

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZİ OLAN HASTALARDA TROMBOSİT
KÜMELEŞMESİ ÜZERİNE LEPTİN HORMONUNUN ETKİSİ**

Uz. Dr. Serkan Bakırdöğen

Nefroloji Bilim Dalı Yan Dal Uzmanlık Tezi

KOCAELİ – 2012

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZİ OLAN HASTALARDA TROMBOSİT
KÜMELEŞMESİ ÜZERİNE LEPTİN HORMONUNUN ETKİSİ**

Uz. Dr. Serkan Bakırdöğen

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet Yılmaz

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Ahmet Yılmaz

Araştırma Türü: Klinik
Proje No: 2011/64
Karar No: 7/2
Onay Tarihi: 27/06/2011

KOCAELİ - 2012

TEŞEKKÜR

Nefroloji yan dal asistanlığım süresince yetişmemde büyük emeği olan, bilgi, deneyim ve derin hoşgörüsünden faydalandığım değerli hocam, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Nefroloji Bilim Dalı Başkanı sayın Prof.Dr. Ahmet Yılmaz'a,

Bilgili, deneyimli ve hoşgörülü kişilikleri ile bizlere örnek olan ve bilimsel konularda kendilerinden sürekli ilgi ve destek gördüğümüz, nefroloji kliniğimizin değerli hocaları olan Prof.Dr. İtir Yeğenağa, Prof.Dr. Betül Kalender Gönüllü ve Doç.Dr. Erkan Dervişoğlu'na,

Aynı klinikte birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili uzman doktor arkadaşlarım Necmi Eren, Sibel Gökçay Bek, Sara Yamaner ve Mehmet Tuncay'a,

Birlikte çalışma yapmaktan mutluluk duyduğum, tez çalışmamın laboratuvarında hayata geçirilmesi sürecindeki aktif ve sürekli desteğinden dolayı Biyokimya Bilim Dalında görevli değerli hocam Doç.Dr. Mustafa Baki Çekmen'e,

Tez çalışmam süresince gösterdikleri çaba ve özveri nedeniyle biyokimya laboratuvarında araştırma görevlisi Dr. Ümit Bilgili ve laborant İlknur Çağlar ile Hematoloji Bilim Dalında araştırma görevlisi Uzm. Dr. Özgür Mehtap'a,

Hemodiyaliz sekreterimiz İlyas Yazıcı'ya, periton diyaliz polikliniğinde özverili çalışmaları ile tezime katkıda bulunan hemşirelerimiz Öznur Sarı Uluyol'a ve Merve Uslu'ya,

Üniversite hastanemizde gerçekleştirilen böbrek nakillerinde nefroloji kliniğimiz ile birlikte emeği geçen üroloji kliniğinin değerli hocalarına ve araştırma görevlilerine,

Böbrek biyopsi materyallerinin mikroskop altındaki histopatolojik tanılarını öğrenebilmemizdeki sabrı ve gayretinden dolayı Patoloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Kürşat Yıldız'a,

Beni yetiştiren aileme,

Hayat arkadaşım, sevgili eşim ve çocuklarımla annesi Burcu'ya,

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürler...

Dr. Serkan BAKIRDÖĞEN

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Tablolar Dizini	vi
Şekiller Dizini	vii
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı	3
2.2. Kronik Böbrek Yetmezliği	6
2.3. Böbrek Yerine Koyma Tedavileri	6
2.3.1. Hemodiyaliz	6
2.3.2. Periton Diyalizi	7
2.3.3. Böbrek Transplantasyonu	7
2.4. Hemostaz	8
2.4.1. Trombosit Tıkaç Oluşumu	8
2.4.2. Pıhtılaşma Proteinleri	9
2.4.3. Antitrombotik Mekanizmalar	9
2.4.4. Fibrin Eritici Sistem	10
2.5. Üremi ve Kanamaya Eğilim	11
2.5.1. Üremi ve Trombosit Sayısı	12
2.6. Trombosit İşlevini Ölçen Testler	12
3. Gereç ve Yöntem	14
3.1. Denekler ve Yöntemler	14
3.2. Trombosit İşlev Ölçümleri	15
3.2.1. Trombosit Kümeleşmesini Ölçen Cihaz	15
3.2.2. Trombosit Kümeleşmesini Ölçen Cihaz ile Yapılabilen Testler	15
3.2.3. Deneyde Kullanılan Çözelti ve Kimyasallar	16
3.2.4. Trombosit Kümeleşmesini Ölçen Cihazın Özellikleri	17
3.2.5. Çalışmanın İşleyişi	18
3.2.6. Test Sonuçları	19
3.3. Artık Böbrek İşlevi, Diyaliz Yeterliliği ve Ultrafiltrasyonun Değerlendirilmesi	19

3.3.1. Klirens Ölçümü	19
3.3.1.1. Kt/V'nin Ölçümü	20
3.3.1.2. Kreatinin Klirensi Ölçümü	20
3.3.2. Peritoneal Eşitleme Testi (PET)	20
3.3.3. Artık Böbrek İşlevi	21
3.4. İstatistik	21
4. Bulgular	22
5. Tartışma	31
6. Sonuçlar ve Öneriler	40
7. Özet	41
8. Abstract	43
9. Kaynaklar	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADP: Adenozin difosfat

APD: Otomatik Periton Diyalizi

ATP: Adenozin trifosfat

AU: Kümeleşme birimi

AUC: Eğri altındaki alan

BSA: Vücut yüzey alanı

Cox: Siklooksijenaz

C1: 1.test hücresi

C2: 2.test hücresi

C3: 3.test hücresi

C4: 4.test hücresi

db/db: Leptin reseptör mutasyonu

FeCl₃: Demir klorür

GFR: Glomerul filtrasyon hızı

GP: glikoprotein

HD: Hemodiyaliz

kDa: kilodalton

KDOQI: Böbrek Hastalığı Kalite Önceliği

ml/dk: mililitre/dakika

n: olgu sayısı

ng/ml: nanogram/mililitre

NO: Nitrik oksit

ob/ob: Leptin gen mutasyonu

Ob-R: Leptin reseptörü

Ob-Ra: Değişebilen kısa eki olan leptin reseptörü

Ob-Rb: Değişebilen uzun eki olan leptin reseptörü

PD: Periton diyalizi

PET: Peritoneal eşitleme testi

PPP: Trombositten fakir plazma

PRP: Trombositten zengin plazma

SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği

USA: Amerika Birleşik Devletleri

VKi: Vücut kitle indeksi



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kronik böbrek hastalığının evreleri	3
Tablo 2. Kronik böbrek hastalığı için risk faktörleri ve onun sonuçları	5
Tablo 3. Kronik böbrek hastalığının evrelerine göre klinik etkinlik planı	5
Tablo 4. Periton diyalizi hastalarında artık böbrek işlevi, diyaliz türü ve KBH nedenleri	22
Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri ve biyokimya bulguları	23
Tablo 6. Periton diyalizi hastalarında test hücrelerinden elde edilen ortalama değerler	24
Tablo 7. Periton diyalizi hastalarında test hücrelerinin karşılaştırılması	26
Tablo 8. Kontrol grubunda test hücrelerinden elde edilen ortalama değerler	26
Tablo 9. Kontrol grubunda test hücrelerinin karşılaştırılması	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kümeleşme-zaman grafiği	19
Şekil 2. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi AUC (eğri altındaki alan) ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	28
Şekil 3. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi kümeleşme ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	28
Şekil 4. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi ivme hızı ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	29
Şekil 5. Kontrol grubunun 1.ve 2. test hücresi AUC (eğri altındaki alan) ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	29
Şekil 6. Kontrol grubunun 1.ve 2. test hücresi kümeleşme ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	30
Şekil 7. Kontrol grubunun 1.ve 2. test hücresi ivme hızı ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği	30

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Leptin, adipositlerden sentez edilen 16-kDa ağırlığında protein yapısında bir hormondur. Günümüze kadar yapılan deneysel çalışmalarda leptinin, organizmanın besin alımını ve enerji harcamasını düzenlediği gösterilmiştir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda artmış serum leptin düzeylerinin beslenme durumunun bir belirteci olduğu gösterilmiştir (17). Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda kronik inflamasyon, azalmış glomerüler filtrasyon hızı ve insülin direncindeki artışa bağlı olarak serum leptin düzeyleri artmıştır (18). M.P. Fontan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, periton diyalizi olan hastalardaki serum leptin seviyesi, hem hemodiyalize giren hem de henüz diyalize girmeyen evre 5 kronik böbrek hastalığı olan hastalarından daha yüksek bulunmuştur (19).

Leptin adipositlerden sentez edilir ve obez hastaların çoğunda plazma leptin seviyeleri yüksek bulunur. Leptin hormonu, sodyumun böbrek tubuluslarından atılmasını azaltmakta, sempatik sinir sisteminin aktivitesini ve vasküler tonusu artırmakta, sol ventrikül hipertrofisi ve kalp yetmezliğine yol açabilmekte, nefronlarda mezangial hücre artışı ve hipertrofisi ile glomeruloskleroza da neden olabilmektedir (20,21,22,23). Bu durum da ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon ve böbrek hastalığı riskini artırır. Bu tespit bize kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde leptin hormonunun da etkili olabileceğini göstermektedir (24). Leptinin hücre membranında bağlandığı reseptör (Ob-R), klass 1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir (25). Yapılan araştırmalar, Ob-R'nin hematopoetik öncü hücrelerdeki varlığını ve bu hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasındaki etkisini ortaya koymuştur. Bir megakaryoblast hücre serisinde Ob-Ra (değişebilen kısa eki olan leptin reseptörü) ve Ob-Rb (değişebilen uzun eki olan leptin reseptörü) bulunması üzerine trombosit işlevleri ile leptin arasındaki ilişki araştırılmıştır. M. Nakata ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, trombositlerde de leptin reseptörünün bulunduğu gösterilmiş ve leptinin trombosit aglütinasyonunu artırdığı saptanmıştır (26).

Bu tezi yapmaktaki amacımız, eldeki somut bulgulardan yola çıkarak periton diyalizi yapan hastalarda serum leptin seviyesi ile trombosit kümeleşmesi arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Araştırmamızın dayanak noktaları şunlardır:

a) Leptin hormonunun trombosit kümeleşmesini artırdığı bazı hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir.

b) Arteriyel tromboz gelişiminde trombosit kümeleşmesinin önemi bilinmektedir (akut miyokard infarktüsü ve iskemik inmenin tedavi ve önlenmesinde antiplatelet ilaçlar kullanılır).

c) Kronik böbrek yetmezliğinde kardiyovasküler hastalıklar ve onların yol açtığı istenmeyen olaylar (miyokard infarktüsü, inme) en önemli mortalite ve morbidite nedenidir.

d) Kronik böbrek hastalarının serumlarındaki leptin seviyesi normal popülasyona göre yüksek saptanmıştır. Periton diyalizi olan hastaların serumlarındaki leptin seviyesi, hem hemodiyaliz yapılan hem de henüz diyalize girmeyen evre 5 kronik böbrek hastalarınınkinden daha yüksek bulunmuştur.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI

Kronik böbrek hastalığı (KBH), 3 aydan daha uzun süren böbrek hasarı ya da glomerul filtrasyon hızının (GFR) $<60 \text{ ml/dk/1,73m}^2$ olmasıdır (1). Bu tanımdan anlaşılacağı üzere, GFR normal bile olsa, 3 aydan daha uzun süren mevcut böbrek hasarı bulguları ya da böbrek hasar bulguları olmaksızın 3 aydan daha uzun süreli GFR değerinin $<60 \text{ ml/dk/1,73m}^2$ olması kronik böbrek hastalığı tanısını koydurur. Sebati eden proteinüri veya albüminüri, idrar sedimenti anormallikleri (tubulus hücreleri, silendirler), görüntüleme yöntemleri ile saptanan anormal bulgular (hidronefroz, böbrek boyutunda asimetri, polikistik böbrek hastalığı, küçük ve ekojenitesi artmış böbrekler), kan ve idrar biyokimyasındaki bozukluklar (azotemi, hiperürisemi, renal tubuler asidoz) ve böbrek biyopsisi ile elde edilen histopatolojik bulgular (tubulus atrofisi, glomeruloskleroz) böbrek hasarını gösterir. Böbrek transplantasyonu öyküsünün bulunması da bir böbrek hasarı olarak kabul edilir ve işlev gören nakil böbreği olan hastalar, böbrek hasarının diğer belirteçleri ya da glomerul filtrasyon hızının seviyesine bakılmaksızın kronik böbrek hastası olarak kabul edilir (1).

2002 yılında yayınlanan Böbrek Hastalığı Sonuçları Kalite Önceliği (KDOQI) rehberleri kronik böbrek hastalığını 5 evrede sınıflandırmıştır (5). Bu sınıflandırma 2008 yılında National Institute of Health and Clinical Excellence (NICE) tarafından değiştirilmiştir (4) (Tablo 1):

Tablo 1. Kronik Böbrek Hastalığının Evreleri

Evre	GFR ml/dl/1,73m ²	Tanımlamalar
1	≥ 90	Mikroalbüminüri, proteinüri, hematüri ve radyolojik veya histolojik değişikliklerle yansıtılan bazı böbrek hasarlarıyla birlikte bulunan normal veya artmış GFR'li evre
2	60-89	Mikroalbüminüri, proteinüri, hematüri ve radyolojik veya histolojik değişikliklerle yansıtılan bazı böbrek hasarlarıyla birlikte bulunan hafif derecede düşük GFR'li evre
3A	45-59	GFR'de orta derece düşmenin olduğu evre
3B	30-44	
4	15-29	GFR'de ileri derece düşmenin olduğu evre
5	< 15	Son dönem böbrek yetmezliği

Bu evrelemede, klinik proteinüri veya (makro)albüminüri varlığını göstermek için (p) eki kullanılır. Ortalama albümin/kreatinin oranının 30 mg/mmol veya üzerinde (kullanılan yöntemeye göre), protein/kreatinin oranının da 20-50 mg/mmol veya üzerinde olması proteinürinin (p) var olduğunu gösterir. Bu değerler yaklaşık 24 saatlik idrardaki protein atılımının 0,3 gram veya üzerinde olmasına karşılık gelir (4).

Kronik böbrek hastalığı genellikle asemptomatiktir; ve hastalığa özgü semptomlar bulunmadığından, kronik böbrek hastaları sıklıkla ya tanınamazlar ya da hastalığın geç evrelerinde tanı alırlar. Hastalığı saptamamıza yarayan testler hem basit hem de yaygın olarak kullanılmaktadır. Kanıtlar göstermektedir ki, tedavi ile kronik böbrek hastalığının ilerlemesi önlenabilir; ya da geciktirilebilir; komplikasyonların gelişimi önlenabilir ya da durdurulabilir ve kardiyovasküler hastalığın riski azaltılabilir (4).

Erişkinlerde glomerul filtrasyon hızının $<60\text{ml/dk}/1,73\text{m}^2$ olması, normal böbrek fonksiyonlarının en az yarısının kaybedildiği anlamına gelir. Glomeruler filtrasyon hızının normal düzeyi yaş, cinsiyet ve vücut ölçüsüne göre değişkenlik gösterir. Genç bir erişkin için glomeruler filtrasyon hızının normal değeri $120\text{-}130\text{ml/dk}/1,73\text{m}^2$ arasındadır ve 3. dekatdan sonra her yıl için ortalama $1\text{ml/dk}/1,73\text{m}^2$ azalır (1).

Kronik böbrek hastalığı ve onun yol açtığı sonuçlar için 4 çeşit risk faktörü tanımlanmıştır (1) (Tablo 2):

Tablo 2. Kronik Böbrek Hastalığı için Risk Faktörleri ve Onun Sonuçları

Risk faktörleri	Tanım	Örnekler
Duyarlaştırıcı Faktörler	Böbrek hasarı ya da hasta eğitimi için duyarlılığı artırır	İleri yaş, ailevi kronik böbrek hastalığı öyküsü, böbrek kitlesinin azalması, düşük doğum ağırlığı, ırksal veya etnik azınlık durumu, düşük gelir
Başlatıcı Faktörler	Doğrudan böbrek hasarını başlatırlar	Diyabet, yüksek kan basıncı, otoimmün hastalıklar, sistemik enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, ürolityazis, alt idrar yolu obstrüksiyonu, ilaç toksisitesi
İlerletici Faktörler	Böbrek hasarının kötüleşmesine ve böbrek işlevinde daha hızlı düşmeye neden olurlar	Yüksek düzeyde proteinüri, yüksek kan basıncı, diyabetiklerde kötü glisemik kontrol, sigara içiciliği
Son Dönem Faktörleri	Böbrek yetmezliğinde morbidite ve mortaliteyi artırır	Düşük diyaliz dozu (Kt/V), geçici damarsal erişim, anemi, hipoalbuminemi, nefroloğa geç sevk edilme

Her bir hasta için, hastalıklarının evresini temel alan ve Böbrek Hastalığı Sonuçları Kalite Önceliği sınıflandırması ile tanımlanan bir klinik yaklaşım planı geliştirilmelidir (Tablo 3) (5):

Tablo 3. Kronik Böbrek Hastalığının Evrelerine Göre Klinik Etkinlik Planı

Evre	GFR (ml/dk/1,73 m ²)	Yapılması Gerekenler
1	> 90	Hastalığın tanı ve tedavisi ile ilerlemesinin yavaşlatılması, komorbid durumların tedavisi, kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılması
2	60-89	Hastalığın ilerlemesinin ölçülmesi
3	30-59	Komplikasyonların değerlendirilmesi ve tedavisi
4	15-29	Böbrek yerine koyma tedavisine hazırlık yapılması
5	< 15	Böbrek yerine koyma tedavisi (üreminin belirtileri varsa diyaliz veya transplantasyon)

2.2 KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Glomerul filtrasyon hızının $<15\text{ml/dk}/1,73\text{m}^2$ olması ya da azalmış GFR'nin komplikasyonları için böbrek yerine koyma tedavisinin (diyaliz veya transplantasyon) başlatılmasının gerekli olduğu klinik tanıdır (5).

