



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA BÖLÜMÜ
İdari ve Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Doğan YÜCEL

**DİYALİZ HASTALARINDA
TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR ASETİL HİDROLAZIN
KALP KAPAK KALSİFİKASYONLARI İLE İLİŞKİSİ**

SERKAN BOLAT

TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2017



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
TİBBİ BİYOKİMYA BÖLÜMÜ
İdari ve Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Doğan YÜCEL

**DİYALİZ HASTALARINDA
TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR ASETİL HİDROLAZIN
KALP KAPAK KALSİFİKASYONLARI İLE İLİşKİSİ**

SERKAN BOLAT

TİBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIřMANI
DOÇ. DR. DOğAN YÜCEL
UZM. DR. VİLDAN FİDANCI

ANKARA
2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimiz boyunca ben dahil tüm asistanların yetişmesinde, iyi bir laboratuvar uzmanı olmanın ötesinde iyi, dürüst bir insan olmamız yönünde daha önceki hocalarımdan çok daha fazla katkıları olan, bilgi ve deneyimlerini sürekli paylaşan, bilimsel desteği yanında manevi desteğini de eksik etmeyen, kapısı herkese her zaman açık, bizlere özdisiplini aşılayan, içimizdeki çalışma hırısı ve hazzını artıran, yoğun çalışma programına rağmen tez çalışmam boyunca hep destek olan en değerli hocam Doç. Dr. Doğan Yücel'e,

Tezimin planlama, çalışma ve yazım aşamalarında bilimsel ve manevi olarak yardımcı olan, hayatının en zor anlarına rağmen elinden gelen desteği can-ı gönülden vermek isteyen danışmanım, sevdiğim ablam, Uzm. Dr. Vildan Fidancı'ya

Asistanlık sürecimin başından sonuna kadar bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen, sürpriz ve şakalarını eksik etmeyen, ara sıra kızdırsak da yine bizi affeden, samimiyeti, sevgisi ve cömertliğiyle derdimize ortak, soframıza eşlik eden, başasistanımız, canımız abimiz, Doç. Dr. Mehmet Şeneş'e,

Hastaların toplanmasında yorulmadan özveriyle çalışan Nefroloji ekibi, Doç. Dr. Ayşe Zeynep Bal, Uzm. Dr. Refika Büberci ve Uzm. Dr. Özdem Kavraz Tomar'a,

Ekokardiyografi için anjiyo ve servis arasında koşturmaktan kan ter içinde kalan, hastalar ve kendim için çok yordüğüm Uzm. Dr. Deniz Elçik'e,

Dört yıllık eğitimim süresince kendisinden pek çok bilgi ve tecrübeler edindiğim kıymetli başasistanımız, Uzm. Dr. Elmas Ögüş'e, test prosedürü konusunda yardımcı olan ve sonraki aşamalarda da destek vermek isteyen Uzm. Dr. Sema Nur Ayyıldız'a, burada hala beraber çalıştığımız veya emekli olmuş uzman doktorlara,

Asistanlığım süresince hastanede veya dışarda en güzel zamanları hep beraber geçirdiğim asistan arkadaşlarım Tuncay Güçlü, Zeynep Adıyaman, Murat Durak ve Fatma Merdan'a,

Bu dört yılda o küçük odayı benimle paylaşan, aynı koltukta uyuyup aynı yastığa baş koyduğumuz, çoğu zaman neşeli bazen de gergin anların olduğu ama her zaman birlikte olduğumuz, hepsi birbirinden farklı ve güzel tüm asistan arkadaşlarıma,

Ayrıca teknisyen arkadaşlarım ile iş ortağımız Detay medikal ve çalışanlarına,

Öncelikle hakları ödenmez olan canım anam ve babama, abi ve ablalarıma,
En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

DİYALİZ HASTALARINDA TROMBOSİT AKTİVE EDİCİ FAKTÖR ASETİL HİDROLAZIN KALP KAPAK KALSİFİKASYONLARI İLE İLİŞKİSİ

Amaç: Kronik Böbrek Hastalığında (KBH), kardiyovasküler mortalite riski, özellikle diyaliz hastalarında ciddi oranda artmıştır. PAF-Asetil hidrolaz, trombosit aktive edici faktörü (PAF) hidroliz eden bir enzimdir. Ateroskleroz ile kapak kalsifikasyonları ve PAF-AH arasındaki ilişkiler sebebiyle diyaliz hastalarında PAF-AH aktivitesinin kapak kalsifikasyonu ile ilişkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Hemodiyaliz (HD) ve periton diyalizi (PD) tedavisi alan 92 hasta ile GFH (mL/dk) değerlerine göre Evre 1-2 (>60), Evre 3a (45-59), Evre 3b (30-44), Evre 4 (15-29) ve Evre 5 (<15) olarak ayrılmış 86 KBH hastası çalışmaya dahil edildi. Hastalara ekokardiyografi yapılarak kapak kalsifikasyonları saptandı. Hasta serumlarında üre, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, ALT, ALP, kalsiyum, fosfat, magnezyum, kolesterol, trigliserit, HDL kolesterol, 25-OH D vitamini, iPTH, CRP, NT-proBNP, idrarlarında ise protein, kreatinin ve albümin testleri çalışıldı. PAF-AH aktivitesi, 2-tiyoPAF'ın hidroliziyle oluşan serbest tiyollerin DTNB ile reaksiyonu sonucu oluşan renk değişikliğinin 412 nm'de kinetik olarak okunmasıyla tayin edildi.

Bulgular: Çalışmada diyaliz ve kontrol gruplarının PAF-AH aktiviteleri arasında anlamlı fark bulunmadı ($p >0.05$). HD hastalarında kalsifikasyon durumunda PAF-AH aktiviteleri yükselmişti ($p <0.05$). Aort kalsifikasyonu olan HD hastalarında da PAF-AH aktivitelerinin yüksek olduğu bulundu ($p <0.05$). PD ve kontrol grupları arasında PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisi bulunamadı.

Sonuç: PAF-AH enziminin antiinflamatuvar ve antioksidatif özellikleri yanında proaterojenik ve proinflamatuvar ürünler oluşturması aktivite değişikliklerinin yorumunu zorlaştırır. Çalışmamızdaki bulgular HD hastalarında kalsifikasyon varlığıyla PAF-AH yüksekliği ilişkisinin özellikle aort kapağı tutulumunda belirgin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, periton diyalizi, PAF-AH, kalsifikasyon

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN PLATELET ACTIVATING FACTOR ACETYLHYDROLASE AND CARDIAC VALVULAR CALCIFICATION IN DIALYSIS PATIENTS

Objective: The cardiovascular mortality risk has increased seriously in Chronic Kidney Disease (CKD), especially dialysis patients. PAF-acetylhydrolase is an enzyme that hydrolyzes platelet activating factor (PAF). Atherosclerosis was associated with valvular calcifications and PAF-AH. So we investigated the association of PAF-AH activities with valvular calcification in dialysis patients.

Material and Methods: 92 patients treated with hemodialysis (HD) and peritoneal dialysis (PD) and 86 CKD patients which were divided into five groups according to GFR (mL/min) [grade 1-2 (> 60), grade 3a (45-59), grade 3b (30-44), grade 4 (15-29) and grade 5 (<15)] were included in the study. Echocardiography was performed to assess valvular calcification. We analysed urea, creatinine, uric acid, protein, albumin, ALT, ALP, calcium, phosphate, magnesium, cholesterol, triglyceride, HDL, 25-OH D vitamine, iPTH, CRP, NT-proBNP in serum and protein, albumin, creatinine in urine. PAF-AH activity was determined by color change based on the reaction of DTNB with free thiols which formed due to hydrolysis of 2-thioPAF by PAF-AH and measured at 412 nm by a rate method.

Results: There was no significant difference between the PAF-AH activities of dialysis and control groups ($p > 0.05$). Higher PAF-AH activities in HD patients were associated with both valvular calcification and aortic valvular calcification ($p < 0.05$). There was no association between PAF-AH and calcification in PD and control groups.

Discussion: In addition to anti-inflammatory and antioxidative properties of PAF-AH, proatherogenic and proinflammatory products formed by enzyme complicates the interpretation of activity changes. Findings in our study suggest that the elevation of PAF-AH activities in HD patients are associated with valvular calcification particularly in aortic valve involvement.

Key Words: Hemodialysis, peritoneal dialysis, PAF-AH, calcification

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı	3
2.2. KBH ve Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları	10
2.3. Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1.Hasta ve Kontrol Grupları	35
3.2. Numunelerin Alınması ve Hazırlanması	36
3.3. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	36
3.4. PAF-Asetil Hidrolaz Aktivitesi Ölçümü	36
3.5. Ayıraç ve Substrat Hazırlanması.....	37
3.6. Yöntemin Cihaza Uygulanması	38
3.7. Method Performansı Çalışmaları	41
3.8. Ekokardiyografik Değerlendirme.....	42
3.9. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Diyaliz ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi	44
4.2. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında PAF-AH Aktivite Ölçümleri ve Karşılaştırılması	44
4.3. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında Kalp Kapak Kalsifikasyonu ve Karşılaştırılması	47
4.4. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında PAF-AH Aktivitesi ve Kalp Kapak Kalsifikasyonu Karşılaştırılması	49
4.5. Grupların Diğer Değişkenler ile Karşılaştırmaları	52
4.6. Serum PAF-AH Aktivitesi Ölçümlerinin Performans Özellikleri	59

5. TARTIŞMA	63
5.1. Grupların Diğer Değişkenler Açısından Karşılaştırılması ve Korelasyonlar	73
5.2. PAF-AH Aktivitesi Ölçüm Yönteminin Performans Değerlendirmesi ..	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR	77
8. ÖZGEÇMİŞ	89
9. EKLER.....	90
EK 1: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulu Onayı	
EK 2: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu Onayı	
EK 3: Diyaliz Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları	
EK 4: Kontrol Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları	
EK 5: Tüm Hastalarda Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları	

KISALTMALAR DİZİNİ

AIH:	Albümin İtrah Hızı
AKK:	Aort Kapak Kalsifikasyonu
AKO:	Albümin Kreatinin Oranı
AS:	Aort Stenozu
GFH:	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HD:	Hemodiyaliz
KAH:	Koroner Arter Hastalığı
KBH:	Kronik Böbrek Hastalığı
KVH:	Kalp Damar Hastalıkları
Lp(a):	Lipoprotein(a)
Lp-PLA ₂ :	Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A ₂
MAK:	Mitral Anulus Kalsifikasyonu
PAF:	Trombosit Aktive Edici Faktör
PAF-AH:	Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil hidrolaz
PC:	Fosfatidilkolin
PD:	Periton Diyalizi
PKO:	Protein Kreatinin Oranı
oksPL:	Okside Fosfolipit
oksSYA:	Okside Serbest Yağ Asidi
SDBY:	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SVD:	Yapısal Kapak Dejenerasyonu
VK:	Varyasyon Katsayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. GFH ve albüminüri evrelerine göre KBH prognozu, KDIGO 2012.....	9
Şekil 2. Fosfolipit çeşitleri	14
Şekil 3. Fosfolipaz enzimleri ve hidroliz ettikleri bağlar	15
Şekil 4. PAF-AH tarafından katalizlenen reaksiyonlar	18
Şekil 5. 4-nitrofenil grupları içeren PAF analogları kullanılarak PAF-AH aktivitesinin spektrofotometrik ölçülmesi	32
Şekil 6. 2-tiyoPAF analogu kullanılarak PAF-AH aktivitesinin spektrofotometrik ölçülmesi	33
Şekil 7. Numunedeki serbest tiyollerin DTNB ile verdiği reaksiyonun grafiği	39
Şekil 8: PAF-AH testi reaksiyon grafiği	39
Şekil 9. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki PAF-AH aktiviteleri	46
Şekil 10. Cinsiyete göre diyaliz ve kontrol gruplarındaki PAF-AH aktiviteleri.....	46
Şekil 11. Yaşa ve cinsiyete göre kapak kalsifikasyon durumları.....	48
Şekil 12. Tüm hastalar ve cinsiyete göre ayrılmış hastalar arasında PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisi.....	50
Şekil 13. Kalsifikasyon durumlarına göre tüm gruplar ve erkek hasta gruplarında PAF-AH aktivitesi.....	50
Şekil 14. Tutulan kapağa ve aort kapağı tutulumuna göre kalsifikasyon durumlarının PAF-AH ile değişimleri.	51
Şekil 15. HD, PD ve kontrol gruplarında NT-proBNP konsantrasyonlarının karşılaştırılması	53
Şekil 16. HD, PD ve kontrol gruplarında ürik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	53
Şekil 17. HD, PD ve kontrol gruplarında total protein ve albümin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	54
Şekil 18. HD, PD ve kontrol gruplarında ALP aktivitelerinin karşılaştırılması	54
Şekil 19. HD, PD ve kontrol gruplarında kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının karşılaştırılması.	55
Şekil 20. HD, PD ve kontrol gruplarında intakt PTH konsantrasyonlarının karşılaştırılması.	55
Şekil 21. HD, PD ve kontrol gruplarında magnezyum ve 25-OH D vitamini konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	56
Şekil 22. Kontrol gruplarında idrar albümin-kreatinin, protein-kreatinin oranları karşılaştırılması	56
Şekil 23. Diyaliz ve kontrol grupları ile tutulan kapağa göre kalsifikasyon durumlarının CRP ile ilişkisi.....	58
Şekil 24. Doğruluk çalışması sonuçlarının Lineer regresyon grafiği ve denklemi	62

