezli, prospektif, randomize, 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* 2007 Mar-Apr; 20(2): 141.
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* 2006 Mar;21(3):721-8.
3. Sajgure A, Choudhury A, Ahmed Z, Choudhury D. Angiotensin converting enzyme inhibitors maintain polytetrafluoroethylene graft patency. *Nephrol Dial Transplant* 2007 May;22(5):1390-8.
4. Kats M, Hawxby AM, Barker J, Allon M. Impact of obesity on arteriovenous fistula outcomes in dialysis patients. *Kidney Int* 2007 Jan;71(1):39-43.
5. Girndt M, Heine GH, Kohler H; Gene polymorphism association studies in dialysis: anemia and host immunity. *Semin Dial* 2006 May-Jun;19(3):227-31.
6. Ishimitsu T, Tsukada K, Ohta S, Inada H, Minami J, Ono H, Matsuoka H. Increased cardiyovascular risk in long-term hemodialysis patients carrying deletion allele of ACE gene polymorphism. *Am J Kidney Dis* 2004 Sep;44(3):466-75.
7. Margo F, Dinis-Ribeiro M, Araujo FM, Pereira P, Fraga MC, Cunha-Ribeiro LM, Tome-Ribeiro A. High prevalence of combined thrombophilic abnormalities in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003 Nov; 15:1157-63.
8. Bertina RM, Koeleman RPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-67.
9. Seligson U, Zivelin A. Thrombophilia as multigenetic disorder. *Thromb Haemost* 1997; 78:297-301.

10. Aznar J, Estelles A, Tormo G, Sapena P, Tormo V, Blanch S, Espana F. Plasminogen activator inhibitor activity and other fibrinolytic variables in patients with coronary artery disease. *Br Heart J* 1988; 59:535-541.
11. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359:641-644.
12. Kim DK, Kim JW, Kim S, et al. Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:3242-3247.
13. Mallamaci F, Bonanno G, Seminara G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Candela V, Scudo P, Spoto B, Testa A, Tripepi G, Tech S, Zoccali C. Hyperhomocysteinemia and arteriovenous fistula thrombosis in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005 Apr; 45(4):702-7.
14. Nahas ME, Bello AK. Chronic kidney disease; the global challenge. *The Lancet* 2005;365:331-40.
15. Levey AS, Andreoli SP, DuBose T, Provenzano R, Collins AJ. CKD: Common, harmful, and treatable-World Kidney Day 2007. *Am J Kidney Dis* 2007; 49:175-9.
16. Levey AS, Atkins T, Coresh J, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives: A Position Statement from KDIGO. *Kidney Int* 2007;72:247-59.
17. Gilbertson DT, Liu J, Xue JL, et al. Projecting the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2015. *J Am Soc Nephrol* 2005;15:3736-41.
18. 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>.
19. Süleymanlar G. Kronik böbrek hastalığı ve yetmezliği: Tanımı, Evreleri ve epidemiyolojisi: Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri, Nefroloji 2007, p:1-7.
20. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39(2) (suppl 1):S1-S266.
21. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) *Kidney Int* 2005;67:2089-2100.