Üreminin semptomları gelişen bazı hastalarda, glomerul filtrasyon hızları $>15\text{ ml/dk}/1,73\text{m}^2$ olmasına rağmen diyaliz ya da transplantasyona ihtiyaç duyulabilir. Son dönem böbrek yetmezliği, glomerul filtrasyon hızına bakılmaksızın diyaliz ya da transplantasyon ile tedavi edilen hastaları kapsamaktadır (5).

2.3 BÖBREK YERİNE KOYMA TEDAVİLERİ

GFR'de ileri derecede azalmanın semptom ve bulguları üremi ya da üremik sendrom olarak bilinir. Böbrek yerine koyma tedavileri (diyaliz veya transplantasyon), kronik böbrek hastalığının nedenine bakılmaksızın, üreminin en ciddi bulgularını düzeltmede etkilidir. KBH olan hastalarda, GFR $<30\text{ml/dk}$ olduğunda böbrek yerine koyma tedavileri için hazırlık yapılması önerilir. Tüm hastalara üst ekstremitte venlerini korumaları gerektiği anlatılmalıdır. Böbrek yerine koyma tedavisinin başlatılması için endikasyonlar, her iki böbreğin işlev derecesi ile üremideki semptom ve bulguların varlığına bağlıdır. Çoğu hastada, GFR değeri $<15\text{ ml/dk}/1,73\text{m}^2$ olduğu zaman diyaliz veya böbrek transplantasyonu işlemi başlatılır (5).

2.3.1 HEMODİYALİZ

Periton diyalizi ve böbrek transplantasyonun yaygınlığına rağmen, hemodiyaliz (HD) tüm dünyada en çok kullanılan böbrek yerine koyma tedavi seçeneği olarak yerini korumaktadır. Tüm dünyada yaklaşık 28500 diyaliz merkezinde 1,7 milyon civarında hasta hemodiyaliz tedavisi görmektedir. HD sisteminin amacı, hasta kanının yapay böbrek aygıtına taşınarak üremik toksinlerin ve ihtiyaç fazlası sıvının ortadan kaldırılması ve tekrar hastaya geri döndürülmesidir. Diyaliz sisteminin esas bileşenleri, vücut dışı kan dolaşımı, yapay böbrek aygıtı, diyaliz makinesi ve suyun diyaliz işlemi için uygun hale getirilmesidir. Diyaliz makinesi, diyaliz sıvısının belli bir akım hızı, ısı ve kimyasal bileşiminde dolaşımını sağlamaktadır. Yapay böbrek aygıtı, yarı geçirgen zarları aracılığı ile su ve çözünen taşınmasının kontrollü bir şekilde olmasını sağlamaktadır. Diyaliz çözeltisi ve kan akımı birbirinden ayrılmıştır ve ters akım şeklindedir. Yapay böbrek aygıtının, kan ve diyaliz çözeltisi için ayrı olmak üzere birisi çıkış, birisi de giriş olmak üzere toplam 4 bağlantı noktası vardır. Zar aracılığı ile olan taşınma süreci difüzyon (diyaliz) ve konveksiyon

(çözücü sürükleyicisi) yoluyla oluşmaktadır. Küçük molekül ağırlıklı çözünenlerin uzaklaştırılması difüzyon, beta2 mikroglobülin gibi orta molekül ağırlıklı maddelerin uzaklaştırılması ise daha çok konveksiyon ile sağlanmaktadır (7).

2.3.2. PERİTON DİYALİZİ

Günümüzde, tüm dünyada yaklaşık olarak 170000 böbrek yetmezliği (KBH evre 5) hastasına böbrek yerine koyma tedavisi olarak periton diyalizi (PD) uygulanmaktadır. Bu sayı da diyaliz yapan hastaların yaklaşık %8 kadarını oluşturmaktadır. İnsan vücudunda periton kavitesi en geniş seröz boşluktur. Periton diyalizinde, periton boşluğuna yerleştirilen kaflı ve tünelli bir kateter yoluyla günde 4-5 kez steril ve genellikle glukoz içeren diyaliz sıvısı kullanılır. Diyaliz sıvısı plastik torbalar içinde muhafaza edilmektedir. Periton zarı, periton kapillerleri yoluyla bir endojen diyaliz zarı olarak işlev görür (2). Periton diyalizi, su ve çözünenlerin periton zarından karşılıklı geçişi esasına dayanır. Periton zarı yarı geçirgen bir yapıda olup iki sıvı ortamı (kapiller kanı ile periton boşluğundaki diyaliz çözeltisi) birbirinden ayırmaktadır. Erişkin bir insanda periton zarının yüzey alanı 1-2 m² arasında değişmektedir (3). Bu zar aracılığı ile üremik artıklar difüzyon yolu ile diyaliz sıvısına geçmekte, fazla olan vücut sıvısı ise diyaliz sıvısındaki glukoz ve diğer ozmotik maddelerin neden olduğu ozmotik basınç yolu ile uzaklaştırılmaktadır. PD, artık böbrek işlevini daha iyi koruması, küçük molekül ağırlıklı çözünenleri ve fazla vücut sıvısını yavaş ve sürekli olarak uzaklaştırması nedeniyle daha dengeli kan biyokimyası ve kuru ağırlık oluşturduğundan bazı hastalar için daha çok tercih edilir. Birçok hasta PD tedavisi uygulamakta ve yıllar içinde çeşitli nedenlerle (diyaliz yetersizliği, tekrarlayan peritonit nöbetleri, kateter sorunları gibi) hemodiyaliz tedavisine geçebilmekte iken, nadiren hemodiyalizden periton diyalizine geçiş söz konusudur (2).

2.3.3. BÖBREK TRANSPLANTASYONU

Bireysel farklılıklar olmakla birlikte, böbrek transplantasyonu diyaliz ile karşılaştırıldığında, hem yaşam süresi hem de kalitesi bakımından daha iyi uzun dönem sonuçlarına neden olmaktadır (8). Pre-emptiv transplantasyon, kronik diyaliz programına başlamadan önce yapılan transplantasyondur. Pre-emptiv transplantasyon yapılan hastalarda, hasta ve allogreft yaşam oranı, kronik diyaliz programına başlandıktan sonra transplantasyon yapılan hastalara kıyasla daha iyidir. Bu nedenle KBH evre 4 hastaları, transplantasyon işlemi için aday olmamaları hariç, mutlaka bir transplantasyon merkezine sevk edilmelidir (9).

Böbrek transplantasyonu, dikkatli bir preoperatif değerlendirme ve hazırlığı olan hastalarda yapılan elektif bir cerrahi işlemdir. Nakil edilecek olan verici böbreği kasık çukurlarından birine yerleştirilir. Renal ven genellikle eksternal iliak vene 'uç-yan' olarak takılarak anastomoz edilir. Böbreğin arteri genellikle eksternal iliak artere 'uç-yan' ya da internal iliak artere 'uç-uc'a' ağızlaştırılır. Ardından üreter uygun submukozal anti-reflü tekniği ile mesaneye yerleştirilir (10). Transplantasyon sonrası dönemde, doku reddini önlemek için hastaların çeşitli immünosüpresif ilaçlar ve kortikosteroidler kullanması gereklidir (11).

2.4. HEMOSTAZ

Kanda, pıhtılaşmayı uyaran ve engelleyen faktörler arasındaki duyarlı etkileşimin yansıttığı bir durumdur. Hemostaz önemlidir; çünkü bir damar yaralanmasını takiben vücudun fazla kan kaybını önler. Bazen de benzer mekanizmalar, arter ya da ven tıkanıklığına neden olan patolojik tromboza yol açabilir (12).

Hemostatik sistemin 3 önemli bileşeni vardır (13):

- 1) Trombositler ve kanın diğer şekilli elemanları (monositler ve eritrositler gibi)
- 2) Plazma proteinleri (pıhtılaşmanın ve fibrin eritici sistemin faktörleri ve inhibitörleri)
- 3) Damar duvarı

2.4.1. TROMBOSİT TİKAÇ OLUŞUMU

Bir damar hasarlanması olduğunda, trombositler, hasarın olduğu intimal yüzeye yapışırlar. Büyük bir multimerik protein olup hem plazmada hem de damar duvarının endotel altı hücre dışı matriksinde bulunan von Willebrand faktör (VWF) ile birlikte kollajen, fibronektin, vitronektin ve trombospondin, hasara uğrayan damarın endotel altının bileşenleridir. Trombositler, yüzeylerinde bulunan glikoprotein (GP)Ib-IX-V kompleksi ile VWF'e bağlanarak endotel altına yapışırlar (12). Trombositlerin yapışması, onları etkinleştirerek kümeleşmelerine yol açar. Plazmadaki bazı hormonlar (epinefrin, trombin); etkinliği artmış trombositlerden salgılanan araçlar (adenozin difosfat, serotonin); ve damar duvarının hücre dışı matriks bileşenleri (kollajen, VWF), trombosit kümeleşmesini artırır (13). Etkinliği artmış trombositler, trombosit kümeleşmesini daha fazla artıran ve endotel hücresi kaynaklı doğal antikoagülan faktörleri engelleyen bazı bileşikler salgılar (dens granüllerden salgılanan ADP, serotonin gibi küçük moleküller) (12). Trombosit

kümeleşmesi süresince damar hasarlanmasının olduğu bölgeye dolaşımdan gelen diğer trombositlerin de eklenmesiyle tıkaçıcı bir trombosit tıkaçı oluşur. Bu tıkaç ilk başta dayanıksız olup fibrin pıhtısının gelişmesiyle daha dayanıklı hale getirilir. Trombosit yüzeyindeki en yoğun reseptör, glikoprotein (GP)IIb/IIIa kompleksidir. Kollajen ve VWF'e bağlanmak suretiyle etkinliği artan trombositlerin, normalde işlevsel olmayan GP IIb/IIIa reseptörleri işlevsel hale gelir. Sonuçta, fibrinojen köprüleri ile birbirine kümeleşen trombositler bir tıkaç oluşturur (13).

2.4.2. PIHTILAŞMA PROTEİNLERİ

Pıhtılaşma proteinleri normalde plazmada aktif olmayan halde bulunurlar. Pıhtılaşmanın sonunda fibrin oluşur. İki çeşit pıhtılaşma yolu tanımlanmıştır: Ekstresek ve intrinsek pıhtılaşma. Bugün için bilinen, pıhtılaşmanın genellikle doku faktörü (TF) tarafından başlatıldığı ve ekstresek yolun etkinlik kazandığıdır. Fakat intrinsek yolun da pıhtılaşma olayına önemli katkısı bulunmaktadır. Pıhtılaşma tepkimeleri genellikle, etkinlik kazanmış trombositlerin fosfolipit yüzeylerinde gerçekleşir. Damar hasarı ile birlikte ortaya çıkan TF, faktör VII'i bağlayıp aktifleştirir. Bu birleşme, faktör X'un aktif şekli olan faktör Xa'ya dönüşümüne neden olur. Faktör Xa, bir kofaktör olan faktör VIIIa ile birlikte faktör IXa'nın etkisiyle de oluşabilir. Faktör Xa, protrombini trombine dönüştürür. Pek çok işlevi bulunan bir enzim olan trombin, fibrinojeni fibrine çevirir. Trombin hem faktör XI'i aktif hale getirerek hem de faktör VIII ve V üzerinden pıhtılaşma kaskadını güçlendirebilir. Oluşan fibrin monomerleri, birbiri üzerine eklenerek polimerleşir. Trombin, faktör XIII'ün aktif hale (XIIIa) geçmesine de neden olur. Faktör XIIIa, kovalent bağlarla bağlanmak suretiyle, oluşmuş olan fibrin pıhtısını daha dayanıklı hale getirir. Bu süreç kalsiyumun varlığını da gerektirir (13).

2.4.3. ANTİTROMBOTİK MEKANİZMALAR

Normal şartlar altında, damarın içinde kanın akışkanlığını koruyan ve hasarlanan damar bölgesinde gelişen pıhtılaşmayı sınırlandıran pek çok fizyolojik antitrombotik mekanizma bulunmaktadır. Endotel hücreleri, antitrombotik özelliği olan pek çok molekül sentez eder:

a) Prostasiklin (PGI₂), nitrik oksit (NO) ve ektoADP'az/CD39: Bu bileşikler, trombositlerin yapışma, sekresyon ve kümeleşmesini engeller.

b) Heparan proteoglikanlar, antitrombin, doku faktör yolu inhibitörü (TFPI) ve trombomodülin: Antikoagülan faktörlerdir.

c) Doku plazminojen aktivatör 1, ürokinaz, plazminojen aktivatör inhibitörü ve annexin-2: Fibrin eritici sistemin mekanizmalarını etkinleştirirler.

Antitrombin (ya da antitrombin III), trombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin etkisini engelleyen en önemli plazma serin proteaz inhibitörüdür. Antitrombin, sahip olduğu reaktif bölgesiyle, trombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin (faktör Xa, IXa, XIa, XIIa) aktif bölgeleri arasında bir kompleks oluşturarak etkisizleştirme yapar. Heparin varlığında, antitrombinin, trombinin etkisizleştirme işlemi binlerce kat artar.

Protein C, trombin tarafından etkinleştirildiğinde antikoagulan özellik kazanan bir plazma glikoproteinidir. Protein C'nin aktive olabilmesi için trombinin, endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan trombomodülün reseptörüne bağlanıp trombin-trombomodülün kompleksinin ortaya çıkması gerekir. Aktive protein C, faktör Va ve VIIIa'nın etkisini engellemek suretiyle antikoagulan özellik gösterir. Bu tepkime, bir kofaktör olan protein S varlığında hızlanır.

TFPI bir plazma proteaz inhibitörü olup doku faktörü ile başlayan ekstrinsek pıhtılaşma yolunun işleyişini düzenler. TFPI, TF/FVIIa/FXa kompleksini engeller. TFPI, lipoproteine bağlanır ve endotel hücreleri ile trombositlerden, heparin vasıtasıyla, salınabilir (13).

2.4.4. FİBRİN ERİTİCİ SİSTEM

Plazminojeni etkinleştiren moleküller (doku plazminojen aktivatörü ve ürokinaz tip plazminojen aktivatörü), plazminojeni plazmine çevirirler. Plazmin fibrini, fibrin yıkım ürünlerine dönüştürür. Fibrin eritici sistemin fizyolojik düzenleyicileri bulunmaktadır.

Bunlar:

- a) Plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI-1 ve PAI-2): Plazminojenin fizyolojik aktivatörlerinin etkisini engellerler.
- b) Trombinin aktive ettiği fibrinoliz inhibitörü (TAFI): Fibrin eritici sistemi sınırlar.
- c) Alfa2-antiplazmin: Plazminin etkisini engeller (13).

2.5. ÜREMİ VE KANAMAYA EĞİLİM

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalar için en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden birisi, edinsel trombosit işlev bozukluğunun sebep olduğu kanamadır. Kanama sorunları, kanama zamanının anormal derecede uzaması ve hemorajik semptom ve bulgular (deride peteşi, ekimozlar, epistaksis, gastrointestinal ya da dişeti kanaması, iğne ponksiyonundan veya operasyon bölgesinden olan uzamış kanama) ile karakterize olur. SDBY hastalarında hemorajik komplikasyonlara örnek olarak hemorajik perikardit, hemorajik plevral efüzyon, intrakranyal, retroperitoneal, oküler ya da uterin kanama verilebilir (14).

Üremideki trombosit işlev bozukluğunun patogenezi çok faktörlüdür. Trombositlerin damar endoteline tutunması azalır. Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, böbrek işlevindeki azalmayla doğru orantılı olarak trombosit GPIb içeriği azalır. Buna karşın total GPIIb ve GPIIIa içeriği normaldir. Üremide hem VWF metabolizmasının hem de yapı ve işlevinin anormallikleri gösterilmiştir. SDBY hastalarında hem HD hem de PD, trombosit anormalliklerini kısmen düzeltir çünkü geleneksel diyaliz tedavisi tüm üremik toksinleri (metilguanidin, guanidinosüksinik asit, fenolik asit, hidrosifenilasetik asit gibi) etkin bir şekilde ortadan kaldıramamaktadır.

PGI₂ ve NO, trombosit kümeleşmesini engeller. Üremik trombositler, sağlıklı bireylerin trombositlerine göre daha fazla NO üretir. Üremik hastalardaki kanamaya yatkınlık, trombosit nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin artışı ile ilişkilidir (14).