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. 2012 KDIGO Kılavuzuna göre Kronik Böbrek Hastalığı kriterleri	4
Tablo 2. 2012 KDIGO Kılavuzuna göre KBH’da GFH ve albüminüri evreleri.....	5
Tablo 3. KBH’da Kardiyovasküler risk faktörleri	10
Tablo 4. Farklı lipoprotein partikülleri ile ilişkili PAF-AH'nin fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları	21
Tablo 5. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları	35
Tablo 6. PAF-AH çalışma prosedürü.....	40
Tablo 7. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları	44
Tablo 8. Diyaliz ve kontrol grubundaki hastaların PAF-AH aktiviteleri.....	45
Tablo 9. Diyaliz ve kontrol gruplarında kapak kalsifikasyon varlığı.....	47
Tablo 10. PAF-AH aktivitesi kesinlik çalışması ve sonuçları	59
Tablo 11. PAF-AH geri kazanım çalışması	60
Tablo 12. PAF-AH tayin sınırı (LOQ) çalışması	61
Tablo 13. Doğrusallık çalışmasında elde edilen PAF-AH aktivitesi ve seyreltme oranları	62

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden ve toplum sağlığı açısından en önemli tehlike olan kronik hastalıklar, gelişmiş ve düşük veya orta gelirli ülkeleri ilgilendiren küresel bir sorundur. Kronik Böbrek Hastalığı (KBH), dünya genelinde salgın haline gelmiş, erken tanı ve farkındalığı düşük, bireyin yaşam kalitesini bozan, mortalite, morbiditesi ve tedavi maliyetleri yüksek olan önemli bir halk sağlığı sorunudur.

GFH'nın azalması veya albüminüri varlığı durumunda başta Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastaları olmak üzere tüm KBH hastalarında yaşam sürelerini kısaltan kardiyovasküler mortalite riski, özellikle diyaliz hastalarında genel nüfusa göre ölüm oranlarını ciddi oranda artırmaktadır. SDBY'ye ilerlemekten ziyade kardiyovasküler olay yaşama olasılığının daha yüksek olduğu KBH'da riskin yüksek olmasının nedeni, geleneksel risk faktörlerine ek olarak hastalığa özgü risk faktörleri ve mineral dengesinin bozulmasıdır. KBH hastalarında önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan kardiyovasküler hastalıklara yol açan yeni risk faktörlerinin bulunması, bu hastalıkların erken tanınması veya erken tanısına yönelik yöntemlerin geliştirilmesi ile sonuçlanabilir.

Kalp kapak hastalıkları ağırlıklı olarak yaşlı hastalarda görülen, kronik ancak inflamatuvar olmayan dejeneratif bir süreç olarak düşünülmüştür. Diyaliz hastalarında yüksek sıklıkla görülen kapak kalsifikasyonuna yatkınlık oluşturan en önemli faktör hiperparatiroidizmdir. Kapak kalsifikasyonu, inflamasyon ve ateroskleroz arasındaki ilişkiler, kapak kalsifikasyonunun ateroskleroz göstergesi olabileceğini ve kalsifikasyonun sadece pasif dejeneratif bir süreç olmasından ziyade aktif inflamasyonu içerebileceğini düşündürür. Ateroskleroz ve kalsifikasyon için benzer risk faktörlerinin gösterilmiş olması ve kronik inflamasyonla bağlantılı yeni bulgular ateroskleroz ve kapak kalsifikasyonu ilişkisini güçlendirmiştir. Kohort çalışmalarında, kapak kalsifikasyonlarının, artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkili ve diyaliz hastalarında kötü prognoz göstergesi olduğu gösterilmiştir.

Başlıca makrofajlardan salgılanan PAF-Asetil hidrolaz enzimi, trombosit aktive edici faktörü (PAF) inaktif metaboliti olan lizoPAF'a çeviren fosfolipaz A2 (PLA2) enzim ailesinin kalsiyumdan bağımsız bir üyesidir. PAF-AH'nin, PAF kaynaklı ödemi engellemesi ve vasküler sızıntıyı azaltması gibi antiinflamatuvar özellikleri ile HDL'nin antioksidatif ve antiinflamatuvar potansiyeline olan katkıları, aterosklerozdan koruyucu rolü yönündeki önerileri güçlendirir. Buna karşılık PAF-AH'nin okside fosfolipitleri parçalayarak endotel üzerine zararlı etkileri olan lizofosfatidilkolin ve okside serbest yağ asitleri gibi proinflamatuvar ve proaterojenik ürünler oluşturması PAF-AH aktivitesindeki değişikliklerin yorumlanmasını güçleştirmektedir.

Çalışmamızda hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları ile GFH (mL/dk) değerlerine göre Evre 1-2 (>60), Evre 3a (45-59), Evre 3b (30-44), Evre 4 (15-29) ve Evre 5 (<15) olarak ayrılmış henüz diyaliz tedavisi almayan KBH hastaları karşılaştırıldı. Kalp kapak kalsifikasyonlarının ateroskleroz ile ortak risk faktörlerine sahip olması, ateroskleroz ile PAH-AH aktivitesinin ilişkisi ve sadece birkaç çalışmada PAF-AH ve kapak kalsifikasyon ilişkisinin araştırılmış olması sebebiyle çalışmamızı bu yönde şekillendirdik. Çalışmamızın amacı diyaliz hastalarında PAF-AH aktivitesinin kapak kalsifikasyonları ile ilişkisini araştırmak, bu ilişkilerin diyaliz, kontrol gruplarıyla ve diğer değişkenlerle karşılaştırmalarını yapmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Kalp damar hastalıkları (KVH), kanser, diyabet (DM), kronik solunum yolu hastalıkları ve bunların başta gelen risk faktörleri olan tütün, alkol kullanımı, sağlıksız diyet ve fiziksel hareketsizlik olmak üzere bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) ya da kronik hastalıklar, küresel çapta hala önde gelen ölüm nedenleridir [1]. İki bin on iki yılında ölen 56 milyon insanın 38 milyonu (%68) BOH nedeniyle ölmüştür. Bu rakamın 2030 yılına kadar 52 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir.

Öte yandan, kronik hastalıklara bağlı tüm ölümlerin neredeyse dörtte üçü ve erken ölümlerin (70 yaş altı) çok büyük kısmı (%82) düşük veya orta gelirli ülkelerde görülmektedir. Günümüzde, toplum sağlığı açısından en önemli tehlike haline gelmiş olan kronik hastalıklar gelişmiş ülkelerde de önemli olmakla birlikte, daha çok düşük ve orta gelirli ülkeleri ilgilendiren küresel bir sorundur [2].

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı

2.1.1 Tanım ve Sınıflandırma

Kronik böbrek hastalığı (KBH); nedene, şiddetine ve ilerleme hızına bağlı olarak hafif dereceden şiddetli, kronik böbrek yetmezliğine kadar değişken klinik sunumu olan böbrek yapı ve fonksiyonlarını geri dönüşümsüz etkileyen heterojen bozukluklar için kullanılan genel bir terimdir. Kronik Böbrek Hastalığı Değerlendirme ve Yönetimi için Klinik Uygulama (Kidney Disease Improving Global Outcomes, Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease, KDIGO) 2012 kılavuzuna göre KBH, glomerüler filtrasyon hızının (GFH) üç ay veya daha uzun süreyle 60 mL/dk/1.73 m²'den küçük olması ve/veya böbrek hasarı belirteçlerinden en az birinin bulunması olarak tanımlanır. Böbrek yapı ve işlevlerindeki hasarı gösteren kanıtlar; idrar, kan testleri, görüntüleme çalışmaları ve böbrek biyopsisinden elde edilebilir. Böbrek hasarını gösteren belirteçler; GFH'nın azalması, albümin ıtrah hızının (AIH) ≥ 30 mg/24 saat veya albümin kreatinin oranının

(AKO) ≥ 30 mg/g oluşu, idrar sediment anormallikleri, tübüler hastalık kaynaklı elektrolit veya diğer anormallikler, histolojik olarak saptanan anormallikler, görüntüleme ile saptanan anormallikler ve böbrek nakli öyküsüdür (Tablo 1) [3].

Tablo 1. 2012 KDIGO Kılavuzuna göre Kronik Böbrek Hastalığı kriterleri

KBH Kriterleri (en az biri 3 aydan uzun süredir var olmalı)	
Böbrek hasarının belirteçleri	Albüminüri (AIH ≥ 30 mg/gün; * AKO ≥ 30 mg/g ^{**})
	İdrar sediment anormallikleri
	Tübüler bozukluklara bağlı anormallikler
	Histolojik olarak saptanmış anormallikler
	Görüntüleme ile saptanmış yapısal anormallikler
	Böbrek nakli öyküsü
GFH azalması	GFH < 60 mL/dk/1.73 m ²

* AIH: Albümin İdrar Hızı; ** AKO: Albümin Kreatinin Oranı

2012 KDIGO kılavuzu KBH sınıflamasının nedene, GFH sınıfına ve albüminüri sınıfına göre yapılmasını önerir. Kılavuz yeni veriler ışığında Evre 3 KBH'yı farklı sonuçların ve risk profillerinin olduğu Evre 3a ve 3b olarak ayırmıştır. Evre 2 için hafif azalmış böbrek fonksiyonlarının diğer böbrek hasar belirteçleri yokluğunda KBH olarak sınıflandırılmadığını vurgulamak önemlidir. Yine yüksek albüminüri durumlarında tüm GFH sınıflarında morbidite ve mortalite için artan risk albüminüri miktarına göre de sınıflama zorunluluğu getirmiştir (Tablo 2) [3].

Tablo 2. 2012 KDIGO Kılavuzuna göre KBH’da GFH ve albüminüri evreleri

GFH Evreleri	GFH (mL/dk/1.73 m ²)	Tanımlar
G1	≥90	Normal veya yüksek
G2	60 - 89	Hafif azalmış
G3a	45 - 59	Hafif-orta derecede azalmış
G3b	30 - 44	Orta-ileri derecede azalmış
G4	15 - 29	İleri derecede azalmış
G5	<15	Böbrek yetmezliği

Albüminüri Evreleri	AIH (mg/gün)* veya AKO (mg/g)**	Tanımlar
A1	<30	Normal-hafif artmış
A2	30 - 300	Orta derecede artmış
A3	>300	İleri derecede artmış

*AIH: Albümin İtrah Hızı; **AKO: Albümin Kreatinin Oranı

2.1.2. Epidemiyoloji

KBH dünyada ve ülkemizde salgın halini almış, bireyin yaşam kalitesini bozan, yüksek mortalite–morbiditesi ve artan tedavi maliyetleri nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Erken tanı ile önlenbilmesine veya ilerlemesinin geciktirilebilmesine rağmen, farkındalık ve erken tanının düşük olması birçok vakada buna imkan vermemektedir [4]. Hastalık farkındalığı dünyada %10’un altındayken, ülkemizde ise farkındalığın çok daha düşük olup %2 civarında olduğu bildirilmiştir [5, 6]. Düşük farkındalık nedeniyle hastalık Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) evresine ilerlemekte, yüksek morbidite ve mortalite oranları ve kötü yaşam kalitesi ile hasta sağlığını, uygulanması gereken yüksek maliyetli diyaliz ve böbrek nakli tedavileri ile sağlık bütçesini ciddi olarak tehdit etmektedir.

Erken ve orta evreleri sıklıkla asemptomatik olan KBH'nın epidemiyolojik çalışmaları yapılmaksızın insidans ve prevalansının belirlenmesi güçtür. Toplum temelli çalışmalarda KBH taramasında kullanılan testlerin (idrar albümini, tahmini GFH hesaplama formülleri) bazı kısıtlılıkları ve GFH'sı düşük olan yaşlı nüfusun toplumdaki oranının yüksekliği nedeniyle KBH sıklığının olduğundan yüksek bulunduğu düşünülmektedir. Araştırmalara göre dünyada KBH oranı %10-16, orta dereceli albüminüri oranı ise %6-14 arasında değişmektedir [7]. CREDIT sonuçlarına göre; Türkiye'deki genel erişkin nüfusta KBH prevalansının %15.7 olduğu ve sıklığın yaşla beraber arttığı görülmüştür. GFH <60 mL/dk olan hasta oranı %5.1, orta dereceli albüminüri %10.2, şiddetli albüminüri ise %2 bulunmuştur [6].

