

Romatizmal mitral darlığında fetuin-A düzeyleri ve ekokardiyografi bulguları ile ilişkisi

Fetuin-A levels in rheumatismal mitral stenosis and its relationship with echocardiographic findings

Ahmet Çelik¹, Hatice Sezen², Yusuf Sezen³, Elif Şahin¹, Sefa Çiftçi⁴, Metin Kılıncı¹

¹Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa

³Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

⁴Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Yazışma adresi: Ahmet ÇELİK, Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı 46100 Kahramanmaraş, Tel: 0533 7255222, E-mail: drahmetcelik@gmail.com

Geliş tarihi / Received: 18.06.2013

Kabul tarihi / Accepted: 10.08.2013

Özet

Amaç: Fetuin-A, dolaşımda bulunan, distrofik vasküler ve valvüler kalsifikasyon oluşumunu önleyen bir akut faz proteindir. Bu çalışmanın amacı, Romatizmal Mitral Darlığı olan hastalarda serum fetuin-A düzeylerinin sağlıklı kişilere göre ne yönde değiştiğini ve ekokardiyografi bulguları ile ilişkili olup olmadığını belirlemektir.

Materyal ve metod: Tanısı Ekokardiyografi ile konmuş, Romatizmal Mitral Darlığı olan elli hasta ve yaş ve cinsiyet karşılaştırmalı elli iki sağlıklı kişi çalışmaya dahil edildi. Her bireyin serum Fetuin-A düzeyi ELISA metodu ile ölçüldü.

Bulgular: Hastalar ile kontrol grubu arasında serum Fetuin-A düzeyleri yönünden anlamlı fark yoktu (sırasıyla 29,35±6,41 ng/mL ve 27,64±6,35 ng/mL; p=0,262). Hastalarda Ekokardiyografi ile belirlenen Wilkins kalsifikasyon skoru ile serum Fetuin-A düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulunmadı.

Sonuç: Hastaların kullanmakta oldukları antimikrobiyal ve antiinflamatuvar ilaçların etkisiyle serum Fetuin-A düzeylerinin düşmesi önlenmiş olabilir. İki boyutlu Ekokardiyografi ile değerlendirildiğinde Mitral kapaktaki kalsifikasyonun derecesi ile serum fetuin-A düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler: Fetuin-A, romatizmal kalp hastalığı, ekokardiyografi

Abstract

Background: Fetuin-A is an acute phase protein that exists in circulation and prevents the formation of dystrophic vascular and valvular calcification. The aim of this study was to determine how serum fetuin-A levels changed in Rheumatic Mitral Stenosis patients when compared to healthy control subjects and whether it was associated with echocardiographical data.

Methods: Fifty Rheumatic Mitral Stenosis patients diagnosed by echocardiography and age-sex matched fifty-two control subjects were included into the study. Serum fetuin-A level of each subject was measured by ELISA method.

Results: There was no significant difference between patients and controls in serum fetuin-A levels (respectively 27,64±6,35 ng/mL and 29,35±6,41 ng/mL; p=0,262). In addition, no significant correlation was found between Wilkins calcification score determined by echocardiography and serum fetuin-A levels in patients.

Conclusions: Decrease of serum fetuin-A levels might have been inhibited due to the usage of antimicrobial and antiinflammatory drugs of patients. A significant relationship wasn't found when serum fetuin-A levels and calcification in the mitral valve determined by ecocardiographic data were correlated in these patients.

Key words: Fetuin-A, rheumatismal heart disease, echocardiography

Giriş

Fetuin-A, 59 kDa molekül ağırlığında, esas olarak karaciğerde hepatositler tarafından sentezlenen bir akut faz glikoproteindir (1). Kalsifikasyon regülasyonunda dolaşımdaki en önemli ve majör proteindir. Birçok dejeneratif hastalığın sık görülen bir komplikasyonu olan ektopik kalsifikasyonun dolaşımdaki önemli bir inhibitörüdür. Bu etkisini dolaşımda solübl kolloidal mikrosfer olan fetuin-kalsiyum-fosfat kompleksi oluşturarak gösterir (2,3).

