

# Kronik Böbrek Yetmezliğinde Vasküler Kalsifikasyon ve Kalsifikasyon İnhibitörleri

## Vascular Calcification in Chronic Renal Failure and Calcification Inhibitors: Review

Dr. Rüya MUTLUAY,<sup>a</sup>  
Dr. Serpil Müge DEĞER,<sup>a</sup>  
Dr. Ülver DERİCİ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Nefroloji BD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Geliş Tarihi/Received: 22.05.2009  
Kabul Tarihi/Accepted: 01.09.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. Serpil Müge DEĞER  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Nefroloji BD, Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
serpilmugedeğer@yahoo.com

**ÖZET** Sağlıklı bireylere göre kronik böbrek yetmezliği olan hastalar kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından yüksek riske sahiptir. Bu hastalarda söz konusu olan hızlanmış aterosklerozda vasküler kalsifikasyon önemli rol oynar ve kronik böbrek yetmezliğinin evresi arttıkça daha da belirgin hale gelir. İntimal kalsifikasyon klinik olarak kendini aterosklerozla gösterirken; medial kalsifikasyon daha çok diabetikler ve böbrek yetmezlikli bireylerde gözlenir. Diyaliz hastalarında hem intimal hem de medial kalsifikasyonun bir arada olabileceği de bilinmektedir. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda kalp kapak kalsifikasyon insidansının da sağlıklı topluluğa oranla arttığı ve bu grup hastalarda stenozun hızla ilerlediği bilinmektedir. Vasküler kalsifikasyon gelişiminde yaş, sigara, diabetes mellitus gibi klasik risk faktörlerinin yanısıra uzamış diyaliz süresi, hiperkalsemi ve hiperfosfatemi gibi üremi ile ilişkili risk faktörleri hem vasküler hem de valvuler kalsifikasyonu artırıcı rol oynamaktadır. Son yıllarda önemleri daha da iyi anlaşılmasına başlanan matriks Gla protein, fetuin-A, osteoprotegerin ve osteopontin gibi bazı proteinlerin düzeylerinin artması ise kalsifikasyonu inhibe etmektedir. Bilinen kalsifikasyon inhibitörleri arasında en uygun araştırma konusu olan protein fetuin-A'dır ve günümüze değin yapılmış olan çalışmalar diyaliz hastaları için azalmış fetuin-A konsantrasyonunu geleneksel olmayan risk faktörlerinden biri haline getirmiştir. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda fetuin-A ve diğer vasküler kalsifikasyon inhibitörlerinin kalsifikasyon sürecindeki etkin rollerinin tam olarak anlaşılabilmesi ile gelecekte tedavide kullanımları söz konusu olabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Kronik böbrek yetmezliği; vasküler kalsifikasyon ilişkili faktör, osteoprotegerin

**ABSTRACT** Patients with chronic renal failure have higher cardiovascular morbidity and mortality rates compared to general population. Vascular calcification plays an important role for accelerated atherosclerosis of these patients and becomes more evident as the stage of renal failure increases. Although intimal calcification clinically occurs with atherosclerosis; medial calcification is more commonly seen in diabetics and patients with renal failure. It is also known that both intimal and medial calcification can be present in dialysis patients. It is known that the incidence of cardiac valve calcification is higher and valve stenosis progresses more rapidly in end stage renal failure patients compared to healthy population. Besides classical risk factors as age, smoking and diabetes mellitus, some uremia-associated risk factors as prolonged dialysis time, hypercalcemia and hyperphosphatemia play important roles for the progression of vascular and valvular calcifications. Lately more appreciated proteins as protein matrix Gla, fetuin-A, osteoprotegerin and osteopontin lead to inhibition of calcification when their blood levels increase. Among calcification inhibitors, most widely investigated protein is fetuin-A and studies until today revealed the decreased fetuin-a concentration as a non-conventional risk factor in dialysis patients. They may be used for treatment in the future after understanding active roles of fetuin-A and other calcification inhibitors in chronic renal failure patients.

**Key Words:** Kidney failure, chronic; vascular calcification-associated factor, osteoprotegerin

## KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ VE VASKÜLER KALSİFİKASYON

İlerleyici kardiyovasküler kalsifikasyon kronik böbrek yetmezliği hastalarının önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir.<sup>1,2</sup> Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda vasküler kalsifikasyon direkt grafilerde ilk olarak 1976 yılında tanımlanmıştır.<sup>3</sup> 1969-1977 yılları arasında ölen hemodiyaliz hastalarının otopsileri incelendiğinde vasküler kalsifikasyon sıklığının %50-80 gibi dik-kate değer bir şekilde yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir.<sup>4,5</sup>

Kalsifikasyon genellikle büyük ve küçük arterlerde, myokardium ve kalp kapaklarında izlenen bir durum olmakla birlikte tüm yumuşak dokular-da da kalsifikasyon gelişebilir. Kalsifikasyon damarların intima veya media tabakasında yerleşir. İntimal kalsifikasyon klinik olarak kendini sıklıkla ateroskleroz ile birlikte gösterir. Hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi ve sigara içimi bu tip kalsifikasyonlar için risk faktörleridir.<sup>6</sup> Medial kalsifikasyonlar ise diabetiklerde, ileri yaşlarda ve kronik böbrek yetmezliği varlığında sıklıkla izlenir. Medial kalsifikasyonlu hastaların yaşama oranlarının intimal kalsifikasyonlu hastalara göre daha iyi olduğu gözlenmiştir.<sup>1</sup> Kronik böbrek yetmezlikli ve hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda iki tip kalsifikasyonun da birarada olduğu, bunlardan intimal kalsifikasyonun daha çok yaş ve geleneksel risk faktörleri (sigara, hipertansiyon, diabetes mellitus, dislipidemi gibi) ile bağlantılı olduğu; ikinci tip kalsifikasyon olan pre-dominant medial kalsifikasyonun ise uzamış diyaliz süresi ve kalsiyum (Ca) x (fosfor) P dengesi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.<sup>1,7,8</sup> Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda sıklıkla bir arada izlenen kalsifikasyonlar bu grup hastalardaki artmış kardiyovasküler hastalıklardan ve mortaliteden de sorumlu tutulmaktadır.<sup>7</sup> Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda kalp kapak kalsifikasyon insidansının sağlıklı bireylere oranla belirgin olarak arttığı ve bu grup hastalarda stenozun progresif ve hızlı olduğu bilinmektedir.<sup>9-11</sup> Bu özel hasta grubunda artmış mitral ve aortik kapak kalsifikasyonunun yaş ile anlamlı korelasyonu Ribeiro ve ark.nın yaptığı çalışmada gösterilmiştir.<sup>12</sup>