SDBY hastalarında uzamış kanama zamanının diğer bir belirleyicisi renal anemidir. Damar içindeki normal sirkülasyonda eritrositler, trombositleri damar duvarına doğru sürüklediğinden trombositlerin damar duvarı ile temasını artırır. Ayrıca eritrositler, ADP salınımı yapmaları ve prostasiklini inaktive etmeleri nedeniyle trombosit işlevini düzeltir. Eritropoezi stimüle eden ajanlar (ESAs) da hemotokriti artırmak yoluyla trombosit işlevini düzeltir(14).

Üremide trombosit işlev bozukluğunun patogenezinde, trombositlerin diğer anormallikleri: Zar akışkanlığındaki değişiklikler, hücre içinde ADP ve serotonin azalması ile cAMP artışı, sekonder hiperparatiroidizme bağlı hücre içinde kalsiyum artışı, azalmış tromboksan A₂ üretimi, trombosit faktör-3 varlığının ve siklooksijenaz etkinliğinin azalması, trombositlerden beta-tromboglobülin ve ATP'nin

salgılanmasının bozulması, azalmış pıhtı retraksiyonu, anormal trombosit yapışması ve uyarıcı moleküllere karşı trombosit yanıtının azalmasıdır. Bunlara ek olarak, damar anormallikleri ve bazı ilaçlar (beta laktam antibiyotikler, steroid olmayan anti-inflamatuarlar, antiplateletler) da bu sürece katkıda bulunabilir (14).

2.5.1. ÜREMİ VE TROMBOSİT SAYISI

SDBY hastalarında trombositopeni sık bir bulgudur. Üremik hastaların % 16-55'inde trombositopeni mevcuttur. Bununla birlikte, trombosit sayısının $<80000/\text{mm}^3$ olması nadir görülmektedir. Üremide, trombosit yarılanma süresinin kısalması ve periferik kanda düşük-normal trombosit sayısının bulunması, artmış trombosit hücresel döngüsünü gösterir (14).

2.6. TROMBOSİT İŞLEVİNİ ÖLÇEN TESTLER

1) Kanama Zamanı: Primer hemostazı ölçen bir testtir. Kanama zamanı tayininde en yaygın Ivy yöntemi uygulanır. Bu test yapılırken, kol tansiyon aleti ile 40 mmHg'lık bir basınç altında tutulur ve ön kolun ön yüzünde damarsız bir alanda 1 cm uzunluğunda ve 1 mm derinliğinde küçük bir kesi yapılır. Bu kesinin kenarında biriken kan, yarım dakikada bir kez süzgeç kağıdı ile alınır. Normalde kanama zamanı Ivy yöntemi ile 9 dakikadan daha kısadır. Trombositopenilerde (genellikle trombosit sayısı $<50000/\text{mm}^3$ olduğunda), kalitatif trombosit hastalıklarında ve von Willebrand hastalığında kanama zamanı uzun bulunur (6).

2) Trombosit Fonksiyon Testi-100 (PFA-100): Yüksek yırtılma stresi durumu altında kollajen/ADP ya da kollajen/epineprin ile kaplı bir zar kullanılarak yapılan bu testte, tam kan örneği üzerinden trombosit kümeleşmesi hesaplanır (15).

3) Trombosit Çalışmaları (Plateletworks): Bu sistem de tam kan üzerinden trombosit kümeleşmesini ölçer. ADP ile kümeleşen trombositlerin, ADP ile etkileşime girmeyen trombositler ile hücresel boyut farkı ve sayısı üzerinden kıyaslaması yapılır ve kümeleşmenin derecesi belirlenir (15).

4) Trombosit Haritalama Trombeolastografisi (Thrombelastography Platelet Mapping): Bu sistem, tam kan örneği kullanarak trombosit işlevinin kantitatif

irdelemesini yapar. ADP ile kümeleşen trombositlerin pıhtı oluşumuna katkısı hesaplanır (15).

5) Vazodilatatörlerce Uyarılan Fosfoprotein Fosforilasyonu (VASP): Akım sitometri yöntemi ile tam kandan çalışılan bu sistemde trombosit kümeleşmesini sağlamada ADP ve/veya prostaglandin E1 (PGE1) kullanılır. Trombositlerin tepkimesi, platelet reaktivite indeksi (PRI) olarak ölçülür (16).

6) Tam Kan Direnç Agregometri (Çoklu Elektrot Agregometrisi): Sistem test hücrelerinden oluşmuştur. Her bir test hücresi içinde, birbirinden bağımsız çalışan iki elektrot yüzeyine trombositlerin yapışma ve kümeleşmesinin yol açtığı elektriksel direnç değişikliği kaydedilir. Hirudin antikoagülasyonlu tam kanın daha önceden ısıtılarak sıcaklığı 37 C' ye getirilmiş olan eş volümdeki izotonik (% 0,9) NaCl ile test hücresi içinde 3 dakika beklemenin ardından belirli bir oranda agonist (ADP, ADP+PGE1, araşidonik asit gibi) eklenir. Test hücresinin elektrotları arasında artan elektriksel direnç değişikliği 6 dakika boyunca ölçülüp kaydedilir. Zamana göre kümeleşmenin belirlendiği bir grafikte birbirinden bağımsız olan iki ölçümün sonucu olan iki farklı eğri elde edilir. Trombosit kümeleşmesinin esas göstergesi olan eğri altındaki alan (AUC), bu iki eğrinin ortalamasından hesaplanır (16).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. DENEKLER ve YÖNTEMLER

Çalışmaya son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) ve otomatik periton diyalizi (APD) tedavisi uygulayan 43 hasta ve 15 kontrol alınmıştır. Tüm hastalar Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji kliniğinde takip edilmekte olup Kocaeli ve çevresinde oturanlar arasından rastgele seçilmişlerdir.

SAPD ve APD tedavisi olan hastalar için çalışmaya alınma ölçütleri:

- a) Periton diyalizi hastası olmak
- b) Araştırmaya gönüllü olmak
- c) 18–80 yaş arasında bulunmak
- d) En az 3 aydır periton diyalizi yapıyor olmaktır.

Çalışmaya alınmama ölçütleri:

- a) Daha önceden tip 1 ya da tip 2 diyabet tanısı almış olmak
- b) von Willebrand hastalığı, Bernard-Soulier sendromu gibi bir trombosit yapışma kusuruna veya Glanzmann's trombastenisi, afibrinojenemi gibi bir trombosit kümeleşme kusuruna sahip olmak
- c) Son 10 gün içinde enfeksiyöz bir hastalık öyküsüne sahip olmak
- d) Son 2 hafta içinde asetilsalisilik asit, klopidogrel, tiklopidin, beta laktam grubu antibiyotik, nonsteroid anti-inflamatuar ve kortikosteroid sınıfı ilaçlardan en az birini kullanmış bulunmaktır.

SAPD tedavisi uygulayan hastalar haftanın her günü, günde 4–5 kez, 2–2,5 litrelik, APD uygulayan hastalar ise her gece 1 kez, 5–6 litrelik çözeltiler ile değişim yapmaktaydı. Hastalar Baxter çift torba sistemi (Baxter Healthcare Co. Deerfield, USA) veya Fresenius Y set sistemi (Fresenius Medical Care, Bad Hamburg, Germany) kullanmaktaydı.

Çalışma için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu onayı (Proje No: 2011/64, Karar No: 7/2, Onay Tarihi: 27.06.2011) alındıktan sonra katılan tüm deneklerden yazılı onam belgesi elde edilmiştir.

Hastaların yaş, cinsiyet, boy, kilo, vücut kitle indeksi (kg/m^2) gibi demografik özellikleri ile periton diyaliz süresi, böbrek hastalığı nedenleri, sigara kullanımı gibi değişkenleri kaydedilmiştir. Periton diyalizi tedavi süresi, diyaliz uygulamasının başlangıcından itibaren geçen süre (ay) olarak belirtilmiştir.

Nefroloji polikliniğine başvuran tüm hasta ve kontrol grubu deneklerinden en az 8 saatlik açlığı takiben rutin biyokimyasal belirteçler için belirli miktarda kan alınmış ve sonuçlar merkez laboratuvarında tayin edilmiştir. Serum leptin düzeyleri ELISA yöntemi kullanılarak Dynex-Dsx/Virion-Serion (USA) cihazında ölçülmüştür. Kanlar açlıkta, sabah saatlerinde ve deneyimli personel tarafından kan alma laboratuvarında alınmıştır. Trombosit kümeleşmesi araştırması için her bir denekden 1 adet hirudinli tübe (hirudinin son yoğunluğu 25 mcg/ml, volümü 3 ml) kan alınmıştır.

3.2. TROMBOSİT İŞLEV ÖLÇÜMLERİ

Çalışmaya alınan her bir denegin kanı, tam kandan trombosit kümeleşmesini ölçebilen Multiplate cihazında çalışılmıştır.

3.2.1. TROMBOSİT KÜMELEŞMESİNİ ÖLÇEN CİHAZ

Cihaz ile yapılan irdeleme, teflon kaplamalı karıştırıcı ve iki adet alıcı birimi içeren tek kullanımlık test hücresi içerisinde gerçekleştirilir. Cihazın irdelemesinin temel prensibi, trombositlerin işlevsel olduktan sonra test hücreesindeki metal alıcılara yapışma ve kümeleşme eğilimi göstermelerine dayanır. Alıcı kabloları, gümüş kaplamalı ve ileri derecede iletkenliği artırılmış bakır tellerden oluşmuştur. İşlevsellik kazanan trombositler, alıcı kabloları üzerine yapıştığında teller arasındaki elektrik direnci artar. Bu direnç, havuz kısmından kablo girişine giden teller sayesinde düzenli olarak izlenmektedir. Multiplate cihazı (Dynabyte/Multiplate/Germany) aynı anda yürütülebilecek testler için 5 değişik kanal ve Microsoft XP tabanlı bir bilgisayar sistemi içerir.

3.2.2. TROMBOSİT KÜMELEŞMESİNİ ÖLÇEN CİHAZ İLE YAPILABİLEN TESTLER

a) **ASPItest:** Bu testte ortama eklenen araşidonik asidin trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisi ölçülür. Araşidonik asit, siklooksijenaz (Cox)'ın bir substratıdır.

Araşidonik asit, Cox ile aktive olarak güçlü bir trombosit agonisti olan tromboksan A2'ye dönüşür.

b) **COLtest:** Bu testte ortama eklenen kollajenin trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisi ölçülür. Kollajen, kollajen reseptörü (GPIa/IIa)'ne bağlanır ve araşidonik asit salınımına sebep olarak tromboksan A2'ye dönüşür. Bu durum trombositlerin işlevselliğini artırarak kümeleşmesine yol açar.

c) **ADPtest:** : Bu testte ortama eklenen adenzin difosfatın trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisi ölçülür. Adenzin difosfat (ADP) trombositleri, ADP reseptörleri yoluyla uyararak kümeleşmelerine yol açar.

d) **ADPtest HS:** Bu testte ADP ile birlikte bir endojen trombosit engelleyicisi olan prostaglandin E1(PGE1) kullanılır. PGE1, ADP reseptörünü bloke ettiğinden test, klopidogrel ve benzer etkili ilaçların trombositler üzerindeki etkisini değerlendirmeye duyarlı hale gelir.

e) **TRAPtest:** Bu testte ortama eklenen trombin reseptör aktive eden peptid (TRAP)'in trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisi ölçülür. TRAP, trombosit yüzeyinde bulunan ve trombin tarafından uyarılan reseptörleri etkinleştirir.

f) **RISTOtest:** Ristosetin kullanılarak trombosit aglütinasyonunun değerlendirildiği bu testte hematolojinin ender görülen hastalıklarından von Willebrand sendromu ve Bernard-Soulier sendromu teşhis edilebilir.

3.2.3 DENEYDE KULLANILAN ÇÖZELTİ VE KİMYASALLAR

Leptin: Rekombinant insan leptini (OB) 5,0 mg (Biomyx Technology, San Diego/ USA)

ADP: Multiplate firması hazır takımından sağlandı. (Siemens PFA Collagen/ADP Test Cartridge, Marburg/Germany)

Leptin 25 Çözeltisi: 2. test hücreesindeki 300 mikrolitrelik tam kanın yaklaşık yarısı kanın şekilli unsurları olarak kabul edildi ve 37,5 ng/ml yoğunluğunda ve 10 µL hacimde leptin çözeltisi hazırlandı. 300 miktolitrelik izotonik NaCl, aynı hacimdeki tam kana eklenip 3 dakikalık beklemenin ardından 37,5 ng/ml yoğunluğundaki leptin eklendi. $C1.V1=C2.V2$ eşitliğinden $37,5 \times 450 = 600 \times C2$

(C1= Leptinin ilk yoğunluğu, C2=Leptinin son yoğunluğu, V1= İlk hacim, V2= Son hacim)

Son yoğunlukta C2: 25 ng/ml (yaklaşık olarak) bulundu.

Leptin 50 Çözeltisi: 3. test hücreesindeki 300 mikrolitrelik tam kanın yaklaşık yarısı kanın şekilli unsurları olarak kabul edildi ve 75 ng/ml yoğunluğunda ve 10 µL hacimde leptin çözeltisi hazırlandı. 300 miktolitrelik izotonik NaCl, aynı hacimdeki tam kana eklenip 3 dakikalık beklemenin ardından 75 ng/ml yoğunluğundaki leptin eklendi. $C1.V1=C2.V2$ eşitliğinden $75 \times 450 = 600 \times C2$

(C1= Leptinin ilk yoğunluğu, C2=Leptinin son yoğunluğu, V1= İlk hacim, V2= Son hacim)

Son yoğunlukta C2: 50 ng/ml (yaklaşık olarak) bulundu.

Leptin 100 Çözeltisi: 4. test hücreesindeki 300 mikrolitrelik tam kanın yaklaşık yarısı kanın şekilli unsurları olarak kabul edildi ve 150 ng/ml yoğunluğunda ve 10 µL hacimde leptin çözeltisi hazırlandı. 300 miktolitrelik izotonik NaCl, aynı hacimdeki tam kana eklenip 3 dakikalık beklemenin ardından 150 ng/ml yoğunluğundaki leptin eklendi. $C1.V1=C2.V2$ eşitliğinden $150 \times 450 = 600 \times C2$

(C1= Leptinin ilk yoğunluğu, C2=Leptinin son yoğunluğu, V1= İlk hacim, V2= Son hacim)

Son yoğunlukta C2: 100 ng/ml (yaklaşık olarak) bulundu.

Çalışmamızda Leptinin 25, 50 ve 100'lük çözeltilerinin son yoğunlukları hesaplanırken, aynı anda ölçüm yapılamadığından, deneklerin serum leptin seviyesi değerlendirilmede kullanılmamıştır.

ADP çözeltisi: Firmanın hazır takımı ile gelen 6,5 mikromolar yoğunluğundaki çözeltisi kastedilmektedir. Bu çözelti, son yoğunluğu 10 mikromolar olacak şekilde test hücrelerine eklendi.

3.2.4. TROMBOSİT KÜMELEŞMESİNİ ÖLÇEN CİHAZIN ÖZELLİKLERİ

Bu cihaz trombosit kümeleşmesini sürekli olarak kaydeder. Cihazın algılayıcılarına yapışan trombositler nedeniyle artan elektriksel direnç, kümeleşme birimine (AU) çevrilir ve zamana karşı bir grafik olarak basılır. Cihazın yaptığı irdelemeden sonra 5 ölçüt hesaplanır. Bunlar:

- Kümeleşme:** İrdeleme süresince artan elektriksel direncin karşılığıdır. Birimi kümeleşme birimidir (AU). Yaklaşık olarak 8 AU, 1 Ohm'a karşılık gelir.
- İvme hızı:** Eğrinin eğimini yansıtır. Birimi AU/dakika'dır.
- Eğri altındaki alan (AUC):** Trombosit kümeleşmesini en iyi yansıtan ölçüttür. Birimi AUxdakika'dır. AUC, hem kümeleşme hem de ivme hızına bağlıdır. 6

dakikalık sürede, test hücresi içerisinde trombositlerin metal alıcılara yapışıp kümeleşmeler oluşturması, her iki alıcı kablo arasındaki elektriksel direnç değişikliği olarak ölçülmektedir. Multiplate cihazı, birbirinden bağımsız olan bu iki alıcı çiftinin yansıttığı iki farklı ölçümün ortalamasını AUC olarak kaydeder.

d) **İlişki katsayısı (İK)**: Normal değeri $> 0,98$ olarak kabul edildi.

e) **Ayrırtlatıcı değer (AD)**: Normal değeri $< \%20$ olarak kabul edildi.

Son iki test sonucu olan İK ve AD, her iki alıcıdan elde edilen ölçümler ve ortalama AUC değeri arasındaki uygunluğu değerlendirmek için oluşturulmuştur.

3.2.5. ÇALIŞMANIN İŞLEYİŞİ

Her bir denekten 1 adet hirudinli tübe alınan kan örneği hemen laboratuvara gönderilmiş ve alındıktan sonra 30 – 120 dakikalar arasında laboratuarda Multiplate cihazında çalışılmıştır. Her bir denek için 4 test hücresi hazırlanmış; ve çalışmaya başlandığı andan itibaren, bir test hücresi ile ilgili işlem biter bitmez, bir sonraki test hücresi ile ilgili işleme geçilmek suretiyle etkinlik bitirilmiştir. $AD > \%20$ ve $İK < 0,98$ olan test hücrelerinin kümeleşme, ivme hızı ve eğri altındaki alan ölçütleri çalışma dışı bırakılmıştır. Ayrıca birinci test hücresindeki eğri altındaki alan değeri > 530 AUxdakika olan hastaların 2., 3. ve 4. test hücrelerindeki çalışması yapılırken, birinci test hücresindeki AUC değeri < 530 AUxdakika olan hastaların daha sonraki test hücrelerindeki çalışması yapılmadı.