Akut Romatizmal Ateşin (ARA) bir komplikasyonu olan Romatizmal Kalp Hastalığı (RKKH) özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde daha fazla olmak üzere tüm dünyada yaygındır ve en azından 15 milyon kişinin RKKH'dan etkilendiği bildirilmektedir (5). Gelişmekte olan ülkelerde RKKH, kapak dejenerasyonunun daha sık görülen sebebidir. Romatizmal Mitral Darlığının (RMD) prevalansı da en sık olarak gelişmekte olan ülkelerde olmakla birlikte gelişmiş ülkelerde de gittikçe artmaktadır. Her ARA geçiren hastada kardiyak tutulum olmazken hastaların bazılarında hızlı bir ilerleme, kapakçıklarda yoğun fibrozis ve kalsifikasyon olmakta ve tedavi için cerrahi uygulama gerekli olabilmektedir (6,7).

Ekokardiografi kapak dejenerasyonunu değerlendirmekte kullanılan önemli bir laboratuvar uygulamasıdır (8). Serum Fetuin-A (SFA) düzeyinin enfeksiyon ve inflamasyon etkisiyle düştüğü bilinmektedir (2,3). Ayrıca RKKH'da inflamasyon belirteçlerinin arttığı ve kapak dejenerasyonunun inflamasyonun şiddeti ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (9,10).

Bizim hipotezimiz RMD hastalarında SFA düzeylerinin düşük olduğu ve SFA düzeylerinin mitral kapaktaki kalsifikasyon derecesi ile ilişkili olduğudur. Bu amaçla, RMD olan hastalarda SFA düzeyleri değerlendirilmiş ve ekokardiografi bulguları ile SFA düzeyi arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır.

Materyal ve metot

Bu çalışma için Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan yazılı izin alındı (Tarih:04.04.2013 Karar no:2013/06-9). Çalışma popülasyonu Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Kardiyoloji polikliniğine başvuran ve RMD tanısı konulan 50 (32 bayan, 18 erkek; yaş: 34,0±9,3 yıl) hasta (RMD Grubu) ve benzer yaş ve cinsiyet özellikleri taşıyan, sağlıklı 52 gönüllü (35 bayan, 17 erkek; ortalama yaş: 35,4±5,9 yıl) kişiden (Kontrol Grubu) oluşturuldu. Tüm bireylerden çalışmaya katılmayı kabul ettiklerine dair onay formu alındı.

Son 1 ay içerisinde geçirilmiş akut koroner sendrom, kronik böbrek yetersizliği, kanser hastaları ve aşikar koroner arter hastaları SFA düzeyini etkileyeceğinden çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu öykü ve fizik muayenesinde herhangi bir patoloji olmayan ve ilaç kullanmayan sağlıklı kişilerden oluşturuldu.

Hastalardan ve kontrollerden 12 saatlik açlık sonrası antekübital venden 5 cc venöz kan örneği düz tüpe alındıktan sonra yaklaşık yarım saat oda sıcaklığında dinlenmeye bırakıldı. Daha sonra 2500 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serum kısmı ayrıldı. Serum örnekleri biyokimyasal çalışmalar için -80 °C'de saklandı. Biyokimyasal çalışmalar tüm serum örnekleri için aynı seansta yapıldı.

Fetuin-A ölçümü

SFA düzeyi, BioVendor marka ticari kit (BioVendor Inc. Czech Republic) ile, otomatik yıkayıcı ve okuyucu kullanılarak, ELISA metoduyla çalışıldı. Ölçüm aralığı: 2-100 ng/mL, Limit of Detection= 0.104 ng/mL, ölçüm içi CV= 2.9%, ölçümler arası CV= 4.7% idi. Tüm örnekler çift olarak çalışıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Ekokardiyografik inceleme

Sol lateral dekübit pozisyonunda Aloka marka (Aloka SSD 5000 ultrasound, Aloka Inc., Tokyo, Japan) ekokardiyografi cihazı ile 2.5 MHz transdüser kullanılarak, parasternal uzun ve kısa aks ve apikal 2, 4, 5 boşluk görüntülerden yapıldı. Ekokardiyografik ölçümler Amerikan Ekokardiyografi Derneği'nin önerdiği kriterler temel alınarak yapıldı (8).