Koroner arter kalsifikasyonu da kronik böbrek yetmezliği olan bireylerde sağlıklı bireylere göre iki ile beş kat daha fazla saptanmaktadır.<sup>13</sup> Günümüze kadar yapılmış olan büyük çalışmalar, koroner arter kalsifikasyonu ile kardiyovasküler olay arasındaki güçlü birlikteliği göstermiştir.<sup>14,15</sup> Kalsifikasyonun bölgesi neresi olursa olsun kardiyovasküler kalsifikasyonlar için diyabet önemli bir risk faktörüdür. Diyabetin son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda da vasküler kalsifikasyon için tek başına, bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir.<sup>16</sup> Bir çalışmada diyabete bağlı böbrek yetmezlikli hastalarda vasküler kalsifikasyon oranı % 47.1 olarak verilirken diyabete bağlı olmayan hasta grubunda bu oran %13.6 olarak bildirilmiştir.<sup>17</sup> Diyaliz hastalarında görülen vasküler kalsifikasyonun temelinde artış gösteren kalsifikasyon uyarıcılarının (hiperfosfatemi, hiperkalsemi, artmış okside LDL-kolesterol, hiperleptinemi) yanısıra düzeyi azalan kalsifikasyon inhibitörlerinin de (matrix Gla protein, fetuin-A, osteoprotegerin, osteopontin gibi) rolü vardır.<sup>13,18</sup> Vasküler kalsifikasyonun gelişimi ve progresyonunda kronik inflamasyon ve malnütrisyondan önemli oranda etkili olduğu yapılmış çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>16</sup> Vasküler kalsifikasyonu olan hastalarda sıklıkla artmış C-reaktif protein (CRP) ve azalmış serum albumin düzeyleri bildirilmiştir.<sup>19</sup> Fosfat vasküler kalsifikasyonun en büyük uyarıcısıdır.<sup>20</sup> Deneysel kültür ortamında yüksek fosfor düzeyi (2 mmol/L) ile vasküler kalsifikasyonun başlatılabildiği gösterilmiştir.<sup>21</sup> İn vitro çalışmalar üremik serumun ve bir fosfat vericisi olan  $\alpha$ -gliserofosfatın sığırların vasküler düz kas hücrelerinde alkalen fosfataz aktivitesini ve osteopontin ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir.<sup>22</sup> Benzer sonuç insan aort düz kas hücrelerinde de gösterilmiştir.<sup>23</sup> Bu çalışmada artmış fosfor düzeyinin osteoblastik farklılaşma belirteçlerinden olan osteokalsin ve *Osf2/Cbfa-1* ekspresyonunu arttırdığı saptanmıştır.<sup>23</sup> Klinik çalışmalarda da serum fosfor düzeyinin hemodiyaliz hastalarında vasküler kalsifikasyon ve kardiyovasküler hastalıklar için prediktif bir belirteç olduğu gösterilmiştir.<sup>24,25</sup> Yüksek fosfor düzeyi sadece diyaliz hastalarında değil böbrek nakli olmuş bireylerde de mortalitenin bağımsız bir göstergesidir.<sup>26</sup> Pediatrik son dönem

böbrek yetmezlikli hastalarla yürütülen çalışmalarda da koroner kalsifikasyon skoru ile serum fosfor ve kalsiyum düzeyi arasındaki pozitif korelasyona ilaveten kalsitriol kullanımı da kalsifikasyon skorunun artışında önemli rol alır görünmektedir.<sup>27</sup> Periton diyalizi uygulayan hastaların kullanmakta oldukları diyalizattaki kalsiyum oranları ile vasküler kalsifikasyon ilişkisi aktif araştırma konularındandır; Demirci ve ark.nın çalışmasında yüksek kalsiyumlu diyalizat (1.75 mmol/L) kullanan hastaların augmentasyon indeksleri düşük kalsiyumlu diyalizat (1.25 mmol/L) kullanan hastalardan daha yüksek bulunurken brakiyal pulse wave velocity ölçümleri arasında önemli farklılık bulunmamıştır.<sup>28</sup>

Diyaliz hastalarında vasküler kalsifikasyon oluşumuna katkıda bulunan faktörler Tablo 1'de özetlenmiştir.<sup>7</sup> Lomashvili ve ark. vasküler kalsifikasyon patogenezinde doku-nonspesifik alkalın fosfataz (TNAP)'ın rolü olabileceğine dair veriler sunmuşlardır.<sup>29</sup> Bu çalışmada, üremik ratların damar duvarında TNAP'ın inorganik pirofosfat yolu ile vasküler kalsifikasyon üzerine olan uyarıcı etkisi tanımlanmıştır.<sup>29</sup> Gelecekte selektif TNAP inhibisyonu ile vasküler kalsifikasyon üzerine azaltıcı yönde bir etki söz konusu olabilecek gibi görünmektedir.<sup>30</sup>

**TABLO 1:** Üremik hastalarda vasküler kalsifikasyon için risk faktörleri.

Değiştirilebilir risk faktörleri
Serum fosfor düzeyi
Serum kalsiyum düzeyi
Kalsiyum-fosfor çarpımı(CaxP)
Kalsiyum içeren fosfor bağlayıcı kullanımı
Hiperparatroidizm
D vitamini kullanımı
Dislipidemi
İnflamasyon
Hipertansiyon
Diğer: oksidatif stres, warfarin, glukoz, homosistein, leptin, aşırı demir yüklemesi, ilerlemiş glikolizasyon son ürünleri
Apoptosis
Değiştirilemez risk faktörleri
İleri yaş
Diyaliz süresi
Cinsiyet
İrk
Genetik

## VASKÜLER KALSİFİKASYON İNHİBİTÖRLERİ MATRİKS GLA PROTEİNİ (MGP)

Hem arteryel hem de kıkırdak kalsifikasyonunun inhibitörü olan matriks Gla proteini pek çok dokudan (böbrek, akciğerler, kalp, kıkırdak doku ve en yoğun olarak da vasküler düz kas hücrelerinde) üretilir. Bu protein 84 aminoasitli ve 12 kDa ağırlığında olup beş g-karboksi glutamik asit rezidüsü içerir.<sup>31</sup> MGP'deki g-karboksilglutamik asit (Gla) rezidüleri tıpkı diğer vitamin K bağımlı proteinlerde olduğu gibi redükte vitamin K'ya (Vitamin KH<sub>2</sub>) ihtiyaç gösterirler. Vitamin KH<sub>2</sub> karboksilasyon reaksiyonunda aktif olarak kullanılır.<sup>31</sup> MGP'si olmayan farelerde vasküler düz kas hücrelerinin spesifik uyarılması yolu ile lokal MGP üretiminin sağlanması halinde vasküler kalsifikasyondan korunabilmek mümkün olmaktadır.<sup>32</sup> K vitamini açısından diyetin zenginleştirilmesinin sağlıklı damar duvarı ile olan korelasyonu bir çalışma ile gösterilmiştir.<sup>33</sup> Vitamin K antagonisti olan warfarin uygulaması ile MGP'nin g-karboksilasyonunun inhibe edilmesi sonucunda vasküler kalsifikasyonda belirgin artışlar tanımlanmıştır.<sup>34</sup> Warfarin tedavisi ile aort kapağı kalsifikasyonunda da artışların olduğu gösterilmiştir.<sup>35,36</sup> Warfarinin kalsifikasyon üzerine olumsuz etkileri böbrek yetmezlikli hastalarda da belirtilmiştir.<sup>37</sup> Koos ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada; oral antikoagulan kullanan diyaliz hastalarında kullanmayanlara oranla vasküler kalsifikasyon skorlarının belirgin oranda daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>35</sup>