Çok çeşitli faktörlerden etkilenen SDBY epidemiyolojisi heterojen olup, insidans ve prevalansı ülkeler arasında büyük farklılık gösterir [8]. Bu farklılıkların temelinde etnik, ırksal ve genetik değişikliklere ek olarak diyabet ve hipertansiyon (HT) gibi hastalık oranlarının değişkenliği önemli rol oynamakla birlikte, KBH hastalarının bakım ve izlemindeki farklılıklar da etkilidir [9, 10]. Dünyada iki milyondan fazla kişi hayatta kalmak için diyaliz veya böbrek nakli tedavisi alırken bu sayının tedaviye ihtiyaç duyan kişilerin yalnızca %10'unu temsil ettiği düşünülmektedir [11]. Ülkemizde 2014 yıl sonu itibarı ile 71 318 hastanın renal replasman tedavisi aldığı, 2001'den itibaren 10 yıl içinde iki buçuk kat artan SDBY prevalansının 2014 yılında milyon nüfus başına 918, insidansının ise 147 olduğu hesaplanmıştır [12].

2.1.3. Risk Faktörleri ve Etiyoloji

KBH için risk faktörleri başlatıcı faktörler, duyarlılık faktörleri, progresyon faktörleri ve son dönem faktörler olarak ayrılmıştır. Bu faktörler arasında; ırk, cinsiyet, düşük doğum ağırlığı, ileri yaş, aile öyküsü, hipertansiyon, diyabet, otoimmün hastalıklar, sistemik veya üriner enfeksiyonlar, proteinüri, obezite, sigara ve alkol kullanımı sayılabilir [13]. Önceleri KBH için en önemli etiyoloji glomerülonefritler olurken günümüzde en sık karşılaşılan sebep diyabet ve hipertansiyondur. Yine diyabete bağlı SDBY tüm ırk ve etnik kökenlerde ilk sıradadır [8].

2.1.4. Belirti ve Klinik Bulgular

KBH hastaları böbrek fonksiyonlarındaki azalmayı gösteren ödem, hipertansiyon, azalmış idrar çıkışı gibi belirti veya bulgularla başvurabilirler. Pek çok hastada klinik belirtiler yoktur, bazı hastalarda ise farklı şikayetler için yapılan laboratuvar testleri ile tespit edilir. KBH'ya bağlı bulgular böbrek hasarına neden olan etkene göre asemptomatik hematüriden diyaliz gerektiren böbrek yetmezliğine kadar değişken olabilir. KBH'nın süresi ve şiddetine bağlı olarak hastada uzamış renal yetmezliği gösteren güçsüzlük, yorgunluk, iştahsızlık, kusma, mental durum değişiklikleri ve nöbetler gibi belirti veya bulgular görülebilir. Böbrek fonksiyonlarındaki kademeli azalma başlangıçta asemptomatik olsa da ilerlemiş böbrek yetmezliği durumunda aşırı sıvı yükü, hiperkalemi, metabolik asidoz, hipertansiyon, anemi, kemik-mineral bozuklukları görülür. Anüri tek başına KBH'da beklenmez, daha çok akut durumları düşündürür. SDBY gelişmesiyle üremik sendromlar denen bir dizi belirti veya bulgular ortaya çıkar. Bunlar üremik durum belirtileri, iştahsızlık, bulantı, kusma, perikardit, periferik nöropati ve değişen derecelerde merkezi sinir sistemi anormalliklerini (konfüzyon, letarji, nöbet, koma ve ölüm) içerir. Plazma üre veya kreatinin düzeyleri ile bu belirtilerin gelişimi arasında direkt ilişki yoktur. Üremik hastalar, yaşamaya devam edebilmek için, böbrek nakli veya hemodiyaliz ve periton diyalizi gibi renal replasman tedavilerine ihtiyaç duyarlar [10].

2.1.5. KBH'nın Değerlendirilmesi

Bu kısım 2012 KDIGO kılavuzu önerileriyle yazılmıştır [3].

GFH <60 mL/dk olan veya böbrek hasar belirteçleri olan kişilerde böbrek hastalığının süresini saptamak için önceki kayıtlar ve ölçümler incelenir.

Böbrek hastalığının nedenlerini belirlemek için özgeçmiş ve aile öyküsü, sosyal ve çevresel faktörler, ilaçlar, fizik muayene, laboratuvar ölçümleri, görüntüleme ve patolojik tanı dahil olmak üzere klinik durum değerlendirilir.

İlk GFH değerlendirmesi, 2009 CKD-EPI formülü kullanılarak serum kreatinininden hesaplanan GFH ile yapılır. Kreatinin ölçümleri, değeri GC-IDMS

tekniki ile belirlenmiş referans materyale göre izlenebilir olmalıdır. $hGFH_{kre}$ 45-59 ml/dk/1.73 m² olan ve böbrek hasarı belirteçleri bulunmayan yetişkinlerde KBH'nın doğrulanması için sistatin C $hGFH$ formüllerinin kullanımı önerilir.

Proteinüri için başlangıç testleri, tercihen sabah ilk idrarda albümin-kreatinin oranı (AKO), idrar protein-kreatinin oranı (PKO), strip protein araştırılması olmalıdır. Pozitif strip sonuçları kantitatif laboratuvar ölçümleriyle kreatinine oranlanarak doğrulanmalıdır.

2.1.6. Prognoz

KBH hastalarında genellikle ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı vardır ve bu hastalar SDBY riski altındadır. İlerleme hızı; yaş, cinsiyet, etnik köken, altta yatan tanı, hipertansiyon, dislipidemi, sigara, obezite, kalp damar hastalığı (KVH) geçmişi, ikincil önleyici tedbirlerin uygulanmasının başarısı ve bireye bağlıdır. Düşük GFH , yüksek albüminüri, genç yaş ve erkek cinsiyette böbrek yetmezliğine ilerleyiş daha hızlıdır. Ayrıca, düşük serum albümin, kalsiyum ve bikarbonat ile yüksek serum fosfat düzeyleri, böbrek yetmezliği riskini öngörür [14]. Düşük GFH ve artmış albüminüri KBH hastaları için artmış ilerleme hızı ile ilişkilidir ve sinerjik olarak etki ederler [3].

2.1.7. Morbidite ve Mortalite

KBH hastalarında kan basıncı ve Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi bozuklukları, akut böbrek hasarı, böbrek fonksiyonları kaybıyla ilişkili anemi, metabolik kemik hastalıkları, asidoz, kalp yetmezliği, akut koroner sendrom gibi kardiyovasküler hastalıklar, periferik arter hastalıkları, tedaviye bağlı komplikasyonlar, enfeksiyonlar, sık hastaneye yatış ve ölüm sık görülen komplikasyonlardır [3].

KBH'daki artmış morbidite ve mortalite riski daha çok kardiyovasküler olaylara bağlı olup erken evrelerden itibaren görülebilir. GFH 60 mL/dk'nın altına indiğinde başlayan risk artışı hastalık ilerledikçe belirginleşir [15, 16]. Evre ilerledikçe hastaneye yatış oranları artarken sağ kalım oranı ise azalır. Böbrek fonksiyonlarındaki

azalma, bağımsız bir kardiyovasküler risk faktörüdür. Hatta bu mortalite riski GFH'da azalma olmadan sadece yüksek albüminüri varlığında bile görülmektedir [16, 17]. Böbrek yetmezliği ve eşlik eden sistemik komplikasyonlar SDBY hastalarında morbidite ve mortalite oranlarını daha da artırır. Diyaliz hastalarında ölüm oranları genel nüfusa göre 10-30 kat yüksektir [8, 18].

				Persistan Albüminüri Kategorileri		
				A1	A2	A3
				Normal-hafif artmış	Orta derecede artmış	İleri derecede artmış
				<30 mg/g	30-300 mg/g	>300 mg/g
GFH Evreleri (mL/dk/1.73 m ²)	G1	Normal veya yüksek	≥90			
	G2	Hafif azalmış	60 - 89			
	G3a	Hafif-orta derecede azalmış	45 - 59			
	G3b	Orta-ileri derecede azalmış	30 - 44			
	G4	İleri derecede azalmış	15 - 29			
	G5	Böbrek yetmezliği	<15			

Şekil 1. GFH ve albüminüri evrelerine göre KBH prognozu, KDIGO 2012

Yeşil: Düşük risk (Böbrek hastalığının diğer belirtileri, kronik böbrek yetmezliği yoksa)

Sarı: Orta derecede artmış risk; **Turuncu:** Yüksek risk

Kırmızı: Çok yüksek risk

2.2. KBH ve Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları

Özellikle SDBY hastaları olmak üzere tüm KBH hastalarında yaşam süreleri kısalmıştır. GFH'nın 60 mL/dk'nın altında olması veya albüminüri varlığı durumunda ölüm ve kardiyovasküler mortalite riskinde artış görülür [3]. Türk Nefroloji Derneği 2015 raporuna göre diyaliz hastalarında tüm ölümlerin %46'sı kardiyovasküler sistem kaynaklı kalp yetmezliği, iskemik kalp hastalığı ve ani ölüm sebebiyledir [19]. KBH hastalarının SDBY'ye ilerlemekten ziyade kardiyovasküler bir olay yaşama olasılığı daha yüksektir. Hipertansiyon ve diyabet gibi değiştirilebilir kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrolü KBH'nın ilerleyişini de azaltır. KBH'daki kardiyovasküler risk faktörleri aşağıda verilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. KBH'da Kardiyovasküler risk faktörleri

Geleneksel Risk Faktörleri	KBH ilişkili Risk Faktörleri	Yeni Risk Faktörleri
Sol ventrikül hipertrofisi	Anemi	Endotel disfonksiyonu
Yaş, cinsiyet, sigara	Fosfat retansiyonu	Sempatik aktivasyon
Dislipidemi	Hiperparatiroidi	İnflamasyon
Hipertansiyon	Vasküler kalsifikasyon	Malnütrisyon
Diyabet	Üremik toksinler	Oksidatif stres
Sedanter yaşam	Hiperhomosisteinemi	Anormal kemik-mineral metabolizması
İnsülin direnci	Hücre dışı sıvı fazlalığı	

KBH'daki yüksek kardiyovasküler olay riski geleneksel risk faktörleriyle tek başına açıklanamaz. Bu hastalarda klasik risk etmenleri ile birlikte hastalığa özgü bozulmuş mineral dengesi (Ca, P, PTH, D vitamini anormallikleri) nedeniyle vasküler

hasar oluşumu meydana gelmektedir. Ca-P metabolizma bozukluklarına bağlı vasküler ve visseral kalsifikasyon, ateroskleroz, anormal kemik döngüsü veya PTH'nın direkt toksisitesi nedeniyle gelişen arteriyel sertlik, kardiyovasküler olayları başlatmaktadır [20].

2.2.1. Vasküler Kalsifikasyon

Vasküler kalsifikasyon, yüksek morbidite ve mortalite riskiyle ilişkili, endotel hasarı görülen KBH, DM, HT ve ateroskleroz gibi hastalıklarda sıklıkla görülen bir patolojidir. Koroner arter kalsifikasyonu; koroner ateroskleroz ve kararsız plak, dolayısıyla MI gibi KVH'nın klinik belirtileri ile bağlantılıdır [21]. Aktif bir süreç olan vasküler kalsifikasyon mekanizmaları damar düz kas hücrelerinin osteoblast benzeri hücrelere farklılaşıp aktif kemik oluşumuna benzer mineralizasyonu başlatması ve anormal kemik döngüsü, sekonder hiperparatiroidizm veya aşırı kalsiyum alımıyla artan Ca-P (kalsiyum x fosfat konsantrasyonu) üretiminin süreci hızlandırmasına dayanır [22]. Kronik böbrek yetmezliği hastalarında artmış serum Ca-P ürünü ve hiperfosfatemi, arteriyel kalsifikasyon ve kardiyovasküler olay insidansının yükselmesine önemli katkıda bulunur. Hiperfosfatemi, sekonder hiperparatiroidizm progresyonunu hızlandırarak serum PTH ve kemik kaybını artırır. Yüksek PTH, yumuşak doku kalsifikasyonlarına sebep olan hücre içi kalsiyum ve anormal lipid metabolizmasındaki artışları uyarır. Fosfat ve PTH ile uyarılan kemik kayıpları Ca-P ürünlerini de artırır [23]. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) önerileri, Evre 5 KBH'da serum fosfat, düzeltilmiş kalsiyum (düzeltilmiş kalsiyum = ölçülen kalsiyum + $0.8 \times (4 - \text{albumin g/dL})$), Ca-P ürünü ve intakt PTH için üst sınır olarak sırasıyla 5.5 mg/dL, 9.5 mg/dL, $55 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ ve 300 pg/mL konsantrasyonları önermektedir [24].

SDBY hastalarında vasküler kalsifikasyonla ilişkili risk faktörleri arasında; yaş, diyaliz süresi, hiperkalsemi, hiperfosfatemi, hiperparatiroidi, Ca-P ürünü, kalsiyum içeren fosfat bağlayıcılarının alımı, kalsifikasyon inhibitör proteinlerin eksikliği, DM, HT, dislipidemi, hiperhomosisteinemi, fibrinojen ve CRP düzeylerindeki artış ile hipoalbuminemi sayılabilir [25].

