TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BÖBREK NAKLİ ALICILARINDA D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ VE D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİNİN ENDOTEL DİSFONKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Mehmet ALTAN

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN:
Doç. Dr. Kenan KEVEN

Ankara
2009

ÖNSÖZ

Tıp eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesindeki değerli hocalarıma, ihtisas eğitimi süresince anabilim dalı başkanı olarak her zaman desteğini gördüğüm ve düzenlenmesinde öncü olduğu Ankara Üniversitesi İç Hastalıkları Günlerinden sağlanan kaynakla bu çalışmanın yapılmasına imkan sağlayan Prof. Dr. Necati Örmeci'ye, tezimin her aşamasında bana yol gösteren, tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Kenan Keven'e, İç hastalıkları ihtisasını seçmemde büyük etkisi olan ve akademik duruşuyla her zaman örnek aldığım Prof. Dr. Şehsuvar Ertürk'e, tezimle ilgili katkıları için Nefroloji Bilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, transplantasyon polikliniğinden Ümit Akyel'e, Pediatrik Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalından Prof. Dr. Nejat Akar ve Yonca Eğin'e, Kardiyoloji Anabilim dalından Doç Dr. İrem Dinçer, Uzm.Dr. Aydan Ongun, Uzm.Dr. Cansın Tulunay, Dr.Refika Hüral, Dr. Kutay Vurgun ve Ekokardiyografi ünitesi çalışanlarına, Nefroloji Bilim Dalı laboratuvar çalışanlarından Senem Koçak'a, çalışmaya katılmayı kabul eden değerli hastalarımıza, son olarakta insanı seven ve insana değer veren bir birey olarak yetişmemi sağlayan, sevgilerini, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim annem ve babama teşekkür ederim.

Dr. Mehmet Altan

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Önsöz ve Teşekkür	ii
İçindekiler	iii-iv
Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiyovasküler Sistem	4
2.2. Endotel	5
2.2.1. Endotel ve Nitrik Oksit	7
2.2.2. Endotel Disfonksiyonu	8
2.3. D vitamini ve Kardiyovasküler Sistem	10
2.3.1. Mevsimsel D vitamini Değişiklikleri	13
2.3.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve D vitamini	14
2.4. Thrombomodulin ve Protein C-EPCR Sistemi	15
2.4.1. Soluble Thrombomodulin	16
2.4.2. Soluble EPCR	17
3. HASTALAR VE YÖNTEM	
3.1. Çalışma Grubunun Belirlenmesi	18
3.1.1.Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri	18
3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri	18
3.1.3. Değerlendirme ve İzlem Sırasında Kullanılan Parametreler	18
3.2. D vitamini Ölçümü	19
3.3. Akıma Bağlı Vazodilatasyon Ölçümü	19
3.4. Soluble EPCR Ölçümü	20
3.5. Soluble Thrombomodulin Ölçümü	21
3.6. CRP Ölçümü	21
3.7. Glomerüler Filtrasyon Hızı Ölçümü	22
3.8. İstatistiksel Yöntemler	22
3.9. Etik Kurul Onayı	22

	Sayfa
3.10. Çalışma Bütçesi	22
4. SONUÇ	23
5. TARTIŞMA	28
6. ÖZET	31
7. İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	33
8. KAYNAKLAR	35

KISALTMALAR DİZİNİ

ABV: Akıma Bağlı Vazodilatasyon (FMD-Flow Mediated Dilatation)

ADMA: Asymmetric Dimethylarginine

DOQI: Dialysis Outcome Quality Index

eNOS: Endoteliyal Nitrik Oksit Sentetaz

EPCR: Endotelial Protein C Reseptör

EPCs: Endothelial Progenitor Cells

GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

KAH: Koroner Arter Hastalığı

KBH: Kronik Böbrek Hastalığı

NMMA: Ngamma-Monomethyl-L-arginine

NO: Nitrik Oksit

PTH: Parathormon

SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği

sICAM-1: Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1

sVCAM-1: Soluble Vascular Cellular Adhesion Molecule-1

TM: Trombomodulin

USG: Ultrasound

UV-B: Ultraviyole-B

VDR: Vitamin D Reseptör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	**Sayfa No**
2.1. Endotelyal NO sentezi	**8**
2.2. D vitamini sentezi	**11**
2.3. Ankara'daki gün içinde ortalama güneşli saat süresi	**13**
2.4. Ankara'da sıcaklık ortalamaları	**13**
2.5. Trombin-Thrombomodulin ilişkisi	**16**
3.1. ABV ölçümü	**20**
4.1. Çalışma hastalarının D vitamin düzeyleri	**23**
4.2. Yaz-Kış D vitamini %ABV ilişkisi	**26**

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

4.1 *:* Kış ayı ölçümünde D vitamin düzeyi eksik/yetersiz vakalarla, yeterli vakalarının karşılaştırılması **24**

4.2. Yaz ayı ölçümünde D vitamin düzeyi eksik/yetersiz vakalarla, yeterli vakalarının karşılaştırılması **25**

1. GİRİŞ

Kronik Böbrek Hastalığı; Glomerüler Filtrasyon Hızında (GFH) azalma olsun veya olmasın, böbrekte 3 aydan uzun süren yapısal veya işlevsel bozukluklarla giden idrar, kan ya da görüntüleme yöntemleri ile saptanan bir hasar olması veya GFH'nin 3 aydan uzun bir süre 60 mL/dk/1.73 m^2'den düşük olması olarak tanımlanır. Kronik böbrek hastalığında DOQI (dialysis outcome quality index) sınıflamasına göre GFH'nin 15 mL/dk/1.73 m^2'den az olması son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak sınıflandırılır ve üremi varlığında renal replasman tedavilerinin uygulanılması için sınır olarak kabul edilir.[1] 2007 yılında Türkiye'de renal replasman tedavisi gerektiren SDBY nokta prevalansı milyon nüfus başına 709 olarak saptanmıştır. Geçen yıllara göre prevelansta artma dikkati çekmektedir. Yine 2007 yılı verilerine göre ülkemizde kronik renal replasman tedavisi altındaki olguların %75.7'sini Hemodiyaliz, %10.2'sini Periton diyalizi, %14'ünü böbrek nakilli hastalar oluşturmaktadır. [2]

SDBY'li hasta grubunda en sık mortalite ve morbidite nedeni kardiyovasküler hastalıklardır. SDBY hastalarında klasik risk faktörlerine ek olarak üremik toksinlerin varlığı, kronik volüm yüklenmesi, anemi, kronik inflamasyon, kalsiyum-fosfor denge bozuklukları ve beslenme bozuklukları gibi risk faktörleri de klinik tabloya eklenmektedir.[3]

Başarılı bir nakil sonrası böbrek yetmezliğiyle ilişkili kardiyovasküler risk faktörleri azaltılsa da, yaş eşleştirilmiş sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında nakil sonrası mortalite ilk 2 yıl içinde 14 kat, takip eden yıllarda ise 4 kat daha yüksek olarak izlenmektedir.[4] Böbrek nakilli olgularda nakil sonrası ilk iki sene enfeksiyonlar, izleyen yıllarda ise kardiyovasküler nedenli ölümler en sık gözlenen mortalite nedenleridir.[2]

Ateroskleroz; arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar/fibroproliferatif yanıttır. Bu patoloji aort, iliofemoraller, epikardiyal koronerler, karotisler ve daha az oranda intrakraniyal arterleri de içeren büyük ve orta çaplı damarları tutar. Aterosklerotik sürecin subklinik döneminde öncül patolojisi endotel disfonksiyonudur. Erken dönemde vasküler yapıdaki bu fonksiyon bozukluğu çeşitli yöntemlerle direkt-indirekt değerlendirilebilir.[5]

Noninvazif ultrasonografik yöntemler aterosklerozun sistemik bir hastalık olduğu bilgisinden hareketle farklı bölgelerdeki arteriyel yapılardan fikir edinilmesini sağlamaktadır. Akıma bağlı vazodilatasyon (ABV), karotis intima-mediya kalınlık ölçümü ateroskleroz derecesini ve yaygınlığını öngörmede etkili olduğu gösterilmiş yöntemlerdir.[6]

ABV brakiyal arterlerde uygulanır ve belirli bir süre yapılan arter kompresyonu sonrası damardaki genişleme kapasitesinin ölçülmesi esasına dayanır. Nitrik oksit (NO) damardaki en önemli vazodilatatör üründür ve endotel tarafından üretilir. Endotel disfonksiyonunda üretimi bozulur. NO'nun lokal üretiminde belirli faktörler etkilidir. ABV'nin dayandığı mekanizma damarda akım artışı ile olan NO üretim yanıtı ve bunun endotel disfonksiyonu öngörücülüğüdür .[7]

Endotel hasarının değerlendirilmesi için kullanılabilecek farklı belirteçler vardır. Thrombomodulin (TM) ve endotelyal protein C reseptör (EPCR) bu belirteçlerden ikisidir. TM endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan protein C'nin trombin aracılı aktivasyonunda transmembran kofaktörü olarak işlev gören bir moleküldür. EPCR ise koagülasyon kaskatında protein C aktivasyonunda işlev görür. Bu iki belirtecin solüble formları endotel hasarıyla seyreden çeşitli hastalıklarda yükselmektedir. Boomsa ve ark. tarafından yapılan çalışmada Wegener Granülomatozisi olan hastalarda soluble endotelyal protein C reseptör (sEPCR) ve soluble Thrombomodulin (sTM) düzeylerinin hastalık aktivitesi ile ilişkisi olduğu ve relapstan hemen önce en yüksek değerlerine ulaştığı, tedavi ile gerilediği görülmüş; sEPCR ve sTM seviyelerinin endotel hasar göstergesi olarak kullanılabileceği ve vasküler hasarla seyreden hastalıklarda aktivasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir.[9] [10] Bu belirteçlerin düzeylerinin hemodializ hastalarında sağlıklı popülasyona göre yüksek izlendiği ve böbrek nakli sonrası düzeylerinin belirgin biçimde düştüğü gözlenmiştir. [11]

D vitamini steroid yapılı bir hormondur. Ultraviyole B (UV-B) ışınları aracılığıyla ciltten sentezlenmiş veya diyetle alınmış olan D vitamini öncüllerinin karaciğerde 25, böbrekte 1 alfa hidroksilasyonuyla biyolojik aktif formu 1,25 (OH)2 Vitamin D3'e dönüşmesiyle sentezlenir. Hücre çekirdeğinde reseptörlerine bağlanarak etkinliğini gösterir. Kronik böbrek yetmezliğinde ilerleyici böbrek parankim fonksiyon kaybıyla, hiperfosfateminin katkısıyla 1,25 (OH)2 vitamin D3 düzeyleri sağlıklı popülasyona göre belirgin olarak azalır. D vitamini eksikliğinin

otoimmun hastalıklar, osteoartrit, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, şizofreni, depresyon gelişim patogenezi üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir.[12] D vitamini eksikliğinin endotel disfonksiyonu ve ateroskleroza neden olabileceği ise London ve ark'nın yaptığı çalışmada gösterilmiştir. [13]

Daha önce yapılan çalışmalarda böbrek nakil alıcılarında D vitamini eksikliğinin sağlıklı popülasyona göre çok daha sık görüldüğü, nakilli bireylerde D vitamini eksikliğinin görülme sıklığının %30, yetersizliğinin ise %50'ye yakın olduğu gösterilmiştir.[14]

Bu çalışmanın amacı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji transplantasyon polikliniğinde takip edilen böbrek nakilli olgularda D vitamini eksikliğinin yaz ve kış mevsimlerinde sıklığının belirlenmesi, izlemde D vitamini değerlerinin mevsimsel değişim düzeyleri ve D vitamini düzeylerindeki değişimin endotel fonksiyon bozukluklarına olası etkilerinin sEPCR, sTM gibi iki endoteliyal hasar belirteciyle ve fonksiyonel olarak ABV ile prospektif olarak izlenerek değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiyovasküler Sistem

Kronik böbrek hastalığı (KBH), GFH'nın azalmasıyla birlikte giden ilerleyici bir hastalıktır. Böbrek yetersizliği olan hastalarda birden çok mekanizmanın katkısıyla kardiyovasküler hastalık gelişme riski sağlıklı nüfusa göre 10-20 kat artmıştır. Hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında koroner arter hastalığı prevelansı %40'ların üzerindedir.[15]

KBH'da; artmış volüm yükü, anemi, arteriyovenöz fistüle bağlı hiperkinetik dolaşım, ateroskleroza bağlı kompliyansta azalma, sistolik kan ve nabız basıncında artma sol ventrikül hipertrofisine neden olur. Sol ventrikül kas kitlesindeki bu artış dokunun oksijen ihtiyacını arttırırken koroner perfüzyonun bozulmasına neden olur. Bu nedenle sol ventrikül hipertrofisi, primer hipertansiyondaki gibi diyaliz hastalarında da kardiyak mortalite için bağımsız bir risk faktörüdür. Renal replasman tedavisi alan olgularda sol ventrikül hipertrofisinin görülme sıklığının %75 civarında olduğu ifade edilmektedir.[16] Ülkemizde Yılmaz ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada evre 3-4 KBH'lı hastalarda bazalde %67 oranında sol ventrikül hipertrofisi görülme sıklığı saptanmış, bir senelik izlemde bu oranın %89'a çıktığı gösterilmiştir[17].