Gla rezidülerinin bilinen fonksiyonlarından biri kalsiyum iyonlarını bağlamalarıdır.<sup>38</sup> MGP'nin kalsifikasyon üzerine olan inhibitör etkisi açık bir biçimde MGP-knockout farelerde gösterilmiştir.<sup>39</sup> MGP'den yoksun fareler dramatik vasküler kalsifikasyon ve kırıklarla aort rüptürü ile ölmüşlerdir.<sup>39</sup> MGP prominerlizasyon faktörü olan kemik morfogenetik protein-2 (BMP-2)'nin aktivitesini inhibe ederek osteogenik farklılaşmayı azaltabilir.<sup>40</sup> BMP-2 aterosklerotik lezyondaki hücrelerde eksprese olur ve ekspresyonu oksidatif stres, inflamasyon veya hiperglisemi ile uyarılabilir.<sup>41,42</sup> Retinoik asit kondrosit maturasyon ve mineralizasyonunda önemli rol oynar ve yüksek dozda retinoik asit vas-

küler kalsifikasyona neden olabilir. Yüksek dozda vitamin D<sub>3</sub> in vivo ortamda vasküler kalsifikasyona neden olurken fizyolojik düzeylerde vasküler düz kas hücresinde MGP düzeyini arttırmaktadır.<sup>31</sup> Kalumenin ilk olarak fare kalbindeki endoplazmik retikulum ve Golgi cisimciğinde eksprese olduğu gösterilmiş olan bir kalsiyum bağlayıcı proteindir. Vitamin K bağımlı karboksilasyon döngüsünde azaltıcı yönde etkisi bulunmaktadır. Aterosklerotik lezyonlardaki aktive trombositlerden kalumenin salındığı bir çalışmada gösterilmiştir.<sup>43</sup> Vasküler düz kas hücresinde MGP ekspresyonu ve aktivitesi üzerinde etkili faktörler Tablo 2’de görülmektedir.<sup>31</sup>

MGP’nin vasküler kalsifikasyonun başlangıç aşamasında önemli rol oynayan apoptosisten de etkileri vardır. Apoptosise yanıt olarak MGP ekspresyonunun uyarıldığı gösterilmiştir. MGP mRNA ekspresyonu; rat glioma hücreleri ve rat ventral prostatik epiteliyal hücrelerde apoptosise uyarılmaktadır.<sup>44,45</sup>

### OSTEOPROTEGERİN (OPG)

OPG tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süperailisinin bir üyesi olup TNFR ailesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. Başlangıçta 401 aminoasit olarak sentezlenen bir polipeptidken 21 aminoasitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra 380 aminoasitlik olgun protein oluşur. Hücre dışına 60kDa’luk monomerik ve 120 kDa’luk disülfid bağı içeren homodimerik, çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır.<sup>46</sup> OPG’nin 1. ve 4. bölgeleri oste-

oklast oluşumunu önleyici aktiviteye sahiptir. OPG’nin 4., 5. ve 6. bölgelerinin apoptotik sinyalin iletimi ile ilişkili olduğu ve OPG’nin TNF ilişkili apoptosise uyaran ligand (TRAIL) ile bağlanarak TRAIL’le uyarılan apoptosise inhibe edebileceği bildirilmiştir. TRAIL’de OPG’nin osteoklast oluşumu üzerine olan inhibitör etkisini engelleyebilir. Proteinin 7. bölgesinde heparin bağlayan bir bölüm bulunur. OPG’nin bu bölgesi Reseptör aktivatör nukleer kappa B ligand (RANKL) bağlayan bölgeden uzaktadır ve kemik yıkımını inhibe edici etkisi ile ilişkili değildir. OPG bir transmembran proteoglikanı olan sindekan-1’e heparin bağlayan bölgesi aracılığı ile heparin sülfat yan zincirleriyle bağlanarak hücre içine alınır ve bir kısmı lizozomlar aracılığı ile yıkılır. RANKL/OPG kompleksinin yıkımının da sindekan-1’e bağlanması aracılığıyla olabileceği gösterilmiştir.<sup>46-48</sup>

Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda artan parathormonun OPG sekresyonunu azalttığı in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Parathormonun hücresel etkilerinde önemli rolü olan protein kinaz A ve C inhibitörlerinin kullanılması yolu ile endotelial OPG salınımı üzerine olan etkilenim yakın zamanda çalışılmıştır.<sup>49</sup>

OPG osteoklastların yarattığı kemik yıkımını inhibe eder; hipokalsemik ve anti-rezorbif etkilidir. Kemik dokudaki etkileri reseptör aktivatör nukleer kappa B (RANK) ve RANK ligand (RANKL)’in etkisi ile ters yönde olmaktadır. OPG, RANKL’a bağlanarak bir tuzak reseptör gibi fonksiyon görür ve RANK’a bağlanmasını engeller.<sup>48,50</sup> Prediyaliz kronik böbrek yetmezlikli hastalarda da RANKL-RANK ve OPG’nin kemik mineral dansitesi üzerine olan etkilerinin son dönem böbrek yetmezlikli hastalardakine benzer biçimde olduğu bulunmuştur.<sup>51</sup> İki juvenil Paget hastasında OPG’nin 100 kilobazlık kısmında homozigot delesyon gözlenmiş olması ve bu hastalarda kemik yıkımının artmış olması OPG’nin insanlarda kemik koruyucu rolünü göstermektedir.<sup>48</sup> OPG osteoblastlar dışında kardiyovasküler sistem, böbrek, karaciğer, dalak, beyin, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok doku ve hematopoetik hücre tarafından sentezlenir.<sup>46,50</sup> OPG salınımı pek çok sitokin, hormon ve ilaç tarafından düzenlenir; transforme edici bü-

**TABLO 2:** Vasküler düz kas hücresinde MGP üzerinde etkili faktörler.

MGP ekspresyonu	Etki
Retinoik asit	↓
Vitamin D3	↑
Ekstrasellüler kalsiyum iyonları	↑
TGF-β	↓
T3	↑
<b>MGP aktivitesi</b>	
Vitamin KH2	↑
Warfarin	↓
Kalumenin	↓?

yüme faktörü- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-18, kemik morfogenetik protein ve 17 $\beta$ -östradiol OPG-mRNA seviyelerini arttırır. Glukokortikoidler, siklosporin-A, paratroid hormon, Prostaglandin E<sub>2</sub> ve fibroblast büyüme faktörü-2 ise OPG sentezini inhibe eder.<sup>35,47,52,53</sup> Kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG'nin yaşla azaldığı görülmüştür.<sup>54</sup>

Evre 4 ve 5 kronik böbrek yetmezlikli hastalarla yürütülmüş olan ve yakın zamanda sonuçlanan bir çalışmada yüksek OPG ile tüm nedenlere bağlı mortalite arasındaki anlamlı ilişki ortaya konmuştur. Bu çalışmada >25 pmol/L, OPG düzeyi erkek cinsiyet ve hipoalbumineminin artmış ölüm oranı ile birlikte olduğu gösterilmiştir.<sup>55</sup> Tip 1 diyabetik nefropatili hastalar ve yeni hemodiyaliz hastaları ile yürütülmüş olan iki ayrı çalışmada tıpkı ilk çalışmadaki gibi artmış OPG'nin kardiyovasküler olay gelişimini predikte edebildiğini göstermiştir.<sup>56,57</sup>