1. Test hücresi (C1): Hirudinli tüpte bulunan tam kandan 300 mikrolitre (μL) alınarak test hücresine konuldu ve üzerine 300 μL izotonik NaCl eklenerek 3 dakika beklemenin ardından 31 μL (10mikromolar: 10 μM) ADP eklenerek trombosit kümeleşmesi ölçümü yapıldı.

2. Test hücresi (C2): Hirudinli tüpte bulunan tam kandan 300 mikrolitre (μL) alınarak test hücresine konuldu ve üzerine 300 μL izotonik NaCl eklenerek 3 dakika beklenildi. Bu bileşime de Leptin 25 Çözeltisinden 10 μL eklenip 6 dakika beklemenin ardından 31 μL ADP eklenerek trombosit aglütinasyon ölçümü yapıldı.

3. Test hücresi (C3): Hirudinli tüpte bulunan tam kandan 300 mikrolitre (μL) alınarak test hücresine konuldu ve üzerine 300 μL izotonik NaCl eklenerek 3 dakika beklenildi. Bu bileşime de Leptin 50 Çözeltisinden 10 μL eklenip 6 dakika beklemenin ardından 31 μL ADP eklenerek trombosit aglütinasyon ölçümü yapıldı.

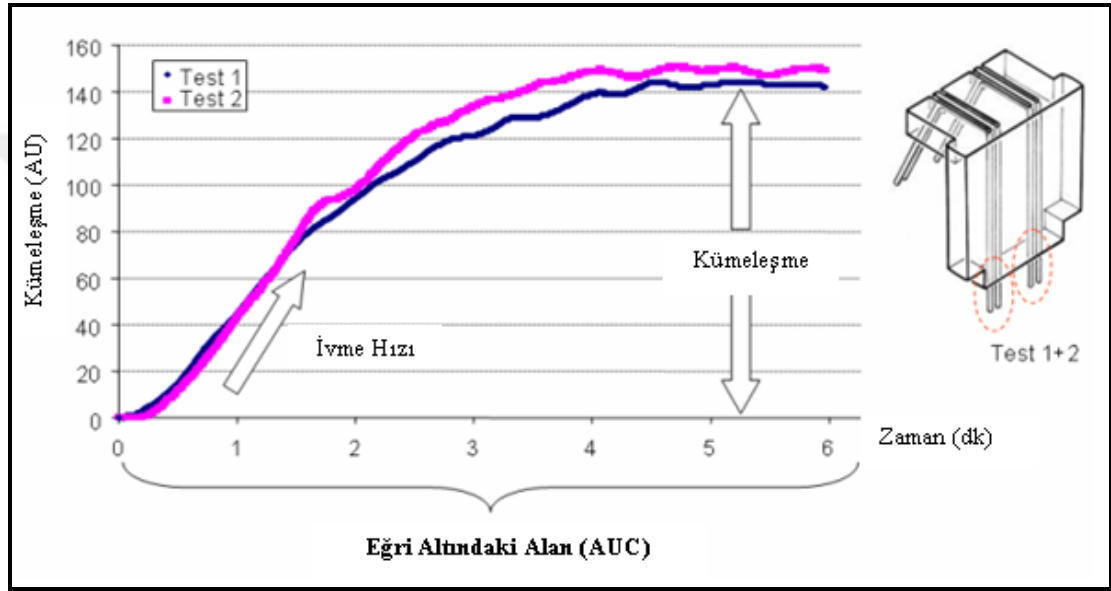
4. Test hücresi (C4): Hirudinli tüpte bulunan tam kandan 300 mikrolitre (μL) alınarak test hücresine konuldu ve üzerine 300 μL izotonik NaCl eklenerek 3 dakika

bekleme yapıldı. Bu bileşime de Leptin 100 Çözeltilisinden 10 µL eklenip 6 dakika beklemenin ardından 31 µL ADP eklenerek trombosit aglütinasyon ölçümü yapıldı.

3.2.6. TEST SONUÇLARI:

Aşağıdaki grafikte gösterildiği şekilde cihazımız 6 dakikalık süre içerisinde kümeleşme-zaman grafiğini oluşturdu (Şekil 1). Bu grafik verileri araştırmamızda kullanıldı.

Şekil 1. Kümeleşme-Zaman Grafiği



3.3. ARTIK BÖBREK İŞLEVİ, DİYALİZ YETERLİLİĞİ VE ULTRAFİLTRASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Periton diyalizi tedavisi olan hastalarda, diyaliz yeterliliği ve artık böbrek işlevinin değerlendirilmesi için klirens ölçümü, periton zarının küçük moleküler ağırlıklı çözünenlere karşı geçirgenlik özelliklerinin ve peritoneal ultrafiltrasyonun değerlendirilmesinde ise peritoneal eşitleme testi (PET) kullanılmıştır.

3.3.1. KLİRENS ÖLÇÜMÜ

Klirens ölçümünde, üre kinetik modeline göre hesaplanan Kt/V ve kreatinin klirensi kullanılmıştır. Her iki ölçeninde de peritoneal ve artık böbrek bileşenleri ayrı ayrı hesaplanmıştır.

3.3.1.1. Kt/V'nin ÖLÇÜLMESİ

Kt/V, fraksiyonel üre klirensini ölçen birimsiz bir değerdir. Peritoneal Kt'nin hesaplanmasında karından boşaltılan diyaliz sıvısının 24 saat süre ile toplanması ve bu sıvının ortalama üre seviyesinin saptanmasıyla elde edilen değer, serum üre düzeyine bölünmesiyle Kt bulunmuş; ve artık böbrek Kt ise toplanan 24 saatlik idrarın üre düzeyinin serum üre düzeyine bölünmesiyle elde edilmiş; peritoneal ve renal Kt toplanarak bulunan (total Kt), total vücut sıvısını gösteren V'ye bölünmüştür. Elde edilen bu değer, haftalık değeri elde etmek üzere 7 ile çarpılmıştır. V'nin hesaplanmasında Watson formülü kullanılmıştır.

Watson Formülü (erkeklerde)= $2,447-0,09516 A +0,1704 H +0,3362 W$

Watson Formülü (kadınlarda)= $-2,097+0,1069 H +0,2466 W$

A: Yaş (yıl), H: Boy (cm), W: Ağırlık (kg)

3.3.1.2. KREATİNİN KLİRENSİ ÖLÇÜMÜ

Deneklerin $1,73 \text{ m}^2$ vücut yüzey alanına göre düzeltilmiş total kreatinin klirensleri, peritoneal ve artık böbrek kreatinin klirenslerinin toplamıdır. Peritoneal klirens, 24 saat süre ile batından alınan diyaliz sıvısının kreatinin içeriğinin ölçülüp serum kreatinine bölünmesiyle elde edilmiştir. Artık böbrek klirensi, 24 saatlik idrarın toplatılarak hesaplanan üre ve kreatinin klirenslerinin aritmetik ortalamasının alınmasıyla elde edilmiştir. Hem peritoneal hem de artık böbrek klirensi toplanarak litre/hafta birimine çevrilmiş ve bu sonuç $1,73 \text{ m}^2$ 'lik vücut yüzey alanına göre düzeltilmiştir. Vücut yüzey alanının (BSA) hesaplanmasında duBois formülü kullanılmıştır.

$BSA(\text{m}^2)=0.007184 \times W^{0.425} \times H^{0.725}$

W: Beden ağırlığı(kg)

H: Boy(cm)

3.3.2. PERİTONEAL EŞİTLENME TESTİ (PET)

A) Gece boyunca, 8–12 saat süreyle karında bekletilmiş olan periton diyaliz çözeltisi (%1,36 ya da %2,27 glukoz) hasta oturur durumdayken 20 dakika içinde boşaltılır.

B) Sırtüstü yatar durumdayken %2,27'lik glukozlu 2000 ml periton diyaliz çözeltisi 10 dakikada hastanın karnına verilir.

C) 10. dakikada (verme işlemi biter bitmez) 200 ml periton sıvısı hastanın karnından boşaltma torbasına boşaltılır ve karıştırılır. Bu örnek 0 zamanlı diyaliz çözeltisi örneğidir.

D) 4 saatlik karında bekletim süresinin sonunda diyaliz sıvısı boşaltılır ve ölçüm yapılır. Net volüm (peritoneal UF) saptanır. Diyaliz sıvısı/plazma (D/P) kreatinin oranı ve 4.saat diyaliz sıvısı glukoz yoğunluğu/ 0 zamanlı diyaliz sıvısı glukoz yoğunluğu (D/D0) hesaplanır. 4.saat D/P kreatinin oranına göre, periton zarının küçük moleküler ağırlıklı çözünenlere karşı geçirgenlik özellikleri tespit edilir:

- 1) Yüksek geçirgenlik: D/P kreatinin $> 0,81$ olarak kabul edilir
- 2) Düşük geçirgenlik: D/P kreatinin $< 0,50$ olarak kabul edilir.
- 3) Yüksek–orta geçirgenlik: D/P kreatinin, $0,65 - 0,81$ arasındadır.
- 4) Düşük-orta geçirgenlik: : D/P kreatinin, $0,50 - 0,65$ arasındadır (2).

3.3.3. ARTIK BÖBREK İŞLEVİ

24 saatlik idrar çıkışı > 100 ml olan periton diyalizi hastalarının artık böbrek işlevinin olduğu kabul edilmiştir. 24 saatlik idrar çıkışı < 100 ml olan hastaların ise artık böbrek işlevinin olmadığı kabul edilmiştir.

3.4. İSTATİSTİK

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 15 değişkenleri kullanılarak yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlılık ölçümü normal dağılıma uyan belirteçler için Independent Samples t test ile yapılmıştır. Normal dağılıma uymayan belirteçler için hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel ilişki Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. Hasta ve kontrol grubunun kendi içindeki 1., 2., 3. ve 4. test hücresi arasındaki ilişki normal dağılıma uyan ve uymayan gruplarda sırası ile paired t test ve Wilcoxon anlamlılık testi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Hasta ve kontrol grubunun 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütlerinin, trombosit, lökosit sayısı ve parathormon seviyesi ile karşılaştırmasındaki istatistiksel ilişki sırasıyla Pearson ve Spearman's korelasyonu ile yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubunun 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütlerinin, serum leptin ve VKi ile karşılaştırmasındaki istatistiksel ilişki ise Spearman's korelasyonu ile ölçülmüştür. Çalışmamızda $P < 0,05$ değeri, istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) ve otomatik periton diyalizi (APD) tedavisi uygulayan 43 hasta ile 15 kontrol alınmıştır. Hasta grubu 21 erkek ve 22 kadından, kontrol grubu da 7 erkek ve 8 kadından oluşmuştur. Periton diyalizi olan hastaların artık böbrek işlevleri, diyaliz türü ve kronik böbrek hastalığı nedenleri tablo 4’ de verilmiştir.

Tablo 4. Periton diyalizi hastalarında artık böbrek işlevi, diyaliz türü ve KBH nedenleri

Periton diyalizi hastalarında artık böbrek işlevi		
	<u>Hasta sayısı (n)</u>	<u>Hasta yüzdesi (%)</u>
<100 ml/gün idrarı olan hastalar	12	27,9
>100 ml/gün idrari olan hastalar	31	72,1
Periton diyalizi hastalarında uygulanan diyaliz türü		
SAPD	41	95,3
APD	2	4,7
Periton diyalizi hastalarında KBH nedenleri		
Bilinmeyen	4	9,3
Hipertansiyon	23	53,5
Polikistik böbrek hastalığı	3	7,0
Kronik glomerulonefrit	11	25,6
Amiloidoz	1	2,3
Obstrüktif nefropati	1	2,3

SAPD ve APD hastalarının ve kontrol grubunun klinik özellikleri ve biyokimya bulguları tablo 5’ de verilmiştir.

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri ve biyokimya bulguları

	Hastalar		Kontrol	
	n	Ortalama \pm Std. Sapma	n	Ortalama \pm Std. Sapma
Yaş (yıl)	43	48 \pm 11,2	15	46,7 \pm 9,0
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	43	27 \pm 4	15	27,5 \pm 4,3
Diyaliz süresi (ay)	43	40,7 \pm 22,8		
Serum leptin (ng/ml)	43	41,1 \pm 55,3	15	18,5 \pm 15,7
Sistolik kan basıncı (mm/Hg)	43	145,4 \pm 21		
Diastolik kan basıncı (mm/Hg)	43	87 \pm 13		
Nabız basıncı (mm/Hg)	43	58,4 \pm 15,6		
nPCR (g/kg/gün)	40	1,48 \pm 0,6		
Total haftalık kreatinin klirensi (litre/hafta)	40	80 \pm 36,5		
Total haftalık Kt/V	37	2,37 \pm 0,9		
Serum BUN (mg/dl)	43	53,3 \pm 15	15	12,1 \pm 3,7
Serum kreatinin (mg/dl)	43	9,0 \pm 3,5	14	0,7 \pm 0,1
Serum ürik asit (mg/dl)	43	5,65 \pm 0,9	12	4,6 \pm 1,2
Serum kalsiyum (mg/dl)	43	9,0 \pm 0,84	13	9,2 \pm 0,4
Serum fosfor (mg/dl)	43	4,6 \pm 1,1	13	3,3 \pm 0,5
CaxP (mg ² /dl ²)	43	42,2 \pm 12,0	13	30,8 \pm 5,3
Serum albumin (g/dl)	43	3,5 \pm 0,39717	15	4,3 \pm 0,2
Serum Alkalen fosfataz (U/L)	43	175,6 \pm 283,8	14	68,6 \pm 24
Serum magnezyum (mg/dl)	42	2,27 \pm 0,3894	13	2,3 \pm 0,1
Serum trigliserid (mg/dl)	43	148 \pm 82,3	14	117 \pm 45,4
Serum total kolesterol (mg/dl)	43	186,3 \pm 32,7	14	209,4 \pm 32,2
LDL (mg/dl)	43	118,3 \pm 27,0	14	136,7 \pm 30,4
HDL (mg/dl)	43	38,4 \pm 10,9	14	49,4 \pm 14,9
VLDL (mg/dl)	43	29,6 \pm 16,5	14	22,4 \pm 10,8
CRP (mg/dl)	43	0,81 \pm 0,86	12	0,3 \pm 0,2
PLT (/mm ³)	43	254332 \pm 72778,9	15	274400 \pm 53458
25(OH) vit D ₃ (ng/ml)	21	12,9 \pm 6,7	14	14 \pm 6,6
Ferritin (ng/ml)	43	604,6 \pm 494,8		
Transferin saturasyonu (%)	42	32,8 \pm 14,4	11	18 \pm 9,1
Parathormon (pg/ml)	43	568,4 \pm 637,6	11	49,4 \pm 13,8
HGB (g/dl)	43	10,5 \pm 1,9	15	13,6 \pm 1,9
WBC (/mm ³)	43	7112 \pm 1779	15	6197 \pm 1265

Periton diyalizi hastalarının test hücrelerinden elde edilen ortalama trombosit kümeleşme değerleri, eğri altındaki alan (AUC), kümeleşme ve ivme hızı ölçütleri tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Periton diyalizi hastalarında test hücrelerinden elde edilen ortalama değerler

Ortalama değer	1. Test hücresi	2. Test hücresi	3. Test hücresi	4. Test hücresi
Eğri altındaki alan (AUC) (AUxdakika)	825,00	513,03	508,10	557,71
Kümeleşme (AU)	152,713	91,194	90,034	97,882
ivme hızı (AU/dakika)	17,832	12,416	12,483	13,386

Periton diyalizi hastalarında, ortalama serum leptin seviyesi ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.348, 0.186, 0.476). Periton diyalizi hastalarında, ortalama vücut kitle indeksi (VKi) ile 1. test hücresinin ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.999, 0.395, 0.576). Periton diyalizi hastalarında, serum leptin seviyesi ile VKi’nin ortalama değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (p= 0.007).

Periton diyalizi hastalarında, ortalama trombosit sayısı ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütlerinden ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (p değerleri sırasıyla 0.000, 0.002, 0.000).

Periton diyalizi hastalarında, ortalama lökosit sayısı ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütlerinden ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (p değerleri sırasıyla 0.002, 0.003, 0.013).

Periton diyalizi hastalarında, ortalama serum parathormon seviyesi ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütlerinden ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.240, 0.257, 0.231).

Kontrol grubunda, ortalama serum leptin seviyesi ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.940, 0.524, 0.390). Kontrol grubunda, ortalama VKi ile 1. test hücresinin ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.092, 0.076, 0.694). Kontrol grubunda, serum leptin seviyesi ile VKi'nin ortalama değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,232).

Kontrol grubunun ortalama trombosit sayısı ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.909, 0.860, 0.541).

Kontrol grubunun ortalama lökosit sayısı ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p değerleri sırasıyla 0.187, 0.383, 0.383).

Kontrol grubunun ortalama serum parathormon seviyesi ile 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.450, 0.089, 0.117).

Periton diyalizi hastalarının 1. test hücrelerinden elde edilen ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütleri sırasıyla 2., 3. ve 4. test hücrelerinden elde edilen aynı ölçütlerle karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı farklılıklar saptanmıştır ve (p) değerleri her üçünde de p=0,000 bulunmuştur.