Sempatik sistemde artmış aktivite, hiperparatiroidi ve artmış oksidan stres böbrek hastalıklarında artan kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin diğer olası nedenleridir.[16] Bunların dışında O'Connell ve ark.'larının miyosit kültüründe 1, 25(OH)2 vitamin D varlığında miyositlerin S-fazına girişlerinin azalması sonucu proliferasyonlarının yavaşladığını göstermesi[18], Li ve ark'nın D vitamin reseptörü eksik farelerde artmış hipertansiyon insidansı, angiotensin II-aldesteron kan düzeyleri, artmış intrakardiyak renin ve artmış kalp kitlesinin gelişimini göstermesi[19] KBH'lı hastalarda gelişen sol ventrikül hipertrofisinin gelişim patogenezine D vitamini eksikliğinin de katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Yeniden biçimlenmeye bağlı fibrosiste artış sonucu sol ventrikül kompliyansı azalması kalbin daha yüksek dolma basıncına gereksinim duymasına neden olur. Hipervolemi varlığında bu durum pulmoner ödeme yol açabilir. Miyokardiyal fibrosis aynı zamanda aritmi gelişimi için de bir risk faktörüdür; diyaliz hastalarında ani ölüme yol açabilen ciddi atriyal ve ventriküler aritmiler (ventriküler fibrilasyon

dahil) bu nedenle sık görülür.[20] Anemi, böbrek yetmezlikli hastalarda sol ventrikül hipertrofisi ve kardiyomiyopati ile birliktedir.[21] Kalsiyum/fosfat metabolizma bozukluğu ise damarsal yeniden biçimlenme ile birliktedir. Kalsiyum-fosfor (Ca-P) denge bozukluğu aynı zamanda koroner kalsifikasyona da yol açar. Kalsiyum-fosfor denge bozukluğu olan hemodiyaliz hastalarında koroner kalsifikasyon daha fazla görülmektedir[22], bununda artmış kardiyovasküler mortaliteyle ilişkili vardır.[23]

Günümüzde böbrek nakli SDBY'li hastalarda en seçkin tedavi seçeneğidir. Başarılı bir nakil sonrası biyokimyasal, hematolojik parametrelerin iyileşmesi ve volüm kontrolü sağlanmasıyla kardiyovasküler risk faktörleri azaltılsa da kardiyovasküler mortalite nakil sonrası yüksek seyretmektedir.[24] Bunun patogenezinde hastaların böbrek nakli sırasında yüksek oranda sol ventrikül hipertrofisi, myokardiyal fibrozis, ciddi koroner ve diğer vasküler kalsifikasyonlar, azalmış vasküler elastikiyet gibi bir kısım geri dönüşümsüz patolojilere sahip olması yer alabilir. Ayrıca, başarılı bir nakil sonrasında her ne kadar Ca-P dengesi, oksidatif stres, üremi ile ilişkili faktörler, kronik hipervolemi, anemi gibi faktörler düzelse de ; post-transplant diyabet varlığı, immunosüpresif ilaç kullanım gereksinimi, hipertansiyon, CMV infeksiyonu, suboptimal greft fonksiyonu gibi faktörler de nakil sonrasında bu hasta grubunda artmış kardiyovasküler komplikasyon riskine neden olmaktadır.[25]

2.2. Endotel

Eskiden damar duvarı ve kan akımı arasında sadece fiziksel bariyer olarak bilinen damar endoteli vasküler hemostazın ana belirleyicisidir. Endotel; endokrin, otokrin, parakrin özellikleriyle arteriyal tonus, fibrinoliz, hücre büyümesi ve inflamasyon üzerine etkileri olan dinamik bir organdır.[26] Primitif endotel hücreleri (anjioblastlar) ve hematopoetik hücreler embriyonik dönemde hemanjioblastlardan farklılaşır.

Son dönemde endotelin vazodilatatör veya vazokonstriktör mediatörler salınımı ile vasküler vazomotor tonus kontrolü ve hemostaz üzerine etkileri daha iyi anlaşılmaya başlamıştır. Endotelin ayrıca immün düzenleyici etkileri (interlökinler, adezyon molekülleri ve histokompatabilite antijenleri), enzimatik aktiviteleri olan, dolaşımdan çevredeki dokulara madde geçişini düzenleyen yarıgeçirgen bariyerin devamlılığının sağlayan, farklı sitokin ve büyüme faktörlerinin sentezi ile salınımı

ve bu faktörlerle hücre büyümesi farklılaşması üzerine etkili, arter duvarındaki lipoproteinlerin değişimi ve oksidasyonu düzenleyen, bazal membran yapısındaki kollajen ve proteoglikanların devamlılığının sağlayan bir organ olduğu gösterilmiştir. GFH'da azalmayla birlikte bozulan hemodinamik ve biyokimyasal parametrelere bağlı olarak gelişen endotel disfonksiyonu, böbrek yetmezliğinin erken evrelerinden itibaren gözlenmeye başlar. Kısmi olarak damar endotel fonksiyonlarındaki bozulma geri dönüşümlüdür ve kardiyovasküler sistem hastalıkların etyolojisinde sorumlu tutulan aterosklerotik süreçlerin en temel başlangıç basamağıdır. SDBY'de arteriyal kompliansın etkilenimine bağlı olarak arteriyal stiffness artışının başarılı bir böbrek nakili sonrasında belirgin düzeyde iyileştiği izlenmiş ancak yeniden yapılanmayla karakterli sol ventrikül kitlesinde yarattığı değişiklikler üzerine olumlu etkisi izlemde saptanamamıştır.[27]

Yapılan çalışmalarda böbrek nakli sonrasında endotel fonksiyonlarında düzelme olduğu gösterilmekle beraber bu düzelmenin uzun süreli izlemde kardiyovasküler komplikasyon riskini sağlıklı bireylerdeki düzeye çekemediği bilinmektedir. Urvay ve ark'nın yaptığı çalışmada nakil sonrası endotel hücre hasarını gösterdiği kabul edilen sTM ve sEPCR düzeylerinin hemodiyaliz hastalarında yüksek olduğu ve böbrek nakli sonrasında düzeylerinde belirgin gerileme olduğu gösterilmiştir[11]. Çağlar ve ark'ları çalışmalarında böbrek nakli sonrasında brakiyal ABV'de belirgin düzelme göstermişler.[28] Oflaz ve ark'ları nakil sonrası 6. ve 12. ayda endotel bağımlı vazodilatasyonu değerlendirmiş ve 12. ayda 6. aya göre belirgin iyileşme gösterdiği izlenmiştir.[29] Koçak ve ark'ları da böbrek nakli sonrası ABV'de benzer bir düzelmeyi göstermekle birlikte bu değerlerin sağlıklı kontrollere göre yine de düşük olduğunu saptamışlardır.[30] Vasküler fonkiyonların nakil sonrası tam düzelmemesine bir başka örnek; vasküler hasarın onarımı ve endotelin bütünlüğünün devamında etkili olduğu kabul edilen dolaşımdaki endoteliyal progenitör hücrelerin (circulating endothelial progenitor cells-EPCs) akım sitometrik incelemeyle sayılarak yapılan çalışmalardır. Bu çalışmalarda başarılı bir nakil sonrasında EPCs düzeyleri sağlıklı bireylere göre daha düşük saptanmıştır.[31] Protein yapıdaki insulini taklit eden özelliklere sahip Visfantin'in GFH'deki azalmayla ilişkili yükseldiği, bu yüksekliğin inflamasyon düzeyi, vücut yağ oranı ve insulin direncinden bağımsız olduğu gösterilmiştir[32]. SDBY'de yükselen bir başka molekül dolaşımdaki soluble Intercelluler Adhesion Molecule-1

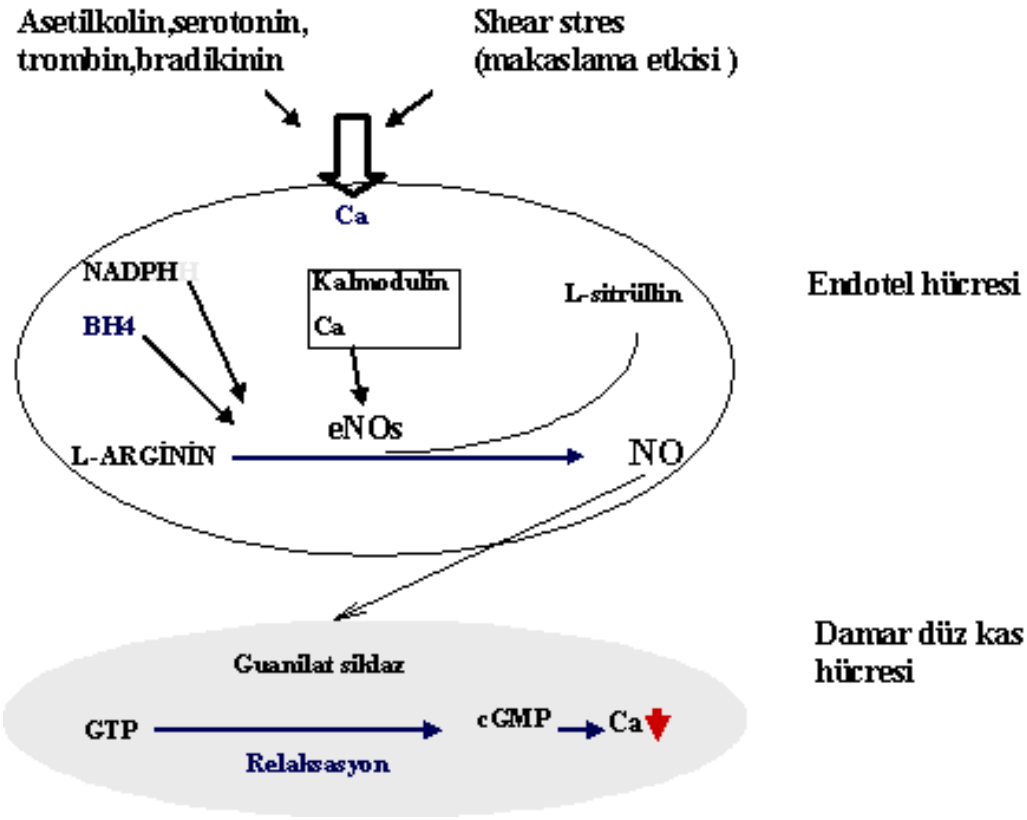
(sICAM-1) ve Vascular Celluler Adhesion Molecule-1 (sVCAM-1)'dir. sICAM-1 ve sVCAM-1'in yüksekliğinin kardiyovasküler mortalite öngörüsünde kullanılabileceği, Renin-Anjiotensin-Aldesteron sistemini bloke eden ilaçların kardiyoprotektif etkinliklerine bu adezyon moleküllerini baskılıyor olmalarının katkısının olabileceği yorumu yapılmaktadır.[33] Dolaşımda bulunan ve dokularda kalsifikasyonu baskılayan Fetulin-A düzeylerininde GFH'nın azalmasıyla ilişkili azaldığı ve bu düşüşün vasküler kalsifikasyonlara yatkınlık yarattığını destekler çalışmalar son dönemde artmaktadır.[34] KBH'da endotel fonksiyonundaki bozulma intraglomerüler kapiller yatakta da değişikliklere ve böbrek hasarının ilerlemesine neden olabilir. KBH'da gözlenen azalmış renal nitrik oksit (NO) üretiminin plazmada bulunan metilargininlerin artışına bağlı olabileceği düşünülerek yapılan bir çalışmada NO sentetaz aktivitesini doğal olarak baskılayan, vücutta endojen olarak bulunan ve KBH'da plazma düzeyleri yükselen N-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) ve asymmetric dimethyl-L-arginine (ADMA)'in izole glomerül hücresinde cGMP'yi azalttığı, glomerülün albumin geçirgenliğini doz bağımlı olarak arttırdığı, bu etkileri gösteren ADMA konsantrasyonun KBH'lı hastalarda tesbit edilen düzeyler olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada ADMA'ya bağlı glomerül albumin geçirgenliğindeki artışın süperoksit dismutaz mimetikleri ve NAD(P)H oksidaz inhibitörleriyle inhibe edilebildiği gösterilmiştir.[35]

2.2.1. Endotel ve Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) endotel bağımlı vazodilatasyonun esas mediatörüdür ve endotel kaynaklı vazokonstriktörlerin (*ör.*:Anjiotensin II, Endotelin gibi) etkilerine karşı koyar. Trombosit adezyon ve aggregasyonunu, lökosit adezyon ve infiltrasyonunu ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu engeller.

Endotel kaynaklı NO, endotel yerleşimli nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin etkisi ile L-Arjininden üretilir. Bu reaksiyonda tetrahidrobiopterin (BH4) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gibi kofaktörler kullanılır. Asetilkolin, bradikinin ve shear strese (artmış kan akımına bağlı makaslama kuvveti) yanıt olarak artan intrasellüler kalsiyum (Ca^{+2}) eNOS'u uyarır, eNOS etkisiyle sentezlenen NO vasküler düz kas hücrelerine geçer ve guanilat siklaz (GC) enzimini aktive eder. GC aracılığıyla Guanosin trifosfat (GTP) guanosin monofosfata (GMP)

dönüşür ve gevşeme gerçekleşir.[36] [şekil 2.1 (Behrendt D, Ganz P. Am J Cardiol. 2002;90(suppl):40L–48L 'dan alınarak yeniden düzenlenmiştir)]



Şekil.2.1 Endotelyal NO sentezi

Bazal NO üretimi arteriyal yataklarda gözlenir ve etkinliği NOS inhibitörleriyle baskılandığında damarsal tonus artar, hayvan deneyleri göstermiştir ki bu mekanizma venöz yapılarda işlevsel değildir ve bazal NO üretimi venöz yapıların damarsal tonusunda belirleyici bir etken değildir.[37]

2.2.2. Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu en belirgin olarak endotel ilişkili NO üretiminde azalmaya bağlı endotel bağımlı vazodilatasyonda azalma ile karakterizedir. Erken dönemde endotel disfonksiyonu geri dönüşsüz yapısal aterosklerotik değişiklikler gelişmeden gözlenebilen aterogenezin öncül basamağıdır.[38] Bu dönemde

vazokonstriktör/vazodilatör mediatörler arasındaki denge bozulur. Diğer yandan endotel disfonksiyonu proinflamatuar, proliferatif ve prokoagulan ortam yaratmaktadır.[39] Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz arasındaki ilişki düşünüldüğünde, endotel disfonksiyonu istenmeyen kardiyovasküler olayların başlangıcı olarak ele alınabilir.