2.2.2. Valvüler Kalsifikasyon

Aort kapağı kalsifikasyonu (AKK) veya mitral anulus kalsifikasyonu (MAK) ağırlıklı olarak yaşlı hastalarda görülen, kronik ancak inflamatuvar olmayan dejeneratif bir süreç olarak düşünülmüştür [26]. SDBY hastalarında tüm ölümlerin %50'den fazlasından sorumlu olan kardiyovasküler hastalıklar içinde kardiyak valvüler ve perivalvüler anormallikler morbidite ve mortalite belirteçleri olarak giderek daha fazla kabul edilmektedir [27]. Yapılan çalışmalar, SDBY hastalarında kalp kapak kalsifikasyonu prevalansının yüksek olduğunu da bildirmiştir [28]. Diyaliz hastalarında valvüler hastalık gelişiminde en önemli predispozan faktör sekonder hiperparatiroidizmdir. Valvüler kalsifikasyon artmış Ca-P ürünleri, vasküler kalsifikasyon, hiperkalsemi, hiperfosfatemi gibi sekonder hiperparatiroidizmde görülen durumlarla ilişkilidir [29]. Hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, sol ventrikül hipertrofisi, malnütrisyon/inflamatuvar kompleks, üremik durum, hipertrofik kardiyomiyopati, mitral valv prolapsusu, anemi, infektif endokardit ve arteriyo-venöz fistül valvüler hastalık gelişimini artırabilecek risk faktörlerindendir [30]. Kapak kalsifikasyonu, inflamasyon, karotid ateroskleroza ve arteriyel kalsifikasyon arasındaki ilişkiler, kapak kalsifikasyonunun SDBY hastalarında ateroskleroz ve arteriyel kalsifikasyon göstergesi olduğunu ortaya koymaktadır [31]. CRP ve valvüler kalsifikasyon arasında anlamlı ilişkinin gösterilmesi, SDBY hastalarında kalsifikasyonun sadece pasif dejeneratif bir süreç olmasından ziyade aktif inflamasyonu içerebileceğini düşündürmektedir [31]. MAK, SDBY hastalarının %10-50'sinde görülürken AKK, hemodiyaliz hastalarının %25-55'inde ve genel nüfusa göre de 10-20 yıl önce görülmektedir [32, 33].

Yaşlı popülasyon kohort çalışmalarında, AKK ve MAK artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkili bulunmuştur [34]. Patolojik çalışmalarda, erken aterosklerotik lezyonları temsil eden köpüksü hücre grupları, koroner ateroskleroz gelişen hastaların mitral ve aort kapakları üzerinde görülmüştür [35]. Dahası, büyük popülasyon çalışmaları, aort kapak kalsifikasyonu, mitral anulus kalsifikasyonu ve ateroskleroz için yaş, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabet gibi risk faktörlerinde benzerlik göstermiştir [36]. Bu veriler AKK ve MAK'ın ateroskleroz varlığını gösterebileceğini önerir. SDBY hastalarında yapılan çalışmalar, valvüler kalsifikasyonun tüm nedenlere bağlı mortalite ve kardiyovasküler ölümleri

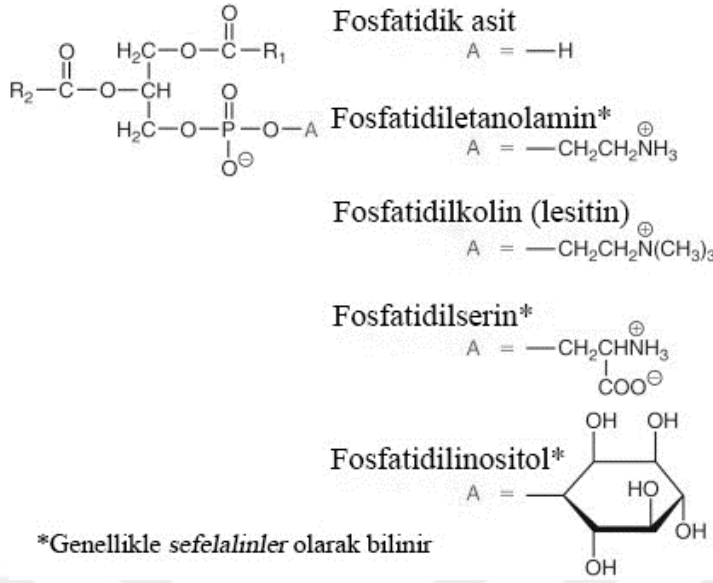
öngörmedeki önemini göstermiştir. Kapak kalsifikasyonlu hastaların kardiyovasküler ölüm oranlarının, aterosklerotik vasküler komplikasyonlu hastalardakinden farklı olmaması kapak kalsifikasyonunun aterosklerozun bir formu olabileceğini düşündürür [37]. Vasküler veya kapak kalsifikasyonu varlığı diyaliz hastalarında kötü prognozun bir göstergesidir.

2.3. Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH)

Trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH) ilk olarak, serumda trombosit aktive edici faktörü (PAF) (1-O-alkil-2-asetil-*sn*-glisero-3-fosfokolin) hidroliz etme yeteneği sayesinde keşfedilen fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktivitesine sahip bir enzimdir [38]. Takiben, bu enzimin PLA₂ ailesinin, PAF ve yapısal olarak ilişkili fosfolipitlerin hidrolizinde yüksek özgüllüğe sahip özel bir üyesi olduğu keşfedildi [39]. Bu sebeple Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂) olarak da isimlendirilmektedir.

2.3.1. Fosfolipitler

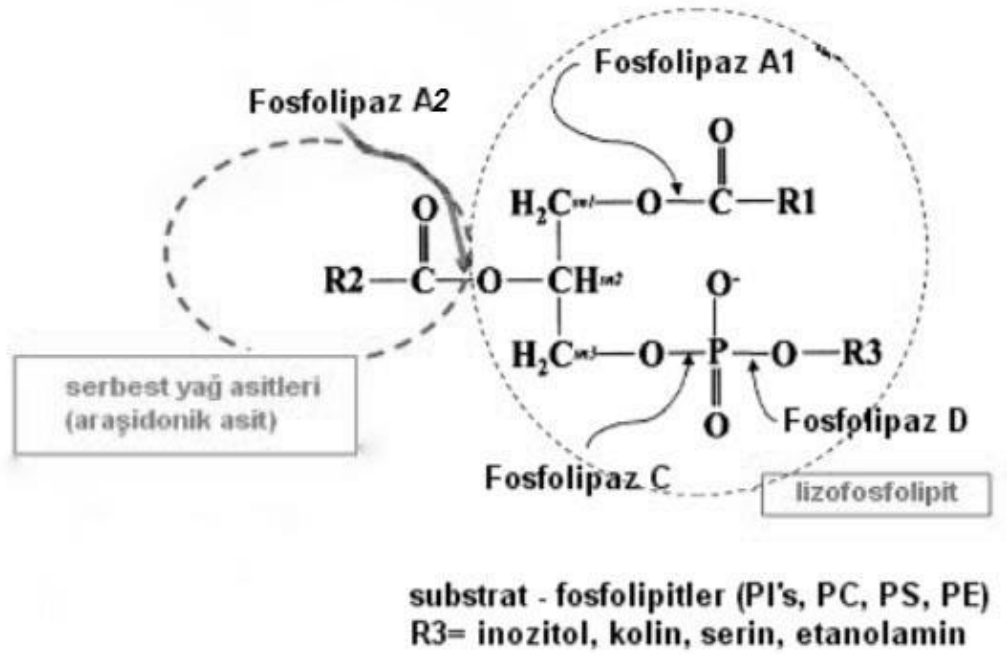
Fosfolipitler, hücre membranı ana bileşenidir. Gliseril esterlerin trigliseritten sonraki ikinci büyük sınıfı olan fosfolipitler, üçüncü (α') karbon atomunda fosforik asit içerirler. Sıklıkla C-3 pozisyonundaki fosforik aside kolin, serin, inositol veya etanolamin gibi alkol türevi gruplar bağlanır (Şekil 2). Doymuş yağ asitleri tipik olarak C-1 pozisyonuna bağlanırken, (poli) doymamış yağ asitleri çoğunlukla C-2 pozisyonunda bulunur. Fosfolipitleri deesterifiye veya hidroliz eden enzimlere fosfolipazlar veya lizofosfolipazlar adı verilir. Substrat özgüllüğü çok yüksek olan bu enzimler fosfolipit iskeletindeki belirli bağların hidrolizini sağlarlar.



Şekil 2. Fosfolipit çeşitleri

2.3.2. Fosfolipazlar

Fosfolipit metabolitleri, hücre içi ve hücreler arası sinyal molekülleri olarak görev yapar. Birçok faktör fosfolipazları aktive ederek spesifik fosfolipitlerin gliserol omurgasından yağ asitleri veya baş grubunun hidrolizini sağlar. Farklı fosfolipazlar, fosfolipidin farklı kısımlarını hidroliz eder; fosfolipaz A₁ (PLA₁) ve A₂ (PLA₂) sırasıyla gliserol omurgasının C-1 (*sn*-1) ve C-2 (*sn*-2) konumlarındaki fosfolipit ester bağlarını hidroliz eder. Fosfolipaz C (PLC), fosfat grubu ile gliserol omurgası arasındaki fosfodiester bağını hidroliz ederken, fosfolipaz D (PLD) fosfat ve baş grup arasındaki fosfodiester bağını hidrolize eder (Şekil 3). Her fosfolipazın birden fazla izoformu mevcuttur; bununla birlikte, bazı izoformlar, yalnızca bir tür fosfolipit (ör. fosfatidilkolin veya fosfatidilinositol) üzerinde etki ederken diğerleri daha az spesifiktir. Buna ek olarak, bazı izoformların düzenlenmeleri sıkı kontrol altındadır. Örneğin, bazı PLA₂ izoformları fosforilasyon, Ca⁺² veya Ca⁺²-kalmodulin bağlanması ile aktive edilir.



Şekil 3. Fosfolipaz enzimleri ve hidroliz ettikleri bağlar

2.3.3. Fosfolipaz A₂ Ailesi

Fosfolipaz A₂, membran fosfolipitlerinin *sn*-2 pozisyonundaki yağ asidinin hidrolizini katalizler. Fosfolipitlerin *sn*-2 pozisyonu sıklıkla çoklu doymamış yağ asitleri içerir ve bunlar serbest kaldıklarında çeşitli eikozanoidler ve ilgili biyoaktif lipid araçları oluşturmak üzere metabolize edilebilirler [40]. Geri kalan lizofosfolipit ise biyolojik süreçlerde önemli roller oynayabilir [41]. Hücre zarı fosfolipitleri fosfolipaz A₂ ile hidroliz edildiğinde serbest kalan arşidonik asit, ikincil mesajcı ve inflamasyonun kuvvetli medyatörleri olan eikozanoid öncüllerine dönüşebilir. Sinyal iletimindeki rolü haricinde, sistemik ve akut inflamatuvar durumlardan kansere kadar geniş bir yelpazede ve çok sayıda patofizyolojik durumda PLA₂ ön plandadır [42].

PLA₂, ilk olarak yılan zehirlerinin önemli bir bileşeni olarak keşfedildi. Zamanla izole edilen diğer enzimlerle birlikte PLA₂ ailesi; sekrete sPLA₂, sitozolik cPLA₂, kalsiyum bağımsız iPLA₂, trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH) / lipoprotein ilişkili (Lp-PLA₂) ve lizozomal PLA₂ olmak üzere beş ana sınıfa ve 15 altgruba ayrıldı [43].

2.3.4. Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH)

Trombosit aktive edici faktör (PAF) (1-O-alkil-2-asetil-*sn*-glisero-3-fosfokolin), özellikle inflamasyon aracısı olarak, güçlü ve çeşitli fizyolojik etkilere sahip bir fosfolipittir. Trombositler için güçlü bir aktivatördür. Dolaşım, inflamasyon, sistemik vazodilatasyon, bronkokonstriksiyon, trombosit ve nötrofil aktivasyonu, kardiyak iskemi, doku reddi, gastrik ülser ve üreme gibi fonksiyonlarda etkili olduğu gösterilmiştir. PAF, çeşitli hücrelerde, inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak, hücrel fosfolipitlerden yeniden şekillendirme yolu (remodeling) ile sentezlenir. Sentezlenmiş PAF, vasküler ve inflamatuvar sistemlerde hücreler arası sinyal molekülü görevi görür. PAF sinyalinde farklı bir düzenleme veya bozukluk hastalık durumuna neden olur. PAF'ın hücre içi ve hücre dışı PAF-asetil hidrolazlar tarafından hızla yıkımı PAF seviyelerini düzenleyen en önemli mekanizmadır [44].

İlk olarak 1980 yılında, IgE'ye duyarlı tavşan serumunda keşfedilen PAF-AH (EC 3.1.1.47), PAF'ı hidroliz edebilen fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktivitesine sahip bir enzimdir. Bu reaksiyon *sn*-2 pozisyonundaki asetil ester grubunu kopararak PAF'ı inaktif metaboliti olan lizoPAF'a (1-O-alkil-*sn*-glisero-3-fosfokolin) çevirir [38]. PLA₂ ailesinden olup okside fosfolipitleri de hidroliz edebilen bu üye lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂) olarak da isimlendirilir ve çoğu PLA₂ enziminin aksine kalsiyumdan bağımsızdır [39].