22. Yeksan M, Tonbul HZ. Kronik Böbrek Yetmezliği. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (Çeviri Editörü: Sağlık Y.). Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2004, sayfa:1551-1562.
23. Yalçın Uğur A, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği. Nefroloji El Kitabı. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2007, sayfa:283-324.
24. Obrador GT, Pereria BJG. Epidemiology of chronic kidney disease and screening recommendations. UpToDate (15.3), 2007.
25. Hallan SI, Coresh J, Astor BC et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. J Am Soc Nephrol 2006; 17:2275-84.
26. Akpolat T, Utaş C. Böbrek Yetmezliği: Genel Bilgiler. Akpolat T, Utaş C. Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı. Kayseri: Anadolu Yayıncılık, 2001:1-10.
27. Fenton SSA, Schaubel DE, Desmeules M et al. Hemodialysis versus peritoneal dialysis: a comparison of adjusted mortality rates. Am J Kidney Dis 1997;30:334-42.
28. Tokgöz B. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Renal Replasman Tedavileri. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2005,1(21)82-87.
29. Akpolat T, Utaş C. Diyaliz: Genel Bilgiler : Akpolat T, Utaş C . Hemodiyaliz El Kitabı. 2.Baskı, Kayseri: Anadolu Yayıncılık 2001.p.15-22.
30. Daugirdas JT, Second generation logaritmik estimates of single pool volume Kt/V: an analysis of error. J Am Soc Nephrol 1993; 4: 1205-1213.
31. Akpolat T, Utaş C. Renal Replasman Tedavisi.Nefroloji el kitabı, Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2007, sayfa:324-339.
32. 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. 1994. J Am Soc Nephrol 1997;8(12):1959-65.
33. 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 2002;13(8):2117-24.
34. Brescia MJ, Cimino JE, Appel K, et al. Chronic hemodialysis using venipuncture and a surgically created arteriovenous fistula. New Eng J Med 1966;275:1080-92.
35. Gülay H. Hemodiyaliz için damar yolu. Haberal M. Haberal Eğitim Vakfı. 1. Baskı 1990;B1;3-13.

36. Dalgıç A, Ekici Y, Hemodiyaliz için Damar Yolu. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Nefroloji Vol:2, sayı/no:4,2006 sayfa:13-23.
37. Haberal M, Gülay H, Kaynaroğlu V, et al. Snuff-Box Vascular Access for Hemodialysis. *Dia Trans and Burn* 1983;1:63-7.
38. M Haberal. Yanlış kesi uygulamaları ve komplikasyonlar, Hemodiyaliz için damar yolu, M Haberal, ed. Haberal Eğitim Vakfı, 1990; B17:69-75.
39. Freischlag J. Hemodialysis Access. Rutherford. *Vascular Surgery*. 5th ed. WB Saunders 2000;1466-77.
40. Roy-Chaudhury P, Kelly BS, Zhang J, Narayana A, Desai P, Melham M, Duncan H, Heffelfinger SC: Hemodialysis vascular access dysfunction: from pathophysiology to novel therapies. *Blood Purif* 2003;21:99–110.
41. Pekçelen Y, Hemostaz bozuklukları, İç Hastalıkları Cilt 1; Editör Büyüköztürk Kemalettin, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2007, sayfa:743-768.
42. Ferhanoğlu B. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Kanama ve Tromboza Eğilim Sempozyum Dizisi No:36;2003;s:9-16.
43. Herrovoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1(PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *Br J Haematol* 2004;125:12-23.
44. Colvin BT. Physiology of haemostasis. *Vox Sang* 2004;87 Suppl1:43-6.
45. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet* 2000;355:1627-32.
46. Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. Pettit J.E. Platelet, blood coagulation and haemostasis in *Essential Haematology*. 2006;P:264-277.
47. Rosendaal FR: Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999; 353: 1167.
48. Küçükaya D.R., Aydın M. Trombofili genetiği, Türk Hematoloji Derneği, Moleküler Hematoloji Kursu, 2006;p:39-43.
49. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M: Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes and management. *Blood* 1996; 87: 3531.
50. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA.: Inherited thrombophilia: Part-1. *Thromb Haemost* 1996 ;76: 651.
51. Makris M, Rosendaal FR, Preston FE: Familial thrombophilia: Genetic risk factors and management. *J Int Med* 1997; 242: 9.
52. Kolodziej M, Comp PC: Hypercoagulable states due to natural anticoagulant deficiencies. *Curr Op Hematol* 1993;301.