Hastalara sırasıyla M-mod ekokardiyografik, iki boyutlu ekokardiyografik, PW, CW Doppler ve renkli Doppler ekokardiyografik değerlendirilmeler yapıldı. Wilkins kapak skorunun kalsifikasyon skalasına göre kalsifikasyon varlığı aşağıdaki gibi tanımlandı (11).

Yaprakçık alanlarında parlaklık artışının hiç olmadığını tanımlamak için ise 0 kullanıldı.

0. Kalsifikasyon ya da parlaklık yok

1. Tek bir bölgede ekokardiyografik parlaklık artışı
2. Yaprakçık kenarlarına sınırlı dağılık parlaklık alanları
3. Parlaklık yaprakçıkların orta kısımlarına yayılıyor
4. Yaprakçık dokusunun büyük kısmında yaygın parlaklık

İstatistiksel analizler

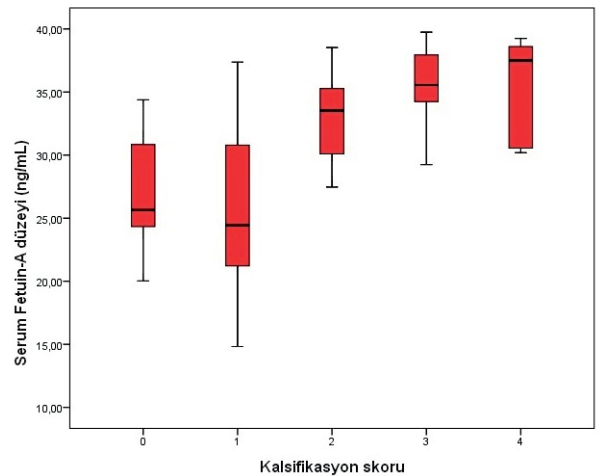
Bunun için SPSS 15,0 programı kullanıldı ve p 0,05'in altındaki değerler anlamlı kabul edildi. Kolmogorov Smirnov Testi ile dağılımları düzenli görülen sayısal veriler independent student testi ile karşılaştırıldı ve ortalama±standart

sapma (mean±SD) olarak verildi. Kategorik değişkenler ise ki kare testi ile değerlendirildikten sonra yüzde olarak verildi. Fetuin-A ile ilişkili faktörler Pearson ve Spearman korelasyon analizi ile araştırıldı.

Bulgular

RMD ve kontrol grubundaki hastalara ait antropometrik, ekokardiyografik ve biyokimyasal bilgiler tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, nabız arteriyel, sistolik ve diastolik kan basıncı, body-mass indeksi, sigara içimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$; Tablo 1). ASA (Asetil Salisilik Asit), Diüretik, Beta bloker, CCB (Kalsiyum kanal blokeri), ACEİ (Angiotensin Converting Enzim inhibitörü), Digoxin, Coumadin ve Penisilin kullanımı ve ekokardiyografik Wilkins skorları hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı olarak farklıydı (hepsi için $p<0,05$; Tablo 1).

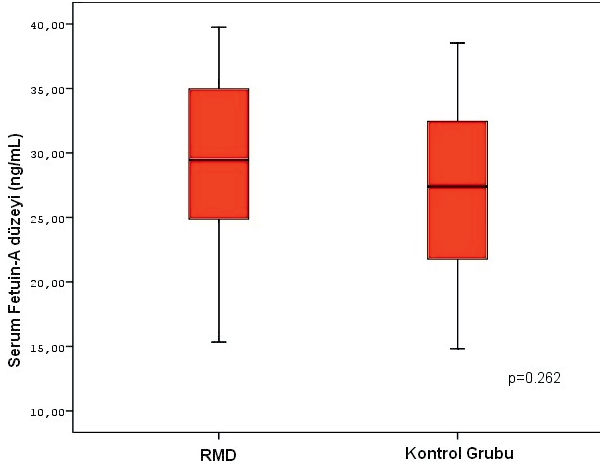
Gruplar SFA düzeyi yönünden karşılaştırıldığında ortalama SFA düzeylerinde hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla $29,35\pm 6,41$ ng/mL ve $27,64\pm 6,35$ ng/mL; $p=0,262$); (Tablo 1, Şekil 1).