2.3.5. PAF-AH Alt Tipleri

Bugüne kadar PAF-AH'nin tanımlanan üç izoformu; plazma PAF-AH ile PAF-AH II ve Ib'dir. Monomerik polipeptit olan plazma PAF-AH'nin, molekül ağırlığı 45 kDa olup plazmada aktif formda bulunur. Karaciğer ve böbreklerde yüksek düzeyde eksprese edilen PAF-AH II, molekül ağırlığı 40 kDa olan bir hücre içi enzimdir. Plazma PAF-AH ile %41 oranında amino asit sekans benzerliği vardır. PAF-AH'ın diğer bir hücre içi formu olan PAF-AH Ib ise beyinde bulunur. PAF-AH Ib, plazma PAF-AH ve PAF-AH II'ye göre fosfogliserit *sn*-2 asetil grubu için daha sıkı özgüllük gösterir. Plazma PAF-AH ve PAF-AH II tercihen *sn*-2 propiyonil ve bütiril grupları

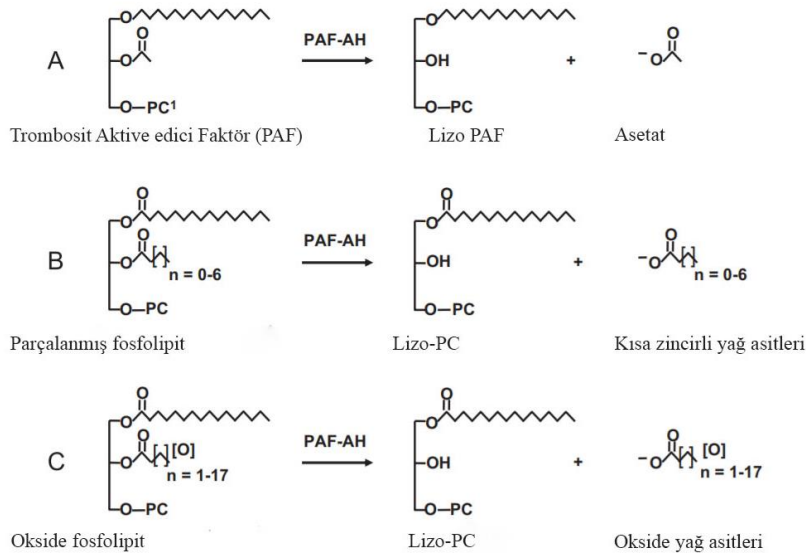
olan PAF analoglarını hidroliz ederken, PAF-AH 1b ise bu fosfolipitleri parçalamada yetersizdir [45].

2.3.6. PAF-AH Yapısı

Plazma PAF-AH amino asit sırası ve cDNA klonlaması 1995 yılında yapılmıştır [46]. PAF-AH'nin birincil yapısı PLA₂ ailesinin diğer üyelerine kıyasla, nötral lipaz ve esterazlarla yüksek derecede benzerdir. Enzim aktivitesi serin spesifik inhibitör olan diizopropil florofosfat tarafından inhibe edilebilir [47]. Plazma PAF-AH'de yaygın olarak görülen glikozilasyon; enzim salgılanması, aktivite ya da proteazlara direnci etkilemese de enzimin HDL ile ilişkisini etkiler [48].

2.3.7. PAF-AH Substratları

İlk olarak PAF'ın *sn*-2 asetil esterini hidroliz ettiği keşfedilen PAF-AH'nin, sonraki çalışmalarda, geniş bir substrat özgüllüğü olduğu gösterilmiştir. Nispeten uzun *sn*-2 açıl zincirine (9 metilen grubuna kadar) sahip fosfolipitleri de hidroliz edebilir. Zincir uzunluğundaki sınırlamalar ω -ucunun oksitlenmiş (aldehit, karboksilik asit grupları) olması durumunda azalır. Bu artmış aktivite olasılıkla substratların sudaki artmış çözünürlüğünden kaynaklanabilir [49]. Okside fosfatidilkolin türlerini hidroliz edebildiği enzim inhibisyonu çalışmalarıyla gösterilmiştir [50]. Fosfolipitlerdeki izoprostan esterleri, *in vitro* ve *in vivo* olarak PAF-AH ile hidroliz edilir [51]. Ateroskleroz sürecinde LDL parçacıklarında olduğu gibi uzun yağ açıl zincirli fosfolipit hidroperoksitlerin PAF-AH ile hidroliz olduğu bulunmuştur [52]. PAF-AH tarafından katalizlenen reaksiyonlar, substrat ve ürünleri Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. PAF-AH tarafından katalizlenen reaksiyonlar, (A) PAF'ın LizoPAF ve asetata hidrolizi, (B) Kısa zincirli fosfolipitlerin LizoPC ve kısa zincirli yağ asitlerine hidrolizi, (C) Okside fosfolipitlerin LizoPC ve okside yağ asitlerine hidrolizi, PC; fosfokolin [53]

2.3.8. Hücresel Kaynakları ve Düzenlenmesi

Plazma PAF-AH kaynağının makrofajlar olduğu biyokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir [54]. Northern blot analizleri ile makrofajdan zengin dokuların (timus, tonsil ve plasenta) yüksek miktarda PAF-AH mRNA sentezlediği bulunmuştur [46]. Karaciğer PAF-AH'ının kanda ana kaynağıdır ve makrofajların (Kupffer hücreleri) bu dokuda bulunan enzim aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

PAF-AH salgısı, substratlar, çeşitli sitokinler ve steroid hormonları gibi çeşitli ekzojen uyaranlar tarafından düzenlenir ve ayrıca hücrel farklılaşma durumundan da dramatik olarak etkilenebilir [55]. Hücre kültürleriyle yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar glukokortikoidlerin PAF-AH sekresyonunu artırırken IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar araçların sekresyonu azalttığı gösterilmiştir [56]. Ancak monosit gibi daha az farklılaşmış hücrelerde proinflamatuvar araçların PAF-AH sentez ve sekresyonunu artırması proinflamatuvar veya antiinflamatuvar ajanların sentez üzerindeki düzenlemelerinin hücrenin farklılaşma durumuna bağlı

olduğunu düşündürür [57]. Plazma PAF-AH ekspresyonundaki artış, yükselmiş PAF seviyeleri ile PAF-reseptörü üzerinden gerçekleşir. Hayvan çalışmalarında, östrojenlerin yetişkin erkek ve dişi fare plazma PAF-AH düzeylerini azalttığı, aksine progestinlerin ters etki yaptığı belirlenmiştir. Ek olarak deksametazonun da farelerde PAF-AH düzeylerini artırdığı görülmüştür [58].

2.3.9. Lipoproteinlere Bağlanma

İnsan plazmasında PAF-AH düşük ve yüksek dansiteli lipoproteinler ile birlikte dolaşır; toplam aktivitenin %70-80'i LDL ile kompleks olarak bulunur ve %20-30'u HDL'ye bağlanır. *In vivo* olarak, PAF-AH bu iki lipoprotein arasında transfer olabilmektedir. Bu özellik, PAF-AH aktivitesinin düzenlenme mekanizmasından biridir [59]. PAF-AH aktivitesi lipid bileşenleri ve lipoprotein yapı değişikliklerinden etkilenmektedir. Hücrel PAF-AH sekresyonu LDL ve diğer lipoprotein partiküllerin sekresyonundan bağımsız olup, sekresyon sonrasında PAF-AH plazma lipoprotein partiküllerine bağlanmaktadır. Bu lipoprotein partikülleri havuzunda PAF-AH tercihen küçük ve yoğun LDL (LDL-5) ve HDL3 ile ilişkidir. Plazma PAF-AH'nin LDL ile birlikteliği, oksidatif stres ile LDL'de oluşan proinflamatuvar okside fosfolipitlerin temizlenmesini kolaylaştırabilir [44]. LDL izolasyon yöntemleri ile PAF-AH'nin en yoğun ve en elektronegatif LDL (-) fraksiyonlarını tercih ettiği bulunmuştur [60]. Bu yüzden tüm LDL partikülleri PAF-AH içermez. PAF-AH tercihen HDL subfraksiyonlarından HDL3 ile ilişkidir. HDL ilişkili PAF-AH'nin olası rollerinden birisi PAF ve okside fosfolipitlerin yıkımı için ek kapasitenin gerektiği durumlarda rezerv olmasıdır [61]. Apolipoprotein E eksik farelerde, aşırı apolipoprotein A-I ekspresyonu HDL ilişkili PAF-AH düzeyini artırır. Hiperkolesterolemi hastalarında HDL ilişkili PAF-AH aktivitesi azalırken, LDL ilişkili PAF-AH'nin arttığı görülmüştür [62]. Atorvastatin ile tedavi edilen hastalarda HDL ilişkili PAF-AH/ plazma PAF-AH aktivite oranı artmıştır [63]. HDL ilişkili PAF-AH'nin, HDL'nin antioksidatif ve antiinflamatuvar potansiyeline katkı sağladığı ve aterosklerozdan koruyucu rolü ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [64]. Ancak plazma PAF-AH'nin okside fosfolipitleri parçalaması sonucunda açığa çıkan lizofosfatidilkolin (lizoPC) ve okside serbest yağ asitlerinin (oksSYA), endotel üzerine

zararlı etkileri vardır [65]. PAF-AH kütlesinin koroner arter hastalığı için risk faktörü olması PAF-AH'nin proaterojenik ve proinflamatuvar etkileri olduğu hipoteziyle de uyumludur [66]. Farklı klinik çalışmalar, lipoproteinler arasındaki PAF-AH değişiminin koroner arter hastalığı [67], hiperkolesterolemi [62], kronik böbrek hastalığı [68] gibi hastalıklarla korele olduğuna işaret etmektedir. Bu gözlemler, lipoproteinlerdeki dağılımın, PAF-AH'nin patofizyolojik işlevini tanımlayabileceğini düşündürmektedir.

PAF-AH'nin HDL ve LDL ile ilişkisi, normolipidemik kişilerin karakteristik özelliğidir, ancak bazı durumlarda LDL benzeri partikül olan lipoprotein (a) varlığı nedeniyle dağılım değişir. Lp(a)'nın 0.1 mg/mL'den yüksek olduğu durumlarda PAF-AH, apo B içeren bu lipoprotein ile ilişkilidir [69]. Lp(a) okside fosfolipitlerin plazmada taşıyıcısı olabilir [70]. Lp(a) tarafından oksitlenmiş fosfolipitlerin bağlanması ve taşınması, bunların proinflamatuvar özelliklerini önleyebilir ve PAF-AH ile parçalanmalarını artırabilir. Düşük Lp(a) seviyeleri faydalı antiinflamatuvar fonksiyona sahip olabilir ve kardiyovasküler riski hafifletir [71]. Farklı lipoprotein partikülleri ile ilişkili PAF-AH'nin fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Farklı lipoprotein partikülleri ile ilişkili PAF-AH'nin fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları [72]

PAF-AH lipoprotein taşıyıcı	Fizyolojik fonksiyonlar	Patofizyolojik fonksiyonlar	Klinik değerlendirme
LDL PAF-AH	PAF ve proinflamatuvar OksPL yıkımı ile antiinflamatuvar ve antiaterojenik	OksSYA ve lizoPC üretimi ile proinflamatuvar ve proaterojenik	Primer hiperkolesterolemi ve kombine hiperlipidemide artmış seviyeler, Bağımsız kardiyovasküler risk belirtici
HDL PAF-AH	Antiinflamatuvar, Antioksidatif, HDL ilişkili kolesterol çıkışında artış, Antiaterojenik		Kombine hiperlipidemi, primer hipertrigliseridemi, pre-diyabet, metabolik sendromda azalmış seviyeler Düşük kardiyak ölüm riski ile ilişkili
Lp(a) PAF-AH düşük seviyeler	Antiinflamatuvar, Antiaterojenik		
Lp(a) PAF-AH yüksek seviyeler		Proinflamatuvar Proaterojenik	Koroner arter hastalarında düşük katalitik etkinlik

OksPL: okside fosfolipit, OksSYA: okside serbest yağ asitleri, LizoPC: lizofosfokolin

2.3.10. Mutasyon ve Polimorfizmler:

Plazma PAF-AH aktivitesi saptanamayan seviyelerde olan bireyler ilk kez Japonlarda tanımlanmış olup insidansı yaklaşık %4 oranındadır [73]. Eksikliğin moleküler temeli enzimin aktif bölgesindeki nokta (V279F) mutasyonudur [74]. Bu mutasyon daha sonra Kore [75], Çin [76], Tayvan [77] halkında, Türkiye, Azerbaycan

ve Kırgızistan'daki bireylerde [78] bildirilmiştir. Kuzey Amerika nüfusunda eksiklik ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır.

PAF-AH eksikliği, Japon hastalarda şiddetli astım, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, inme, serebral hemoraji, infarkt, dilate kardiyomiopati, miyokardiyal hasar, aterosklerotik hastalık, abdominal aort anevrizmaları ile ilişkili bulunmuştur [79]. Ancak diğer ırklarda bu ilişkilerin tamamı gözlenmemiştir. İlginç olarak, PAF-AH eksikliğinin Koreli bireylerde kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı gösterilmiştir [75]. Bunun o nüfusa özgü bir biyolojik farkı temsil edip etmediği, çalışma veya hasta sınıflandırmasının etkileri olup olmadığı belli değildir.