Endotel fonksiyonları intraarteriyal farmakolojik ajanlarla uyarım sonrası anjiografik olarak değerlendirilebilir. Bu incelemelerde endotelial NO salınımını tetikleyen asetilkolin, bradykinin gibi kimyasallar ile papaverin gibi endotel bağımsız vazodilatörler verilerek damarda oluşan akım gradientleri anjiografik görüntüler alınarak değerlendirilebilir.[40]

Endotel fonksiyonları non-invaziv olarakda değerlendirilebilir. Damarların en önemli ve özgün özelliklerinden bir tanesi fiziksel ve kimyasal uyarılar sonucu vazomotor tonus değişiklikleri yapabilmeleridir. Bu özellikleriyle kan akımını ve dağılımını yerel özelliklere göre değiştirebilirler. Birçok kan damarı akıma bağlı makaslama etkisine vazodilatasyonla yanıt verirler. Bu durum Akıma Bağlı Vazodilatasyon (ABV) olarak adlandırılır. ABV'nin en etkin mediyatörü endotel kaynaklı NO'dur.

Endotel hücre membranı, makaslama etkisine maruz kaldığında intrasellüler kalsium düzeyinde değişiklikler olur, kalsiyum ile tetiklenen potasyum kanalları aktifleşir. Potasyum kanallarının açılması sonucu endotel hücreleri hiperpolarize olur ve endotelden nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin aktivasyonu ile NO üretimi tetiklenir.[41] NO'nun bilinen vazodilatör etkilerinden dolayı, ABV'den NO'nun sorumlu olduğu düşünülmektedir.[42] Endotelin dökülmesi veya soyulması veya NOS inhibitörü verilmesinden sonra bir çok arterde ABV kaybolur.[43]

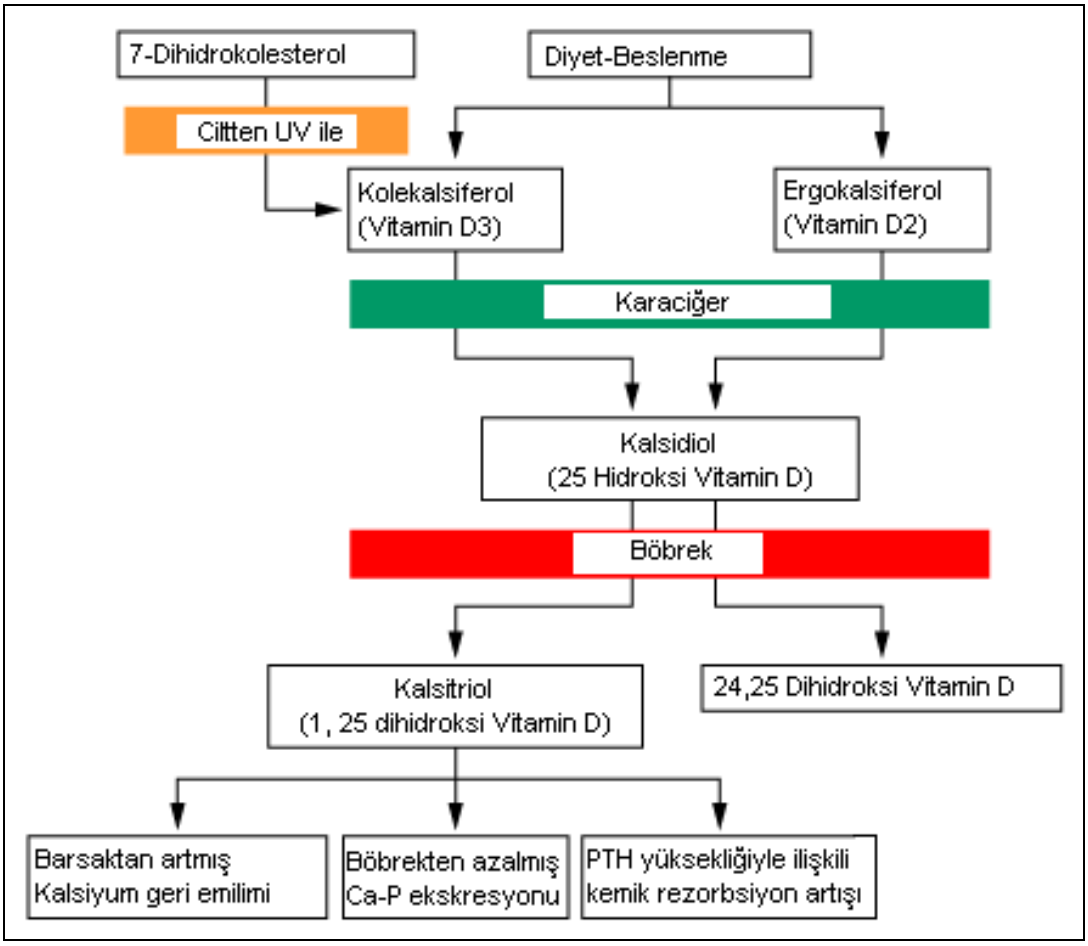
Bu temel prensiplerin ışığında yüksek çözünürlüklü ultrasonografi (USG) cihazlarının gelişmesi ile birlikte endotel fonksiyonları non-invazif olarak incelenmeye başlanmıştır. Teknik gereği yüzeyel damarlar bu değerlendirilmelerde kullanılırken yapılan çalışmalar sonrasında brakiyal arterler tercih edilmeye başlanmıştır. Bunun sebebi, yapılan araştırmalarda invaziv yöntemlerle ölçülen koroner vasomotor yanıtın brakiyal arter akıma bağlı dilatasyon değerlendirilmesiyle karşılaştırıldığında iyi korelasyon göstermesidir[7] Sonuç olarak brakiyal arterden alınan ölçümlerle akıma bağlı artmış dilatasyon cevabı yüksek rezolüsyonlu USG

yardımı ile değerlendirilebilmekte ve bu elde edilen verilerle endotel disfonksiyonu hakkında öngörüde bulunabilmek mümkün olmaktadır.[44 45]

Fathe ve ark'nın yaptıkları 444 hastayı kapsayan ve ABV'nin kardiyovasküler risk öngörüsünün değerlendirildiği bir seride ABV değerinin %2'nin altında saptandığı olgularda ABV değeri %6.3'den büyük ölçülen gruba göre kardiyovasküler olay riskinin belirgin yüksek olduğu gösterilmiştir.[46] Shroeder ve ark'nın 122 hastalık serisinde ise koroner arter hastalığı (KAH) riski olan olguların ABV ölçümleri koroner anjiografik incelemeyle karşılaştırılmış ve ABV değerleri ≤%4.5 olan grubun KAH açısından yüksek riskli olduğu saptanmış ve bu sınır değerle ABV'un KAH öngörüsünün %71 sensitivite, %81 spesiviteye sahip olduğu hesaplanmıştır.[47] Ancak bu sınır değerler konulurken ABV'nin endotel fonksiyon kaybının indirekt ölçümünde kullanılan bir yöntem olduğu ve özellikle yaşla ve eşlik eden komorbit hastalıkların bu sınır değerlerin sensitivite ve spesivitelerinde değişkenliğe neden olabileceği unutulmamalıdır.[48]

2.3. D vitamini ve Kardiyovasküler Sistem

D vitamini kemik, barsak, böbrek, paratiroid bezler üzerine gösterdiği fizyolojik etkileriyle kalsiyum, fosfor metabolizmasını düzenleyen hormon yapıda bir vitamindir. Ciltte bulunan 7-dehidrokolesterol (provitamin D3) yapısındaki C5 ve C7'deki çift bağlar güneş ışığı veya yapay ışık kaynaklarının taşıdığı 290-315nm arasında dalga boylarına sahip ışığın (Ultraviyole-B) enerjisiyle fotopolimerize olarak Vitamin D3 (Kolekalsiferol)'e dönüşür. D vitamini sentezlendikten sonra Vitamin D bağlayıcı protein aracılığıyla dolaşıma taşınır. Ciltteki melanin UV fotonları için 7-dihidrokolesterol ile yarışır, böylece Vitamin D3 sentezini sınırlayabilir. Yine güneşe uzun süreli maruziyette vitamin D3 öncüleri biyolojik aktiviteleri olmayan izomerlerine dönüşür.[49] [Şekil 2.2 (Uptodateonline.com'dan alınarak yeniden düzenlenmiştir)]



Şekil 2.2 D vitamini sentezi

D vitamini endojen sentezi haricinde bitkisel vitamin D2 (ergokalsiferol) ve hayvansal gıdalarla da vücuda alınması ve barsaklardan emilimiyle de dolaşıma girer. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı D vitamini aynı biyolojik aktiviteye sahiptir. [49]

Vitamin D bağlayıcı protein ile karaciğere gelen D vitamini hepatositlerde 25 hidroksilasyon ile depo edilen ana formu 25-hidroksi(OH) vitamin D'ye dönüştürülür. 25 (OH) vitamin D'nin %88'i vitamin D bağlayıcı proteine bağlı olarak, %0.03'ü serbest formda, geri kalanı ise albumine bağlı olarak bulunur ve ortalama yarı ömrü 3 haftadır. Vücuttaki biyolojik D vitamini aktivitesinden sorumlu formu 1,25 (OH)2 vitamin D'ye dönüşümü böbrek proksimal tübül hücrelerinin mitokondrilerinde gerçekleşir ve bu dönüşüm Parathormon (PTH), kalsiyum ve son ürün olan 1,25 (OH)2 vitamin D tarafından regüle edilir. [50] Ayrıca dokularda lokal D vitamini metabolitlerinin inaktivasyonu 1,25 (OH)2 vitamin D tarafından uyarılan Vitamin D-24 hidroksilaz tarafından sağlanır.

1,25 (OH)2 vitamin D biyolojik etkilerini; çekirdek reseptör süper ailesi üyesi olan ve transkripsiyon faktörü olan vitamin D reseptör (VDR)'e bağlanarak gerçekleştirir. VDR'e bağlanan 1,25 (OH)2 Vitamin D; enterositlerde lümenden kalsiyum bağlanmasını sağlayan Calbindin'in ve transient receptor potential (TRP) ailesine ait TRP6 katyon kanallarının gen ekspresyonunu arttırır.[51]

D vitaminin osteroblastlardaki kemik matriks proteinlerinden osteokalsin ve osteopontin sentezi üzerine düzenleyici etkileri vardır. PTH gibi RANK ligantının ekspresyonunu uyarır ve osteoklast farklılaşma ve aktivasyonuna katkıda bulunur. Paratiroid bezinde hücre gruplarında antiproliferatif etkinliğe neden olarak PTH gen transkripsiyonunu baskılar. Keratinosit, meme ve prostat kanserinde benzer antiproliferatif etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu antiproliferatif etkilerden sistemik dolaşıma katılmayan ve sistemik etkilerden sorumlu olmayan dokudaki lokal 1 alfa hidroksilaz enzimiyle aktifleştirilen parakrin etkiler gösteren 1,25 (OH) vitamin D'nin etkili olduğunu destekleyen çalışmalar vardır.[52]

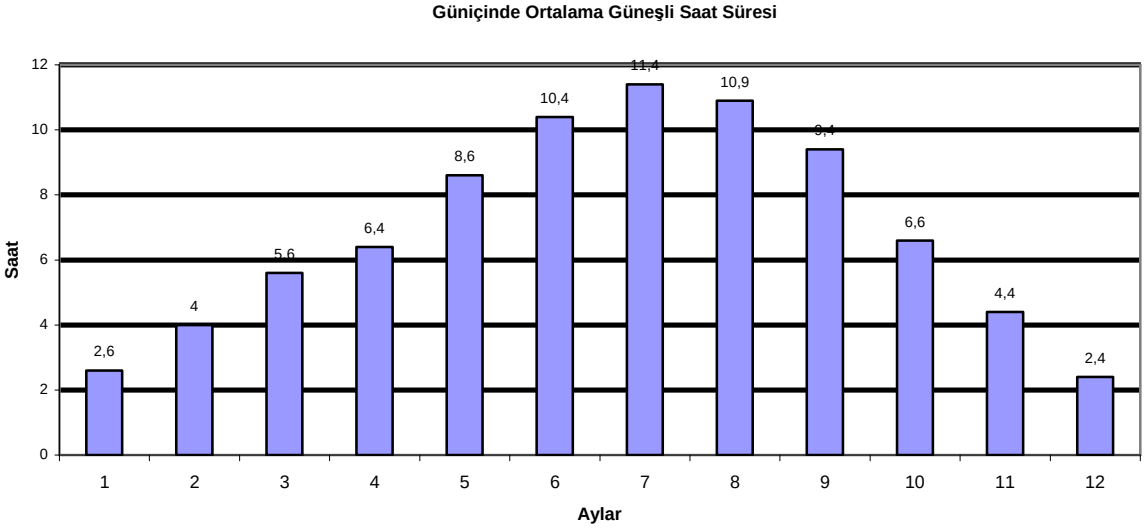
D vitamini eksikliğinin otoimmun hastalıklar, osteoartrit, diabet, kardiyovasküler sistem hastalıkları, şizofreni ve depresyon gelişim patogenezi üzerine etkileri olduğu, endotel disfonksiyonu ve ateroskleroza neden olabileceği gösterilmiştir.[12,13,14] Bazı yayınlarda otörler tarafından D vitamini eksikliği 25(OH) vitamin D düzeyinin 20ng/ml (50nmol/l)'nin altında olması olarak değerlendirirken. PTH düzeyleriyle D vitamini düzeyleri arasındaki ters ilişki 30ng/ml düzeylerine kadar devam ettiği için 21-29 ng/ml arasıda yetmezlik olarak değerlendirmektedir.[13] 0-10ng/ml düzeylerini yetmezlik, 10-20ng/ml düzeylerini yetersizlik, 20-30ng/ml düzeylerini hipovitaminosis D olarak ifade eden yayınların yanında[53] en yaygın kabul gören sınır değerler 0-10ng/ml düzeyinin eksiklik, 10-25ng/ml arasını yetersizlik olarak kabul eden yayınlar olarak görünmektedir[54] ve çalışma da bu referans değerler alınmıştır.