### OSTEOPONTİN (OPN)

Kemiklerde, böbrekte, dişte ve dokuların epitelial hatlarında bulunan 44 kD ağırlığında güçlü bir asidik fosfoproteindir.<sup>58-60</sup> Bu protein güçlü bir kalsifikasyon inhibitörüdür.<sup>61</sup> Aterosklerotik dokuda, aort stenozunda, böbrek taşlarında ve tümörlerde OPN ekspresyonunun olduğu bilinmektedir.<sup>62</sup> Bir fosfoprotein adezyon molekülü olarak salgılanan osteopontin kalsiyum iyonlarına karşı yüksek afinite gösterir.<sup>63,64</sup> Yaklaşık olarak 1 mol OPN 50 mol kalsiyum bağlar.<sup>65</sup> Ayrıca OPN monositik hücrelerde karbonik anhidraz II enziminin ekspresyonunu ve ekstrasellüler ortamın asidifikasyonunu arttırır.<sup>61</sup> Karbonik anhidraz enzim eksikliğinde ise yumuşak doku kalsifikasyonlarına yatkınlığın arttığı bilinmektedir.<sup>66</sup> Ciltte kalsifikasyonu olan kronik böbrek yetmezlikli vakalarda immunohisto-kimyasal boyama ile kalsifiye dokuda OPN birikimi olduğu gösterilmiştir.<sup>67</sup> Benzer biçimde vasküler kalsifikasyonu olan böbrek yetmezlikli vakaların düz kas hücrelerinde de OPN ekspresyonunun belirgin olarak arttığı gözlenmiştir.<sup>68</sup> Yapılan çalışmalarda kalsifiye prostetik kalp kapaklarında belirgin biçimde osteopontin üretiminin olduğu saptanmıştır.<sup>63</sup> Romatizma dışı sklerotik aort kapaklarında da belirgin osteopontin üretimi bildirilmiştir.<sup>69,70</sup> OPN'nin üriner kalsifikasyon inhibitörü olduğu da bilinmekte-

dir. OPN in-vitro ortamda kalsiyum okzalat kristallerinin nukleasyonunu, gelişimini ve agregasyonunu inhibe eder.<sup>71,72</sup> Vasküler kalsifikasyondaki bu önemli rolünün yanında OPN son zamanlarda otoimmün hastalıklarda önem kazanan bir sitokindir. Romatoid artritin patogenezinde TNF- $\alpha$  ile birlikte OPN'in rolü olduğu ve geliştirilen yeni tedavi modalitelerinde hedefi oluşturdukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>73,74</sup>

### FETUİN-A (A2-SCHMİD HEREMANS GLİKOPROTEİN)

Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar, diyaliz hastaları için düşük fetuin-A konsantrasyonunu geleneksel olmayan kardiyovasküler risk faktörlerinden biri haline getirmiştir.<sup>75</sup> Fetuin-A molekül ağırlığı 60 kDa olan bir glikoproteindir ve hepatositlerden sentezlenir.<sup>76</sup> Serum albuminine benzer biçimde fetuin-A'da pre-dominant olarak karaciğer orijinlidir.<sup>8</sup> Karaciğer dışı fetuin-A ekspresyonu fetal gelişim esnasında büyük oranda böbrek ve koroid pleksus kaynaklıdır.<sup>77</sup> Serum konsantrasyonu 0.4-1.0 g/L arasında olup serum elektroforezinde  $\alpha$ 2 bandında kendini gösterir.<sup>8</sup> Fetuin-A 1970'li yılların sonlarında akut inflamasyon durumlarında albumine benzer biçimde bir negatif akut faz reaktanı olarak dikkati çekmiştir.<sup>78</sup> Bu glikoprotein çok güçlü bir kalsifikasyon inhibitörüdür. Fetuin-A knock-out farelerde massif kemik dışı kalsifikasyonlar gözlenmiştir.<sup>79</sup> Fetuin-A; CaxP çökmesinin inhibisyonunda major rolü üstlenir.<sup>75,80</sup> Fetuin-A önemli bir osteogenik protein olan kemik morfogenetik protein-2'nin antagonisti olarak etkir ve vasküler hücrelerin kalsifiye edici hücreler haline dönüşmesine engel olur.<sup>81</sup> Fetuin-A'nın biyolojik etkileri Tablo 3'de özetlenmiştir.<sup>8</sup>

Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda serum fetuin-A konsantrasyonu, artmış koroner arteriyel ve valvuler kalsifikasyon dereceleri ile ilişkilidir.<sup>82</sup> Odamaki ve ark.nın 141 hemodiyaliz hastası ile gerçekleştirdikleri çalışmada fetuin-A düzeyi ile aortik kalsifikasyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur.<sup>83</sup> Bu bulgu tıpkı diğer çalışmaları destekler nitelikte olup düşük fetuin-A düzeyi olan diyaliz hastalarında aortik kalsifikasyon oranındaki artış ile kendini göstermektedir.<sup>83</sup> Kalsiflaksili küçük hasta serilerinde olduk-

**TABLO 3:** Fetuin-A'nın biyolojik etkileri.

1- Kinetik (fizyokimyasal) CaxP presipitasyonunun inhibisyonu
2- Hidroksiapatit kristalizasyonun stabilizasyonu
3-Vasküler düz kas hücrelerinde matris içi kalsifikasyonun intrasellüler inhibisyonu ( annexin-bağımlı hücre girişi yolu ile)
4- Fetuin-A gen üretiminin regülasyonu (bir negatif akut faz reaktanı olarak)
5-TGF- $\beta$ inhibisyonu (soluble TGF- $\beta$ Tip II reseptör aktivitesi yolu ile)
6- İnsülin reseptörlerinin tyrosine reseptör aktivitesinin ve otofosforilasyon inhibisyonu ile insülin sensitivitesinin supresyonu

ça azalmış fetuin-A düzeyleri gösterilmiştir.<sup>79</sup> Fetuin-A'nın diyaliz hastalarında düşük oluşu genetik polimorfizm ile açıklanmaya çalışılmış ancak yapılan çalışmalarda genetik polimorfizmin (AHSG T256S) sağlıklı grup ile diyaliz grubunda benzer olmasına rağmen diyaliz hastalarında belirgin fetuin-A düşüklüğünün olması dikkati çekmiştir.<sup>84</sup>

Böbrek fonksiyonları normal olan koroner arter hastalarında yüksek fetuin-A düzeyinin hiperlipidemi ve metabolik sendromla bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma grubunda azalan renal fonksiyonlar ile fetuin-A arasında korelasyon bulunmamış olmakla birlikte çok az sayıda evre 3 kronik böbrek yetmezlikli hasta popülasyonunun çalışmaya dahil olduğunu göz ardı edilmemesi gerekir.<sup>85,86</sup> Evre 1-4 kronik böbrek yetmezlikli diyabetik ve diyabetik olmayan nefropatili hastalarda fetuin-A'nın prediktif değeri son yıllarda çalışılmaya başlanmıştır ve koroner kalsifikasyon ile serum fetuin-A düzeyi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır.<sup>87</sup> Normal popülasyonla yürütülmüş olan bir başka çalışmada; fetuin-A ile periferik vasküler kalsifikasyon derecesi arasında yine pozitif bir korelasyon gözlenmiştir.<sup>88</sup> Değişik evrelerdeki kronik böbrek yetmezlikli (Evre 1-5) hastaların dahil oldukları bir çalışmada serum fetuin-A düzeyinin endotelial disfonksiyon ile olan anlamlı bir ilişki içinde olduğu gösterilmiştir.<sup>89</sup> Diyabetik ve aterosklerotik erken dönem hastalarda dislipidemi veya hiperinsülineminin hepatik fetuin-A salınımlarında potansiyel bir tetikleyici rolü olabilir.<sup>82,90</sup> Bunun aksine evre 4-5 kronik böbrek yetmezlikli hastalarda gelişen progresif fetuin-A eksikliğinin üremik toksinler veya artmış inflamasyonun hepatik fetuin-A üretimini baskılaması yolu ile olabileceği düşünül-

lebilir.<sup>8</sup> Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar ışığında fetuin-A'nın klinik durumlar ile olan ilişkisi Tablo 4'de özetlenmiştir.<sup>8</sup>