2.3.11. Hücre İçi Etkiler:

PAF-AH; artrit, vasküler hastalık ve ödem gibi inflamasyon bileşeni olan pek çok patolojiyi içeren çalışmaların hedefi olmuştur. Genel olarak, inflamasyon ve serbest radikal oluşturan oksidatif reaksiyonlarla ilişkili bozuklukların, aktiviteyi inhibe edeceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, çeşitli faktörlerin son konsantrasyonları etkilemesi sebebiyle, PAF-AH aktivitesindeki değişiklikler tam olarak anlaşılamamaktadır.

In vivo olarak uygulanan PAF-AH'nin, PAF kaynaklı ödemi engellemesi ve vasküler sızıntıyı azaltmasıyla antiinflamatuvar özelliği keşfedilmiştir [46]. Takiben rekombinant PAF-AH'nin pek çok inflamatuvar durumun şiddetini azalttığı gösterilmiştir. PAF-AH'nin adenoviral transfer ile *in vivo* aşırı ekspresyonu farelerde neo-intima oluşumu ve ateroskleroz gelişimini de azaltmıştır [80].

2.3.12. Hastalıklarda PAF-AH Aktivitesi Değişiklikleri

Plazma PAF-AH aktivitesi sağlıklı insanlarla kıyaslanarak pek çok hastalıkta araştırılmıştır. Astım [81], sistemik lupus eritematozus [82], juvenil romatoid artrit [83], hasar sonrası çoklu organ yetmezliği [84], akut miyokard infarktüsü [85], sepsis [86], Crohn hastalığı [87] gibi çeşitli hastalıklarda PAF-AH aktivite düşüklüğü izlenmiştir. Bu örnekler, düşük plazma PAF-AH aktivitesinin patolojik durumlara

neden olan PAF birikimiyle sonuçlandığı düşündürür. Buna karşılık PAF-AH aktivitesinde ılımlı bir artış; iskemik inme [88], miyokard infarktı [89], ailesel HDL eksikliği (Tangier hastalığı) [90], kronik kolestaz [91], diyabet [92], romatoid artrit [93], esansiyel hipertansiyon [94], periferik vasküler hastalık [95], sigara içiciliği [96] gibi geniş patolojik durumlarda bildirilmiştir. Bu hastalarda gözlenen plazma PAF-AH aktivitesi yüksekliği, inflamatuvar uyaranlara fizyolojik bir yanıt olup hastalıklara karşı savunma mekanizmalarından biri olabilir. Çünkü yüksek PAF ve okside fosfolipit seviyeleri, hücrelerden PAF-AH ekspresyonunu uyarır ve artışına neden olur. Patolojik hallerde PAF-AH aktivitesindeki değişiklikler, bu enzimin hastalıklarla bağlantısını önerse de, enzim aktivite ölçümünden elde edilen verileri yorumlamak zordur. Plazma PAF-AH aktivitesi oksidasyona duyarlıdır ve LDL seviyeleri, PAF-AH konsantrasyonunu etkiler. Böylece, aynı patolojik hallerde bile çelişkili sonuçlar elde edilebilir.

Astım

Aerosolize PAF'ın sağlıklı kişi ve astım hastalarında bronkokonstriksiyon ve bronş aşırı duyarlılığını uyarması [97], PAF antagonistlerinin astımda alerjenlere verilen tepkiyi azaltması [98], hayvanlarda PAF uygulanmasının bronkokonstriksiyon, mukus sekresyonu, artmış vasküler geçirgenlik ve bronşiyal aşırı duyarlılığı içeren astım ile ilişkili fizyolojik olaylara neden olması [99], astımda balgam ve bronkoalveolar lavaj sıvısında yüksek PAF konsantrasyonları [100], akut astım atağında plazma PAF yüksekliği [101] gibi kanıtlar, PAF'ın astım patogenezinde önemli olduğunu kuvvetle ileri sürer.

Japonya'da yapılan çalışmalarda astımlı kişilerde V279F mutasyon sıklığı (heterozigot %36.1, homozigot %4.5) yüksek bulunmuştur [102]. Ek olarak, homozigot mutasyonu olan hastalarda astım şiddeti de daha yüksektir.

Aterosklerotik Hastalık

Tromboz sırasında PAF, endotel hasarı bölgesinde lokal olarak sentezlenir ve ileri koroner arter hastalığı olan bazı hastaların aterosklerotik plaklarında birikir [103].

Ayrıca, oksidatif strese veya trombin, bradikinin, histamin, lökotrien C4 ve D4 gibi çeşitli fizyolojik agonistlere yanıt olarak endotel hücreleri tarafından üretilen PAF, makrofajlardan süperoksit anyon üretimini de teşvik eder [104]. Dolayısıyla, aterosklerotik değişiklikler sırasında vasküler duvarda lokalize PAF sentezi, LDL'nin oksidatif modifikasyonunu artırabilir ve patojenik süreci hızlandırabilir. Çeşitli patolojik koşullarda üretilen reaktif oksijen türleri, zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ açıl zincirlerini oksitleyebilir, fosfolipit hidroperoksit ve okside fosfolipit üretebilir [105]. Her iki durum da hücre veya doku hasarına neden olur ve apoptozu uyarır. Aterosklerozda arter duvarındaki LDL'nin oksidatif modifikasyonu önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir; çünkü okside LDL, monosit adezyonu ve köpük hücre oluşumunu uyarabilir, düz kas hücresi çoğalması ve migrasyonuna neden olabilir ve trombosit adezyon ve agregasyonunu arttırabilir [106].

Plazma PAF-AH, hem HDL, hem de LDL ile sıkı şekilde ilişkilidir. Bu ilişki, PAF ve oksitlenmiş fosfolipitlerin plazma konsantrasyonunu düzenleyebilir ve LDL'yi, oksidatif modifikasyona ve aterogeneze rol aldığı düşünülen makrofajlar tarafından alınmaya karşı koruyabilir [107]. Plazma PAF-AH, PAF ve oksitlenmiş fosfolipitlerin etkilerine karşı önemli bir savunma sağladığı için, azalmış aktivite, ateroskleroz ve tromboz gibi patolojik koşullara yol açabilir.

V279F mutant allelin miyokart infarktılı Japon erkeklerde kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülürken benzer ilişki kadın MI hastalarında görülmemiştir [108]. Japon inme geçiren hastalarda da bu mutasyonun sık görülmesi aterosklerotik hastalık için genetik risk faktörü olabileceğini düşündürür [109]. Ayrıca bu mutasyon Japon hastalarda ailesel olmayan dilate kardiyomiyopati [110], hipertrofik kardiyomiyopati [111], serebral hemoraji [112] ve aterosklerotik oklüziv hastalık [113] ile ilişkili bulunmuştur. Plazma PAF-AH aktivitesi normal genotipli sağlıklı kişilerde yaşla birlikte artarken, bu korelasyon heterozigot mutasyonlu kişilerde çok düşüktür [114]. Bu gözlem, normal genotipli bireylerde yaşla birikebilen ve vasküler yaşlanmayı hızlandıran okside fosfolipit ve PAF'ın indüklediği strese yanıt olarak plazma PAF-AH aktivitesinin arttığını göstermektedir. Dolayısıyla, mutant genotipli kişilerde çok zayıf olan yanıt bu kişileri, ateroskleroz riski ile karşı karşıya bırakabilir. Aterosklerotik tıkalı hastalığı olan femoro-popliteal bypasslı

hastaların 10 yıllık izleminde V279F mutasyonu olan kişilerde greft oklüzyon olasılığı daha yüksek bulunmuştur [115].

Plazma PAF-AH'nin, dolaşımdaki ve aterosklerotik lezyonlardan proinflamatuvar ve proaterojenik etkileri olan PAF ve PAF benzeri oksitlenmiş fosfolipit araçları kaldırması, aterogeneizde koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürür. Buna karşılık, PAF-AH'nin kendisi de proaterojenik aktiviteye sahip olabilir, çünkü okside fosfolipitlerin hidroliziyle üretilen lizoPC ve okside modifiye serbest yağ asitleri güçlü proaterojenik etkiler gösterir [65]. Aterosklerotik lezyonlarda okside LDL'nin *in vivo* mevcut olduğu ve aterosklerotik lezyonlarda lizoPC düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. LizoPC içeriğindeki bu artıştan muhtemelen LDL ilişkili PAF-AH aktivitesi sorumludur, çünkü plazma PAF-AH, aterosklerotik lezyonlarda makrofajlar tarafından eksprese edilir. [116].

İmmünokimyasal olarak ölçülen plazma PAF-AH kütle seviyelerinin anjiyografik olarak kanıtlanmış koroner arter hastalığı (KAH) olan hastalarda, LDL-kolesterol ve diğer risk faktörleri için düzeltme yapıldıktan sonra bile anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir [117]. Hiperlipidemik, orta yaşlı erkeklerin 5 yıl izlendiği çalışmada, yüksek PAF-AH kütle seviyelerinin CRP gibi inflamasyonun diğer belirteçlerinden bağımsız olarak koroner kalp hastalığı (KKH) için güçlü bir risk öngörme faktörü olduğu gösterilmiştir [66]. Diyaliz hastalarında küçük yoğun LDL (sdLDL) ve PAF-AH kütle seviyelerinin aterosklerotik kalp hastalıkları diğer risk faktörleriyle ilişkisini araştıran çalışmada sdLDL ve PAF-AH'nin bağımsız olarak yükseldiği raporlanmıştır [118]. Plazma PAF-AH düzeyleri kadınlarda erkeklerden daha düşüktür, bu nedenle kadınlardaki daha düşük PAF-AH aktivitesi, daha düşük kardiyovasküler risk ile ilişkili olabilir. Orta yaşlı Amerikalı kadın ve erkeklerin 6-8 yıl boyunca izlendiği çalışmada plazma PAF-AH ve CRP'nin, düşük LDL kolesterolü (<130 mg/dL) olan kişilerde KKH ile anlamlı ve bağımsız olarak ilişkili olduğu belirtilmiştir [119]. PAF-AH aktivitesini etkileyen lipit düşürücü ilaçları almayan hastalarla yapılan analizlerde LDL kolesterol (>130 mg/dL) yüksek bile olsa, plazma PAF-AH aktivitesi, KAH şiddeti ve belirgin stenozun olduğu koroner damar sayısı ile ilişkilidir [120]. Statin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü alan bireylerin hariç tutulduğu kesitsel bir çalışmada, KAH riski plazma PAF-AH düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur [121]. Bu epidemiyolojik çalışmalar sonucunda, plazma PAF-AH, en

azından erkeklerde KKH için yeni bir risk belirleyicisi olarak görünmektedir. Ek olarak plazma PAF-AH ve CRP'nin kombinasyonu risk değerlendirmesini geliştirebilir. Bu gözlemler, plazma PAF-AH'nin kardiyovasküler hastalıkta proaterojenik rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. Buna rağmen yüksek plazma PAF-AH seviyesi, lizoPC ve okside serbest yağ asitleri gibi proinflamatuvar ve proaterojenik ürünlerin birikimine fizyolojik yanıt olabilir; çünkü PAF ve inflamatuvar uyaranlar makrofajlarda enzim ekspresyonunu artırır.

Böbrek Hastalıkları

Deney hayvanlarındaki çalışmalar, PAF'ın böbrek hasarında önemli bir aracı olabileceğini göstermektedir [122]. PAF'ın insan böbrek hastalıklarındaki rolü araştırıldığında, membranöz nefropati hastalarında üriner PAF anlamlı derecede yüksek ve proteinüri ile pozitif korelasyon gösterir [123]. Hemolitik üremik sendromlu çocukların idrarında PAF artar ve düzeyleri hastalık aktivitesi ile korelasyon gösterir [124]. Steroid yanıtı nefrotik sendrom (SRNS) hastalarında relaps sayısının mutant genotipte daha yüksek olduğu görülmüştür [125]. Glomerül bazal membrana hasar veren vasküler geçirgenlik faktörünün PAF sentezini indükleyerek vasküler geçirgenliği artırdığı gösterilmiştir [126]. Bu nedenle plazma PAF-AH eksikliğine bağlı PAF birikimi, glomerül bazal membran geçirgenliğini artırabilir ve SRNS'li hastalarda proteinürinin tekrarlamasına neden olabilir.

Şok

Birçok çalışma, sistemik anafilaksi patolojisine PAF'ın katıldığını vurgulamaktadır. Hayvanlarda anafilaktik şok semptomlarının çoğu, PAF enjeksiyonuyla oluşturulur [104] ve kemirgen anafilaktik modellerinde serumda yüksek düzeyde PAF tespit edilmiştir [127]. Ek olarak, PAF reseptör knock-out farelerin sistemik anafilakside doğal (wild) tip farelerden daha düşük mortalite oranı sergilemesi, PAF'ın anafilaktik şokta baskın rolünü gösteren kanıtları destekler [128]. Akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) olan hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısında PAF düzeyleri artmış [129] ve septik şoklu hastalarda kan PAF seviyeleri

yükselmiştir [130]. Anafilakside çeşitli PAF-reseptör antagonistlerinin koruyucu etkileri gösterilmiş olsa da, bazı PAF-reseptör antagonistleri PAF-AH aktivitesini kısmen inhibe ederek anafilaktik şok geliştirir [131]. Rekombinant plazma PAF-AH, farelerde PAF ile indüklenen ve antijene bağlı anafilaktik şok modellerinde mortaliteyi iyileştirmiştir [132]. Bu gözlem, PAF'ın sistemik anafilaksiden ölüme önemli bir rol oynadığını ve plazma PAF-AH'nin anafilaktik şok hastalarının tedavisinde yararlı olacağını düşündürmektedir.