D vitaminin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri bilinmekle birlikte bu etkinin hangi mekanizmalarla olduğu tam olarak net değildir. D vitamini eksikliğinin endotel disfonksiyonu ve ateroskleroza neden olabileceği London ve ark'nın yaptığı çalışmada gösterilmiştir.[13] Yapılan hayvan deneylerinde D vitamini reseptör defekti olan farelerde, D vitamini ilişkili sinyal iletimindeki iletim bozukluğuna bağlı kardiyomiyositlerin aşırı uyarıldığı ve buna bağlı ventrikül hipertrofisi geliştiği gösterilmiştir. Hipertansif kobay çalışmalarında kobaylardan 13

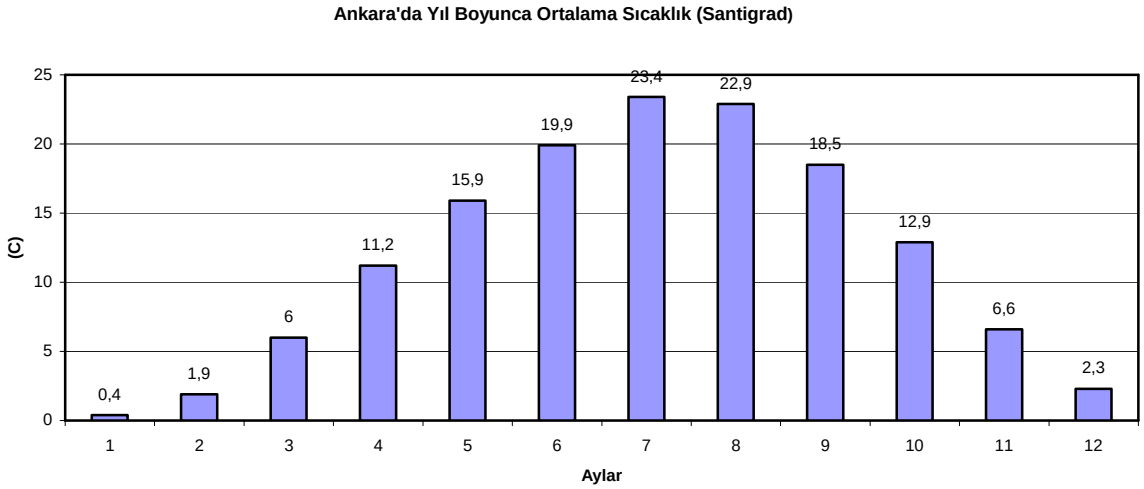
hafta süresince 1,25 (OH)2 vitamin D verilen grupla, aktif D vitamini verilmeyen grup karşılaştırıldığında aktif D vitamini verilen grupta kalp dokusunun ağırlığının daha düşük, miyokarddaki kollajen miktarının ve sol ventrikül çapının daha az saptandığı gösterilmiştir.[55] 5/6 nefrektomiyle KBH modeli oluşturulmuş olan farelerde D vitamini analoğu 19-nor 1,25(OH)2 vitamin D (paricalcitriol) verilmesinin böbrek hastalığının progresyonunu yavaşlattığı ve 8 hafta boyunca paricalcitriol verilen farelerde anjinotensinojen, renin, renin reseptör düzeylerinde azalma saptandığı bu gözlemle D vitamini reseptör aktivatörlerinin KBH'da faydalı etkilerinin en azından bir kısmının renin anjiotensin sitemini baskılayıcı etkisiyle sağladığı yorumu yapılan çalışmalar vardır.[56] Sağlıklı bireylerde D vitamini azlığının yüksek insulin direncine neden olabileceği[57] ve D vitamin reseptör genotipinin anemisi olan hemodializ hastalarında hematokrit, hemoglobin düzeyleri üzerine etkisinin olduğu ve ihtiyaç duyulan eritropoetin dozunu etkilediği gösterilmiştir[58]. Bu çalışmalar D vitaminin kardiyovasküler sistem üzerinde çok farklı mekanizmalarla etkili olabildiğini düşündürmektedir.

2.3.1. Mevsimsel D vitamini Değişiklikleri

D vitamini sentezi güneşten gelen UV-B ışınlarına bağlı olduğundan coğrafi etkilenim gösterir. Özellikle ekvatora uzak coğrafi bölgelerde eksikliği sık görülmekte hatta bu nedenle Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da süt gibi yaygın kullanılan gıda maddelerine D vitamini takviyesi uygulanılmaktadır. Ülkemiz; yıl içinde güneşli gün sayısı ve 'güneşlenme süresi' olarak ifade edilen gün içinde güneşin etkin bulunduğu süre itibariyle şanslı bir ülke kabul edilebilir. Meteoroloji bölge müdürlüğünün yıllık verilerine göre Ankara'da aylık ortalama sıcaklık Nisan-Ekim arası 10(°C)'nin sürekli üzerindeyken yine bu aylarda ortalama güneşlenme süresi 5 saatin üzerinde seyretmektedir.[59] (Şekil 2.3, 2.4). Bu değişkenlik nedeniyle kış aylarında görece D vitamini eksiklikleri görülmektedir. Ülkemizden yapılan çalışmalarda erişkinlerde yaşla D vitamin eksikliğinin arttığı[60], yine giyim alışkanlıkları nedeniyle kadınlarda D vitamini eksikliğinin sık gözlendiği gösterilmiştir. [61]



Şekil 2.3: 2007'de Ankara'daki gün içinde ortalama güneşli saat süresi (Devlet Meteoroloji İşleri Müdürlüğü verilerinden faydalanılmıştır).



Şekil 2.4: 2007'de Ankara'da sıcaklık ortalamaları (Devlet Meteoroloji İşleri Müdürlüğü verilerinden faydalanılmıştır).

2.3.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve D vitamini

Kronik böbrek hastalığında ilerleyici böbrek parankim fonksiyon kaybıyla renal 1 alfa hidroksilaz enzim aktivitesi azalırken, GFH azaldıkça gözlenen hiperfosfatemide renal 1 alfa hidroksilaz enzim aktivitesinde baskılanmaya neden olur. Yapılan çalışmalarda böbrek nakil alıcılarında D vitamini eksikliğinin ve yetersizliğinin %90'a kadar yükselebildiği gözlenmiştir.[62]

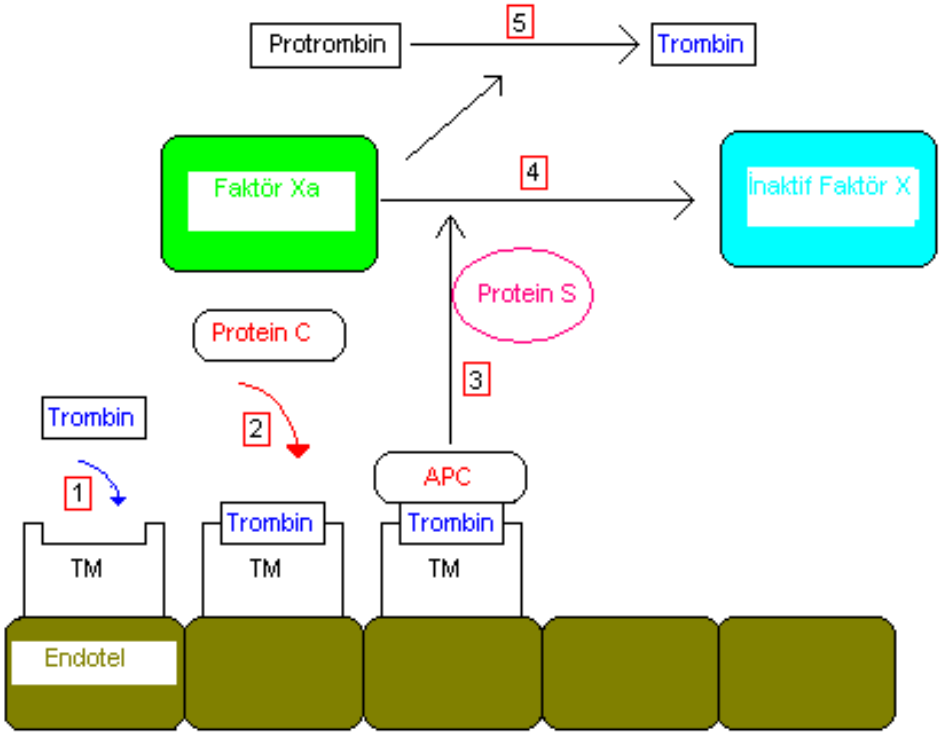
2.4. Thrombomodulin ve Protein C-EPCR Sistemi

Hemostaz damar hasarının olduğu bölgede pıhtı oluşumunu sağlayan mekanizmadır. Damar duvarında bütünlük bozulduğunda hemostatik yanıt hızlı, bölgesel ve kendini sınırlayıcı olmalıdır. Bu nedenle koagülasyon sistemi farklı antikoagülan mekanizmalarla sürekli dengede tutulur.

Hemostazda; trombositlerin adezyonu ve agregasyonu, koagulasyon kaskatının aktifleşmesi, antitrombotik kontrol mekanizmalarıyla pıhtı oluşumunun sonlanması ve fibrinoliz ile pıhtının organize edilmesi sırayla gerçekleşir.

Koagülasyon kaskatı proenzim veya inaktif öncül proteinlerin (zimojen) birbirini sırayla aktive etmesi ve oluşturdukları yanıtı amplifiye etmesiyle karakterlidir. İntensek veya ekstrensek yolağın aktifleşmesiyle protrombin'in trombine dönüşmesi ve trombin'in dolaşımdaki fibrinojeni fibrine çevirmesiyle fibrin tıkaçları oluşur.

Dolaşımdaki trombin fibrin oluşumunu sağlarken bir transmembran proteini olan ve endotelde bulunan thrombomodulune bağlanır. Bu bağlanma trombinin konformasyonel yapısını değiştirir. Substrat özgünlüğü değişen trombinin trombosit aktifleştirme, fibrinojeni fibrine çevirme özelliği kaybolur ve protein C'yi aktifleştiren bir yapı kazanır. (Şekil 2.5)



Şekil 2.5: *1. Koagulasyon kaskatında oluşan Trombin endotelde bulunan transmembran proteini Thrombomoduline (TM) bağlanır, 2. Bağlanmayla trombinin konformasyonel yapısı değişir, 3. Trombin-TM kompleksi Protein C'yi aktif hale getirir, 4. Aktif Protein C (APC) Faktör Xa'yı parçalayarak inaktifleştirir.*

Endotelial protein C reseptör (EPCR) major histocompability complex-class I/CD1 ailesiyle homolojik özellik gösteren endotel hücrelerinde bulunan transmembran glikoproteinidir. Endotel yüzeyinde Protein C'ye bağlanır ve trombin/thrombomodulin kompleksine Protein C'nin sunumunu sağlar ve protein C'nin Trombin/thrombomodulin kompleksi tarafından aktif hale getirmesini kolaylaştırır. Aktif protein C protein S ile birlikte proteolitik özellik göstererek faktör Va ve Faktör VIIIa'yı inhibe eder. [63 64 65]

2.4.1. Soluble Thrombomodulin

Thrombomodulin'in enzimatik yıkımı sonrası oluşan soluble formları plazmada da tesbit edilir.[66] Endotel bütünlüğünün bozulduğu durumlarda nötrofil kaynaklı enzimler tarafından endotel membranında bulunan molekül yapısının parçalanması sonucu soluble thrombomodulin (sTM) dolaşıma geçer, bu özelliğiyle

endotel hücre hasar göstergesi olarak kullanılabilir.[67] Invivo inflamatuvar sitokinlerin değerlendirildiği çalışmalarda recombinant TNF-alfa'nın hücre kültür ve farelerde TM düzeylerini belirgin yükselttiği gösterilmiştir.[68] Plazma düzeyi endotel hasarı olmadığı durumlarda 3-50ng/ml olan sTM seviyeleri enfeksiyonda, sepsiste ve vaskülit gibi inflamatuvar süreçlerde yükselir. Plazmadaki sTM'in intakt TM gibi trombine bağlanarak antikoagulan etkinlik gösterdiği ancak bu etkinin intakt TM molekülünün etkinliğinin %30-50'si kadar olduğu gösterilmiştir.[69]

2.4.2. Soluble EPCR

EPCR damar endotelinde eksprese olan bir transmembran glikoproteindir ve özellikle büyük damar endotellerinde yoğun düzeyde eksprese edilir.[70] Yapılan çalışmalar EPCR'nin monosit ve hematopoetik kök hücrelerde de eksprese olduğunu otoimmunitede, infeksiyon ve travmaya bağlı gelişen inflamasyon ve koagulasyon yanıtlarını düzenlemede etkili olduğunu düşündürmektedir.[71] Yapılan çalışmalarda plazmada transmembran glikoproteinin sitoplazmik kuyruğundan metalloprotez aktivitesiyle kesilmesiyle oluşmuş olan sEPCR tesbit edilmiştir.[72] Bu parçalanmanın bazı inflamatuvar mediatörler ve trombin aracılığıyla tetiklendiği düşünülmektedir.[73] Çalışmalar sEPCR düzeylerinin sağlıklı kişilerde geniş bir referans aralığında saptandığını göstermiştir. İtalya ve Fransa da yapılan çalışmalar sağlıklı kişilerin %80'inde sEPRC düzeylerini 75-178 ng/ml, %20'sinde ise 200-700 ng/ml referans aralığında saptandığını tesbit etmiştir.[74] Ülkemizde ise Ulu ve arkadaşları 59 sağlıklı kişide sEPCR düzeylerini ortalama 82.39±47.3 ng/ml olarak tesbit etmişlerdir.[75] Plazmadaki sEPCR öncelikli olarak endotel membranından köken alır ve düzeyleri özellikle büyük damar etkilenimleriyle ilgili fikir verir. Esmon ve ark'ları tarafından vaskülit ve sepsis gibi endotel hasarıyla giden klinik tablolarda yüksek sEPCR düzeyleri gösterilmiştir. SDBY'li hastaların böbrek nakli sonrasında sEPCR düzeylerinde düşme olduğu gösterilmiştir.[11]

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Belirlenmesi

Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Transplantasyon Ünitesinde Ocak 2008 ile Mart 2009 tarihleri arasında poliklinik kontrolleri olan takipteki 45 hasta dahil edildi. Çalışmada 4 hasta kontrollerine gelmedi

Böbrek nakilli hastaların Kasım-Mart (kış) döneminde ve Nisan-Ekim (Yaz) döneminde 25(OH) vitamin D, sTM, sEPCR, CPR, kreatinin düzeyleri ve ABV ölçümleri değerlendirildi.