Serum fetuin-A düzeyi diyaliz hastaları için mortalite belirleyicilerinden birisidir.<sup>91</sup> Fetuin-A düzeyindeki 0,1 g/L'lik artış tüm nedenlere bağlı mortalite oranını %13 azaltır.<sup>76</sup> Stenvinkel ve ark.na göre fetuin-A, CRP'ye oranla kardiyovasküler mortaliteyi daha kuvvetli biçimde predikte etmektedir.<sup>92</sup> Ocak 1997 ile Ekim 2004 yılları arasında izlenmiş olan toplam 987 diyaliz hastasında düşük fetuin-A düzeyinin artmış kardiyovasküler ve non-kardiyovasküler mortalite olan ilişkisi ortaya konmuştur.<sup>76</sup> Fetuin-A düzeyindeki 0.1 g/L'lik artış beklenen ölüm riskini %9 azaltmaktadır; bu çalışmada fetuin-A'nın tüm nedenlere bağlı mortalite ile olan ilişkisi serum CRP düzeyinden bağımsız olarak bulunmuştur.<sup>76</sup>

Malnütrisyon-inflamasyon-aterosklerozis sendromlu (MIA) hastalarda yapılan çalışmalarda fetuin-A eksikliği ile hipoalbuminemi arasında anlamlı bir korelasyonun olduğu gösterilmiştir.<sup>93</sup>

Hermans ve ark.nın toplam 131 diyaliz (98'i hemodiyaliz, 33'ü periten diyalizi hastası) hastasında yürüttükleri çalışmada, fetuin-A ile aortik sertlik arasındaki bağlantı araştırılmış ve sonuçta aralarında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir.<sup>75</sup> Buna benzer bir çalışma da Kuzniar ve ark. tarafından

**TABLO 4:** Fetuin-A'nın klinik durumlar ile olan ilişkisi.

1- KBY Evre 5 hastalarında düşük serum fetuin-A düzeyi inflamasyon bağımlı veya bağımsız mortaliteyi predikte eder.
2-KBY Evre 5 hastalarında düşük serum fetuin-A düzeyi kalsifikasyon derecesini (koroner arterler, kalp kapakları) predikte eder.
3- KBY Evre 1-4 Diyabetik hastalarda artmış fetuin-A konsantrasyonu kalsifikasyon derecesini (koroner arterler) predikte eder.
4- KBY Evre 1-3 hastalarda serum fetuin-A düzeyi ile metabolik sendrom parametreleri (kolesterol, trigliserid, vücut kitle indeksi) arasında pozitif birliktelik vardır.
5- Normal renal fonksiyonlara sahip popülasyonda serum fetuin-A düzeyi ile periferik arteriyel kalsifikasyon ve azalmış kemik kitlesi arasında ilişki mevcuttur.
6-KBY Evre 1-3 hastalarda renal fonksiyonlar ile serum fetuin-A düzeyi arasında korelasyon yoktur.
7-KBY Evre 1-3 hastalarda serum fetuin-A düzeyi ile mortalite arasında ilişki yoktur.

yapılmış ve son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda fetuin-A düzeyi ile aortik pulse-wave velocity arasında anlamlı negatif korelasyon olduğu bulunmuştur.<sup>94</sup> Çocuk diyaliz hastaları ile yürütülmüş olan bir çalışmada ise diyaliz hastalarında fetuin-A ve osteoprotegerin düzeyleri sağlıklı kontrollere göre daha yüksek saptanmış ve her iki parametrenin de vasküler kalsifikasyon ve arteriyel sertlikle belirgin ilişkisi gözlemlenmiştir.<sup>95</sup>

Bazı hayvan çalışmalarında fetuin-A'nın makrofajlardaki fagositik aktiviteyi uyardığı ve düşük fetuin-A düzeyinin infeksiyon riskini arttırdığı gösterilmiştir.<sup>96</sup>

### FETUİN-A'NIN TEDAVİDEKİ YERİ

Teorik olarak düşünüldüğünde antiinflamatuvar tedavi stratejileri (örneğin TNF- $\alpha$  antagonistleri) fetuin-A üretiminde rol oynayabilir.<sup>8</sup> Bazı çalışmalarda fosfor bağlayıcı olarak sevelamer HCL kullanımı ile artmış fetuin-A düzeyleri bildirilmiştir.<sup>97,98</sup>

Renal transplantasyon sonrası kalsifikasyon inhibitörlerinin düzeyi ve kalsifikasyon derecesiyle ilişkisini gösteren çalışmalar birbirinden farklı sonuçlara ulaşmıştır. Yirmidokuz böbrek nakilli çocuk hasta ile yürütülen çalışmada serum fetuin-A düzeylerinin transplantlı vakalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda düşük bulunduğu izlenirken MGP düzeyleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Aynı çalışmada karotis intima-media kalınlığı transplantlı vakalarda kontrollere göre belirgin artmış olarak ölçülmüş olmasına rağmen kalsifikasyon inhibitörleri ile arasında anlamlı korelasyon bulunmamıştır.<sup>99</sup> Çağlar ve ark.nın yürüttükleri çalışma bu alanda yapılmış, en güzel çalışmalardan biri olup, 42 böbrek nakilli hastanın pretransplant ve posttransplant değerlendirmesi yapılmış, transplantasyondan sonra hastalarda fetuin-A seviyesinin arttığı ve karotis intima-media kalınlığının azaldığı gözlenmiştir.<sup>100</sup>

### VASKÜLER KALSİFİKASYONDA TANI

Vasküler kalsifikasyonun tanısı için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Vasküler kalsifikasyonun derecesi ve evresi bu farklı yöntemlerin birbirine olan üstünlüklerini belirlemektedir. Günümüzde erken dönem kalsifikasyonların tanısında özellikle öneri-

len metod elektron beam tomografi (EBCT) ve multi-slice spiral tomografi (MSCT) olmakla birlikte bu iki yöntemin ülkemizde hem yaygın olarak uygulanabilir olmaması, hem de maliyetlerinin oldukça fazla oluşu uygulama zorluğu getirmektedir. MSCT'nin koroner arter kalsifikasyon derecesini belirleme ve skorlamada EBCT ile benzer olduğu ve her iki yöntemin de böbrek hastalığı olmayan bireylerde anjiyografi sonuçlarına yakın sonuçlar verdiği gösterilmiştir.<sup>101,102</sup> Oysa böbrek yetmezlikli hastalarda bu sonuca henüz ulaşamamıştır. MSCT'nin EBCT'e oranla daha yüksek doz radyasyon gerektiren bir işlem olması, ilerleyen günlerde bu yöntemin bu açıdan tekrar değerlendirilmesi gerekliliğini gündeme getirecektir.<sup>103</sup>

Kalsifikasyon varlığını göstermede daha klasik ve ucuz bir yöntem olan direkt grafi incelemeleriyle arteriel duvar ve periartiküler bölgeler grafi alanına alınarak değerlendirme yapılabilir.<sup>104</sup> Adragao ve ark.nın yaptıkları çalışmada pelvis ve el grafileri çekilerek vasküler kalsifikasyon skorlaması yapılmış ve skoru  $\geq 3$  olan hastaların kardiyovasküler mortalite riskinin 3.9 kat, kardiyovasküler hospitalizasyon riskinin 2.8 kat ve fatal ve ya non-fatal kardiyovasküler olay görülme oranının ise 2.3 kat arttığını saptanmıştır.<sup>105</sup> Direkt grafi değerlendirmesi ile kalsifikasyonların saptanmasında duyarlılık orta düzeyde olmasına karşın bu yöntemin ucuz ve kolay uygulanabilir olması kalsifikasyonların tanısında tercih edilir olmasını açıklamaktadır.