53. Rodgers G.M.: Thrombosis and antithrombotic therapy. In: Wintrobe's Clinical Hematology, 10th Edition. Williams and Wilkins Comp 1998; p:1781-1818.
54. Bauer K.A.: The Hypercoagulable state. Williams Hematology 5th edition, McGraw Hill inc 1995; p:1531-1549.
55. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA.: Inherited thrombophilia: Part-2. Thromb Haemost 1996 ;76: 824.
56. Bick RL, Kaplan H: Syndromes of thrombosis and hypercoagulability. Med Clin North Am 1998; 82:409.
57. Hultin MB: Antithrombin III assays. Williams Hematology 5th edition, McGraw Hill 1995; p.L101.
58. Comp PC: Protein C and protein S. In: Williams Hematology 5th edition, McGraw Hill inc 1995 p.L99.
59. Welch GN, Loscalzo J: Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med 1998;338:1042.
60. D'Angelo A, Selhub J: Homocysteine and thrombotic disease. Blood 1997; 90: 1.
61. Koster T, Blann AD, Briet E, Vandembroucke JP, Rosendaal FR: Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep venous thrombosis. Lancet 1995; 345:152.
62. Kamphuisen PW, Houwing-Duistermaat JJ, van Hauwelingen JC: Familial clustering of factor VIII and von Willebrand factor levels. Thromb Haemost 1998; 80:561.
63. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN: Renin-angiotensin system: Genes to bedside. Am Heart J 1997;134:514-26.
64. Bostan C, Karcier S. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Geni Polimorfizmi ve Kardiyovasküler Hastalıklar. Türk Kardiyol Dern Arş 2002; 30:441-448.
65. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al: Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. Am J Hum Genet 1992;51:197-205.
66. Rigat B, Hubert C, Alhene-Gelas F, et al: An insertion deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene polymorphism accounting for half of the variance of serum enzyme levels. J Clin Invest. 1990;86:1343-46 .
67. Wiwanitkit V. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism: I and I from some different countries. Clin Appl Thromb Hemost 2004; 10(2): 179-182.

68. Gonzales Ordonez AJ, Fernandez Carreira JM, Medina Rodriguez MSL, Alvarez DR, Alvarez MMV, Coto G. Risk of venous thromboembolism associated with the insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11(5): 485-490.
69. Wells PS, Rodger MA, Forgie MA, Langlois NJ, Armstrong L, Cars Jaffey J. The ACE D/D genotype is protective against the development of idiopathic deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 2003; 90(5): 829-834.
70. Fatini C, Gensini F, Stichi E, Battaglini B, Prisco D, et al. ACE DD genotype: an independent predisposition factor to thromboembolism. *Eur J Clin Invest* 2003; 33 (8): 642-647.
71. Griffin JH. Control of coagulation reactions. In: Beutler, Lichtman MA., EDS. *Williams Hematology*. 6th ed. McGraw-Hill, 2000: 1435-1449.
72. Castaman G, Faioni EM, Tosetto A, Bernardi F. The factor V HR2 haplotype and the risk of venous thrombosis: a meta-analysis. *Haematologica* 2003 Oct;88(10):1182-9.
73. Kern WF. Hemostasis and Thrombosis. *PDQ Hematology*. First edition. Hamilton, Ontario. BC Decker Inc. 2002:381-429.
74. Beyhan C. Trombofilili hastada tanısal yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Hematoloji* 2005; 1; 2: 71-79.
75. 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* 2002; 34:2030–2032.
76. Press RD et al. Ischemic stroke in the elderly: role of the common factor V mutation causing resistance to activated protein C. *Stroke* 1996; 27: 44-8.
77. Castoldi E et al. *Blood* 2004; 103:4173-4179.
78. Bezirgan U, Barlas M, Yağmurlu A, Azık F. Faktör XIII Eksikliği. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2004; 57; 1: 53-56.
79. Shemirani AH, Haramura G, Bagoly Z, Muszbek L. The combined effect of fibrin formation and factor XIII A subunit Va134Leu polymorphis on the activation of factor XIII in whole plasma. *Biochimica et Biophysica Acta* 2006; 1764:1420-1423.
80. Francis CW. Factor XIII polymorphisms and venous thromboembolism, *Arch.Pathol.Lab.Med* 2002; 126:1391-1393.

81. Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, Ilveskoski E, Kasta M, Karhunen PJ, Erkinjuntti T. Fibrinogen Gene Promoter -455 A Allele as a Risk Factor for Lacunar Stroke. *Stroke* 2003; 34: 886.
82. Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Standlmüller J, Walther R, Rettig R. The apolipoprotein E and B-fibrinogen G/A -455 gene polymorphism are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1997;17(11):2880-4.
83. Nishiuma S, Kario K, Yakushijin K, Maeda M, Murai R, Matsuo T, Ikeda U, Shimada K, Matsuo M. Genetic variation in the promoter region of the beta-fibrinogen gene is associated with ischemic stroke in a Japanese population. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9:373-379.
84. M.A. Laffan. Fibrinogen polymorphisms and disease *European Heart Journal* 2001; 22, 2224–2226.
85. Cushman M, Cornell A, Folsom AR, Wang L, Tsai MY, Polak J, Tang Z. Associations of the beta-fibrinogen Hae III and factor XIII Val34Leu gene variants with venous thrombosis. *Thromb Res.* 2007;121(3):339-45.
86. Camilleri RS, Cohen H. No association between pulmonary embolism or deep vein thrombosis and the -455G/A beta-fibrinogen gene polymorphism. *Blood Coagul Fibrinolys* 2005 Apr;16(3):193-8.
87. Kohler HP, Grant PJ. Mechanisms of disease: plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1801–1972.
88. Eriksson P, Kalling B, van't Hooft FM, et al. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1851-55.
89. Mansfield MW, Stikland MH, Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter polymorphism and coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1032-34.
90. Ikegaya N, Yamamoto T, Takeshita A, et al. Elevated erythropoietin receptor and transforming growth factor-1 expression in stenotic arteriovenous fistulae used for hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:928-935.
91. Slowik A, Dziedzic T, Turaj W et al. A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males. *Stroke* 2004;35 1589-1593.



92. Newman PJ. Platelet alloantigens: cardiovascular as well as immunological risk factors. *Lancet* 1997;349:370.
93. Dikmen M, Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enziminin moleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* Mayıs 2004; 5: 9-16.
94. Sell SM, Lagemwa PR. Development of a highly accurate, rapid PCR-RFLP genotyping assay for the metyhlenetetrahydrofolate reductase gene. *Genet Test* 1999; 3: 287-289.
95. Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, et al. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the metyhlenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr* 2000; 130: 2238-2242.
96. Bosma PJ, van den Berg EA, Kooistra T, Siemieniak DR, Slightom JL. Human plasminogen activator inhibitor-1 gene. Promoter and structural gene nucleotide sequences. *J Biol Chem* 1988 Jul 5;263(19):9129-41.
97. Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL et al. No association between the common MTHFR 677CT polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study *Arch Intern Med* 2007 Mar 12;167(5):497-501.
98. Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2005 Feb;3(2):292-9.
99. 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* 2003;41:637-642.
100. Hankey G, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *The Lancet* 1999;354(31):407-413.
101. Henning BF, Riezler R, Tepel M, et al. Evidence of altered homocysteine metabolism in chronic renal failure. *Nephron* 1999;83:314-322.
102. Dennis VW, Robinson K. Homocysteinemia and vascular disease in end stage renal disease. *Kidney Int* 1996;50(spl 57):11-17.
103. Friedman AN, Bostom AG, Selhub J, Levey AS, Rosenberg IH. The kidney and homocysteine metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2181-2189.
104. Guldener CV, Robinson K. Homocysteine and renal disease. *Sem Thrombos Hemostasis* 2000;26(3): 313-324.