Tüm böbrek nakilli hastaların biyokimyasal parametreleri dosyalarından alınarak işlendi. Araştırmaya katılan tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve aydınlanmış onamları alındı. Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı (No: 141-4177)

3.1.1. Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri

Çalışmaya katılmayı kabul ederek, bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan, 18 yaşında veya 18 yaşından büyük, böbrek nakli alıcısı, serum kreatinin düzeyi 2 gr/dl'nin altında olan, stabil böbrek fonksiyonlarına sahip hastalar çalışmaya alındı.

3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

Böbrek nakli olan hastalardan; çalışmaya katılmak istemeyen hastalar, stabil böbrek fonksiyonlarına sahip olmayan hastalar (kronik rejeksiyon, yetersiz greft fonksiyonu), kreatinin düzeyi 2 gr/dl'nin üzerinde olan hastalar, plazma örneği alınma anında akut rejeksiyon, aktif enfeksiyon varlığı olan hastalar çalışmaya alınmadı. Ayrıca D vitamini kullanan hastalar da çalışma dışı bırakıldılar.

3.1.3. Değerlendirme ve İzlem Sırasında Kullanılan Parametreler:

Çalışmada; yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, sistolik-diastolik kan basıncı, biyokimyasal parametreler (kan üre nitrojeni, MDRD formülüyle hesaplanmış kreatinin klirensi, ürik asit, HDL, LDL, trigliserid düzeyleri), 25(OH) vitamin D düzeyi, sTM, sEPRC düzeyleri, ABV ölçümü değerlendirildi.

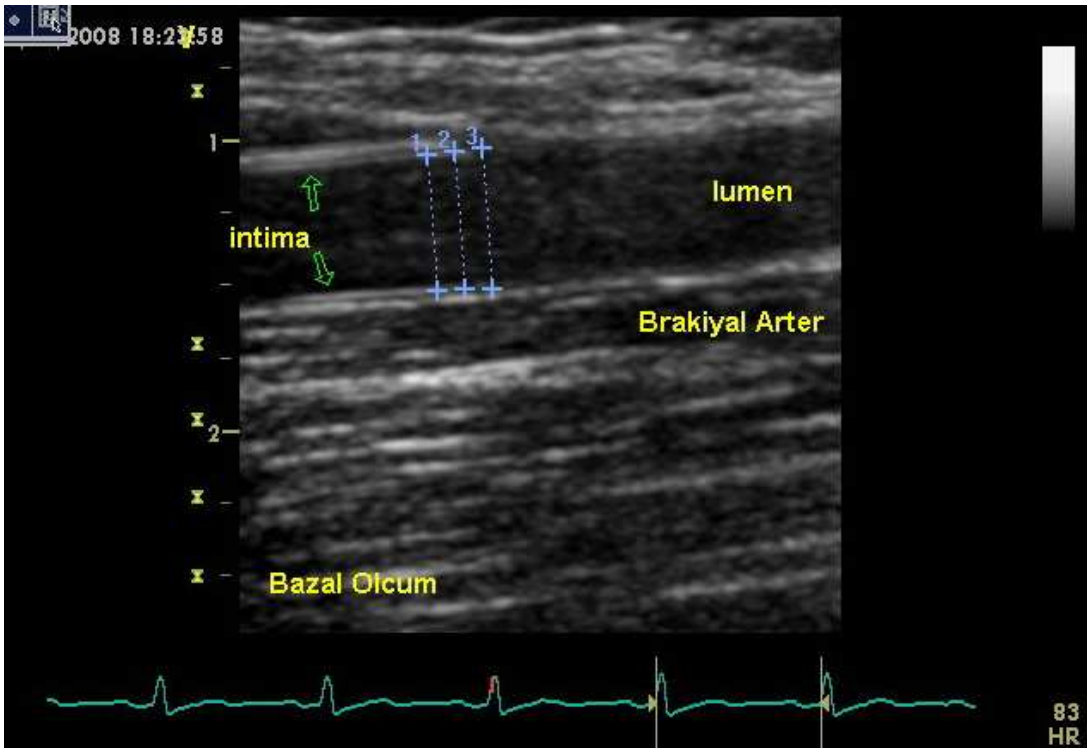
3.2. D vitamini Ölçümü

25(OH) D vitamini HPLC **(**high-performance liquid chromatography) yönemiyle serolojik olarak çalışılmıştır.

3.3. Akıma Bağlı Vazodilatasyon Ölçümü

Brakiyal arter B-Mode ultrasonografi incelemeleri, Vivid 7 ultrasonografi cihazı (Vivid 7, Wipro GE Healthcare, GE Medical Systems Inc, Chicago, U.S.A) kullanılarak "13 MHz lineer array transducer" ile yapıldı. Ultrasonografik görüntülemede görüntüler, dijital ortamda kaydedilerek "off-line" olarak yorumlandı. Brakiyal arterde endotel disfonksiyonu bakılması amacıyla "Akıma Bağlı Vazodilatasyon (ABV)" tekniği kullanıldı. Teknik temel olarak Coretti ve arkadaşlarının yayınladığı kılavuz esas alınarak yapıldı.[76] İşlem sessiz ve 22-25ºC sıcaklığındaki bir odada en az 6 saatlik bir açlık periyodunu takiben yapıldı. İşlemden 12 saat önce alkollü veya kafeinli içeceklerin alımı yasaklandı. Hastalar sırt üstü rahat bir pozisyonda yatırıldı. Transducer dirseğin 4-5 cm üzerinde sağ brakiyal arter trasesi üzerine konularak, arter seyri boyunca en iyi görüntünün alındığı bölgede longitudinal olarak görüntülendi. Ölçüm yerini standardize etmek için, antekübital fossadan itibaren yukarı doğru 5 cm ölçüldü ve bu noktadan sonraki 5-7 cm'lik arter segmentinde ölçüm yapıldı. Brakiyal arter çapı (intimadan–intimaya) üç kez ölçüldü ve bu üç ölçümün ortalaması bazal çap olarak kaydedildi. Brakiyal arterden alınan bu ölçümler EKG monitörizasyonuna göre diyastol sonunda alındı (şekil.3.1). Çap ölçümünün yapıldığı brakiyal arter bölgesinden kan akım hızı pulse doppler ile pik sistolde ölçülerek kaydedildi. Bazal brakiyal arter çapı ve akım hızı kaydedildikten sonra tansiyon aletinin manşonu kola bağlandı. Sistolik kan basıncının 50 mmHg üzerinde basınçta şişirilerek 5 dakika boyunca bu basınçta tutuldu. Sonra manşon aniden indirildi ve kan akım hızı 15 saniye içinde ölçüldü (hiperemik cevap). Hiperemik cevap sonrası oluşan ABV'yi değerlendirmek için brakiyal arter görüntüsü alındı. 1. ve 2. dakikada brakiyal arter çapı kaydedildi. Bu ölçümlerdeki maksimum çap (MaksÇ) ABV hesaplamalarında kullanıldı. ABV bazal damar çapına (BÇ) göre % (yüzde) artış olarak ifade edildi. Akıma bağlı dilatasyon "ABV=[(MaksÇ - BÇ) / BÇ] x100" eşitliği ile hesaplandı. Manşonun indirilmesinden 10 dakika sonra hastalara 5 mg sublingual nitrogliserin verildi ve 5

dakika sonra ölçüm işlemleri tekrarlandı ve akımdan bağımsız vazodilatasyon ölçüldü.



Şekil 3.1 ABV ölçümü

3.4. sEPCR Ölçümü

Bu çalışmada, ELISA tekniği kullanılarak, plazma örnekleri içerisinde Endotelial Protein C Reseptör proteinin kantitatif olarak ölçülmesi amaçlandı (DIAGNOSTICA STAGO, Fransa). Kan örnekleri sabah 8.00-10.00 arası alınarak gecikme olmadan laboratuvara sitratlı tüplerle gönderildi.. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri 2500g'de 10 dakika santrifüj edilerek topladı ve çalışma dönemine kadar -80 Cº'de saklandı.

Tüm örneklerde, kontrol ve standartlar duplike olarak çalışıldı. Çalışma öncesi 37 Cº'de 15 dk inkübe edilmiş örnekler 1:51 oranında dilue edildi. 96 test ELISA pleyti kullanılan çalışmada, 200µl örnek, kontrol ve standartlar kuyucuklara eklendi. 1 saat oda sıcaklığında gerçekleşen inkübasyon sonunda örnekler 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. 200µl peroksidaz-konjugat sekond anti human sEPCR eklenen kuyucuklar, oda sıcaklığında 1 saat daha inkübe edildi. İnkübasyon sonunda konjugatı uzaklaştırmak için 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı, ardından da

renklenmeyi sağlamak için TMB (Tetrametilbenzidin) substrat solüsyonu eklendi. 5 dakika inkübasyon sonunda stop solüsyonu(1M H2SO4) ile reaksiyon sonlandırıldı. 1 saat içinde 450nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.(VERSA max Tunable Mikroplate Reader Moleculer Devices, Sunnyvale, CA. USA). Elde edilen O.D. (optik dansite) ölçümleri, logaritmik-logaritmik grafik kağıdında, ng/ml olarak değerlendirildi.

3.5. sTM ölçümü

Bu çalışma da, ELISA tekniği kullanılarak, plazma örnekleri içerisinde Trombomodulin miktarının kantitatif olarak ölçülmesi amaçlandı (DIAGNOSTICA STAGO, Fransa). Örnekler antikoagülan olarak sitrat kullanılan tüplere alındı. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri 2500g'de 10 dakika santrifüj edilerek toplandı ve çalışma dönemine kadar -80 Cº'de saklandı.

Test örnekleri ve standartlar duplike olarak çalışıldı. Çalışma öncesi 37 Cº'de 15 dakika inkübe edilmiş test örnekleri 1:5 oranında sulandırıldı. 96 test ELISA pleyti kullanılan çalışmada, 200µl örnek ve standartlar kuyucuklara eklendi. 2 saat oda sıcaklığında (18-25Cº) gerçekleşen inkübasyon sonunda örnekler 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. 200µl anti–trombomodulin peroksidaz-konjugat eklenen örnekler, oda sıcaklığında 2 saat daha inkübe edildi. İnkübasyon sonunda konjugatı uzaklaştırmak için 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı, ardından da renklenmeyi sağlamak için OPD(Ortho-phenylenediamine) /üre peroksidaz substrat solüsyonu eklendi. 8 dakika inkübasyon sonunda 50µl stop solüsyonu(3M H2SO4) ile reaksiyon sonlandırıldı.10 dakika sonra 492nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.(VERSA max Tunable Mikroplate Reader Moleculer Devices, Sunnyvale,CA. USA). Elde edilen O.D. (optik Dansite) ölçümleri, logaritmik-logaritmik grafik kağıdında, ng/ml olarak değerlendirildi.

3.6. CRP Ölçümü

CRP ölçümü serumda kantitatif olarak immunonefrolometrik yöntemle ölçüldü. (CardioPhase high sensitive CRP, Dade Behring)

3.7. Glomerüler Filtrasyon Hızı Ölçümü

Serum kreatinin, yaş, cinsiyet, ırk değişkenleriyle belirlenmesini sağlayan MDRD formülüyle (eGFR = 175 x [(Serum kreatinin x 0.0113) $^{-1.154}$] x (yaş$^{-0.203}$) x 0.742 (Sadece kadınlarda)) hesaplandı.

3.8. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel yöntemler Statistical Package for Social Sciences for Windows Version 16.0 (SPSS Inc; Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama ve standard sapmalarıyla belirtildi. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile, yaz-kış kontroller arasındaki değişkenlerin karşılaştırılması paired sample t test ile, kış ve yaz dönemi D vitamini eksik/yetersiz grupla normal D vitamini içeren grup arasında numerik değerler student t testi ile, numerik olmayan değişkenlerin karşılaştırılması ki-kare testiyle yapıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.9. Etik Kurul Onayı

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kuruluna sunuldu; 141-4177 numarasıyla onay alındı.

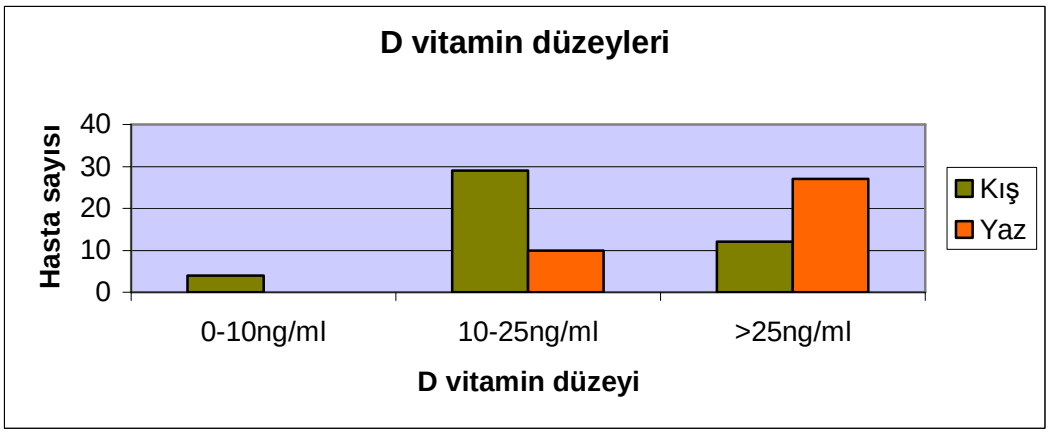
3.10. Çalışma Bütçesi

“2. Ankara Tıp İç Hastalıkları Günleri” toplantılarından sağlanan kaynaktan çalışma bütçesi alınmıştır.