Diyabet

PAF, tip 1 diyabet gelişiminde rol oynar. Tip 1 diyabetli hastalarda, PAF öncülleri ve PAF-AH aktivitesi aynı seviyede kalırken, kan PAF düzeylerinde sağlıklı gönüllülere kıyasla 50 kat artış görülmüştür [133]. Hiperlipidemik Tip 2 DM hastaları, sadece dislipidemik olanlar veya sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında PAF-AH aktivitesi T2DM'de artmıştır [134]. T2DM'li hastalarda yüksek koroner arter hastalığı riski, yüksek aterosjenik küçük yoğun LDL seviyeleri ile açıklanabilir. PAF reseptör antagonistlerinin insülitis üzerindeki önleyici etkileri, PAF'ın insülitiste rol aldığına dair kanıtları destekler [135]. Günlük intraperitoneal rekombinant plazma PAF-AH enjeksiyonu, diyabete yatkın BB sıçanlarda diyabet sıklığını %90'dan %57'ye düşürmüştür [136]. Rekombinant plazma PAF-AH, Langerhans adacıklarındaki PAF seviyesini düşürerek ve böylece inflamatuvar süreci inhibe edip beta hücrelerini koruyarak diyabeti etkileyebilir.

Diğer Hastalıklar

Subklinik hipotiroidizm (SH), kısmen lipit anormalliklerinden dolayı artmış iskemik kalp hastalığı riski ile ilişkilidir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, SH'li hastalarda kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit ve apo B seviyelerindeki yükseklikle birlikte plazma PAF-AH aktivitesi yüksek fakat HDL ilişkili PAF-AH aktivitesi düşüktür [137]. Tiroid replasmanının antiaterojenik etkisi Levotiroksin tedavisinin HDL ilişkili PAF-AH'de anlamlı artış sağlamasıyla açıklanabilir. Metabolik Sendrom hastalarında kontrol grubuna kıyasla plazma PAF-AH aktivitesi artmışken HDL ilişkili

PAF-AH aktivitesi azalmıştır. Bu hastalarda PAF-AH aktiviteleri arasındaki farkın başlıca belirleyicileri insülin direnci ve hipertansiyondur [138]. Periton diyalizi (PD) hastalarında ateroskleroz görülme sıklığı artmıştır. PD hastalarındaki yüksek plazma PAF-AH aktivitesi ve azalmış HDL ilişkili PAF-AH/ plazma PAF-AH aktivite oranı artmış ateroskleroz insidansı için bir faktör olabilir [139]. Kardiyovasküler hastalık öyküsü olan sistemik lupus eritematozus (SLE) hastaları, kardiyovasküler hastalık belirtileri olmayan SLE hastalarıyla karşılaştırıldığında plazma PAF-AH düzeyleri artmış bulunmuştur [140].

Kalp Kapak Kalsifikasyonu

Kalsifik aort kapak hastalığı (AKK), sıklıkla yaşlı insanlarda görülen, aortik yaprakların anormal mineralizasyonu ile karakterize, kronik ve multifaktöryel bir hastalıktır [141]. Bir zamanlar pasif, kronik mekanik stres sürecinden kaynaklandığı düşünülmüş olsa da şu an aort stenozunun (AS) lipid birikimi, inflamasyon, fibrozis ve kalsiyum birikimiyle aktif bir süreç olduğuna dair kanıtlar artmaktadır [142]. AS ile ateroskleroz arasında lipoprotein birikimi, kronik inflamasyonu gösteren makrofaj ve T hücre infiltrasyonu, doku remodeling'i, angiogenesis ve kalsifikasyon gibi benzerlikler gösterilmiştir [143]. AS; diyabet, LDL kolesterol düzeyleri, hipertansiyon, erkek cinsiyet, yaş ve sigara gibi kardiyak risk faktörleri ile ilişkilendirilmiştir. PAF-AH'nin koroner arter hastalığı için bağımsız risk faktörü olması, yüksek seviyelerinin artmış kardiyovasküler riskle ilişkili olması [144], aterosklerotik plak rüptüründeki aşırı ekspresyonu [145], PAF-AH ürünü olan LizoPC'lerin düz kas hücre mineralizasyonunu uyarması [146] gibi etkiler PAF-AH'nin kardiyak kalsifikasyonla da ilişkili olabileceğini düşündürür.

AS ve AS derecesinin artmış plazma PAF-AH kütlesi ile ilişkili olduğunun gösterilmesi, ilk kez AS patogenezinde PAF-AH'nin katılımını düşündürmüştür [147]. Sonraki çalışmalar yüksek PAF-AH aktivitesinin biyoprotez yapısal kapak dejenerasyonu (SVD) ilişkisini göstermiştir. Bu ilişki SVD riski altındaki bireylerin tespiti ve belki de SVD'nin önlenmesine yönelik yeni ilaçların gelişimine yardımcı olabilir [148]. AKK hastalarında yüksek PAF-AH ekspresyonunun, PCR, immünohistokimyasal boyalar ve PAF-AH aktivitesi ile gösterilmesi PAF-AH'nin

kapak mineralizasyonu ile ilişkisini destekler [149]. Retrospektif insan çalışmaları PAF-AH aktivitesini düşüren statin kullanımının AKK progresyonunu azaltacağını önermesine rağmen, prospektif randomize çalışmalar statin kullanımının AKK progresyonunda etkili olmadığını göstermiştir [141]. Statinler, LDL konsantrasyonunu düşürerek dolaşımdaki PAF-AH düzeyini düşürse de, makrofajların de novo sentezi ve sekresyonunu önlemez, aort kapağı içinde PAF-AH lokal sekresyonunu etkilemezler. PAF-AH'nin aort stenozu progresyonuyla ilişkisini araştıran kohort çalışmasında PAF-AF aktivite ve kütlelerinin stenoz progresyonuyla ilişkisi bulunmamıştır. Ancak PAF-AH aktivitesinin hafif AS grubunda daha hızlı stenoz progresyon hızıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [150]. Bunun sebebi olarak erken aortik stenozun lipit kaynaklı ve dolayısıyla PAF-AH ile ilişkili olabileceği, ancak ileri stenozun ise kalsifikasyonla ilişkili olup bu sebeple PAF-AH ilişkisinin gösterilememiş olabileceği belirtilmektedir. İnflamatuvar, lipit ve mineral metabolizma belirteçlerinin ekokardiyografik kardiyak kalsifikasyon ile ilişkisini ileri yaşlı geniş popülasyon kohortunda inceleyen çalışmada, FGF-23 ve fetuin-A'nın MAK ile PAF-AH aktivitesi veya kütlesi, sCD14 ve Lp(a)'nın AKK ile ilişkileri gösterilmiştir [151].

2.3.13. PAF-AH Ölçüm Yöntemleri

Radyometrik Yöntem

PAF-AH aktivitesinin belirlenmesinde radyometrik yöntem, substrat olarak 2-[asetil- ^3H] PAF kullanımına dayanmaktadır; hidroliz ile oluşan [^3H] asetat, bağlı olduğu substrattan hızlı ve verimli bir şekilde ayrılabilir; çünkü ürün (asetat) suda serbest olarak çözünürken substrat (PAF) amfipatiktir. Fazla substrat, oktadesil silikajel kartuş ters faz kolon kromatografisiyle suda çözünen ürünlerden ayrılır; substrat kolona bağlanırken radyoaktif asetat kolondan geçer. Böylece, salınan radyoaktivite seviyesi örnekteki enzimatik aktivite miktarını temsil eder ve sıvı skintilasyon sayacı ile ölçülebilir [152]. Bu yöntem mutlak enzimatik aktivitenin bir

ölçüsüdür ve bu nedenle laboratuvarlar arasında doğrudan karşılaştırmalar yapmak için kullanılabilir.

Bu yöntem, kısa zincirli, sentetik, okside fosfolipitlerin [1-palmitoil-2- (5'-oksovaleroil) -*sn*-glisero-3-fosfokolin (POVPC)] hidrolizini doğrudan ölçmek için de kullanılabilir. POVPC üreticilerden temin edilebilir (Avanti Polar Lipids Ürün No. 870606, Cayman Chemical Ürün No. 10031) ve *sn*-2 işaretli molekül 1-palmitoil-2-[araşidonoil-1-¹⁴C] -*sn*-glisero-3 fosfokolinden (PerkinElmer Ürün No. NEC765010UC) sentezlenebilir [51].

PAF-AH substratı olarak kullanılan [Alkil-³H] PAF'ın hidroliziyle oluşan [Alkil-³H] lizoPAF salınımının ölçümü de enzim aktivitesini verecektir [153]. Substrat ve ürünün ayrımı genellikle TLC veya HPLC ile yapılır, ardından skintilasyon sayımı gerçekleştirilir. Zaman alıcı ve doğruluğu daha az olan bu yöntemin [asetil-³H] PAF kullanan testlere kıyasla avantaj sağlamadığı görülür.

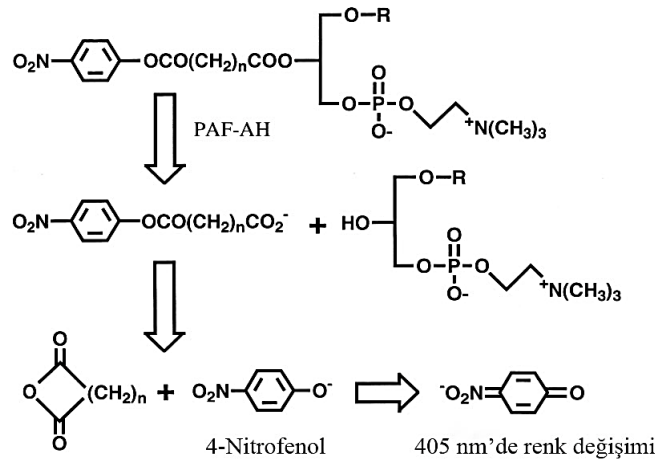
Florimetrik Yöntem

İlk floresan temelli PAF-AH aktivite yöntemi florofor işaretli eter lipid PAF analogunun (1- (N-dansil-11-amino-1-undesil) -2-asetil-*sn*-glisero-3-fosforilkolin), sıçan polimorfonükleer nötrofil ekstraktında PAF-AH ile hidrolize edildiğinin bulunmasıyla tanımlanmıştır [154]. Ardından floresan substrat olarak 1-palmitoil-2-(7-nitrobenzoksadiazolil) aminokaproil fosfatidilkolin (C₆NBD PC) kullanılmıştır [155]. Bu yöntem, genel olarak [asetil-³H] PAF kullanan radyometrik yöntemle karşılaştırılabilir özelliklere sahip olduğu için PAF-AH aktivitesini ölçmede uygundur. Bu yöntemle ilgili sorunlar; florometre gerektirmesi, radyoaktivitenin aksine floresansın, bileşiğin kendine özgü bir özelliği olmaması ve floresan veriminin çevresel faktörlere bağlı olmasıdır. Ayrıca substratın floresansı (C₆NBD PC), ürünün (NBD heksanoik asit) yaklaşık %2'sidir. Bu durum substratın sadece küçük bir kısmının parçalandığı enzim yöntemlerinde anlamlı derecede önemli olabilir. C₆NBD PC'nin floresansı sonikasyon ve albümin içeriğinden etkilenir. Bu problem, örneğin substratla inkübasyonu ile dengeye getirilmesiyle çözülebilir, ancak bu süre protein konsantrasyonuna bağlı olacağından her numune için farklıdır. Alternatif olarak,

reaksiyon ürünü asit lipit ekstraksiyonu ve saflaştırma yoluyla floresans ölçüm öncesinde izole edilebilir. Bu adımlar test süresini artırabilir ve laboratuvarlar arası varyasyona neden olabilir. Florimetrik ölçülebilen en düşük NBD yağ asitleri 100 pmol iken [156] radyometrik yöntemle 20 pmol [³H] asetat saptanabilmektedir. Yöntemin duyarlılığını artırmak için PAF hidroliziyle oluşan lizoPAF bütanon kullanılarak ayrıştırılır. LizoPAF'nin *sn*-2 serbest hidroksil grubundan 2-karbamoil türevi oluşturmak için DEACZ (7-dietilaminokarmarin-3-karbonil azid) kullanılır. Ürünler HPLC ile tutulur ve lizoPAF türevleri floresan dedektör ile ölçülür. Bu yöntem ile 1 pmol lizoPAF tespit edebilir ancak oldukça uzun süreler (3 saat) ve özel cihazlar gerektirir [157].