105. Mudd SH, Skovby F, Levy HL, et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine betasynthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985 Jan;37 (1):1-31.
106. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in endstage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20.
107. Derici ÜB, Reis KA. Hiperhomosisteinemi ve kronik böbrek yetmezliği. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2002;I (3):129-134.
108. Shemin D, Lapane KL, Bausserman L, et al. Plasma total homocysteine and hemodialysis acces thrombosis: A prospective study. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:1095-1099.
109. Tamura T, Bergman SM, Morgan SL. Homocysteine, B vitamins, and vascular-access thrombosis in patients treated with hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1998 Sep;32(3):475-81.
110. US Renal Data System: Excerpts from theUSRDS 2003. Annual Data Report: Atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: S1–S230.
111. Feldman HI, Kobrin S, Wasserstein A: Hemodialysis vascular access morbidity. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 523–535.
112. Schwab SJ: Vascular access for hemodialysis. *Kidney Int* 1999; 55: 2078–2090.
113. Casserly LF, Dember LM: Thrombosis in end-stage renal disease. *Semin Dial* 2003; 16: 245–256.
114. Schwab SJ: Hemodialysis vascular access: An ounce of prevention. *Kidney Int* 1997;52: 1704–1705.
115. 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* 2001; 59:358–362.
116. 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* 2003;14: 2645–2653.
117. Tessitore N, Mansueto G, Bedogna V, Lipari G, Poli A, Gammara L, Baggio E, Morana G, Loschiavo C, Laudon A, Oldrizzi L, Maschio G: A prospective controlled trial on effect of percutaneous transluminal angioplasty on functioning arteriovenous fistulae survival. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1623–1627.

118. Tripodi A, Mannucci PM: Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem* 2001;47: 1597–1606.
119. Paulson WD: Prediction of hemodialysis synthetic graft thrombosis: Can we identify factors that impair validity of the dysfunction hypothesis? *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 973–975.
120. 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* 2003;42: 797–805.
121. 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* 2003; 38: 541–548.
122. Hernandez E, Praga M, Alamo C, Araque A, Morales JM, Alcazar JM, Ruilope LM, Rodicio JL: Lipoprotein(a) and vascular access survival in patients on chronic hemodialysis. *Nephron* 1996; 72: 145–149.
123. Valeri A, Joseph R, Radhakrishnan J: A large prospective survey of anti-cardiolipin antibodies in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1999; 51: 116–121.
124. LeSar CJ, Merrick HW, Smith MR: Thrombotic complications resulting from hypercoagulable states in chronic hemodialysis vascular access. *J Am Coll Surg* 1999;189: 73–81.
125. 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*2002; 92: 957–958.
126. Hojs R, Gorenjak M, Ekart R, Dvorsak B, Pecovnik-Balon B: Homocysteine and vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Ren Fail* 2002; 24: 215–222.
127. Adler S, Szczech L, Qureshi A, Bollu R, Thomas-John R: IgM anticardiolipin antibodies are associated with stenosis of vascular access in hemodialysis patients but do not predict thrombosis. *Clin Nephrol* 2001;56: 428–434.
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* 1996;11: 668–672.