Periton diyalizi hastalarının 2. test hücresi ile 3. test hücresi, 2. test hücresi ile 4. test hücresi ve 3. test hücresi ile 4. test hücresinden elde edilen ortalama değerler, eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan anlamlı farklar bulunmamıştır (tablo 7).

Tablo 7. Periton diyalizi hastalarında test hücrelerinin karşılaştırılması (p değerleri)

p	C1 - C2	C1 - C3	C1 - C4	C2 - C3	C2 - C4	C3 - C4
Eğri altındaki alan (AU_xdk)	0,000	0,000	0,000*	0,664**	0,565*	0,143**
Kümeleşme (AU)	0,000	0,000	0,000*	0,601**	0,586*	0,104**
ivme hızı (AU/dk)	0,000	0,000	0,000*	0,781**	0,941*	0,915**

*Wilcoxon Test

** Paired t Test

Hastalar, serum leptin seviyesi 25 ng/ml' den az ve fazla olan olmak üzere iki gruba ayrıldı (n1=27 ve n2=16). İki grup, 1. test hücresinin trombosit kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan (AUC), kümeleşme ve ivme hızı yönünden birbiriyle karşılaştırıldı. Sonuçlar, istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmadı (p değerleri sırasıyla 0.14, 0.74, 0.19).

Kontrol grubunun test hücrelerinden elde edilen ortalama trombosit kümeleşme ölçütleri: Eğri altındaki alan (AUC), kümeleşme ve ivme hızı değerleriyle tablo 8 de gösterilmiştir.

Tablo 8. Kontrol grubunda test hücrelerinden elde edilen ortalama değerler

Ortalama değer	1. Test hücresi	2. Test hücresi	3. Test hücresi	4. Test hücresi
Eğri altındaki alan (AU_xdakika)	816,77	545,15	532,38	551,69
Kümeleşme (AU)	145,162	89,131	88,769	91,915
ivme hızı (AU/dakika)	18,792	15,600	14,262	14,400

Kontrol grubunun 1. test hücresinin ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı değerleri sırasıyla 2., 3. ve 4. test hücrelerinin aynı değerleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılıklar bulunmuştur. C1-C2, C1-C3 ve C1-C4 arasında eğri altındaki

alan ve kümeleşme için $p=0,001$, ivme hızı için p değerleri sırasıyla 0,016, 0,004 ve 0,000 saptanmıştır.

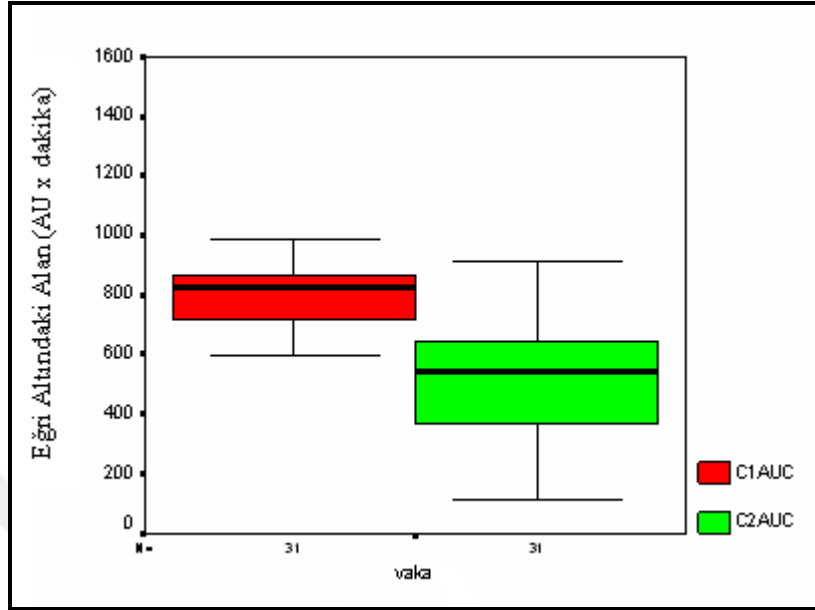
Kontrol grubunun 2.test hücresi ile 3. test hücresi, 2. test hücresi ile 4. test hücresi ve 3. test hücresi ile 4. test hücresinden elde edilen ortalama değerler, eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır. (tablo 9).

Tablo 9. Kontrol grubunda test hücrelerinin karşılaştırılması (p değerleri)

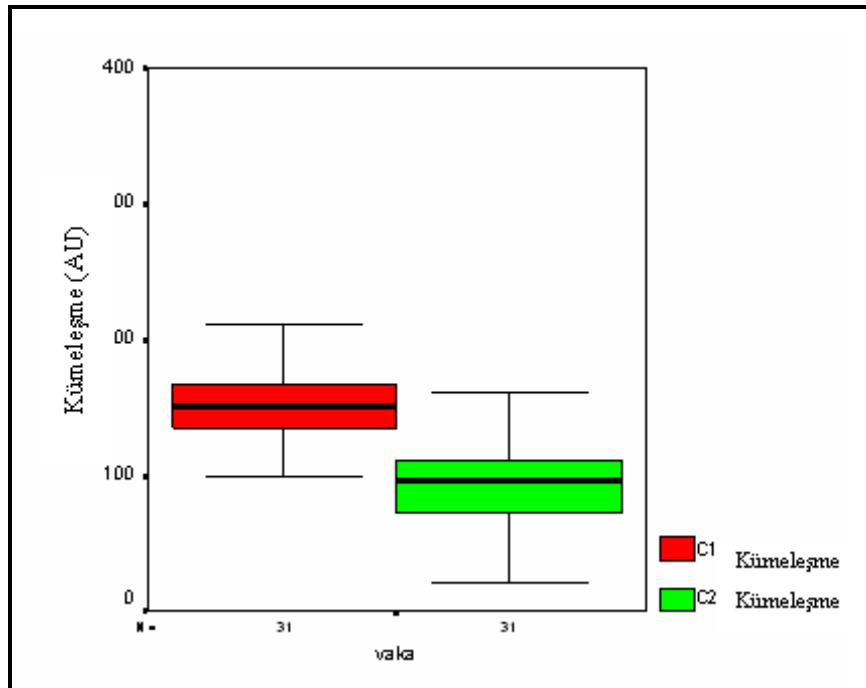
p	C1 - C2	C1 -C3	C1 -C4	C2 - C3	C2 - C4	C3 - C4
Eğri altındaki alan (AUxdk)	0,001*	0,001*	0,001*	0,658**	0,807**	0,203**
Kümeleşme (AU)	0,001*	0,001*	0,001*	0,949**	0,580**	0,370**
ivme hızı (AU/dk)	0,016*	0,004*	0,000**	0,174**	0,165**	0,809**

Kontrollerde test hücrelerinin karşılaştırılması (p değerleri)
*Wilcoxon Test
** Paired t Test

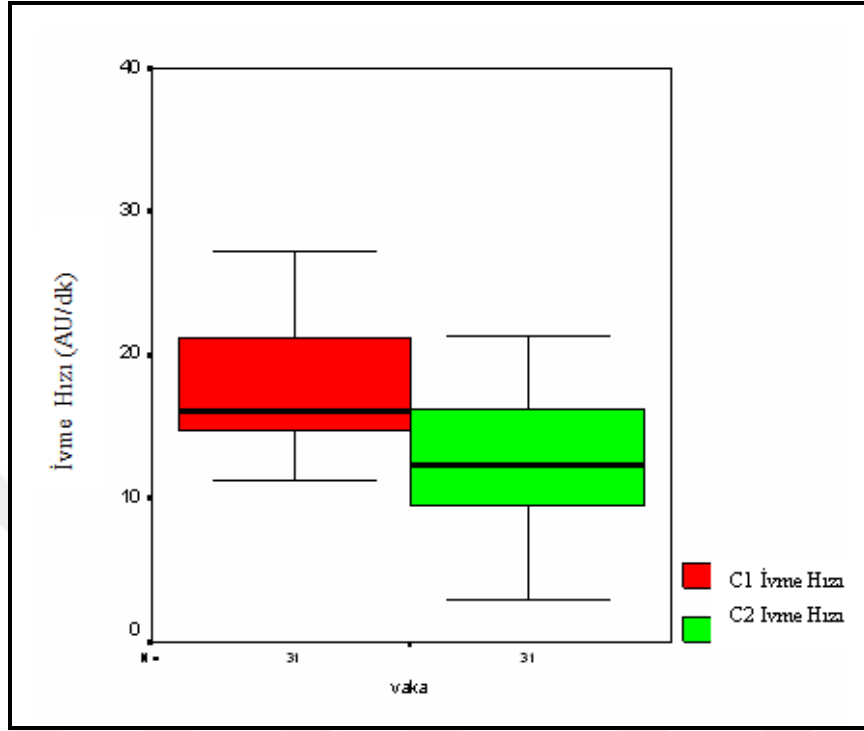
Şekil 2. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi AUC (eğri altındaki alan) ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



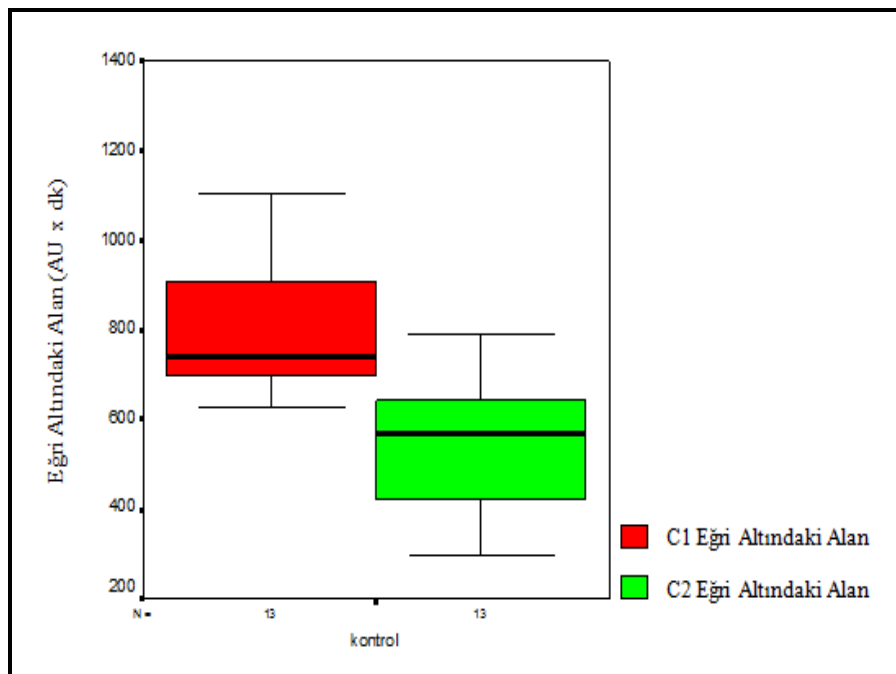
Şekil 3. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi kümeleşme ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



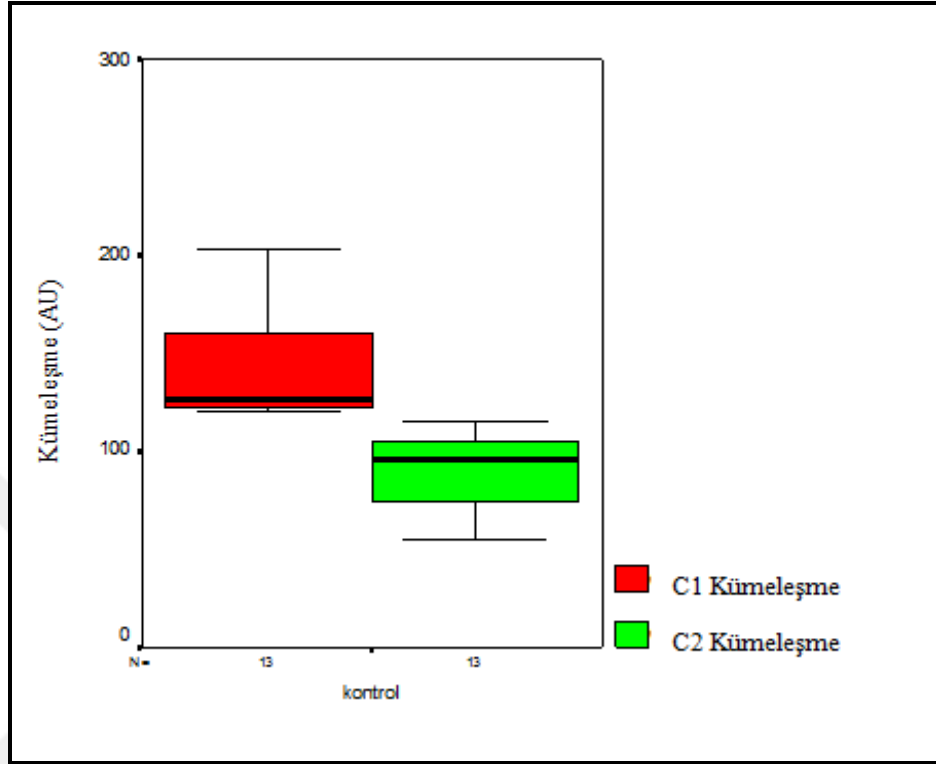
Şekil 4. Periton diyalizi hastalarının 1. ve 2. test hücresi ivme hızı ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



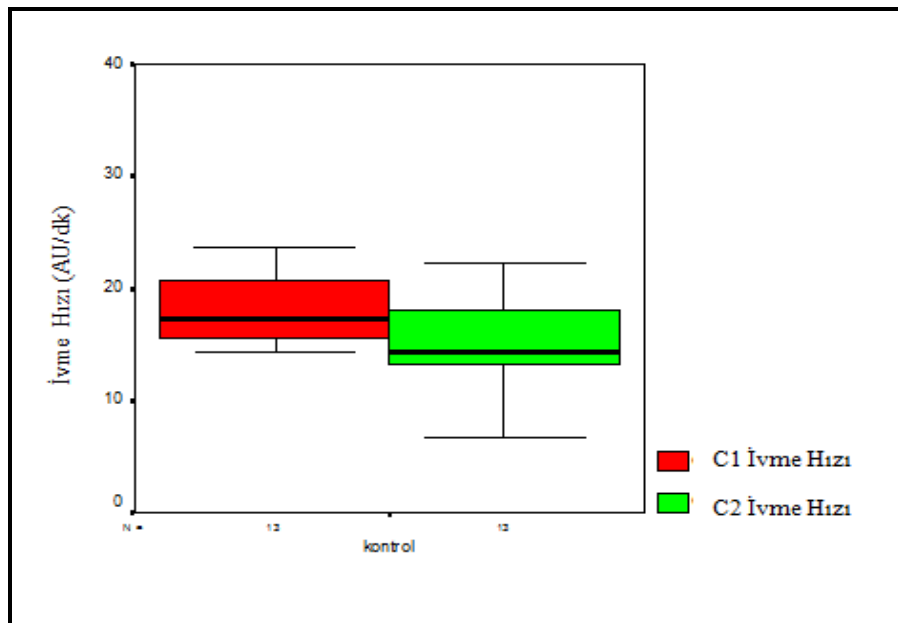
Şekil 5. Kontrol grubunun 1. ve 2. test hücresi AUC (eğri altındaki alan) ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



Şekil 6. Kontrol grubunun 1. ve 2. test hücresi kümeleşme ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



Şekil 7. Kontrol grubunun 1. ve 2. test hücresi ivme hızı ölçütlerinin karşılaştırmalı grafiği



5. TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, özellikle de son dönem böbrek yetmezliğinde yaşam süresi azalmıştır. ABD’de 2006 yılına ait kayıtlarda, diyaliz hastalarının tüm sebeplere bağlı mortalite oranını % 41 ile kardiyak nedenler oluşturmaktadır (27). Kronik böbrek hastalığında glomerular filtrasyon hızı (eGFR) azaldıkça, hem kardiyovasküler mortalite ve morbidite hem de tüm sebeplere bağlı mortalite artmaktadır (28,29). Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda saptanan kardiyovasküler hastalıklar genellikle 4 başlık altında toplanır. Bunlar

- 1) Ateroskleroz
- 2) Arterioskleroz
- 3) Kardiyomiopati
- 4) Kalp kapak hastalıkları şeklinde özetlenebilir.

Ateroskleroz, damarların lipit içeren aterosklerotik plakları tarafından daraltılması olarak tanımlanır (30). Aterosklerozun klinik yansımalarından biri olan akut miyokard infarktüsü, diyaliz hastalarında uzun dönem hayatta kalış süresini düşürmüştür. Diyalize girmeyen hastalar ile karşılaştırıldığında, diyaliz hastalarının hastane içinde ölüm ve kalp durması oranları daha yüksek bulunmuştur (31). Aterosklerozun diğer bir klinik yansıması olan periferik arter hastalığı riski, diyabetik olan veya birlikte aterosklerozu bulunan diyaliz hastalarında çok yüksektir. Periferik arter hastalığı mortalitenin artışına yol açar ve revaskülarizasyon işleminden sonraki başarı oranı, genel topluma oranla diyaliz hastalarında daha düşüktür (32). Serebrovasküler hastalık aterosklerozun diğer bir klinik yansımasıdır. Genel topluma kıyasla diyaliz hastalarının yaş ile düzeltilmiş göreceli inme riski 6 kat artmıştır (33).