Şekil 2: RMD hastalarında SFA düzeyinin Wilkins kalsifikasyon skoruna göre değişimi

RMD Grubu, ekokardiyografik değerlendirme ile kapak kalsifikasyon düzeyine göre alt gruplara ayrıldı ve SFA düzeyleri karşılaştırıldı. SFA

düzeyinin alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği ve Wilkins kalsifikasyon skoru en fazla olan grupta daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p>0,05$), (Şekil 2).



Şekil 1: Serum Fetuin-A düzeyinin RMD hastaları ve kontrol grubu arasındaki değişimi

Ayrıca Wilkins Skoru ile SFA düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

Tartışma

Bu çalışmanın en önemli sonucu Romatizmal Mitral darlığında Fetuin-A seviyelerinde istatistiksel fark olmadığı ve bunun yanında alt grup analizinde serum Fetuin A düzeyi ile kapak kalsifikasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığıdır.

Birçok dejeneratif hastalığın bir komplikasyonu olan ektopik kalsifikasyonun oluşumunu dolaşımda solübl koloidal mikrosfer olan fetuin-kalsiyum-fosfat kompleksi oluşturarak azalttığı gösterilen (2, 3). Fetuin A'nın düşük düzeyleri Kronik Böbrek Yetmezliği, Karaciğer kanseri ve sirozu olan hastalarda valvüler kalsifikasyon, aterosklerozis, malnütrisyon ve yüksek kardiyovasküler mortalite ile ilişkisi gösterilmiştir (2-4). Ancak bu çalışmalar fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalardır (12).

RMD'nda SFA düzeyini değerlendiren tek çalışmayı yapmış olan Çağlı ve ark. tedavi için cerrahi operasyon kararı verilen ciddi mitral darlık hastalarında SFA'yı belirgin olarak düşük

bulmuşlar ve bunun kalsiyum skorunun belirleyicisi olduğunu bildirmişlerdir (13). Aynı çalışmada mitral kapak kalsiyum miktarı ile SFA arasında negatif ilişki bulunsa da Wilkins skoru ile ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da Wilkins kalsifikasyon skoru ile bakılan kapak kalsifikasyonu derecesi ile SFA düzeyi arasında anlamlı negatif ya da pozitif bir ilişki gösterilemedi. Çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada sadece opere edilecek hastaların alınmış olması sonuçların farklı oluşunun nedeni olabilir. Ekokardiyografik değerlendirmede kapak kalsifikasyonu 2 boyutlu olarak görülmektedir ve bu şekilde net kalsiyum miktarı hakkında bir fikir edinilemez. Bu yüzden SFA ile 2 boyutlu olarak değerlendirilen Wilkins skoru arasında ilişki bulunamamış olabilir. Ayrıca Çağlı ve ark.'nın çalışmasında kontrol grubu ile RKH'nın yaş ortalamaları istatistiksel olarak benzer olsa da kontrol grubunun yaş ortalaması daha küçüktür (13). Hâlbuki bizim çalışmamızda yaş istatistiksel olarak benzeşse de Kontrol grubunun yaş ortalaması RKH grubununkinden daha büyüktür. Yaş arttıkça vasküler kalsifikasyon da dâhil tüm distrofik kalsifikasyonlar artmaktadır (14).

Çalışmamızda RMD grubunda Penisilin, CCB, ASA, Diüretik ve Beta bloker kullanımı Kontrol grubundan anlamlı olarak farklı idi. Bu medikasyonların da Fetuin Üzerinde bir etkileri olmuş olabilir. Ancak literatürde ilaçların fetuin düzeyleri üzerine etkilerine dair çalışmaya rastlanmamıştır. Enfeksiyon ve inflamasyonun SFA düzeyinin düşmesine neden olduğu göz önüne alınırsa, Penisilin, ASA gibi antibiyotik ve antiinflamatuvar ajanların SFA düzeyinin düşmesini önlemiş olabileceği düşünülebilir. Çağlı ve ark. SFA ile hsCRP arasında, Afşar ve ark. ise SFA ile WBC arasında anlamlı negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (13,14).