129. Van der Sman-de Beer F, Verhagen C, Rombach SM, Boorsma P, van Manen JG, Korevaar JC, van den Bogaard R, Boeschoten EW, Krediet RT, Navis GJ, Vandenbroucke JP, Dekker FW: ACE I/D polymorphism is associated with mortality in a cohort study of patients starting with dialysis. *Kidney Int* 2005; 68: 2237–2243.
130. So WY, Ma RC, Ozaki R, Tong PC, Ng MC, Ho CS, Lam CW, Chow CC, Chan WB, Kong AP, Chan JC: Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in type 2, diabetic patients: interaction with ACE insertion/deletion polymorphism. *Kidney Int* 2006; 69: 1438–1443.
131. Ishimitsu T, Hosoya K, Matsuoka H: The deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism as a cardiovascular risk factor in patients undergoing long-term hemodialysis. *Ann Intern Med* 2000; 133: 924.
132. Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, et al. The D allele of the angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is a risk factor for type 2 diabetes in a population based Japanese sample. *Endoc J* 2003; 50 (4): 393-398.
133. Tseng CH, Tseng CP. Lack of association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and peripheral vascular disease in type 2 diabetic patients in Taiwan. *Circ J* 2002; 66: 1014-1018.
134. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
135. Margaglione M, Cappucci G, d'Addeda M, et al. PAI-1 plasma levels in a general population without clinical evidence of atherosclerosis: relation to environmental and genetic determinants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 562-567.
136. Dilley A, Austin H, Hooper WC, et al. Relation of three genetic traits to venous thrombosis in an African-American population. *Am J Epidemiol* 1998; 147:30-35.
137. Thomas K., et al. ACE/DD genotype is associated with hemostasis balance disturbances reflecting hypercoagulability and endothelial dysfunction in patients with untreated hypertension. *Am Heart J* 2000; 140:760-5.
138. Philipp CS, Dilley A, Saidi P, Evatt B, Austin H, Zawadsky J, Harwood D, Ellingsen D, Barnhart E, Phillips DJ, Hooper WC: Deletion Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a thrombophilic risk factor after hip arthroplasty. *Thromb Haemost* 1998; 80: 869-73.

139. Jackson A, Brown K et al. Effect of the angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism on the risk of venous thromboembolism. *British Journal of Haematology* 2000; 111:562-564.
140. Koppel H, Renner W, Gugl A, Cichocki L, Gasser R, Wascher TC, Pilger E: The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism is not related to venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2004; 91 :76-79.
141. Isbir CS, Akgun S, Yilmaz H, Civelek A, Ak K, Tekeli A, Agachan B, Cobanoglu A: Is there a role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in the failure of arteriovenous femoral shunts for hemodialysis? *Ann Vasc Surg* 2001; 15:443–446.
142. Baek SH, Kye YH, Ahn SH: Role of ACE Gene Polymorphism on failure of arteriovenous fistula for maintenance hemodialysis. *Korean J Nephrol* 2003; 22(6): 664-670.
143. Berk BC, Vekhstein V, Gordon HM, Tsuda T: Angiotensin II stimulation protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1989; 13: 305-314.
144. 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* 2002; 9: 74-84.
145. Amant C, Bauters C, Bodart CJ, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N, Hamon M, Richard F, Helbecque N, Mc Fadden: D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997; 96: 56-60.
146. Heine GH, Ulrich C, Kohler H, Girndt M: Is AV fistula patency associated with angiotensin-converting enzyme (ACE) polymorphism and ACE inhibitor intake?. *Am J Nephrol* 2004; 24:461–468.
147. Konner K, Hulbert-Shearon TE, Roys EC, Port FK: Tailoring the initial vascular access for dialysis patients. *Kidney Int* 2002;62:329-338.
148. Valji K, Bookstein JJ, Roberts AC, Davis GB: Pharmacomechanical thrombolysis and angioplasty in the management of clotted hemodialysis grafts: Early and late clinical result. *Radiology* 1991; 178:243-247.
149. Windus DW: Permanent vascular access: A nephrologist's view. *Am J Kidney Dis* 1993; 21:457-471.
150. Gradzki R, Dhingra RK, Port FK, Roys E, Weitzel WF, Messana JM: Use of ACE inhibitors is associated with prolonged survival of arteriovenous grafts. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 1240-1244.