Vasküler kalsifikasyonun neden olduğu arteriyel sertliğin ölçülmesi (pulse wave velocity, augmentation indeks gibi) de kalsifikasyon varlığı ve derecesi hakkında dolaylı yoldan bilgi sahibi olmamızı sağlayan yöntemlerdendir. Özellikle prediyaliz ve diyaliz hastalarında vasküler kalsifikasyon inhibitörleri ile arteriyel duvar sertliği arasındaki ilişki günümüze değin yapılmış olan çalışmalarda ortaya konmuştur.<sup>94,106</sup>

Günümüze değin vasküler kalsifikasyonla ilgili yapılmış olan çalışmaların meta-analizi herhangi bir arteriyel duvarda kalsifikasyon saptanması durumunda kardiyovasküler olay ve mortalite riskinin 3-4 kat daha fazla olduğunu gös-

termiştir.<sup>107</sup> Günümüze değin klinik pratikte kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kalsifikasyon gelişimini azaltmaya yönelik girişimler tam olarak başarılı olamamıştır. Vasküler kalsifikasyon inhibitörlerinin bu fizyopatolojik döngüde aldıkları

rollerin daha iyi anlaşılabilmesi ve belki de ilaç olarak kullanıma girmeleri halinde, ilerleyen yıllarda bu özel hasta grubunda azalmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite söz konusu olabilecektir.

## KAYNAKLAR

- London GM, Guérin AP, Marchais SJ, Métivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(9):1731-40.
- Raggi P. Cardiovascular calcification in end stage renal disease. *Contrib Nephrol* 2005;149:272-8.
- Meema HE, Oreopoulos DG, deVeber GA. Arterial calcifications in severe chronic renal disease and their relationship to dialysis treatment, renal transplant, and parathyroidectomy. *Radiology* 1976;121(2):315-21.
- Kuzela DC, Huffer WE, Conger JD, Winter SD, Hammond WS. Soft tissue calcification in chronic dialysis patients. *Am J Pathol* 1977;86(2):403-24.
- Parfitt AM. Soft-tissue calcification in uremia. *Arch Intern Med* 1969;124(5):544-56.
- Pecovnik-Balon B. Cardiovascular calcification in patients with end-stage renal disease. *Ther Apher Dial* 2005;9(3):208-10.
- Derici U, El Nahas AM. Vascular calcifications in uremia: old concepts and new insights. *Semin Dial* 2006;19(1):60-8.
- Westenfeld R, Jahnen-Dechent W, Ketteler M. Vascular calcification and fetuin-A deficiency in chronic kidney disease. *Trends Cardiovasc Med* 2007;17(4):124-8.
- Baglin A, Hanslik T, Vaillant JN, Boulard JC, Moulouguet-Doleris L, Prinseau J. Severe valvular heart disease in patients on chronic dialysis. A five-year multicenter French survey. *Ann Med Interne (Paris)* 1997;148(8):521-6.
- Çengel A, Sindel Ş, Cemri M, Bali M, Yalçın R, Timurkaynak T, et al. [Mitral and aortic valve involvement of the patients with end-stage renal failure on chronic hemodialysis programme]. *Türkiye Klinikleri J Cardiol* 1995;8(4):212-4.
- Maher ER, Young G, Smyth-Walsh B, Pugh S, Curtis JR. Aortic and mitral valve calcification in patients with end-stage renal disease. *Lancet* 1987;2(8564):875-7.
- Ribeiro S, Ramos A, Brandão A, Rebelo JR, Guerra A, Resina C, et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(8):2037-40.
- Jono S, Shioi A, Ikari Y, Nishizawa Y. Vascular calcification in chronic kidney disease. *J Bone Miner Metab* 2006;24(2):176-81.
- Vliegenthart R, Hollander M, Breteler MM, van der Kuip DA, Hofman A, Oudkerk M, et al. Stroke is associated with coronary calcification as detected by electron-beam CT: the Rotterdam Coronary Calcification Study. *Stroke* 2002;33(2):462-5.
- Vliegenthart R, Hollander M, Breteler MM, van der Kuip DA, Hofman A, Oudkerk M, et al. Stroke is associated with coronary calcification as detected by electron-beam CT: the Rotterdam Coronary Calcification Study. *Stroke* 2002;33(2):462-5.
- Ishimura E, Okuno S, Taniwaki H, Kizu A, Tsuchida T, Shioi A, et al. Different risk factors for vascular calcification in end-stage renal disease between diabetics and nondiabetics: the respective importance of glycemic and phosphate control. *Kidney Blood Press Res* 2008;31(1):10-5.
- Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Kim M, Shoji T, Nakatani T, et al. Different risk factors for peripheral vascular calcification between diabetic and non-diabetic haemodialysis patients-importance of glycaemic control. *Diabetologia* 2002;45(10):1446-8.
- Mehrotra R. Emerging role for fetuin-A as contributor to morbidity and mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2007;72(2):137-40.
- Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Maekawa K, Izumotani T, Yamakawa T, et al. C-reactive protein is a significant predictor of vascular calcification of both aorta and hand arteries. *Semin Nephrol* 2004;24(5):408-12.
- Cozzolino M, Mazzaferro S, Pugliese F, Braccaccio D. Vascular calcification and uremia: what do we know? *Am J Nephrol* 2008;28(2):339-46.
- Giachelli CM. Ectopic calcification: new concepts in cellular regulation. *Z Kardiol* 2001;90(Suppl 3):31-7.
- Chen NX, O'Neill KD, Duan D, Moe SM. Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 2002;62(5):1724-31.
- Jono S, McKee MD, Murray CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000;87(7):E10-7.
- Block GA, Port FK. Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. *Am J Kidney Dis* 2000;35(6):1226-37.
- Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, et al. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2002;39(4):695-701.
- Connolly GM, Cunningham R, McNamee PT, Young IS, Maxwell AP. Elevated serum phosphate predicts mortality in renal transplant recipients. *Transplantation* 2009;87(7):1040-4.
- Lilien MR, Groothoff JW. Cardiovascular disease in children with CKD or ESRD. *Nat Rev Nephrol* 2009;5(4):229-35.
- Demirci MS, Ozkahya M, Asci G, Sevinc E, Yilmaz M, Demirci C, et al. The influence of dialysate calcium on progression of arterial stiffness in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2009;29(Suppl 2):S15-7.
- Lomashvili KA, Garg P, Narisawa S, Millan JL, O'Neill WC. Upregulation of alkaline phosphatase and pyrophosphate hydrolysis: potential mechanism for uremic vascular calcification. *Kidney Int* 2008;73(9):1024-30.
- Schoppert M, Shanahan CM. Role for alkaline phosphatase as an inducer of vascular calcification in renal failure? *Kidney Int* 2008;73(9):989-91.
- Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein. *Nephrology (Carlton)* 2006;11(5):455-61.
- Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004; 165(5): 625-30.
- Geleijnse JM, Vermeer C, Grobbee DE, Schurgers LJ, Knapen MH, van der Meer IM, et al. Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study. *J Nutr* 2004;134(11):3100-5.
- Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(9):1400-7.
- Koos R, Mahnen AH, Mühlenbruch G, Brandenburg V, Pflueger B, Wildberger JE, et al. Relation of oral anticoagulation to cardiac valvular and coronary calcium assessed by multislice spiral computed tomography. *Am J Cardiol* 2005;96(6):747-9.