Romatizmal kapak hastalığı dışındaki kapak kalsifikasyonu ile SFA arasındaki ilişkiyi araştıran

birçok çalışma mevcuttur. Bunlardan bir kısmında SFA düşük bulunmuştur. Mitral annüler kalsifikasyonla (MAK) ilgili yapılan bir çalışmada ters ilişki bulunmuş, aynı çalışmada nondiyabetik hastalarda ters ilişki var iken diyabetik hastalarda anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (15). Afsar ve ark. tarafından yapılan çalışmada MAK'da SFA'nın düşük olduğu gösterilmiştir (14). Kaden ve ark çalışmalarında kalsiyum hemostazının ve fetuin-A'nın kalsifik aort stenozunun patogenezinde rolü olduğunu göstermişlerdir (16). Periton diyalizi ve Hemodiyaliz hastalarında ayrı ayrı yapılan çalışmalarda SFA, kontrollerden anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Ayrıca hemodiyaliz hastaları arasında en düşük SFA düzeylerinin en yüksek kalsiyum skoruna sahip hastalar da bulunduğu, SFA'nın koroner ve valvüler kalsifikasyon varlığında anlamlı düşük olduğu ve inflamasyonla ters yönde ilişkili olduğu bildirilmiştir (17, 18).

Bununla birlikte Adamczyk ve ark. orta ve ciddi dejeneratif aort darlığı hastalarının ne kendi içinde ne de kontrollere göre SFA düzeyi yönünden farklı olmadığını rapor etmişlerdir (19). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde SFA düzeyi yönünden RMD hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada RMD hastalarında SFA düzeylerinin sağlıklı kişilerdekinden farklı olmadığı ve bu hastalarda Ekokardiografi ile Wilkins skoru ölçülerek değerlendirilen kalsifikasyonun derecesi ile SFA düzeyi arasında bir ilişkinin olmadığı bulunmuştur.

Çalışmanın limitasyonları arasında, hastaların kullandığı ilaçların sonuçları etkilemiş olabileceği, hastalarda inflamasyonun ve SFA düzeylerine etkisinin değerlendirilmemiş olması, kalsifikasyonun 2 boyutlu ekokardiyografi ile değerlendirilmiş olması ve bu şekilde net kalsiyum miktarının bilinmemesi sayılabilir.

Tablo 1 . Çalışmaya alınan olguların genel demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar bulguları ve kullandıkları ilaçlar

Değişken	RKH Grubu n=50	Kontrol Grubu n=52	P değeri
Yaş, (yıl)	34,0±9,3	35,4±5,9	0,1022
Cinsiyet, (erkek/kadın)	32/18	35/17	0,1140
Nabız arteriel, (atım/dakika)	81±17	75±14	0,0740
Sistolik Kan Basıncı, (mmHg)	121±21	118±21	0,0870
Diyastolik Kan Basıncı, (mmHg)	79±14	76±13	0,0620
Vücut-Kitle indeksi	28,3±4,5	28,2±4,3	0,9550
Kalsifikasyon	0	10	33,3
	1	3,3	66,7
	2	36,7	0
	3	30	0
	4	20	0
Sigara kullanımı, (+)	10	40	0,0700
Asetilsalisilik asit kullanımı, (+)	50	3,3	<0,0001
Betablocker kullanımı, (+)	43,3	6,6	0,0010
Digoxin kullanımı, (+)	3	0	0,3130
Diüretik kullanımı, (+)	53,3	6,7	0,0001
Coumadin kullanımı, (+)	3	0	0,3130
Kalsiyum kanal blokleri kullanımı, (+)	13,3	0	0,0380
ACE/ARB kullanımı, (+)	16,7	3	0,8500
Pensilin kullanımı, (+)	18	3	0,0210
Serum Fetuin düzeyi, (µg/mL)	29.35±6.41	27.64±6.35	0.2620