151. Paulson WD, Ram SJ, Faiyaz R, Caldito GC, Atray NK: Association between blood pressure, ultrafiltration, and hemodialysis graft thrombosis: A multivariable logistic regression analysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 769-776.
152. Saran R, Dykstra DM, Wolfe RA, Gillespie B, Held PJ, Young EW: Association between vascular access failure and the use of specific drugs: The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 1255-1263.
153. Brophy F. D, Bukaveckas L. B, Gonzalez-Ferreira A, Archer JK, Martin JE, Gehr W.B.T: A pilot study of genetic polymorphism and hemodialysis vascular access thrombosis. *Hemodialysis International* 2009; 13: 19-26.
154. Moon JY, Jeong KH, Paik SS, Han JJ, Lee SH, Lee TW, Ihm CG, Kim MJ, Chung JH. Arteriovenous Fistula Patency Associated with Angiotensin-Converting Enzyme I/D Polymorphism and ACE Inhibition or AT1 Receptor Blockade. *Nephron Clin Pract* 2009;111:c110–c116.
155. Shigeo T, Yoshiro N, Mayumi D, et al. Fibrinogen, coagulation factor VII, tissue plasminogen activator inhibitor -1, and lipid as cardiovascular risk factor in chronic hemodialysis and continuous ambulatory periton dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996;27 (6): 848-854.
156. Stegnar M, Uhrin P, Peternel P, et al. The 4G/5G sequence polymorphism in the promoter of plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1) gene: relationship to plasma PAI-1 level in venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 79 (5): 975-979.
157. Yılmaz E, Akar E, Akar N. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in Turkish deep vein thromboembolic patients with and without prothrombin 20210 G-A. *Turk J Haematol* 2004; 21(2): 83-86.
158. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
159. Akar N, Yılmaz E, Akar E, et al. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in Turkish deep vein thrombotic patients with and without FV 1691 G-A. *Thromb Research* 2000; 97: 227-30.
160. Lazo-Langer A, Knoll A.G, Wells S.P, Carson N, Rodger A.M. The risk of dialysis access thrombosis is related to the transforming growth factor-beta 1 production haplotype and is modified by polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-type 1 gene. *Blood* 2006; 108: 4052-4058.

161. Emiroğulları E.F; Arteryovenöz fistül trombozu gelişen ve gelişmeyen kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda metilentetrahidrofolat redüktaz, protrombin, Faktör-V ve plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 polimorfizmlerinin araştırılması. Tıbbi genetik anabilim dalı yüksek lisans tezi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Kayseri 2007.
162. Girndt M, Heine H.G, Ulrich C. Köhler H. Gene polymorphism association studies in dialysis: Vascular Access. *Seminars in Dialysis* 2007; 2(1); 63-67.
163. Bremer C, Schaefer RM: Heterozygosity for factor V Leiden in a haemodialysis patient with recurrent shunt thrombosis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1775-1776.
164. Kim RJ, Becker RC: Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J* 2003;146:948–957.
165. Akman B, Afsar B, Ataç F.B, İbiş A, Arat Z, Sezer S, Özdemir F.N, Haberal M. Predictors of vascular access thrombosis among patients on the cadaveric renal transplantasyon waiting list. *Transplantation Proceedings* 2006; 38: 413-415.
166. Ernst E, Resch KL, Fibrinogen as a cardiovascular risk factor:a meta-anallysis and review of the literature. *Ann Intern Med.*1993; 118;956-963.
167. Kristensen B, Malm J, Nilson T, Hultdin J, Carlberg B, Olsson T. Increased fibrinogen levels and acquired hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke* 1998; 29;2261-2267.
168. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1994; 71:719-722.
169. Fowkes FGR, Connor JM, Smith FB, Wood J, Donan PT, Lowe GDO. Fibrinogen genotype and risk of peripheral atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339;693-696.
170. Liu Y, Pan J, Wang S, Li X, Huang Y. B-fibrinogen gene -455A/G polymorfism and plasma fibrinogen level in Chinese stroke patients. *Chin Med J(Eng)* 2002 115(2); 214-216.
171. Knoll A.G, Wells S.P, Young D, et al: Thrombophilia and the Risk for Hemodialysis Vascular Access Thrombosis. *J Am Soc Nephrol* 2005;16: 1108-1114.