4. SONUÇLAR

Çalışmaya 45 hasta alındı ve bu hasta grubundan 2. kontrollerde 37 hastanın biyokimyasal testleri, 38 hastanın FMD parametreleri, 37 hastanın endotel hasar belirteçleri için serumları temin edildi

Kış ayı ölçümünde 4 hastada D vitamini eksikliği, 29 hastada D vitamini yetersizliği saptanırken 12 hastanın D vitamini 25 ng/ml üzerinde, yeterli olarak ölçüldü. Yaz kontrollerinde ise olguların 10'unda D vitamini yetersizliği saptanırken, 27'sinde D vitamini normal düzeyde saptandı. Hiçbir hastada eksiklik gözlenmedi.(Şekil 4.1)



Şekil 4.1.

Kış ayı değerlendirmelerinde D vitamini eksik/yetersiz grup ile D vitamini normal düzeyde olan grupta değerlendirilen biyokimyasal parametreler, sEPRC-sTM düzeyleri ve sorgulanan parametreler arasında D vitamini düzeyiyle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. D vitamin düzeyi normal olanlarda ABV ölçümleri D vitamini eksik gruba göre yüksek gözlense de farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmıyordu. (Tablo 4.1)

Yazın yapılan ölçümlerde yine D vitamini eksikliği olan grup ile D vitamini eksikliği olmayan grup arasında değerlendirme yapıldığında; ABV değeri D vitamini eksikliği olan grupta anlamlı düşük olarak bulundu. (Tablo 4.2)

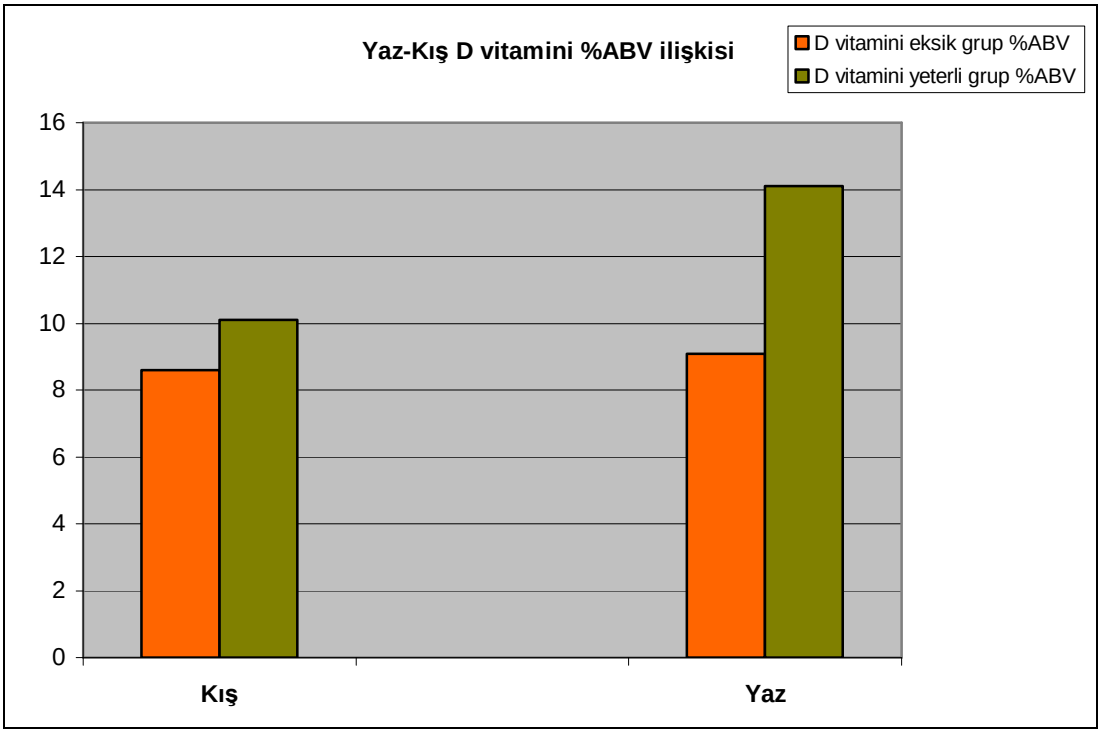
	Vit D <25ng/ml	Vit D >25ng/ml	P
Hasta Sayısı	33	12	-
D Vitamini düzeyi (ng⁄ml)	16,2±5,5	34,8±10,7	**‹0,001**
EPCR (ng⁄ml)	147±90	135±76	0,73
TM (ng⁄ml)	61±18	52±21	0,80
ABV yüzde	8,6±5,9	10,1±5	0,28
Yaş	38±10	41±14	0,38
MDRD (ml/dak/1.73 m 2)	70±17	68±17	0,73
Ürik Asit Düzeyi (mg⁄dl)	6,1±1,5	6,1±1,9	0,93
PTH Düzeyi (pg⁄ml)	86±33	94±32	0,70
CRP Düzeyi (mg⁄L)	3,8±4,1	3,9±3,9	0,94
HDL Düzeyi (mg⁄dl)	51±13	53±11	0,61
LDL Düzeyi (mg⁄dl)	102±30	106±25	0,64
TG Düzeyi (mg⁄dl)	135±30	119±39	0,23
Beden Kitle İndeksi (kg⁄m2)	26±5	26±5	0,68
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	116±12	123±12	0,14
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	78±7	77±7	0,56
Nakil öncesi Dializ süresi (ay)	31±21	33±28	0,84
Nakilde bu yana geçen süre (ay)	45±57	39±21	0,72
Sigara kullanımı	2⁄33	1⁄12	0,66
Diyabetes mellitus	3⁄33	1⁄12	0,69
Kadavra/Canlı Nakil	27/33	8/12	0,28
Koroner Arter Hastalığı	2/33	0/12	0,38
Hipertansiyon	9/33	4/12	0,69
Hemodiyaliz/CAPD	30/3	10/2	0,47
Antilipidemik ilaç kullanımı	22/32	8/12	0,40

Tablo 4.1: Kış ayı ölçümünde D vitamin düzeyi eksik/yetersiz vakalarla, yeterli vakalarının karşılaştırılması

	Vit D <25ng/ml	Vit D >25ng/ml	P
Hasta Sayısı	10	27	
D Vitamini düzeyi (ng⁄ml)	20,9±2,9	39,2±11,8	**0,0001**
EPCR (ng⁄ml)	135±91,8	153±90,9	0,61
TM (ng⁄ml)	62,4±33,2	59,5±20,2	0,76
ABV yüzde	9,1±5,2	14,2±5,4	**0,015**
Yaş	40±9	39±11	0,85
MDRD (ml/dak/1.73 m 2)	76,2±20	69,9±19,9	0,40
Ürik Asit Düzeyi (mg⁄dl)	5,8±1,1	6,3±1,3	0,30
PTH Düzeyi (pg⁄ml)	68,2±40,4	71,4±36,1	0,87
CRP Düzeyi (mg⁄L)	4,2±3,4	3,5±3,3	0,67
Beden Kitle İndeksi (kg⁄m2)	26,2±3,4	26,9±5,8	0,72
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	113±12	120±12	0,12
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	77±8	79±6	0,42
Nakil öncesi Dializ süresi (ay)	20±18	38±26	0,08
Nakilde bu yana geçen süre (ay)	69±65	36±31	0,10
Sigara kullanımı	1/10	2/27	0,28
Diyabetes mellitus	1/10	5/27	0,53
Kadavra/Canlı Nakil	1/9	7/20	0,29
Koroner Arter Hastalığı	1/10	0/27	0,10
Hipertansiyon	6/10	6/27	0,28
Hemodiyaliz/CAPD	9/1	24/3	0,92
Antilipidemik ilaç kullanımı	4/10	5/27	0,30

Tablo 4.2: Yaz ayı ölçümünde D vitamin düzeyi eksik/yetersiz vakalarla, yeterli vakalarının karşılaştırılması

Kış ayı ölçümlerinde D vitamini eksik grupta D vitamini düzeyi ortalama 16.2ng/ml, bu grupta AVB oranı %8.6 iken, D vitamini normal sınırlarda saptanmış grupta ortalama D vitamin düzeyi 34.8ng/ml, ABV %10.1 olarak saptandı. İzlemde D vitamin eksikliği olan grupta D vitamin ortalama düzeyi 20.9ng/ml saptanırken ABV %9.1 saptandı, D vitamin eksikliği olmayan grubun D vitamin düzeyi ise ortalama 39.2ng/ml, ABV oranı da %14.2 olarak saptandı.(Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Yaz-Kış D vitamini %ABV ilişkisi

Kış döneminde elde edilen sonuçlar SKB, DKB, Lipid düzeyleri, ABV, sEPCR, sTM, MDRD, yaş, ve CRP pearson korelasyon analizi ile incelendiğinde ABV ile korelasyon gösteren bir parametre saptanmadı.

Olguların takibinde yazın D vitamini düzeyleri ve takip parametreleri tekrar değerlendirilen hastaların D vitamini düzeylerinde beklenen yükselme gözlenirken ABV'daki artış da istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$). Endotel hasar belirteçlerinden EPCR ve TM'de ise hem vitamin D eksikliği olan gruplarda hem de kış-yaz aynı hastalarda anlamlı değişiklik göstermedi (Tablo 4.3). Pearson korelasyon analizinde ΔABV ile ΔD vitamini değerleri arasında ise anlamlı korelasyon saptandı ($r =0.34$, $p<0.05$).

	Kış Ölçümü	Yaz Ölçümü	P
D Vitamini (ng⁄ml)	18,8±7,5	34,3±13,0	‹0,001
ABV(%)	8,7±5,1	12,8±5,6	‹0,001
EPCR (ng⁄ml)	145±87	146±88	0,83
TM (ng⁄ml)	59±19	60±23	0,62
MDRD-(ml/dak/1.73m2)	69±17	72±20	0,12
Ürik Asit (mg⁄dl)	6,1±1,6	6,0±1,4	0,43
PTH (pg⁄ml)	95±32	79±27	0,17
CRP (mg⁄L)	3,3±3,3	3,6±3,4	0,64

Tablo.4.3: Yaz ve Kış ölçümlerinin eşleştirilmiş bağımlı gruplar olarak karşılaştırılması

Anjiotensin konverting enzim inhibitörü (ACEİ) veya anjiotensin reseptör bloker (ARB) kullanımıyla ABV değerleri arasında her iki ölçümde de herhangi bir ilişki saptanmadı. Kış, yaz ölçümlerinde ACEİ/ARB kullanan vakaların ABV değerleriyle ilişkisinin p değeri sırayla 0.47 ve 0.77 olarak saptandı.

5. TARTIŞMA:

Biz bu çalışmamızda kışın bazal D vitamini eksikliği, yetersizliği görülme sıklığını %73 oranında saptadık. Kış döneminde D vitamini eksikliği olan bireylerde ABV'nin normal D vitamini düzeyine sahip böbrek nakli alıcılarına göre daha düşük olsa da anlamlı farklılık göstermediğini saptadık. Yaz dönemi yapılan değerlendirmede ise hastaların büyük kısmında D vitamini düzeylerinin kabul edilebilir normal değerlere yükseldiğini (%27 D vitamini yetersizliği) ve bu dönemde yapılan değerlendirmede D vitamini eksikliği olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı daha düşük ABV oranları olduğunu saptadık. Ayrıca hastaların kış ve yazın yapılan değerlendirmelerinde D vitamini düzeyi anlamlı olarak artarken dikkat çekici olarak ABV düzeyleri de anlamlı olarak arttı. Bu artışların (ΔABV ve ΔD vitamini) korelasyonu değerlendirildiğinde ise anlamlı korelasyon olduğu gözlendi.