Arteryel trombotik hastalık, çok sık şekilde damar duvarındaki aterosklerotik plak rüptürünün üzerine eklenerek klinikte koroner arter hastalığı ve iskemik inme sebepleri olur. Endotel hücreleri kaynaklı bozukluklar hemostaza açıkça etki etmekle birlikte aterosklerozun gelişmesinde (özellikle miyokard infarktüsü, stabil olmayan angina pectoris veya iskemik inmesi olan hastalarda) trombosit kümeleşmesi ve yapışmasının kritik bir önemi vardır. Bu hastalıkların tedavi ve profilaksisinde antiplatelet ilaçlar kullanılır (34).

Leptin, adipositlerden sentez edilen 16-kDa ağırlığında bir protein hormondur. Leptin hormonunun hücre zarında bağlandığı reseptör (Ob-R), klas 1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir (25). Yapılan araştırmalar, Ob-R’ nin hematopoetik öncü hücrelerdeki varlığını ve

bu hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasındaki etkisini ortaya koymuştur. Bir megakaryoblast hücre serisinde Ob-Ra (değişebilen kısa eki olan leptin reseptörü) ve Ob-Rb (değişebilen uzun eki olan leptin reseptörü) bulunması üzerine trombosit işlevleri ile leptin arasındaki ilişki araştırılmıştır (26).

M. Nakata ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada, yaşları 20–35 arasında değişen ve obez olmayan ($VK_i < 22 \text{ kg/m}^2$) sağlıklı gönüllü katılımcıların kanlarında, Western blot yöntemi kullanılarak trombosit yüzeyinde, değişebilen uzun eki olan leptin reseptörü (Ob-Rb) gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda tam kandan, trombosit zengin plazma (PRP) ve trombosit fakir plazma (PPP) elde edilerek optik agregometri yöntemi ile trombosit kümeleşmesi hesaplanmıştır. Agonist olarak ADP kullanılmış ve rekombinant insan leptin hormonunun in vitro ve değişen oranlarda, trombositlerin kümeleşme yanıtı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, 2 mikromolar yoğunlukdaki ADP ile kümeleşmesi artırılan trombositler üzerinde in vitro 10 ng/ml dozda verilen leptinin bir etkisinin olmadığı görüldü. Leptin hormonunun 30 ng/ml ve üzerindeki dozlarında ise trombosit aglütinasyonu doza bağlı artış göstermiştir (26). Bizim çalışmamızda, hem hasta hem de kontrol grubunda agonist olarak 10 mikromolar son yoğunlukta ADP kullanıldı ve insan rekombinant leptin hormonunun (son yoğunlukları 25, 50 ve 100 ng/ml) hem periton diyaliz hastalarında hem de sağlıklı kontrollerde trombositlerin aglütinasyonunu in vitro engellediği saptandı. M. Nakata ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda kilolu (ortalama $VK_i = 27 \pm 4 \text{ kg/m}^2$) denekler çalışmaya alınmıştır, fakat VK_i ile trombosit kümeleşme ölçütleri (eğri altındaki alan, kümeleşme, ivme hızı) arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

S.Konstantinides ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada, leptin gen mutasyonuna (ob/ob) ve leptin reseptör mutasyonuna (db/db) uğratılmış fareler ile normal fareler araştırılmıştır. Her üç grup farenin karotis arterleri $FeCl_3$ ile hasara uğratıldı. Bu çalışmada ob/ob fareleri, tedavisiz grup, düşük dozda (0,06 mg/kg) ve yüksek dozda (0,6 mg/kg) leptin verilenler olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Tedavi verilen farelerde leptin, intraperitoneal olarak ve arteriyel hasardan 30–45 dakika önce verildi. Bu çalışmada leptin ile tedavi edilen ob/ob farelerinin (özellikle yüksek dozda leptin verilenlerin) arter trombozu oluşma süresinin, tedavi edilmemiş ob/ob farelerinkine kıyasla kısaldığı saptanmıştır (38).

M. Ozata ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada, leptin hormonunun trombosit işlevi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, 20 obez olmayan ($VKi < 25 \text{ kg/m}^2$) ve sağlıklı erkek katılımcı, 18 obez olan ($VKi > 30 \text{ kg/m}^2$) fakat diyabetik olmayan erkek katılımcı ile leptin gen mutasyonu taşıyıcılığı açısından 1 homozigot, 3 heterozigot (leptin eksikliği) olan 4 erkek katılımcıda trombosit kümeleşmesi üzerinde leptin hormonunun etkisi araştırılmıştır. Her bir denekden alınan tam kandan PRP ve PPP elde edilerek trombosit kümeleşmesi hesaplanmış ve agonist olarak ADP, kollajen ve epinefrin kullanılmıştır. Rekombinant insan leptin hormonunun in vitro ve değişen oranlarda (20, 50, 100 ve 500 ng/ml), trombositlerin 2 mikromolar yoğunluğundaki ADP ile kümeleşme yanıtı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda, her 3 denek grubunda (kontrol, obez ve leptin eksikliği olan) da ADP ile uyarılmış trombositler üzerinde in vitro eklenen leptin hormonunun trombosit kümeleşmesini artırmadığı görülmüştür. Bu çalışmada, leptin eksikliği olan grupta (1 homozigot, 3 heterozigot) kontrol grubuna kıyasla ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılmış trombosit kümeleşmesinin arttığı fakat in vitro leptin (100 ve 500 ng/ml) eklenmesinin kümeleşmeyi daha fazla artırmadığı saptanmıştır. Bu çalışma, trombositlerin leptine olan duyarlılığında gruplar arasında bir farklılık olmadığını göstermiştir (39). M. Ozata ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak çalışmamıza her iki cinsiyetden de bireyler alındı, agonist olarak 10 mikromolar son yoğunlukta ADP kullanıldı. İnsan rekombinant leptin hormonunun hem hasta hem de kontrol grubunda in vitro trombosit aglütinasyonunu engellediği saptandı, fakat 25 ng/ml'nin üzerindeki dozlarda (50 ng/ml ve 100 ng/ml) engellemede artış olmadı.

G. Giandomenico ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada obez olmayan, sağlıklı 56 kadın ve erkek deneğin kanları alınarak optik agregometri yöntemi ile trombosit kümeleşmesi ölçülmüştür. Agonist olarak 2 ve 5 mikromolar yoğunluklarda ADP kullanılmıştır. Bu çalışmaya alınan deneklerin % 40'ında, ADP ile etkinliği artırılmış trombositler üzerine in vitro eklenen human rekombinant leptin hormonunun 50, 100 ve 500 ng/ml oranlarında trombosit aglütinasyonunu artırdığı bulunmuştur. Katılımcıların % 60'ında ise in vitro eklenen leptin (100, 500, 2000 ng/ml) aynı yoğunlukta ADP ile etkinleştirilen trombositler üzerinde aglütinasyon yanıtını artırmamıştır. Bu çalışmada, Western blot analizi kullanılarak tüm deneklerde trombosit zarında değişebilen uzun eki olan leptin reseptörü (Ob-Rb) tespit edilmiştir. Leptinin in vitro etkisine kümeleşme artışı yanıtı vermeyen grubun Ob-Rb yoğunluğunun diğer gruba göre azaldığı bulunmuştur (40). Bu çalışmadan farklı olarak, çalışmamıza kilolu bireyler alındı ve agonist olarak 10 mikromolar

yoğunluğunda ADP kullanıldı. Hem hasta hem de kontrol grubunda leptin hormonunun, in vitro, trombositler üzerinde aglütinasyonu azalttığı saptandı.

Hisham S. Elbatarny ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları ve obez olmayan sağlıklı gönüllülerin alındığı benzer bir çalışmada da ADP ile etkinleştirilen trombositler üzerinde in vitro eklenen leptin hormonunun kümeleşme yanıtını artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmada aynı zamanda, leptinin trombosit yapışmasını da artırdığı tespit edilmiştir (41).

F. Corica ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada, fazla kilolu ya da obez olmak üzere her iki cinsten 169 kişilik denek grubu kullanıldı. Bu çalışmada her bir hastanın tam kanından, trombositten zengin plazma (PRP) ve trombositten fakir plazma (PPP) elde edilerek optik agregometri yöntemi ile trombosit kümeleşmesi hesaplanmıştır. Agonist olarak 2 mikromolar yoğunluğunda ADP kullanılmıştır. Rekombinant insan leptininin, in vitro ve değişen oranlarda (5, 10, 25, 50 ve 100 ng/ml) trombositlerin ADP ile kümeleşme yanıtı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. ADP ile uyarılmış trombositler üzerinde in vitro leptin hormonunun etkisine göre katılımcılar 3 gruba ayrılmıştır:

- a) Cevap vermeyen grup (n=58)
- b) Orta düzeyde cevap veren grup (n=65)
- c) Yüksek düzeyde cevap veren grup (n=46)

Cevap vermeyen grubun deneklerinin in vitro leptinin tüm oranlarına karşı yanıtız olduğu görülmüştür. Yüksek düzeyde cevap veren grubun deneklerinin ise leptin hormonunun tüm oranlarında trombosit kümeleşmesinin arttığı bulunmuştur. Orta düzeyde cevap veren grubun deneklerinin trombosit kümeleşme yanıtı, cevap vermeyen gruptan daha yüksek, yüksek düzeyde cevap veren gruptan daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada eş zamanlı olarak deneklerin plazma leptin seviyesine de bakılmıştır. Cevap vermeyen gruptaki deneklerin plazma leptin seviyesinin diğer gruptaki deneklere kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Kadın ya da erkek cinsiyetde olmak, bu sonucu değiştirmemiştir (42). Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda agonist olarak 10 mikromolar yoğunluğunda ADP kullanıldı. Hem hasta hem de kontrol grubunda leptin hormonunun in vitro uygulandığında trombositler üzerinde kümeleşmeyi önlediği saptandı.

Çalışmamızda, ilişki katsayısı $< 0,98$ ve ayırtlatıcı değeri $> \% 20$ olan test hücreleri çalışma dışı bırakılmıştır. Ayrıca 1. test hücresinden elde edilen eğri altındaki alanı (AUC) < 530 AUxdakika olan deneklerin diğer test hücrelerinin trombosit kümeleşme çalışması

yapılmamıştır. Bu değer (530 AUxdakika), sağlıklı bireylerin kanlarının 6,4 mikromolar yoğunlukdaki ADP ile trombosit kümeleşmesi işleminden sonraki ölçümlerinden elde edilmiştir ve 5. persantile kadar sınır değeri yansıtmaktadır. Sağlıklı bireylerin 530–1220 AUxdakika olan ortalama AUC değerleri 5-95. persantile karşılık gelmektedir (48).

Üremideki trombosit işlev bozukluğu patogeneğinde, trombositlerin agonistlere karşı yanıtında azalma da yer almaktadır (14). Bu sebepten dolayı çalışmamızda bir trombosit agonisti olan ADP'nin dozunu, cihazın önerilen dozundan yüksek tuttuk; ve her bir test hücresi içinde son yoğunluğunu 10 mikromolar olacak şekilde belirledik. Çalışmamızda, eş zamanlı serum leptin seviyesi tayin edilemediğinden dolayı her bir deneğin kanında, insan rekombinant leptin hormonunun in vitro ve değişen oranlardaki çözeltilerinin trombosit kümeleşmesine etkisi, deneklerin serum leptin seviyesi dikkate alınmadan yorumlandı.

Çalışmamızda periton diyalizi hastalarının 1.test hücresi ve 2.test hücresi arasında, trombosit kümeleşmesini yansıtan ölçütlerden eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı değişkenlerinin tümü üzerinde istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0.000$). Bu sonucun anlamı şudur: 2. test hücresine, son yoğunluğu 25 ng/ml olan ve in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir. Periton diyalizi hastalarının 1.test hücresi ve 3.test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0.000$). Bu sonucun anlamı şudur: 3.test hücresine, son yoğunluğu 50 ng/ml dozda in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir. Periton diyalizi hastalarının 1.test hücresi ve 4. test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0.000$). Bu sonucun anlamı şudur: 4.test hücresine, son yoğunluğu 100 ng/ml dozda in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir.

Periton diyalizi hastalarının 2. ile 3.test hücresi, 2. ile 4.test hücresi ve 3. ile 4.test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu sonucun anlamı şudur: İn vitro eklenen insan rekombinant leptin hormonunun test hücresi içerisindeki son yoğunluğu 25 ng/ml değerinden daha fazla olduğunda, 25 ng/ml yoğunluğundaki değerine kıyasla, ADP ile

kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesi üzerinde daha fazla engelleme oluşmamaktadır.

Çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan deneklerin 1.test hücresi ve 2.test hücresi arasında, trombosit kümeleşmesini yansıtan ölçütlerden eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı değişkenlerinin tümü üzerinde istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık saptandı (p değerleri sırasıyla 0.001, 0.001, 0.016). Bu sonucun anlamı şudur: 2. test hücresine, son yoğunluğu 25 ng/ml dozda in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir. Kontrol grubunun 1.test hücresi ve 3.test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık saptandı (p değerleri sırasıyla 0.001, 0.001, 0.004). Bu sonucun anlamı şudur: 3.test hücresine, son yoğunluğu 50 ng/ml dozda in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir. Kontrol grubunun 1.test hücresi ve 4.test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık saptandı (p değerleri sırasıyla 0.001, 0.001, 0.000). Bu sonucun anlamı şudur: 4.test hücresine, son yoğunluğu 100 ng/ml dozda in vitro eklenen insan rekombinant leptini, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesini önlemektedir.

Kontrol grubunun 2. ile 3.test hücresi, 2. ile 4.test hücresi ve 3. ile 4.test hücresi arasında eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin tümü üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu sonucun anlamı şudur: İn vitro eklenen insan rekombinant leptin hormonunun test hücresi içerisindeki son yoğunluğu 25 ng/ml değerinden daha fazla olduğunda, 25 ng/ml yoğunluğundaki değerine kıyasla, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşmesi üzerinde daha fazla engelleme oluşmamaktadır.

Literatür bilgilerimize göre, periton diyaliz hastalarında leptin hormonunun trombosit kümeleşmesi üzerinde in vitro etkisinin araştırıldığı bizim çalışmamız, literatürdeki ilk araştırmadır. Jolanta Malyszko ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları araştırmada, periton diyalizi yapan 28 hastada trombosit kümeleşmesi, hem PRP hem de tam kandan elde edilen olmak üzere iki farklı yöntemle hesaplanmıştır (43). Bizim çalışmamızda trombosit kümeleşmesi, tam kandan ölçüm yapabilen Multiplate cihazı ile ölçüldü. Hem Jolanta Malyszko ve arkadaşlarının hem de bizim çalışmamızda diyabetik olmayan hastalar

çalışmaya alınmıştır. Yapılan araştırmalar, diyabetik hastaların trombositlerinin kalsiyum homeostazının değiştiğini ve kümeleşme yeteneğinin arttığını göstermiştir. Diğer taraftan, insülinin de trombosit içindeki kalsiyum yoğunluğunu azalttığı ve sağlıklı bireylerin trombositlerinden nitrik oksit (NO) üretimini artırdığı bildirilmiştir. (44). Jolanta Malyszko ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, plazma ve periton sıvısı leptin seviyesi ile trombosit kümeleşmesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Agonist olarak ristosetin ve araşidonik asit kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda eritropoetin kullanan periton diyalizi hastalarında, ristosetin ile uyarılmış trombosit kümeleşmesi ile serum ve periton sıvısı leptin seviyesi arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır (43). Jolanta Malyszko ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak, bizim çalışmamızda insan rekombinant leptin hormonunun, ADP ile uyarılmış trombositler üzerinde in vitro ve değişen oranlarında etkisine bakıldı. Ayrıca, sağlıklı deneklerden sağlanan bir kontrol grubu da oluşturuldu. Çalışmamızda, gerek periton diyalizi hastalarında gerekse de kontrol grubunda serum leptin seviyesi ile ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşme ölçütleri arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık bulmadık.

Bugüne kadar yapılan ve leptinin trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, araştırmacılar genellikle trombositten zengin plazma (PRP) elde ederek kümeleşme ölçümü yapmayı tercih etmişlerdir. Halbuki, tam kandan trombosit kümeleşmesi ölçümü yapılması, tam kanın trombositler dışında kalan diğer şekilli elemanlarını da içermesi nedeniyle diğer yöntemlere göre daha fizyolojik bir ortam oluşturmaktadır (45). Hem lökosit hem de trombosit yüzeyinde bulunan p-selektin moleküllerinin bir araya gelmesiyle monosit ve nötrofiller, trombositler ile heterotipik agregatlar oluştururlar (46). Tam kandaki trombosit-nötrofil ilişkisi, özellikle erken dönemde trombosit yanıtını geriletebilir. Mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte, işlevselliği artmış trombositlerin eritrositler ile teması, trombositlerin etkinliğini ve işlevsel kapasitesini artırır (47). Bizim çalışmamızda, tam kandan trombosit kümeleşmesi ölçümü yapıldı.