Cinsiyet dağılımı, sigara kullanımı ve kullanılan ilaçlar % olarak, diğer parametreler ortalama

± standart sapma olarak verildi. P değeri cinsiyet dağılımı, sigara ve ilaçlar kullanımı için ki -
kare testi ve diğerleri için independent sample t testi ile hesaplandı. P değeri 0,05'in al tında
anlamli kabul edildi. Kısaltmalar: ACEİ/ARB: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü -
Anjiyotensin reseptör blokleri.

Yazarlarla ilgili bildirilmesi gereken konular (Conflict of interest statement) : Yok (None)

Kaynaklar

- 1) Arnaud P, Kalabay L. Alpha2-HS glycoprotein: a protein in search of a function. *Diabetes Metab Res Rev.* 2002; 18(4): 311-4.
- 2) Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, et al. J. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet.* 2003; 361(9360): 827-33.
- 3) Reynolds JL, Skepper JN, McNair R, 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.
- 4) Schafer C, Heiss A, Schwarz A, et al. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest.* 2003; 112(3): 357-66.
- 5) Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. (et al). The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5(11): 685-94.
- 6) Pedrazzini GB, Faletta F, Vassalli G, et al. Mitral

- regurgitation. *Swiss Med Wkly.* 2010; 140(3-4): 36-43.
- 7) Chandrashekar Y, Westaby S, Narula J. Mitral stenosis. *Lancet.* 2009; 374: 1271-83.
- 8) Schiller NB, Shah PM, Crawford M, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr.* 1989; 2: 358-67.
- 9) Ali SK, Eldaim IN, Osman SH, et al. Clinical and echocardiographic features of children with rheumatic heart disease and their serum cytokine profile. *Pan Afr Med J.* 2012; 13:36.
- 10) Davutoglu V, Celik A, Aksoy M. Contribution of selected serum inflammatory mediators to the progression of chronic rheumatic valve disease, subsequent valve calcification and NYHA functional class. *J Heart Valve Dis.* 2005; 14(2): 251-6.
- 11) Wilkins GT, Weyman AE, Abascal VM, et al. Percutaneous balloon dilatation of the mitral valve: an

- analysis of echocardiographic variables related to outcome and the mechanism of dilatation. *Br Heart J.* 1988; 60(4): 299.
- 12) Price PA, Lim JE. The inhibition of calcium phosphate precipitation by fetuin is accompanied by the formation of a fetuin-mineral complex. *J Biol Chem.* 2003; 278(24): 22144-52.
- 13) Cagli K, Basar N, Cagli K, et al. Association of serum fetuin-A with valvular calcium concentration in rheumatic mitral valve disease. *J Heart Valve Dis.* 2010; 19(5): 636-43.
- 14) Afsar CU, Uzun H, Yurdakul S, et al. Association of serum fetuin-A levels with heart valve calcification and other biomarkers of inflammation among persons with acute coronary syndrome. *Clin Invest Med.* 2012; 35(4): 206-15.
- 15) Ix JH, Chertow GM, Shlipak MG, et al. Association of fetuin-A with mitral annular calcification and aortic stenosis among persons with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Circulation.* 2007; 115(19): 2533-9.

16) Kaden JJ, Reinöhl JO, Blesch B, et al. Systemic and local levels of fetuin-A in calcific aortic valve stenosis. *Int J Mol Med.* 2007; 20(2): 193-7.

17) Wang AY, Woo J, Lam CW, et al. Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and

outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20(8): 1676-85.

18) El-Shehaby AM, Zakaria A, El-Khatib M, et al. Association of fetuin-A and cardiac calcification and inflammation levels in hemodialysis patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010; 70(8): 575-82.

19) Adamczyk T, Mizia-Steć K, Mizia M, et al. Biomarkers of calcification and atherosclerosis in patients with degenerative aortic stenosis in relation to concomitant coronary artery disease. *Pol Arch Med Wewn.* 2012; 122(1-2): 14-21.