Böbrek nakli SDBY'de en seçkin tedavi yöntemi olmakla birlikte, başarılı bir nakil sonrası üremi ile ilişkili faktörler, kronik volüm yükü, kalsiyum-fosfor denge bozukluğu, artmış oksidatif stres, homosistein yüksekliği, anemi gibi risk faktörleri ortadan kaldırılsa bile kardiyovasküler mortalite ve morbidite yüksek seyretmektedir. Mortalite ve morbidite riskindeki bu artışa sol ventrikül hipertrofisi, koroner kalsifikasyon, ateroskleroz ve aterosklerozun tetiklediği arteriyal sistemdeki geri dönüşsüz etkilenimler neden olmaktadır. Endotel kaynaklı NO salınımının bozulması bu geri dönüşsüz etkilenimlerin öncül patolojisidir. Bu öncül patolojinin takibinde endotelde kan akımının makaslama etkisiyle sağlıklı endotelden salınımı artan NO'ya bağlı vazodilatasyonun düzeyinin brakiyal arterden non-invaziv değerlendirilmesi koroner ateroskleroz ile korelasyon gösteren etkin ve pratik bir yöntemdir. Son yıllarda D vitamini eksiliği ile endotel disfonksiyonu üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmakta ve D vitamini eksikliğinin endotel fonksiyonlarını bozucu etkisi ortaya konulmaktadır. London ve arkadaşları yaptıkları çalışmada D vitamini eksikliği olan hemodiyaliz hastalarında endotel fonksiyon bozukluğu, aortik kalsifikasyona yatkınlığın arttığını göstermiştir.[13] Yapılan hayvan deneylerinde D vitamini reseptör defekti olan farelerde, D vitamini ilişkili sinyal yolağındaki iletim bozukluğuna bağlı kardiyomiyositlerin aşırı uyarıldığı ve buna bağlı ventrikül hipertrofisi geliştiği gösterilmiş[55], KBH modeli oluşturulmuş olan farelerde D

vitamini analoğu verilmesinin böbrek hastalığının progresyonunu yavaşlattığı ve renin anjiotensin sistemini baskılayıcı etkileri gösterilmiştir.[56] Son yıllarda hayvan deneyleriyle elde edilen bilgilerin ışığında KBH'de kardiyovasküler mortalite için bağımsız bir risk faktörü kabul edilen sol ventrikül hipertrofisinin gelişiminde D vitamini eksikliğine bağlı kardiyak miyositlerin aşırı uyarımı patogeneze katkıda bulunuyor olabilir. Yine insulin direnciyle metabolik tablonun kötüleşmesi,[57] D vitamini reseptörü düzeyinde farklı genotiplere bağlı değişken EPO yanıtının hemodinamiyi etkilemesi muhtemeldir.[58]

SDBY'liğinde D vitamini eksikliği ve yetersizliğinin görülme sıklığının %60'lardan %90'lara kadar ulaşabildiğini göstermiş çalışmalar vardır.[77] Bu çalışmalarda kullanılan referans değerler farklı olabildiğinden eksiklik/yetersizlik görülme sıklığı oldukça değişkendir. D vitamini eksikliği böbrek nakli sonrasında da yaygın olarak gözlenen bir durumdur. Sadlier ve ark. ABD'de 112 böbrek nakil alıcısı ile yaptıkları çalışmada D vitamini eksikliğinin %30, yetersizliğinin %60 sıklıkta görüldüğü ifade edilmiştir[78]. Böbrek nakil alıcılarında immunsupresif tedavilerinin değerlendirildiği çok merkezli 1645 hastalık ELITE-Symphony çalışmasında böbrek nakillilerde ortalama GFH bakıldığında çoğu hastada evre 2-3 böbrek hastalığı aralığında bir GFH olduğu dikkati çekmektedir.[79] Bu nedenle böbrek nakli alıcılarında D vitamini eksikliği ile kardiyovasküler fonksiyonların değerlendirilmesi oldukça önemli olabilir ve bunun değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Ekvator kuşağındaki bölgeler haricindeki coğrafi yerleşkelerde D vitamini eksikliği mevsimsel etkilenim gösterir. Kesitsel çalışmalarda en büyüğü 18462 hasta içeren ABD'de yapılmış olan NHANES III[80] çalışması başta olmak üzere Yeni Zelanda, Japonya, İtalya, İsviçre, Almanya, Estonya gibi ülkelerde mevsimsel D vitamini değişiklikleri gösterilmiştir.[81] Bu çalışmalarda kış mevsiminde güneşli sürelerin azlığı ve hava soğukluğu nedeniyle derinin güneşle direkt temasını engelleyen kıyafetlerin giyilmesinin endojen D vitamini sentezini kısıtlaması nedeniyle kışları D vitamini eksikliğinin sık gözlendiği ifade edilmiştir.[78] Biz çalışmamızı bu nedenle hem kış hem de yazın aynı hasta grubunda tekrarlamayı planladık. Değerlendirmemizde yazın D vitamini düzeyinin anlamlı arttığını ortaya koyarken bu artışa ABV ölçümlerinde artışta eşlik etmekteydi. Daha önceki çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda D Vitamini eksiklik ve yetersizliği böbrek

nakilli olgularda sık görüldü. Kış ayı ölçümünde 4 hastada D vitamini düzeyi 0-10ng/ml, 29 hastada D vitamini düzeyi 10-25ng/ml düzeyinde saptanırken 12 hastanın D vitamini düzeyi 25 ng/ml üzerinde (%24) ölçüldü. Yaz kontrollerinde ise olguların 10'unda D vitamini yetersizliği, 27'sinde D vitamini normal düzeyde saptanırken hiçbir hastada eksiklik gözlenmedi.

Muhtemelen mevcut çalışmada transplant hastalarının genç yaşta olması ve renal replasman tedavisi altında nakil için beklenen sürelerin kısa olması nedeniyle endotel disfonksiyonu ciddi oranda gözlenmedi ve bu durum çalışmada her ne kadar vitamin D düzeyi düşüklüğü yüksek olsa da bu olgularda belirgin anlamlı ABV farklılığı oluşturmadı.

Vaskülit, sepsis gibi endotel hasarıyla giden tablolarda, hemodializ hastalarında yükseklikleri saptanan ve endotel hasarının indirekt belirteçlerinde kabul edilen yapılan çalışmalarda inflamatuvar, preinflamatuvar süreçlerde yüksekliği saptanan sTM ve sEPCR düzeylerinde D vitamini, diğer biyokimyasal parametreler ve ABV ölçümleri arasında herhangi bir değişken ile anlamlı korelasyon saptanmadı.

D vitamini eksikliğinin olumsuz etkilerine katkıda bulunduğu düşünülen PTH düzeyleriyle ABV ölçümlerinde, sTM, sEPRC değerlerine veya herhangi takip parametresinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı Mevsimsel izlemde D vitamini düzeylerinde artmayla PTH düzeylerinde azalma gözlenmiş olsa da (95±32 vs 79±27) bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,18).

Bu sonuçlarla özellikle kış aylarında D vitamini eksikliğinin böbrek nakilli grupta sık görüldüğü, bu eksikliğin mevsimsel olarak iyileşmekle birlikte %25'in üzerinde seyrettiği gözlendi. Çalışmada yazın ve kışın D vitamini eksikliği saptanan hastalar ile D vitamini eksikliği olmayan hastalar arasında sEPRC ve sTM düzeyleri anlamlı farklılık bulunmadı Ayrıca kış ve yaz ölçümlerinde hastalarda sEPRC ve sTM düzeyleri anlamlı değişme gözlenmedi.

Sonuç olarak bu çalışmada; böbrek nakli hastalarında kış aylarında D vitamin eksikliğinin yaygın olduğu, yazın D vitamin düzeyinin anlamlı olarak arttığı, bu düzelmeye paralel olarak ABV yanıtlarında da iyileşme gözlendiği ortaya konulmuştur. Bu iyileşmenin hangi patofizyolojik mekanizmalarla geliştiği halen cevaplanması gereken konudur ve ileride yapılacak çalışmalar bu konuya ışık tutmalıdır.

6. ÖZET

Böbrek Nakli Alıcılarında D Vitamini Eksikliği ve D Vitamini Eksikliğinin Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkisi

Böbrek nakli SDBY'de en seçkin tedavi yöntemi olmakla birlikte, başarılı bir nakil sonrası üremi ile ilişkili faktörler ortadan kaldırılsa bile kardiyovasküler mortalite ve morbidite yüksek seyretmektedir. Mortalite ve morbidite riskindeki bu artışa özellikle, ateroskleroz ve aterosklerozun tetiklediği arteriyal sistemdeki geri dönüşsüz etkilenimler neden olmaktadır. Endotel kaynaklı NO salınımının bozulması bu geri dönüşsüz etkilenimlerin öncül patolojisidir. ABV ile NO'ya bağlı vazodilatasyonun düzeyinin brakiyal arterden non-invaziv değerlendirilmesi koroner ateroskleroz ile korelasyon gösteren etkin bir yöntemdir. sEPCR ve sTM serumda çalışılan endotel hasar göstergesi olarak kullanılabilen ve vasküler hasarla seyreden hastalıklarda aktivasyonla ilişkili olduğunu göstermiş iki endotel hasar belirtecidir.

D vitamini eksikliğinin endotel fonksiyon bozukluğu, aortik kalsifikasyona yatkınlığı oluşturduğu gösterilmiştir Böbrek nakil alıcılarında D vitamini eksikliği sık görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji transplantasyon polikliniğinde takip edilen böbrek nakilli olgularda D vitamini eksikliğinin yaz ve kış mevsimlerinde sıklığının belirlenmesi, izlemde D vitamini değerlerinin mevsimsel değişim düzeyleri ve D vitamini düzeylerindeki değişimin endotel fonksiyon bozukluklarına olası etkilerinin sEPCR, sTM gibi iki endoteliyal hasar belirteciyle ve fonksiyonel olarak ABV ile prospektif olarak izlenerek değerlendirilmesidir.

Çalışmamızda 45 hastanın kış, 37 hastanın yaz parametreleri değerlendirildi. D vitamini eksiklik ve yetersizliği böbrek nakilli olgularda sık görüldü. Kış ayı ölçümünde 4 hastada D vitamini eksikliği, 29 hastada D vitamini yetersizliği saptanırken 12 hastada normal D vitamini düzeyleri saptandı. Yaz kontrollerinde ise olguların 10'unda D vitamini yetersizliği, 27'sinde D vitamini normal düzeyde saptanırken hiçbir hastada eksiklik gözlenmedi. Kış döneminde D vitamini eksikliği

olan bireylerde ABV'nin normal D vitamini düzeyine sahip böbrek nakli alıcılarına göre daha düşük olsa da anlamlı farklılık göstermediğini saptandı. Yaz dönemi yapılan değerlendirmede ise hastaların büyük kısmında D vitamini düzeylerinin kabul edilebilir normal değerlere yükseldiğini (%27 vitamin D eksikliği, yetersizliği) ve bu dönemde yapılan değerlendirmede D vitamini eksikliği olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı daha düşük ABV oranları olduğu saptandı. Ayrıca hastaların kış ve yazın yapılan değerlendirmelerinde D vitamini düzeyi anlamlı olarak artarken dikkat çekici olarak ABV düzeyleri de anlamlı olarak arttı. Bu artışların (ΔABV ve ΔD vitamini) korelasyonu değerlendirildiğinde ise anlamlı korelasyon olduğu gözlendi. Çalışmada yazın ve kışın D vitamini eksikliği saptanan hastalar ile D vitamini eksikliği olmayan hastalar arasında sEPRC ve sTM düzeyleri anlamlı farklılık bulunmadı. Ayrıca kış ve yaz ölçümlerinde hastalarda sEPRC ve sTM düzeyleri anlamlı değişme gözlenmedi.

Sonuç olarak çalışmada; böbrek nakli hastalarında kış aylarında D vitamin eksikliğinin yaygın olduğu, yazın D vitamin düzeyinin anlamlı olarak arttığı, bu düzelmeye paralel olarak ABV yanıtlarında da iyileşme gözlendiği ortaya konulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Böbrek nakli, D vitamini, endotel disfonksiyonu,

7. ABSTRACT

Vitamin D Defficiency In Renal Transplant Patients And It's Effect On Endothelial Dysfunction In Renal Transplant Patients

In End Stage Renal Failure renal transplantation is the superior treatment option, but still after a successful transplantation cardiovascular mortality and morbidity is high in this group of patients. This increased risk of mortality and morbidity is mainly due to atherosclerosis and its irreversible effects that are observed in arterial system. Malfunction of endothelium derived NO secretion is one of the primary steps of this process. Flow mediated dilatation (FMD) is an effective tool that predicts endothelial functions non-invasively which has been known to correlate with coronary atherosclerosis. sEPCR and sTM are two serologic markers both of which have been found to be associated with endothelial dysfunction and endothelial damage. It's been observed that Vitamin D deficiency predispose endothelial dysfunction and aortic calcification. Vitamin D deficiency is very common in renal transplant patients.

The aim of this study is to document vitamin D deficiency prevalence in winter and summer seasons. An additional aim is to observe seasonal changes in vitamin D levels and effects of these changes on FMD values for functional evaluation and on sTM and sEPRC levels as a marker to observe endothelial damage in renal transplant patients from Ankara University Nephrology department.

In this study 45 transplant recipients were evaluated in winter and 37 patients were evaluated in summer season. The finding of the patients evaluated in winter indicated that 4 patients had deficiency and 29 patients had insufficiency. The findings of the patients evaluated in summer season showed that 10 patients had insufficiency and none of them had deficiency. FMD values were higher in patients with normal vitamin D level; however, the findings did not indicate statistically significant results for the patients evaluated in winter. Vitamin D levels of the patients evaluated in summer were within the normal limits in most of the cases without any interference. In these patients a significant correlation between vitamin

D levels and FMD values were found. Also a delta correlation between seasonal difference of vitamin D and seasonal difference of FMD values were found. There were no statistically significant correlation sTM and sEPCR values with D vitamin levels and within its seasonal chances. In conclusion, vitamin D deficiency/insufficiency is very common among renal transplant recipients. In summer season vitamin D level rises in most of the cases respectively and this correlates with an improvement on FMD values.

Key Words: Renal transplant, endothelial disfunction, vitamin D

8. KAYNAKLAR

[1] Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Ann Intern Med. 2003;139(2):137-47.

[2] Erek E. ve ark. Türkiye'de Nefroloji – Diyaliz Ve Transplantasyon-2007 Kayıtları. Türk Nefroloji Derneği Yayınları, İstanbul, 2007: 9-10.

[3] Kocak H., Ceken K., Yavuz A., Yucel S. Et al. Effect of renal transplantation on endothelial function in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2006; 21: 203-207.

[4] Wolfe RA, Ashby VB., Milford EL. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. N Engl J Med. 1999; 341: 1725-1730.

[5] Roquer J, Segura T, Serena J, Castillo J.Endothelial dysfunction, vascular disease and stroke: the ARTICO study. Cerebrovasc Dis. 2009; 27 Suppl 1:25-37.

[6] Al-Qaisi M., K. Kharbanda R., K. Mittal T., E. Donald A. Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. Vascular Health and Risk Management. 2008; 4(3)647-652.

[7] Kelm M. Flow-mediated dilatation in human circulation: diagnostic and therapeutic aspects. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002; 282(1):H1-5.

[9] Wu J,Zhou Z, Ye S, Dai H, Ma L, Xu X et al. Detection of soluble endothelial protein C receptor in patients with CHD, DM and SLE: Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.2007; 21(9):472-474.