Çalışmamızda hem periton diyalizi hastalarında hem de kontrol grubunda insan rekombinant leptin hormonunun son yoğunluğu 25 ng/ml dozunda, ADP ile uyarılmış trombositlerin kümeleşme yeteneğini azalttığı saptandı. Leptinin daha yüksek yoğunluğunda (50 ve 100 ng/ml) da bu etkinin sürdüğü fakat doza bağlı daha güçlü bir engellenmenin olmadığı bulundu. Periton diyaliz hastaları, son bir yıl içinde ölçülen serum leptin seviyesine göre 25 ng/ml'nin üstünde (n=16) ve altında olan (n=27) olmak üzere iki gruba ayrılıp her bir grubun

serum leptin seviyesi ile 1.test hücresindeki kümeleşme ölçütleri olan ortalama kümeleşme, eğri altındaki alan ve ivme hızı birbiriyle karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Birbirini desteklemeyen bu iki sonuç, leptin hormonunun trombositlere olan etkisinde, dolaşımında sürekli bulunmasıyla dolaşıma kısa sürede geçmesi arasında farklılık olabileceğini göstermektedir. J. Beltowski ve arkadaşlarının 2010 yılında ratlar üzerinde yaptıkları bir deneysel çalışmada, leptin hormonunun kısa etki süresinde ivedi uygulanmasının hayvanlarda natriürezise ve nitrik oksit (NO) benzeri etkiye yol açtığı saptandı. Aynı çalışmada, deney hayvanlarında oluşturulan kronik hiperleptineminin, hem natriürezis hem de NO benzeri etkiye karşı bir direnç oluşturduğu bulundu. Çalışmayı yapan araştırmacılar, kronik hiperleptineminin bu etkisinin hücre zarındaki leptin reseptörünün yoğunluğundaki azalma ya da reseptörün hücre sitoplazması içindeki iletim yollarında bir iletim kesintisinden kaynaklanmış olabileceğini düşündüler (49). NO, endotel hücrelerinden olduğu kadar trombositlerden de salınabilmektedir. Sağlıklı bireylerinkine kıyasla üremik hastaların trombositleri daha fazla NO üretir. Damar tonusunu düzenleyici etkisinin yanında NO, trombositlerin yapışma ve kümeleşme yeteneğini de azaltır (14). Çalışmamızda hem periton diyaliz hastalarında hem de kontrol grubunda, insan rekombinant leptin hormonunun in vitro uygulanmasıyla ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin aglütinasyonunu engellemesi, NO benzeri ivedi etkisi ile açıklanabilir. Periton diyalizi hastalarında serum leptin seviyesi > 25 ng/ml olan grubun, serum leptin seviyesi < 25 ng/ml olan grup ile karşılaştırıldığında, 1.test hücresindeki kümeleşme ölçütleri ile serum leptin seviyesi arasında istatistiksel bir ilişkinin bulunamamış olması, kronik hiperleptinemide gerek trombosit yüzeyinde reseptör yoğunluğunun azalmasından gerekse de reseptörün hücre sitoplazması içindeki iletim yollarında bir bozukluktan dolayı NO benzeri etkisine karşı gelişen dirence bağlı olabilir.

Würtz M. ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada, koroner arter hastalığı olup aspirin tedavisi altındaki 417 hasta ile 21 sağlıklı gönüllü üzerinde, tam kandan trombosit kümeleşmesi ölçümü yapıldı. Bu çalışmada, trombositlerin kümeleşmesini sağlamak için kollajen (1,0 mikrogram/ml) ve araşidonik asit (0,75-1,0 mmol/L) kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda, hem hasta hem de kontrol grubunda, trombosit ve lökosit sayısı ile trombosit kümeleşmesi ölçütleri arasında istatistiksel yönden anlamlı farklılık tespit edilmiştir (50). Çalışmamızda, periton diyalizi hastalarında trombosit ve lökosit sayısının, 1. test hücresindeki, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ile

karşılaştırmasında istatistiksel bakımdan anlamlı farklılık saptanmıştır. Kontrol grubunda ise trombosit ve lökosit sayısı ile 1.test hücresinin aynı kümeleşme ölçütleri karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı farklılık bulunmamıştır.

KBH hastalarında gelişen sekonder hiperparatiroidizme bağlı olarak, hücre içinde artan kalsiyumun trombosit işlev bozukluğuna neden olduğu bilinmektedir (14).Literatürde serum paratiroid hormonu ile trombosit kümeleşmesini karşılaştıran çalışmalarda, birbirinden farklı ve çelişkili sonuçlar bulunmuştur (51,52,53). Yaptığımız çalışmada, her iki denek grubunda da ortalama serum parathormon seviyesinin, 1.test hücresindeki, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin kümeleşme ölçütleri olan ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ile karşılaştırmasında istatistiksel bakımdan anlamlı farklılık saptanmamıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, hem periton diyalizi (PD) hastalarında hem de kontrol grubunda insan rekombinant leptin hormonunun in vitro ve değişen oranlardaki (25, 50 ve 100 ng/ml) çözeltilerinin, tam kandaki, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin aglütinasyonunu istatistiksel yönden anlamlı derecede engellediği saptanmıştır. Leptin hormonunun in vitro, ADP ile kümeleşmesi sağlanmış trombositlerin aglütinasyonunu engellemesi, NO (Nitrik Oksit) benzeri ivedi etkisi ile açıklanabilir. Periton diyalizi hastalarında serum leptin seviyesi > 25 ng/ml olan grubun, serum leptin seviyesi < 25 ng/ml olan grup ile karşılaştırıldığında, 1.test hücreesindeki kümeleşme ölçütleri ile serum leptin seviyesi arasında istatistiksel bir ilişkinin bulunamamış olması, kronik hiperleptinemide gerek trombosit yüzeyinde reseptör yoğunluğunun azalmasından gerekse de reseptörün hücre sitoplazması içindeki iletim yollarındaki bir bozukluktan dolayı leptinin NO benzeri etkisine karşı gelişen dirence bağlı olabilir. Leptin hormonunun PD hastalarında, trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisinin kanıtlanabilmesi için, daha fazla hasta içeren, prospektif ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Öneri olarak, kronik böbrek yetmezlikli hastalarda sık karşılaşılan kanama sorunlarının önlenmesi veya tedavisinde leptin antagonistleri ya da leptin reseptör antagonistlerinin kullanılması, yapılacak klinik ve farmakolojik çalışmalar ile mümkün olabilir.

7. ÖZET

Amaç: Kronik böbrek yetmezliğinde kardiyovasküler hastalıklar ve onların yol açtığı istenmeyen olaylar (miyokard infarktüsü, inme) en önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Adipositlerden sentez edilen leptin hormonunun, trombosit membranında reseptörü (Ob-Rb) bulunduğu saptandıktan sonra, trombosit işlevleri üzerindeki etkisi araştırılmaya başlanmıştır. Bu konuda, günümüze kadar yapılan araştırmalar, genellikle sağlıklı bireyler ve obez hastalar üzerinde yapılmıştır. Kronik böbrek hastalarının serumlarındaki leptin seviyesi normal topluma göre daha yüksek saptanmıştır. Periton diyalizi (PD) olan hastaların serumlarındaki leptin seviyesi, hem hemodiyaliz yapılan hem de henüz diyalize girmeyen evre 5 kronik böbrek hastalarınınkinden daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın amacı, periton diyalizi tedavisi olan hastalarda leptin hormonunun trombosit kümeleşmesi ile ilişkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda PD tedavisi olan 43 hasta ve 15 kontrolün, tam kandan trombosit işlev irdemesi yapabilen Multiplate cihazı ile trombosit kümeleşmesi hesaplanmış ve ardından insan rekombinant leptin hormonunun in vitro ve değişen oranlardaki (25, 50, 100 ng/ml) çözeltilerinin trombosit kümeleşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu işlem için toplam 4 adet test hücresi kullanılmıştır. 1.test hücresine (C1) leptin eklenmezken, 2. (C2), 3. (C3), 4. (C4) test hücrelerine sırası ile 25, 50, 100 ng/ml leptin eklenmiştir. Ayrıca ELİSA yöntemi ile serum leptin seviyesi tayin edilmiştir.

Bulgular: Her iki denek grubunda da test hücrelerine eklenen rekombinant leptin hormonunun trombosit kümeleşmesini azalttığı tespit edilmiştir. Periton diyalizi hastalarının 1.test hücresinden elde edilen ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütleri sırasıyla 2., 3. ve 4. test hücrelerinden elde edilen aynı ölçütlerle karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı farklılıklar saptanmıştır; ve (p) değerleri her üçünde de $p=0,000$ bulunmuştur. Periton diyalizi hastalarının 2.test hücresi ile 3.test hücresi, 2.test hücresi ile 4. test hücresi ve 3.test hücresi ile 4.test hücresinden elde edilen eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütlerinin ortalama değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan anlamlı farklar bulunmamıştır.

Kontrol grubunun 1. test hücresinin ortalama eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı ölçütleri sırasıyla 2., 3. ve 4.test hücrelerinin aynı ölçütleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı farklılıklar bulunmuştur. C1-C2, C1-C3 ve C1-C4 arasında eğri altındaki alan ve kümeleşme için $p=0,001$, ivme hızı için p değerleri sırasıyla 0,016, 0,004 ve 0,000 saptanmıştır. Kontrol grubunun 2.test hücresi ile 3.test hücresi, 2.test hücresi ile 4.test hücresi ve 3.test hücresi ile 4.test hücresinden elde edilen ortalama değerler, eğri altındaki alan, kümeleşme ve ivme hızı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan anlamlı farklar bulunmamıştır.

Sonuçlar: Rekombinant leptin hormonunun, son yoğunluğu 25 ng/ml seviyesinin üzerindeki oranlarında da trombosit kümeleşmesi üzerindeki engelleyici etkisi devam etmiş fakat bu seviyenin üzerinde istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir. PD hastalarında leptin hormonunun trombosit kümeleşmesini azalttığını ya da kanamaya eğilimi artırdığını kanıtlayabilmek için daha fazla sayıda hasta içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Periton diyalizi, trombosit kümeleşmesi, insan rekombinant leptin, ADP

8. ABSTRACT

THE EFFECTS OF SERUM LEPTIN LEVELS ON THROMBOCYTE AGGREGATIONS IN PERITONEAL DIALYSIS PATIENTS

AIM: The most important causes of mortality and morbidity in chronic renal failure are cardiovascular diseases and their complications (myocardial infarcts, stroke). The invention of leptin hormone thrombocyte membrane receptor (Ob-Rb) on thrombocytes promoted new investigations about the effect of leptin on thrombocyte function. Until today, healthy and obese individuals have been investigated in this field. Serum leptin levels of patients with chronic kidney disease have been detected higher than normal population. Patients receiving peritoneal dialysis appear to have the levels of serum leptin higher than patients treated with hemodialysis and stage 5 chronic kidney disease without dialysis. The aim of this study is to investigate the effects of serum leptin levels on thrombocyte aggregations in peritoneal dialysis (PD) patients.

MATERIAL and METHOD: 43 PD patients and 15 healthy controls were included into this study. Thrombocyte aggregation was calculated from the whole blood by using Multiplate analyzer, subsequently the effects of different concentrations of human recombinant leptin hormone (25, 50, 100 ng/ml) on thrombocyte aggregations were investigated. Total four test cells were used for this process. While leptin hormone was not added into the 1st (C1) cell, concentration of 25, 50, 100 ng/ml leptin was added into the 2nd(C2), 3rd(C3), 4th(C4) test cells, respectively. Serum leptin levels were measured by ELISA.

RESULTS: It was determined that aggregation of the thrombocytes was inhibited by recombinant leptin hormone in both PD patients and control group. Area under the curve, velocity and aggregation values were found statistically significant in 1st test cell when compared to 2nd, 3rd, 4th test cells in PD patients ($p=0,000$). When compared 2nd test cell to 3rd and 4th test cells, and 3rd test cell to 4th test cell we could not find any significant differences for area under the curve, velocity and aggregation mean values statistically in PD patients.

Area under the curve, velocity and aggregation values were found statistically significant in 1st test cell when compared to 2nd, 3rd, 4th test cells in control group. P values of C1vsC2, C1vsC3 and C1vsC4 for area under the curve and aggregation values were found 0.001, and p values of velocity value were found 0.016, 0.004 and 0.000 for the same compared test cells respectively. When compared 2nd test cell to 3rd and 4th test cells, and 3rd test cell to 4th test cell we could not find any significant differences for area under the curve, velocity and aggregation mean values statistically in control group.

CONCLUSION: The inhibitor effect of recombinant leptin hormone on thrombocyte aggregation were proceeding when leptin concentrations was more than 25 ng/ml however it was not significant statistically. More further researches including more PD patients are required to prove the action of leptin hormone on thrombocyte aggregation or its effects on bleeding tendency.

Key Words: Peritoneal Dialysis, Thrombocyte Aggregation, Human Recombinant Leptin, ADP

9. KAYNAKLAR

1. Lesley A. Stevens, Nicholas Stoycheff, and Andrew S. Levey. Staging and Management of Chronic Kidney Disease. In: Arthur Greenberg, Alfred K.Cheung, Thomas M.Coffman Ronald J.Falk, J.Charles Jennette: Primer on Kidney Diseases 5th Edition. Elsevier Saunders; 2009. p: 436-445
2. Bengt Rippe. Peritoneal Dialysis: Principles, Techniques, and Adequacy. In: Jürgen Floege, Richard J.Johnson, John Feehally: Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1081-1091
3. Peter G. Blake and John T. Daugirdas. Physiology of Peritoneal Dialysis. In: John T.Daugirdas, Peter G.Blake, Todd S. Ing: Handbook of Dialysis Fourth Edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p: 323-338
4. National Institute for Health and Clininal Excellence. NICE clinical guideline 73. Chronic kidney disease: early identification and management of chronic kidney disease in adults in primary and secondary care. 4-19, 2008
5. Andrew S. Levey, MD, et al. K/DOQI disclaimer. American Journal of Kidney Diseases, Vol **39**, No 2, Suppl 1: pp S46-S75, 2002
6. Pekçelen Y. Hemostaz Bozuklukları. In: Dinçol G, Pekçelen Y, eds. Klinik Hematoloji. Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. p: 347-360
7. Peter Kotanko, Martin K. Kuhlmann, Nathan W. Levin. Hemodialysis: Principles and Techniques. In: Jürgen Floege, Richard J.Johnson, John Feehally: Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1053-1059
8. William R. Mulley, John Kanellis. Evaluation and Preoperative Management of Kidney Transplant Recipient and Donor. In: Jürgen Floege, Richard J.Johnson, John Feehally: Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1142-1152
9. Bertram L. Kasiske and Jeffrey J. Connaire. Selection of Prospective Kidney Transplant Recipients. In: Arthur Greenberg, Alfred K.Cheung, Thomas M.Coffman Ronald J.Falk, J.Charles Jennette: Primer on Kidney Diseases 5th Edition. Elsevier Saunders; 2009. p: 525-532.
10. Jeffrey L.Veale, Jennifer S. Singer, and H. Albin Gritsch. The Transplant Operation and Its Surgical Complications. In: Gabriel M. Danovitch, MD: Handbook

of Kidney Transplantation Fifth Edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p: 181-196.