36. Schurgers LJ, Aebert H, Vermeer C, Bültmann B, Janzen J. Oral anticoagulant treatment: friend or foe in cardiovascular disease? *Blood* 2004;104(10):3231-2.
37. Farzaneh-Far A, Shanahan C, Proudfoot D, Weissberg PL. Mobile intracardiac calcinosis: risk of thromboembolism in patients with haemodialysed end stage renal disease. *Heart* 2000;83(5):582-3.
38. Hackeng TM, Rosing J, Spronk HM, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. *Protein Sci* 2001;10(4):864-70.
39. Luo G, Ducey P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997;386(6620):78-81.
40. Boström K, Tsao D, Shen S, Wang Y, Demer LL. Matrix GLA protein modulates differentiation induced by bone morphogenetic protein-2 in C3H10T1/2 cells. *J Biol Chem* 2001;276(17):14044-52.
41. Boström K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL. Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1993;91(4):1800-9.
42. Fukui N, Zhu Y, Maloney WJ, Clohisey J, Sandell LJ. Stimulation of BMP-2 expression by pro-inflammatory cytokines IL-1 and TNF-alpha in normal and osteoarthritic chondrocytes. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A(Suppl 3):59-66.
43. Coppinger JA, Cagney G, Toomey S, Kislinger T, Belton O, McRedmond JP, et al. Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood* 2004;103(6):2096-104.
44. Baudet C, Perret E, Delpech B, Kaghad M, Brachet P, Wion D, et al. Differentially expressed genes in C6.9 glioma cells during vitamin D-induced cell death program. *Cell Death Differ* 1998;5(1):116-25.
45. Briehl MM, Miesfeld RL. Isolation and characterization of transcripts induced by androgen withdrawal and apoptotic cell death in the rat ventral prostate. *Mol Endocrinol* 1991;5(10):1381-8.
46. Kurban S, Mehmetoğlu İ. [Osteoprotegerin, rank and rank ligand]. *Turk J Biochem* 2007;32(4):178-84.
47. Hofbauer LC. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol* 1999;141(3):195-210.
48. Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des* 2001;7(8):613-35.
49. Rashid G, Plotkin E, Klein O, Green J, Bernheim J, Benchetrit S. Parathyroid hormone decreases endothelial osteoprotegerin secretion: role of protein kinase A and C. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296(1):F60-6.
50. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007;9(Suppl 1):S1.
51. Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Dimai HP, Holzer H, Benesch T, Borchhardt K, et al. The effect of RANKL and OPG on bone mineral density in pre-dialysis chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2009;71(6):652-9.
52. Brändström H, Björkman T, Ljunggren O. Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;280(3):831-5.
53. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer* 2001;92(3):460-70.
54. Makhluף HA, Mueller SM, Mizuno S, Glowacki J. Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;268(3):669-72.
55. Sigrist MK, Levin A, Er L, McIntyre CW. Elevated osteoprotegerin is associated with all-cause mortality in CKD stage 4 and 5 patients in addition to vascular calcification. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(10):3157-62.
56. Jorsal A, Tarnow L, Flyvbjerg A, Parving HH, Rossing P, Rasmussen LM. Plasma osteoprotegerin levels predict cardiovascular and all-cause mortality and deterioration of kidney function in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetologie* 2008;51(11):2100-7.
57. Nishiura R, Fujimoto S, Sato Y, Yamada K, Hisanaga S, Hara S, et al. Elevated osteoprotegerin levels predict cardiovascular events in new hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;29(3):257-63.
58. Nomura S, Wills AJ, Edwards DR, Heath JK, Hogan BL. Developmental expression of 2ar (osteopontin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization. *J Cell Biol* 1988;106(2):441-50.
59. Oldberg A, Franzen A, Heinegard D. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell binding sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83(23):8819-23.
60. Young MF, Kerr JM, Termine JD, Wewer UM, Wang MG, McBride OW, et al. cDNA cloning, mRNA distribution and heterogeneity, chromosomal location, and RFLP analysis of human osteopontin. *Genomics* 1990;7(4):491-502.
61. Steitz SA, Speer MY, McKee MD, Liaw L, Almeida M, Yang H, et al. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am J Pathol* 2002;161(6):2035-46.
62. Giachelli CM, Schwartz SM, Liaw L. Molecular and cellular biology of osteopontin. *Trends Cardiovasc Med* 1995;5(3):88-95.
63. Shen M, Marie P, Farge D, Carpentier S, De Pollak C, Hott M, et al. Osteopontin is associated with bioprosthetic heart valve calcification in humans. *C R Acad Sci III* 1997;320(1):49-57.
64. Srivatsa SS, Harrity PJ, Maercklein PB. Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *J Clin Invest* 1997;99(5):996-1009.
65. Chen Y, Bal BS, Gorski JP. Calcium and collagen binding properties of osteopontin, bone sialoprotein, and bone acidic glycoprotein-75 from bone. *J Biol Chem* 1992;267(34):24871-8.
66. Spicer SS, Lewis SE, Tashian RE, Schulte BA. Mice carrying a CAR-2 null allele lack carbonic anhydrase II immunohistochemically and show vascular calcification. *Am J Pathol* 1989;134(4):947-54.
67. Rivet J, Lebbe C, Urena P, Cordoliani F, Martinez F, Baglin AC, et al. Cutaneous calcification in patients with end-stage renal disease: a regulated process associated with in situ osteopontin expression. *Arch Dermatol* 2006;142(7):900-6.
68. Ahmed S, O'Neill KD, Hood AF, Evan AP, Moe SM. Calciphylaxis is associated with hyperphosphatemia and increased osteopontin expression by vascular smooth muscle cells. *Am J Kidney Dis* 2001;37(6):1267-76.
69. Mohler ER 3rd, Adam LP, McClelland P, Graham L, Hathaway DR. Detection of osteopontin in calcified human aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(3):547-52.
70. O'Brien KD, Kuusisto JK, Reichenbach DD, Ferguson M, Giachelli C, Alpers CE, et al. Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions. *Circulation* 1995;92(8):2163-8.
71. Kohri K, Nomura S, Kitamura Y, Nagata T, Yoshioka K, Iguchi M, et al. Structure and expression of the mRNA encoding urinary stone protein (osteopontin). *J Biol Chem* 1993;268(20):15180-4.
72. Worchester EM, Blumenthal SS, Beshensky AN, Lewand DL. The calcium oxalate crystal growth inhibitor protein produced by mouse kidney cortical cells in culture is osteopontin. *J Bone Miner Res* 1992;7(9):1029-36.
73. Petrow PK, Hummel KM, Schedel J, Franz JK, Klein CL, Müller-Ladner U, et al. Expression of osteopontin messenger RNA and protein in rheumatoid arthritis: effect of osteopontin on the release of collagenase 1 from articular chondrocytes and synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* 2000;43(7):1597-605.