[10] Sesin CA, Yin X, Esmon CT, Buyon JP, Clancy RM Shedding of endothelial protein C receptor contributes to vasculopathy and renal injury in lupus: in vivo and in vitro evidence. Kidney Int. 2005; 68(1):110-20.

[11] Urvay S. Renal transplantasyonu ve kronik hemodializ hastalarında dolaşımda Thrombomodulin, Endotelyal protein C reseptör ve tümör nekrozis faktör alfa düzeyleri. AÜTF İç Hastalıkları Tıpta Uzmanlık Tezi. Ankara. 2008.

[12] Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007; 357(3):266-81.

[13] London GM, Guérin AP, Verbeke FH, Pannier B, Boutouyrie P, Marchais SJ, Mëtivier F. Mineral metabolism and arterial functions in end-stage renal disease: potential role of 25-hydroxyvitamin D deficiency. J Am Soc Nephrol. 2007;18(2):613-20.

[14] Ewers B, Gasbjerg A, Moelgaard C, Frederiksen AM, Marckmann P. Vitamin D status in kidney transplant patients: need for intensified routine supplementation. Am J Clin Nutr. 2008; 87(2):431-7.

[15] Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. A statement from the American Heart Association Councils on kidney in cardiovascular disease, high blood pressure research, clinical cardiology and epidemiology andprevention. Hypertension. 2003;42:1050-65.

[16] Foley RN, Parfrey PS ve Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. J Am Soc Nephrol. 1998; 9 (12 Suppl):16-23.

[17] Yılmaz BA, Mete T, Dinçer I, Kutlay S, Şengül S, Keven K, Ertürk S . Predictors of left ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease. Ren Fail. 2007;29(3):303-7.

[18] O'Connell TD, Berry JE, Jarvis et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulation of cardiac myocyte proliferation and hypertrophy. Am J Physiol. 1997; 272:1751-1758.

[19] Weishaar RE, Kim SN, Saunders DE, Simpson RE: Involvement of vitamin D3 with cardiovascular function III. Effects on physical and morphological properties. Am J Physiol. 1990; 258: 134-142.

[20] Herzog AC. Can we prevent sudden cardiac death in dialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol. 2007; 2:410-2.

[21]Locatelli F, Pozzoni P, Vecchio LD. Anemia and heart failure in chronic kidney disease. Semin Nephrol. 2005; 25:392-6.

[22] Blavher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM: Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. Hypertension. 2001; 38: 938-942.

[23] Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK Association of serum phosphorus and calciumxphospate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. Am J Kidney Dis 1998; 31: 607-617.

[24] Aakhus S, Dahl K, Wideroe TE. Cardiovascular morbidity and risk factor in renal transplant patients. Nephrol Dial Transplant. 1999;14(3):648-54.

[25] PB Mark, K Murphy, AS Mohammed, S.T.W. Morris, A.G. Jardine. Endothelial dysfunction in renal transplant recipients. Transplantation Proceedings. 2005; 37: 3805-3807.

[26] Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. Am Heart J. 2003;145(6):943-51.

[27] Keven K, Calayoglu R, Sengul S, Dincer I, Kutlay S, Erturk S, Erbay B, Nergizoglu G. Comparative effects of renal transplantation and maintenance dialysis on arterial stiffness and left ventricular mass index. Clin Transplant. 2008;22(3):360-5.

[28] Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Eyileten T, Sonmez A, Oguz Y, Oner K, Ors F, Vural A, Yenicesu M. Endothelial dysfunction and fetuin A levels before and after kidney transplantation. Transplantation. 2007; 83(4):392-7.

[29] Oflaz H, Turkmen A, Turgut F, Pamukcu B, Umman S, Ucar A, Akyol Y, Uzun S, Kazancioglu R, Kurt R, Sever MS. Changes in endothelial function before and after renal transplantation. Transpl Int. 2006; 19(4):333-7.

[30] Kocak H, Ceken K, Yavuz A, Yucel S, Gurkan A, Erdogan O, Ersoy F, Yakupoglu G, Demirbas A, Tuncer M. Effect of renal transplantation on endothelial function in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2006; 21(1):203-7.

[31] Soler MJ, Martínez-Estrada OM, Puig-Marí JM, Marco-Feliu D, Oliveras A, Vila J, Mir M, Orfila A, Vilaró S, Lloveras J Circulating endothelial progenitor cells after kidney transplantation. Am J Transplant. 2005; 5(9):2154-9.

[32] Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, Eyileten T, Sonmez A, Cakir E, Yenicesu M, Lindholm B, Stenvinkel P, Axelsson J. Serum visfatin concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2008; 23(3):959-65.

[33] Suliman ME, Qureshi AR, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Soluble adhesion molecules in end-stage renal disease: a predictor of outcome. Nephrol Dial Transplant. 2006; 21(6):1603-10.

[34] Westenfeld R, Schäfer C, Krüger T, Haarmann C, Schurgers LJ, Reutelingsperger C, Ivanovski O, Drueke T, Massy ZA, Ketteler M, Floege J, Jahnen-Dechent W. Fetuin-A Protects against Atherosclerotic Calcification in CKD. J Am Soc Nephrol. 2009 Apr Epub.

[35] Sharma M, Zou Z, Miura H, Papapetropoulos A, McCarthy ET, Sharma R, Savin VJ, Lianos EA. ADMA Injures Glomerular Filtration Barrier: Role of Nitric Oxide and Superoxide. Am J Physiol Renal Physiol. 2009 Mar Epub

[36] Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. Am J Cardiol. 2002; 90(suppl):40–48.

[37] Vallance P, Chan N Endothelial function and nitric oxide: Clinical relevance,. Heart. 2001; 85:342-350.

[38] Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. Br J Clin Pharmacol. 2000; 50(5):397-404.

[39] Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J Am Coll Cardiol. 1999:34;631-638.

[40] Matsuo S, Matsumoto T, Takashima H, Ohira N, Yamane T, Yasuda Y, Tarutani Y, Horie M. The relationship between flow-mediated brachial artery vasodilation and coronary vasomotor responses to bradykinin: comparison with those to acetylcholine. J Cardiovasc Pharmacol. 2004; 44(2):164-70.

[41]Cooke JP, Rossitch E, Jr, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. J Clin Invest. 1991; 88: 1663–71.

[42] Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Haemodynamic shear stress activates a K_ current in endothelial cells. Nature. 1988; 331:168–70.

[43] Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of the endothelium in the vasodilator response to flow in vivo. Hypertension. 1985; 8: 37–44.

[44] Medina F, De Haro J, Martinez-Aguilar E, Florez A, March J, Acin F.Relationship between noninvazively measured endothelial function and peripheral arterial disease. Angiology. 2008; 12: 1-7.

[45] Bisoendial RJ, Hovingh GK, de Groot E, Kastelein JJ, Lansberg PJ, Stroes ES. Measurement of subclinical atherosclerosis: beyond risk factor assessment. Curr Opin Lipidol. 2002; 13(6):595-603.

[46] Fahri R, Haluksa B, Isbel N, et al. The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events. J Am Coll Cardio. 2004; 43:616-623.

[47] Schroeder S, Enderle MD, Ossen R, Meisner C, Baumbach A, Pfohl M, Herdeg C, Oberhoff M, Haering HU, Karsch KR. Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging. Am Heart J. 1999; 138:731-9.

[48]Black MA, Cable NT, Thijssen DH, Green DJ. Importance of measuring the time course of flow-mediated dilatation in humans. Hypertension. 2008; 51(2):203-10.

[49] DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of Vitamin D. Am J Clin Nutr. 2004; 80: Suppl: 1689-1696.

[50]Henry, HL, Norman, AW. Studies on calciferol metabolism. IX. Renal 25-hydroxy-vitamin D3-1 hydroxylase. Involvement of cytochrome P-450 and other properties. J Biol Chem. 1974; 249:7529.

[51] Christakos S, Dhawan P, Benn B, Porta A, Hediger M, Oh GT, Jeung EB, Zhong Y, Ajibade D, Dhawan K, Joshi S. Vitamin D: molecular mechanism of action. Ann N Y Acad Sci. 2007; 1116:340-8.

[52] P. Lips Vitamin D physiology. Prog Biophys Mol Biol. 2006; 92: 4-8.

[53] Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. Prog Biophys Mol Biol. 2006; 92(1):39-48.

[54]Wolff AE, Jones AN, Hansen KE Vitamin D and musculoskeletal health. Nat Clin Pract Rheumatol. 2008; 4(11):580-8.

[55] Mancuso P, Rahman A, Hershey SD, Dandu L, Nibbelink KA, Simpson RU. 1,25-Dihydroxyvitamin-D3 treatment reduces cardiac hypertrophy and left ventricular diameter in spontaneously hypertensive heart failure-prone (cp/+) rats independent of changes in serum leptin. J Cardiovasc Pharmacol. 2008; 51(6):559-64.

[56] Freundlich M, Quiroz Y, Zhang Z, Zhang Y, Bravo Y, Weisinger JR, Li YC, Rodriguez-Iturbe B. Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. Kidney Int. 2008; 74(11):1394-402.

[57] McCarty MF. Poor vitamin D status may contribute to high risk for insulin resistance, obesity, and cardiovascular disease in Asian Indians. Med Hypotheses. 2009; 72(6):647-51.

[58] Ertürk S, Kutlay S, Karabulut HG, Keven K, Nergizoglu G, Ates K, Bokesoy I, Duman N. The impact of vitamin D receptor genotype on the management of anemia in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis. 2002; 40(4):816-23.

[59] www.dmi.gov.tr (devlet meteoroloji işleri genel müdürlüğü resmi internet sayfası)

[60] Atli T, Gullu S, Uysal AR, Erdogan G.The prevalence of Vitamin D deficiency and effects of ultraviolet light on Vitamin D levels in elderly Turkish population. Arch Gerontol Geriatr. 2005; 40(1):53-60.

[61]Alagöl F, Shihadeh Y, Boztepe H, Tanakol R, Yarman S, Azizlerli H, Sandalci O. Sunlight exposure and vitamin D deficiency in Turkish women. J Endocrinol Invest. 2000; 23(3):173-7.

[62] Cheng S, Coyne D. Vitamin D and outcomes in chronic kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2007;16(2):77-82.

[63] Esmon CT. The protein C pathway. Chest. 2003;124(3 Suppl):26-32.

[64] Esmon CT.The endothelial cell protein C receptor. Thromb Haemost. 2000;83(5):639-43.

[65]Dahlbäck B. Progress in the understanding of the protein C anticoagulant pathway. Int J Hematol. 2004; 79(2):109-16.

[66] Lohi O, Urban S, Freeman M. Diverse substrate recognition mechanisms for rhomboids; thrombomodulin is cleaved by Mammalian rhomboids. Curr Biol. 2004; 14(3):236-41.

[67] Iba T, Yagi Y, Kidokoro A, Fukunaga M, Fukunaga T Increased plasma levels of soluble thrombomodulin in patients with sepsis and organ failure.Surg Today. 1995;25(7):585-90.

[68] Boehme MW, Deng Y, Raeth U, Bierhaus A, Ziegler R, Stremmel W, Nawroth PP. Release of thrombomodulin from endothelial cells by concerted action of TNF-alpha and neutrophils: in vivo and in vitro studies. Immunology. 1996 ;87(1):134-40.

[69] Ohlin AK, Larsson K, Hansson M.. Soluble thrombomodulin activity and soluble thrombomodulin antigen in plasma. J Thromb Haemost. 2005; 3(5):976-82.

[70] Laszik Z, Mitro A, Taylor FB Jr, Ferrell G, Esmon GT. Human protein C reseptor is present primarily on endotelium of large bloo vessels: implications for the control of the protein C pathway. Circulation. 1997; 96: 3633-40.

[71] Esmon CT. Structure and functions of the endothelial cell protein C receptor. Crit Care Med. 2004;32: S298–301.

[72] S Kurosawa, D J Stearns-Kurosawa, N Hidari, and C T Esmon. Identification of functional endothelial protein C receptor in human plasma J Clin Invest. 1997; 100(2): 411–418.

[73] Xu J, Qu D, Esmon NL, Esmon CT. Metalloproteolytic release of endothelial cell protein C receptor in human plasma. J Biol Chem. 2000; 275: 6038-6044.

[74] Stearns-Kurosawa DJ, Burgin C, Parker D, Comp P, Kurosawa S. Bimodal distribution of soluble endothelial protein C receptor levels in healthy populations. J Thromb Haemost. 2003; 1(4):855-6.

[75]Ulu A, Gunal D, Tiras S, Egin Y, Deda G, Akar N. EPCR gene A3 haplotype and elevated soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) levels in Turkish pediatric stroke patients. Thromb Res. 2007;120(1):47-52.

[76]Corrado E, Muratori I, Tantillo R, Relationship between endothelial dysfunction, intima media thickness and cardiovascular risk factors in asymptomatic subjects. Int Angiol. 2005; 24:52-58.

[77]Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. Bone. 2002;30(5):771-7.

[78] Kull M Jr, Kallikorm R, Tamm A, Lember M. Seasonal variance of 25-(OH) vitamin D in the general population of Estonia, a Northern European country. BMC Public Health. 2009; 9:9-22.

[79]Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vítko S, Nashan B, Gürkan A, Margreiter R, Hugo C, Grinyó JM, Frei U, Vanrenterghem Y, Daloze P, Halloran PF; ELITE-Symphony Study. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. N Engl J Med. 2007; 357(25):2562-75.

[80]Blair D, Byham-Gray L, Lewis E, McCaffrey S. Prevalence of vitamin D [25(OH)D] deficiency and effects of supplementation with ergocalciferol (vitamin D2) in stage 5 chronic kidney disease patients. J Ren Nutr. 2008;18(4):375-82.

81 Sadlier DM, Magee CC. Prevalence of 25(OH) vitamin D (calcidiol) deficiency at time of renal transplantation: a prospective study. Clin Transplant. 2007;21(6):683-8.