11. Roslyn B. Mannon. Post-transplantation Monitoring and Outcomes. In: Arthur Greenberg, Alfred K.Cheung, Thomas M.Coffman Ronald J.Falk, J.Charles Jennette: Primer on Kidney Diseases 5th Edition. Elsevier Saunders; 2009. p: 534-541

12. Jane E. Freedman, Joseph Loscalzo. Arterial and Venous Thrombosis. In: Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 18th Edition, 2012. p: 983-988

13. Barbara Konkle. Bleeding and Thrombosis. In: Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 18th Edition, 2012. p: 457-464

14. Walter H. Hörl. Other Blood and Immune Disorders in Chronic Kidney Disease. In: Jürgen Floege, Richard J.Johnson, John Feehally: Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 959-968

15. Matthew J. Price, MD. Bedside Evaluation of Thienopyridine Antiplatelet Therapy. *Circulation* **119**: 2625-2632, 2009

16. Jolanta M. Siller-Matula; Ghazaleh Gouya; Michael Wolzt; Bernd Gilma. Cross validation of the Multiple Electrode Aggregometri. *Thromb Haemost* **102** (2): 397-403, 2009

17. Erkan Dervisoglu, MD, Ceyla Eraldemir, MD, Betul Kalender, MD, Hale Maral Kir, MD, and Cigdem Caglayan, MD. Adipocytokines Leptin and Adiponectin, and Measures of Malnutrition-Inflammation in Chronic Renal Failure: Is There a Relationship? *Journal of Renal Nutrition*, Vol **18**, No 4 (July): pp 332-337, 2008

18. Libbie P. Briley and Lynda A. Szczech. Leptin and Renal Disease. *Seminars in Dialysis*-Vol **19**, No 1 (January-February): pp 54-59, 2006

19. Miguel Perez Fontan, MD, Ana Rodriguez-Carmona, MD, Fernando Cordido, MD, and Jesus Garcia-Buela, MD. Hyperleptinemia in Uremic Patients Undergoing Conservative Management, Peritoneal Dialysis, and Hemodialysis: A Comparative Analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, Vol **34**, No 5 (November): pp 824-831, 1999

20. Jerzy Beltowski, Anna Jamroz-Wisniewska, Ewelina Borkowska, Grazyna Wojcicka. Up-Regulation of Renal Na,K-ATP'ase: The Possible Novel Mechanism of Leptin-Induced Hypertension. *Pol. J. Pharmacol.* **56**: 213-222, 2004

21. William G. Haynes, Donald A. Morgan, Susan A. Walsh, Allyn L. Mark, and William I. Sivitz. Receptor-mediated Regional Sympathetic Nerve Activation by Leptin. *The Journal of Clinical Investigation*. Volume **100**, Number 2: 270-278, 1997
22. Megumi Aizawa-Abe, Yoshihiro Ogawa, Hiroaki Masuzaki, Ken Ebihara, Noriko Satoh, Hidenori Iwai, Naoki Matsuoka, Tatsuya Hayashi, Kiminori Hosoda, Gen Inoue, Yasunao Yoshimasa, and Kazuwa Nakao. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *J. Clin. Invest.* **105**: 1243-1252, 2000
23. Editorial. A role for leptin in glomerulosclerosis? *Kidney International*. Vol. **56**, pp: 1154-1155, 1999
24. A. Michael Wallace, Alex D. McMahon, Chris J. Packard, Anne Kelly, James Shepherd, Allan Gaw and Naveed Sattar. Plasma Leptin and the Risk of Cardiovascular Disease in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation* **104**: 3052-3056, 2001
25. Nadia Mehebik, Anne-Marie Jaubert, Dominique Sabourault, Yves Giudicelli and Catherine Ribiere. Leptin-induced nitric oxide production in white adipocytes is mediated through PKA and MAP kinase activation. *Am J. Physiol. Cell Physiol.* **289**: C379-C387, 2005
26. Masanori Nakata, Toshihiko Yada, Noriko Soejima, and Ikuro Maruyama. Leptin Promotes Aggregation of Human Platelets via the Long Form of Its Receptor. *Diabetes* **48**: 426-429, 1999
27. U.S. Renal Data System. *USRDS 2008 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States*. Bethesda, Md: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2008.
28. Go AS, Chertow GM, Fan D, et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* **351**:1296-1305, 2004
29. Tonelli M, Wiebe N, Cullerton B, et al: Chronic kidney disease and mortality risk: A systematic review. *J Am Soc Nephrol.* **17**: 2034-2047, 2006
30. Daniel E. Weiner and Mark J. Sarnak. Cardiac Function and Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease. In: Arthur Greenberg, Alfred K.Cheung, Thomas M.Coffman Ronald J.Falk, J.Charles Jennette: *Primer on Kidney Diseases* 5th Edition. Elsevier Saunders; 2009. p: 499-505

- 31.** Herzog CA. How to manage the renal patient with coronary heart disease: The agony and the ecstasy of opinion-based medicine. *J Am Soc Nephrol.* **14:** 2556-2572, 2003
- 32.** Reddan DN, Marcus RJ, Owen WF Jr, et al: Long term outcomes of revascularization for peripheral vascular disease in end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis.* **38:** 57-63, 2001
- 33.** Seliger SL, Gillen DL, Longstreth WT Jr, et al: Elevated risk of stroke among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* **64:** 603-609, 2003
- 34.** Richard Torres, Henry M. Rinder. Disorder of Hemostasis: Thrombosis. In: Thomas E. Andreoli, MD., Charles CJ. Carpenter, M.D., Robert C. Griggs, M.D., Ivor J. Benjamin, M.D, editors. *Cecil Essentials of Medicine 7th Edition*, 2007. p: 555-563
- 35.** Tartaglia LA: The leptin receptor. *J. Biol. Chem.* **272:** 6093-6096, 1997
- 36.** Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, Handman E, Mc Farlane C, Ng A, Nicola NA, Alexander WS, Hilton DJ: Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93:** 14564-14568, 1996
- 37.** Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D, Snodgrass HR: Novel B 219/OB receptor isoforms: Possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat. Med.* **2:** 585-589, 1996.
- 38.** Stavros Konstantinides, Katrin Schafer, Stefan Koschnick, and David J. Loskutoff. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J. Clin. Invest.* **108:** 1533-1540, 2001
- 39.** Metin Ozata, Ferit Avcu, Ozlem Durmus, Ilker Yilmaz, I. Caglayan Ozdemir, and Atilla Yalcin. Leptin Does Not Play a Major Role in Platelet Aggregation in Obesity and Leptin Deficiency. *Obesity Research* Vol. **9** No. 10: 627-630, 2001
- 40.** G. Giandomenico, C. Dellas, R-P Czekay, S. Koschnick and D. J. Loskutoff. The leptin receptor system of human platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **3:** 1042-1049, 2005
- 41.** Hisham S. Elbatarny and Donald H. Maurice. Leptin-mediated activation of human platelets: Involvement of a leptin receptor and phosphodiesterase 3A-containing cellular signaling complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **289:** E695-E702, 2005

- 42.** F. Corica, A. Corsonello, M. Lucchetti, A. Malara, D. De Domenico, L. Cannova, S. Foti, A. Valenti, R. Ientile and A. Saitta. Relationship between metabolic syndrome and platelet responsiveness to leptin in overweight and obese patients. *International Journal of Obesity* **31**: 842-849, 2007
- 43.** Jolanta Malyszko, Slawomir Wolczynski, Jacek Malyszko, Michal Mysliwiec. Leptin Correlates with Some Hemostatic Parameters in CAPD Patients. *Nephron* **92**: 721-724, 2002
- 44.** Voahanginirina Randriamboavonjy, PHD, Ingrid Fleming, PHD. Insulin, Insulin Resistance, and Platelet Signaling in Diabetes. *Diabetes Care*, Volume **32**, Number 4: 528-530, April 2009
- 45.** N. Rahe-Meyer, M. Winterhalter, A. Boden, C. Froemke, S. Piepenbrock, A. Calatzis and C. Solomon. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry. *Acta Anaesthesiologica Scand* **53**: 168-175, 2009
- 46.** M. R. Barnard, M. D. Linden, A. L. Frelinger, Y. Li, M. L. Fox, M. I. Furman, and A. D. Michelson. Effect of platelet binding on whole blood flow cytometry assay of monocyte and neutrophil procoagulant activity. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **3**: 2563-2570, 2005
- 47.** M. Teresa Santos, Juano Valles, Justo Aznar, Aido Lago, Elena Sanchez, Juan Cosin, Antonio Moscardo, Marta Pinon, M. Johan Broekman, and Aaron J. Marcus. Aspirin Therapy for Inhibition of Platelet Reactivity in the Presence of Erythrocytes in Patients with Vascular Disease. *J Lab Clin Med.* **147** (5): 220-227, 2006
- 48.** Calatzis A, Spannagl M, Loreth R: Multiplate platelet function analysis-application and interpretation. 2007. In: Klaus Gorlinger, Csilla Jambor, Alexander A. Hanke, Daniel Dirkmann, Michael Adamzik, Matthias Hartmann, Niels Rahe-Meyer. Perioperative Coagulation Management and Control of Platelet Transfusion by Point-of-Care Platelet Function Analysis. *Transfus Med Hemother* **34**: 396-411, 2007
- 49.** Jerzy Beltowski, Grazyna Wojcicka, Anna Jamroz-Wisniewska, Andrzej Wojtak. Chronic hyperleptinemia induces resistance to acute natriuretic and NO-mimetic effects of leptin. *Peptides* **31**: 155-163, 2010
- 50.** Würtz M, Hvas AM, Kristensen SD, Grove EL. Platelet aggregation is dependent on platelet count in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* **129** (1): 56-61, 2012

- 51.** Leithner C, Kovarik J, Sinzinger H, Woloszczuk W. Parathyroid hormone does not inhibit platelet aggregation. *Lancet* **1**(8373): 367-368, 1984
- 52.** Benigni A, Livio M, Dodesini P, Schieppati A, Panigada M, Mecca G, de Gaetano G, Remuzzi G. Inhibition of human platelet aggregation by parathyroid hormone. Is cyclic AMP implicated? *Am J Nephrol.* **5** (4): 243-247, 1985
- 53.** Arantxa Ortega, M. Teresa Perez de Prada et al. Effect of parathyroid-hormone-related protein on human platelet activation. *Clinical Science* **113**: 319-327, 2007



HASTA GRUBU

NO	İSİM	YAŞ	DİYALİZ SÜRESİ (AY)	TROMBOSİT	LÖKOSİT	PTH	SERUM LEPTİN
1	Y. C.	55	62	356000	7020	646,4	0,41
2	D. B.	65	39	290000	9380	417,1	17,57
3	N. C.	34	30	252000	10000	972,6	8,53
4	O. A.	49	11	218000	6660	374	0,51
5	S. T.	44	19	275000	8320	332,2	0,12
6	M. K. A.	48	48	311000	9930	341,9	133,42
7	A. A.	53	36	370000	8130	265,2	0,08
8	H. K.	42	4	246000	4740	187,2	31,52
9	Z. Y.	50	48	259000	10000	262,7	124,56
10	I. T.	52	42	366000	7520	480,1	5,79
11	M. G.	43	40	219000	7160	822,4	145,7
12	A. S.	47	34	414000	6560	958,6	14,92
13	H. S.	59	25	219000	9800	175,2	117,81
14	Y. Y.	45	7	241000	7050	173,3	21,42
15	S. B.	39	27	204000	4510	242,6	1,26
16	M. O.	53	68	169000	6290	1246,2	15,15
17	F. P.	58	22	332000	8980	173,1	30,59
18	E. A.	51	43	92300	5610	403,7	5,92
19	S. K.	20	14	203000	6510	2691	4,57
20	S. O.	53	40	223000	7150	670,7	0,54
21	C. Z.	40	29	169000	8440	201,8	5,42
22	O. S.	61	24	201000	4270	187,1	49,36
23	I. A.	33	89	245000	4670	434,3	2,71
24	E. A.	50	41	197000	4390	402,3	5,51
25	S. K.	47	59	439000	8920	737,5	190,19
26	N. S.	33	33	232000	6590	483,2	154,25
27	F. S. K.	37	39	149000	3670	1341,2	6,16
28	U. T.	52	39	227000	5840	318,2	9,36
29	B. O.	56	42	303000	10400	98,5	11,27
30	H. B.	68	17	204000	5860	341	3,22
31	H. K.	37	22	326000	9370	12,6	142,85
32	M. C.	39	44	306000	7090	276,5	2,65
33	N. A.	78	34	217000	6390	189,9	3,43
34	G. S.	30	22	245000	6970	193,6	135,26
35	K. O.	40	47	376000	7500	723,3	30,61
36	M. S.	56	54	225000	5730	213,4	21,93
37	H. D.	48	84	258000	5400	3310,1	42,35
38	C. K.	46	86	157000	5380	1247,4	15,75
39	T. C.	69	96	188000	9650	757,3	139,36
40	A. A.	37	70	260000	6640	137,5	10,67
41	V. P.	55	43	214000	7350	191,2	5,81
42	H. G.	48	5	258000	7530	617	47,16
43	A. O. A.	49	74	281000	6460	191,1	52,29

C1(AUC)	C1(KÜMELEŞME)	C1(İVME HIZI)
1087	181,5	27,2
603	115,5	11,2
870	160,9	15,5
755	139,9	15,1
705	138	13,7
810	164,6	14,3
985	172,5	22,9
598	102,4	13,7
737	135,8	16,9
830	148,1	17,1
519	91,1	13
831	133,1	23,8
870	168,4	16,1
651	117,8	16,1
512	98,6	10
750	155,6	13,5
892	151,9	20,8
243	56,6	6,3
245	42	5,9
669	111	16,1
264	44,6	7,5
440	69,8	12,3
671	100,1	21,5
249	44,6	6,5
1087	167,6	30,7
827	169,5	17,8
261	53,6	5,5
608	109,1	13,4
801	147	17,6
432	85,5	8,9
785	136,5	22,4
832	145,9	21,4
857	166,9	15,4
838	173,3	14,8
890	148,5	26,7
702	132,4	14,4
773	151,1	14,7
332	60,4	8,5
837	167,6	15,7
1344	291,4	23
854	167,6	16,1
1116	211,1	19,9

C2(AUC)	C2(KÜMELEŞME)	C2(İVME HIZI)
716	113,6	16,6
365	68,6	9,2
553	87,4	15
546	100,1	12,3
667	132,4	12
605	106,9	13,9
662	119,6	14,6
114	21,8	3
561	96	16,2
643	104,6	16,6
.	.	.
779	124,5	21,4
354	66,4	7,8
573	103,9	12,4
.	.	.
431	80,6	9,9
367	72	7,7
.	.	.
.	.	.
438	72	11,4
.	.	.
.	.	.
260	36,4	13,8
.	.	.
712	114	16,4
646	111	16,2
.	.	.
212	41,3	5
138	26,3	3,6
.	.	.
545	101,6	17,2
500	85,5	12,6
429	81	10,7
541	99,8	11
.	.	.
344	62,6	8,1
625	110,3	13,1
.	.	.
315	76,5	8,6
915	160,9	20,6
498	94,1	10,4
850	155,3	17,6

C3(AUC)	C3(KÜMELEŞME)	C3(İVME HIZI)
668	106,1	16,1
334	62,6	7,2
512	86,3	11,9
231	45,8	6,1
707	138,4	12,6
565	105	12
145	31,1	3,4
.	.	.
579	91,5	15
651	103,9	17,4
.	.	.
898	147,8	22,1
567	104,3	13,4
391	72	11,3
.	.	.
263	48,8	7,8
881	142,1	22,5
.	.	.
.	.	.
521	88,9	13
.	.	.
.	.	.
467	67,1	19,8
.	.	.
592	93	14,5
511	101,3	11,5
.	.	.
463	83,3	9,9
163	28,9	4,1
.	.	.
522	90,8	21
458	77,3	12,2
429	85,5	8,8
563	107,3	11,4
582	80,6	25,2
277	54,4	6,7
.	.	.
.	.	.
324	72,8	7,2
807	146,3	17,4
495	96	10,5
751	132,4	15,2

C4(AUC)	C4(KÜMELEŞME)	C4(İVME HIZI)
621	96,4	16,7
163	31,9	4
518	88,9	13,2
470	83,3	11
567	114,4	11,4
620	112,1	12,5
426	72	10
265	50,3	5,8
588	88,1	16,7
646	111,4	14,4
.	.	.
742	129	16,1
540	101,6	11,4
408	73,5	9,4
.	.	.
352	68,3	7,4
969	159,4	22,1
.	.	.
.	.	.
476	79,9	10,8
.	.	.
.	.	.
547	75,4	23,4
.	.	.
514	85,9	12,9
686	126	14,6
.	.	.
.	.	.
.	.	.
717	113,6	23,1
440	75	10,4
577	114,4	10,5
632	121,9	12
517	79,1	20,8
427	75	10
712	128,3	14,8
.	.	.
255	58,1	6
922	172,5	18,1
456	88,5	9,6
820	145,1	16,3

KONTROL GRUBU

NO	İSİM	YAŞ	TROMBOSİT	LÖKOSİT	PTH	SERUM LEPTİN
1	U. B.	36	290000	8480	74,9	2,55
2	S. G.	36	399000	7310	25,4	19,62
3	H. B.	52	279000	6550	38,5	2,4
4	O. M.	36	255000	4820	45,3	3,84
5	E. T.	33	273000	7190	41,3	47,77
6	Y. A.	51	260000	4310	61	41,07
7	G. M.	60	304000	5740	.	33,09
8	S. S.	47	328000	6720	42,9	27,87
9	E. T.	45	285000	6520	50,5	19,61
10	A. I.	46	254000	8330	.	3,24
11	M. K.	58	263000	4790	57,8	5,42
12	S. K.	51	301000	5640	43,3	37,52
13	A. O.	61	205000	5000	62,8	19,68
14	E. S.	41	158000	6060	.	2,87
15	A. A.	47	262000	5490	.	11,39

C1(AUC)	C1(KÜMELEŞME)	C1(İVME HIZI)
711	119,6	15,4
891	127,1	29,6
1240	238,9	23,6
700	122,6	16,1
950	166,9	20,8
741	126,8	17,3
753	125,6	16,3
698	133,1	14,7
643	120	15,6
1103	203,3	20,2
653	122,3	14,4
628	120,4	18,9
907	160,5	21,4
310	71,6	6,9
555	111,4	10,7

C2(AUC)	C2(KÜMELEŞME)	C2(İVME HIZI)
365	62,3	8
787	111,8	27,3
650	101,3	17
610	104,6	13,7
708	108,8	22,3
566	91,9	13,2
474	74,6	12,1
566	95,3	14,4
421	74,3	20,4
644	115,1	15,1
299	54,8	6,8
418	66,8	18,1
579	97,1	14,4
.	.	.
.	.	.

C3(AUC)	C3(KÜMELEŞME)	C3(İVME HIZI)
409	67,5	10,1
696	97,1	23,9
746	126	17
481	78,8	12,7
792	123,4	21,8
347	53,6	10,3
454	73,5	15,2
577	99,4	15
409	73,1	10,1
623	120,4	12,5
289	53,3	7,1
587	103,5	18,2
511	84,4	11,5
.	.	.
.	.	.

C4(AUC)	C4(KÜMELEŞME)	C4(İVME HIZI)
400	72,4	8,6
716	102,4	23,3
718	112,1	18,7
491	84,8	11,6
917	148,1	24,2
465	79,1	11,3
414	66,4	10,9
575	103,9	13,3
442	73,5	11,3
673	131,6	13,1
281	49,5	7,1
560	92,3	18,8
520	78,8	15
.	.	.
.	.	.