74. Yumoto K, Ishijima M, Rittling SR, Tsuji K, Tsuchiya Y, Kon S. Osteopontin deficiency protects joint against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(7):4556-61.
75. Hermans MM, Bradenburg V, Ketteler M, Kooman JP, Van der Sande FM, Gladziwa U, et al. Study on the relationship of serum fetuin-A concentration with aortic stiffness in patients on dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(5):1293-9.
76. Hermans MM, Bradenburg V, Ketteler M, Kooman JP, Van der Sande FM, Boeschoten EW, et al.; The Netherlands cooperative study on the adequacy of Dialysis (NECOSAD). Association of serum fetuin-A levels with mortality in dialysis patients. *Kidney Int* 2007; 72(2):202-7.
77. Mizuno M, Farach-Carson MC, Pinero GJ, Fujisawa R, Brunn JC, Seyer JM, et al. Identification of the rat bone 60K acidic glycoprotein as alpha 2HS-glycoprotein. *Bone Miner* 1991;13(1):1-21.
78. Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, Lannuzel B, Roetz JP, Humbert G. Serum concentration of human alpha 2 HS glycoprotein during the inflammatory process: evidence that alpha 2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *J Clin Invest* 1979;64(4):1118-29.
79. Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, et al. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 2003;112(3):357-66.
80. Ketteler M, Wanner C, Metzger T, Bongartz P, Westenfeld R, Gladziwa U, et al. Deficiencies of calcium-regulatory proteins in dialysis patients: a novel concept of cardiovascular calcification in uremia. *Kidney Int Suppl* 2003;84:S84-7.
81. Szweras M, Liu D, Partridge EA, Pawling J, Sukhu B, Clokie C, et al. Alpha 2-HS glycoprotein/fetuin, a transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein antagonist, regulates postnatal bone growth and remodeling. *J Biol Chem* 2002;277(22):19991-7.
82. Moe SM, Reslerova M, Ketteler M, O'Neill K, Duan D, Koczman J, et al. Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int* 2005;67(6):2295-304.
83. Odamaki M, Shibata T, Takita T, Kumagai H. Serum fetuin-A and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2005;68(6):2915-6.
84. Cozzolino M, Biondi ML, Galassi A, Gallieni M, d'Eril GV, Brancaccio D. Gene polymorphisms and serum alpha-2-Heremans-Schmid levels in Italian haemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2007;27(6):639-42.
85. Ix JH, Chertow GM, Shlipak MG, Bradenburg VM, Ketteler M, Whooley MA. Fetuin-A and kidney function in persons with coronary artery disease-data from the heart and soul study. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(8): 2144-51.
86. Ix JH, Shlipak MG, Bradenburg VM, Ali S, Ketteler M, Whooley MA. Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the heart and Soul study. *Circulation* 2006;113(14):1760-7.
87. Mehrotra R, Westenfeld R, Christenson P, Budoff M, Ipp E, Takasu J, et al. Serum fetuin-A in nondialyzed patients with diabetic nephropathy: relationship with coronary artery calcification. *Kidney Int* 2005;67(3):1070-7.
88. Fiore CE, Celotta G, Politi GG, Di Pino L, Castelli Z, Mangiafico RA, et al. Association of high alpha(2)-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin concentration in serum and intima-media thickness in patients with atherosclerotic vascular disease and low bone mass. *Atherosclerosis* 2007;195(1):110-5.
89. Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Sonmez A, et al. Serum fetuin-A concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2008; 108(3):233-40.
90. Reynolds JL, Skepper JN, McNair R, Kasama T, Gupta K, Weissberg PL, et al. Multifunctional roles for serum protein fetuin-A in inhibition of human vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(10): 2920-30.
91. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, et al. Association of low fetuin-A concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003;361(9360):827-33.
92. Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR, Axelsson J, Pecoits-Filho R, Gao P, et al. Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int* 2005;67(6):2383-92.
93. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(1): 139-48.
94. Kuzniar J, Porazko T, Klinger M. Relationship between fetuin-A concentration, elevated levels of inflammatory markers, and arterial wall stiffness in end-stage kidney disease. *J Ren Nutr* 2008;18(1):83-6.
95. Shroff RC, Shah V, Hiorns MP, Schoppert M, Hofbauer LC, Hawa G, et al. The circulating calcification inhibitors, fetuin-A and osteoprotegerin, but not matrix Gla protein, are associated with vascular stiffness and calcification in children on dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(10):3263-71.
96. Jersmann HP, Dransfield I, Hart SP. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein enhances phagocytosis of apoptotic cells and macropinocytosis by human macrophages. *Clin Sci (Lond)* 2003;105(3):273-8.
97. Bradenburg VM, Westenfeld R, Busch B. Sevelamer treatment in HD patients increases fetuin-A serum levels without reducing CRP or uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: F-0560. (Abstract)
98. Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Acikel C, Eviletten T, et al. Short-term with sevelamer increases serum fetuin-a concentration and improves endothelial dysfunction in chronic kidney disease stage 4 patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(1):61-8.
99. van Summeren MJ, Hamelers JM, Schurgers LJ, Hoeks AP, Uiterwaal CS, Krüger T, et al. Circulating calcification inhibitors and vascular properties in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2008;23(6): 985-93.
100. Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Eviletten T, et al. Endothelial dysfunction and fetuin-A levels before and after kidney transplantation. *Transplantation* 2007;83(4): 392-7.
101. Becker CR, Knez A, Jakobs TF, Aydemir S, Becker A, Schoepf UJ, et al. Detection and quantification of coronary artery calcification with electron-beam and conventional CT. *Eur Radiol* 1999;9(4):620-4.
102. Broderick LS, Shemesh J, Wilensky RL, Eckert GJ, Zhou X, Torres WE, et al. Measurement of coronary artery calcium with dual-slice helical CT compared with coronary angiography: evaluation of CT scoring methods, inter-observer variations, and reproducibility. *AJR Am J Roentgenol* 1996;167(2):439-44.
103. Thompson GR, Partridge J. Coronary calcification score: the coronary-risk impact factor. *Lancet* 2004;363(9408):557-9.
104. Adams JE. Dialysis bone disease. *Semin Dial* 2002;15(4):277-89.
105. Adragao T, Pires A, Lucas C, Birme R, Magalhães L, Gonçalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(6):1480-8.
106. Porazko T, Kuźniar J, Kuzszał M, Kuźniar TJ, Weyde W, Kuriata-Kordek M, et al. Increased aortic wall stiffness associated with low circulating fetuin A and high C-reactive protein in predialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2009;113(2):c81-7.
107. Rennenberg RJ, Kessels AG, Schurgers LJ, van Engelsehoven JM, de Leeuw PW, Kroon AA. Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: a meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag* 2009;5(1):185-97.