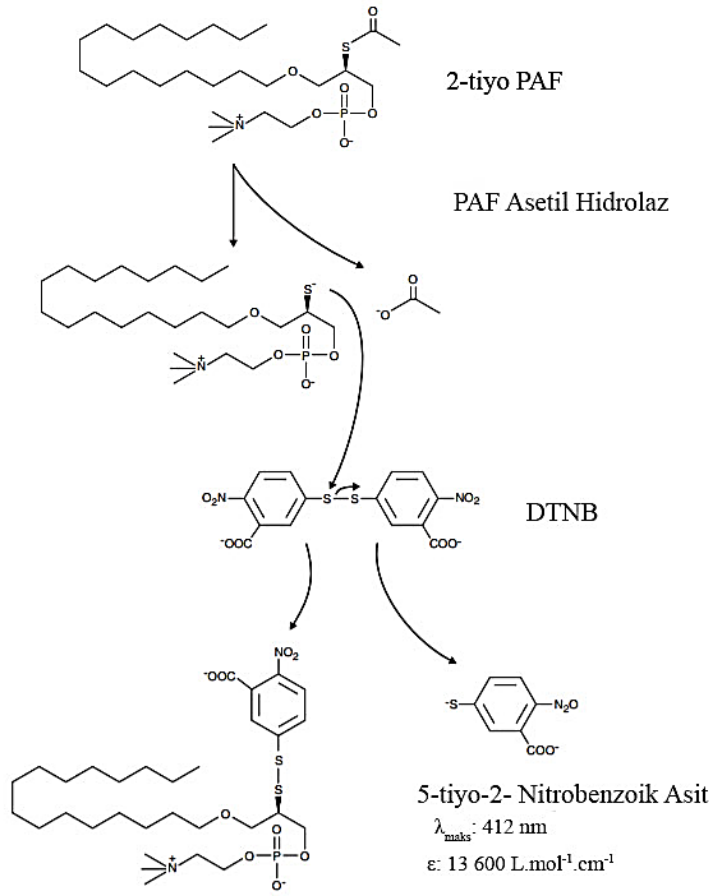
Kolorimetrik Yöntemler

PAF-AH aktivitesinin saptanması için kullanılan ilk kolorimetrik testlerde substrat olarak 1-dekanoil-2- (4-nitrofenilglutaril) fosfatidilkolin (DNGP) kullanılmıştır [158]. Birçok laboratuvarın PAF-AH aktivite tayini için kullandığı kolorimetrik ticari kitler, 1-miristoil-2- (4-nitrofenilsüksinil) fosfatidilkolinin hidrolizi ile 4-nitrofenil süksinat oluşumuna dayanır. Bu bileşik, sulu çözeltide hemen parçalanır ve oluşan 4-nitrofenol spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Şekil 5) [159]. Cosmo Bio Co. Ltd. (Ürün No. ALF-274664847, Azwell Auto PAF-AH) ve diaDexus (Lp-PLA2 kolorimetrik aktivite (CAM) assay) gibi ticari kitler bulunmaktadır. Sınırlamalar ise PAF-AH'ye ilaveten substratın albümin gibi non-spesifik esteraz aktiviteleri ile hidroliz olmasıdır. Bu problem, Chaps ve sodyum-1-nonan sülfonat eklenerek düzeltildiğinde, yöntemin radyometrik test ile korelasyonu mükemmel olmaktadır ($R^2=0.979$) [159].



Şekil 5. 4-nitrofenil grupları içeren PAF analogları kullanılarak PAF-AH aktivitesinin spektrofotometrik ölçülmesi [159]

Substrat olarak 2-tiyoPAF kullanan bir diğer kolorimetrik test, Cayman Chemical (Ürün No. 760901), Abnova (Ürün No. KA1354) ve Interchim (Ürün No. Q91581) tarafından pazarlanmaktadır. 2-tiyoPAF'ın PAF-AH ile hidroliziyle oluşan serbest tiyoller, 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) ile reaksiyon sonucunda 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Şekil 6) [160]. Bu yaklaşım doğruluk ve kolaylığı bakımından çok daha elverişlidir. Ancak bazı sınırlamaları vardır. Radyometrik yöntemle kıyasla 3 kat daha pahalıdır [53]. Cayman testinin 20-200 nmol/dk/mL arasındaki duyarlılığı sebebiyle düşük aktivite beklediği pediatrik popülasyon (25.0–27.7 nmol/dk/mL) [73], fatal anafilaksi (14.5 nmol/dk/mL) [161] ve gen mutasyonları varlığında [74] kullanımı uygun olmayabilir. Düşük aktivite tespiti için radyometrik yöntem daha uygun ve güvenilir olacaktır. Sığır karaciğerinden preparatlar kullanılarak yapılan afinite çalışmalarında PAF (19 µM) ve 2-tiyoPAF (10 µM) arasında farklı substrat afiniteleri bildirilmiştir; bu özelliğin plazma PAF-AH için geçerli olup olmadığı net değildir. Ayrıca [Asetil-³H] PAF'dan salınan [³H]asetat oranı, 2-tiyoPAF'dan salınan tiyol oranından daha yüksektir [160]. Radyometrik yöntem kullanılarak yapılmış benzer çalışmalara kıyasla 2-tiyoPAF kullanılan çalışmalarda daha düşük ortalama aktivite bulunmuştur [162, 163].



Şekil 6. 2-tiyoPAF analogu kullanılarak PAF-AH aktivitesinin spektrofotometrik ölçülmesi

ELISA

PAF-AH antikorları ile kütle ölçümü 2000 yılında iki monoklonal antikorun kullanıldığı sandviç enzim immünoassay ile başlamıştır [117]. PLAC test (diaDexus) olarak geçen ticari immüno-türbidimetrik kitler, ateroskleroz ile ilişkili plak rüptürüne bağlı kardiyovasküler olay (MI ve iskemik inme) riskinin tahmini için kullanılmıştır. Uzmanlar yüksek kardiyovasküler olay riski için eşik değer olarak 200 $\mu\text{g/L}$ 'nin kullanılmasını önermişlerdir. PAF-AH kütle testleri, hastaların risk sınıflandırmasında, enzimatik aktivite testlerine kıyasla önemli avantajların olmaması, doğruluğun daha düşük olması, lotlar arası varyasyonları ve önemli preanalitik sorunları nedeniyle terk edilmiştir [164]. PLAC kütle ile aktivite testleri arasındaki uyumsuzluğa, kütle ölçümündeki düşük deterjan konsantrasyonunun sebep olduğu

düşünülmektedir. Çünkü düşük deterjan konsantrasyonu PAF-AH'nin LDL gibi büyük boyutlu lipitlerde kalmasına neden olurken bu lipitler de protein-antikor ilişkisini bloke ederler. Dolayısıyla bu testler daha çok HDL ilişkili enzim kütlesini ölçmektedir ki bu da toplam enzimin küçük bir kısmıdır [165].

2.3.14. Referans Aralık ve Biyolojik Varyasyon

Japonya'da radyometrik yöntemle ölçülen PAF-AH aktivitesinin yaş, genotip ve aterosklerozla ilişkisini araştırmak için yapılan geniş popülasyon çalışmasında normal genotipe sahip sağlıklı bireylerde PAF-AH aktivitesinin 44.5 ± 16.4 nmol/dk/mL olduğu ve aktivitenin yaşla beraber arttığı, ancak mutant genotipe sahip bireylerde aktivitenin hem daha düşük olduğu, hem de yaşlanmayla beklenen artışın görülmediği rapor edilmiştir [114].

Japonya'da substrat olarak 1-miristoil-2- (4-nitrofenilsüksinil) fosfatidilkolin kullanılıp kolorimetrik PAF-AH aktivitesinin ölçüldüğü geniş çaplı başka bir çalışma daha yapılmıştır. Kadın ve erkeklerde ortalama PAF-AH aktivitesi sırasıyla 350.5 ve 367.8 U/L bulunmuş, yaşla beraber artışın kadınlarda erkeklere oranla daha belirgin olduğu ve postmenapozal dönemde aktivitelerin eşitlendiği görülmüştür. Ayrıca PAF-AH aktivite tayininde açlık, tokluk, serum, plazma veya dondurulmuş örneklerin kullanılabileceğini de bildirmişlerdir [166].

Enzim aktivitelerinde görülen bu farklılıklar, kullanılan farklı substratlar ve enzimin bu substratlara karşı farklı afinite göstermesinden kaynaklanmaktadır. Bu veriler, PAF-AH enzimatik aktivite ölçümlerinin klinik kullanımında harmonizasyonun gerekliliğini göstermektedir. Rekombinant PAF-AH ile kalibre edilen PAF-AH aktivite kiti, (PLAC aktivite testi), laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası yüksek kesinliği ve aktivitenin standardizasyonu için gerekli koşulları sağlamaktadır. Bu kitlerle yapılan çalışmada ise medyan enzim aktivitesi 176 nmol/dk/mL olarak bulunmuştur [167]. PAF-AH aktivitesinin biyolojik varyasyonu için yapılan çalışmalarda bireysel varyasyonu düşük ($VK_w < \%2$), bireyler arası varyasyonu yüksek ($VK_b \%20$) bulunmuştur [168].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grupları

Çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Biyokimya, Kardiyoloji ve Nefroloji Klinikleri işbirliğiyle yürütüldü. Çalışma protokolü için hastane Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulu ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Ek 1 ve 2).

Çalışma için Nefroloji Kliniği diyaliz ünitesinde son dönem böbrek yetmezliği tanısıyla en az altı aydır diyaliz tedavisi alan hastalar seçildi. Hemodiyaliz ve periton diyalizi yapılan 46'şar vaka hasta grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Karşılaştırma grubu için ise Nefroloji Kliniği'nde takipli diyaliz tedavisi almayan KBH hastaları hGFH değerleri, >60, 45-59, 30-44, 15-29 ve <15 mL/dk olacak şekilde 5 gruba ayrıldı ve her gruptan en az 15 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Hasta ve karşılaştırma gruplarındaki vakaların kalp kapak kalsifikasyon durumlarının tespiti için ekokardiyografileri yapıldı. Bu hastalardan 18 yaşından küçük olan, astım, akut enfeksiyon, sistemik ya da kronik inflamatuvar hastalığı bulunan, antiinflamatuvar ilaç kullanan, malign hastalığı olan ve kemoterapi/radyoterapi alan, PAF-AH seviyelerini etkileyen lipit düşürücü ilaçları kullanan, yapısal veya dejeneratif kapak hastalığı bulunan hastalar çalışmadan dışlandı. Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik bilgiler Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

	HD (n=46)	PD (n=46)	Evre 5 (n=16)	Evre 4 (n=15)	Evre 3b (n=17)	Evre 3a (n=18)	Evre 1-2 (n=20)
Yaş, yıl; M±IQR	57±26	56±22	57.5±24	60±11	64±19	60±18	51±17
Kadın, n (%)	16 (34.8)	22 (47.8)	11 (68.8)	7 (46.7)	9 (52.9)	11 (61.1)	13 (65)

HD: Hemodiyaliz; PD: Periton diyalizi; M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik

3.2. Numunelerin Alınması ve Hazırlanması

Kan numuneleri HD hastalarından diyaliz işlemi öncesi, PD ve kontrol hastalarından ise 10-12 saatlik açlığı takiben sabah, jel ayıraçlı 13×100 mm'lik Vacutainer SST II tüplerine (Becton Dickinson) alındı. Bu numuneler 30 dakika sonra 1300 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumda üre, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, ALT, ALP, kalsiyum, fosfat, magnezyum, kolesterol, trigliserit, HDL kolesterol, 25-OH D vitamini, iPTH, CRP, NT-proBNP testleri çalışıldı. PAF-AH aktivitesi için ayrılan serumlar çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı. Ayrıca kontrol grubundaki hastalarda sabah ilk idrarda albümin, protein ve kreatinin çalışıldı ve albümin kreatinin oranı (AKO) ile protein kreatinin oranı (PKO) hesaplandı.

3.3. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

- Rutin biyokimya ve immünokimya testleri Roche Cobas 8000 analizörlerinde çalışıldı.
- NT-proBNP testi Roche Cobas e411 cihazında elektrokemilüminesan yöntemle ölçüldü.
- İdrar albümin, protein ve kreatinin testleri Roche Cobas 6000 otoanalizöründe ölçüldü.
- Tüm bu testlerde üretici firma kitleri kullanıldı.
- PAF-AH aktivitesi Roche Cobas 6000 c501 cihazında ölçüldü.
- Tris (hidroksimetil) aminometan (Sigma Aldrich, ABD)
- Etilen glikol-bis(2-aminoetileter)-*N,N,N',N'*-tetraasetik asit: EGTA (Sigma Aldrich, ABD)
- 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit): DTNB (Sigma Aldrich, ABD)
- 2-tiyopAF (Cayman Chemical, ABD)

3.4. PAF-Asetil Hidrolaz Aktivitesi Ölçümü

Serum PAF-AH aktivitesi, Aarsman ve ark.'larının 1991'de geliştirdikleri yöntemin substrat modifikasyonunu içeren kolorimetrik yöntem ile yapıldı [160].

Prensip: Substrat olarak kullanılan 2-tiyoPAF numunedeki PAF-AH ile hidrolize uğrar. Açığa çıkan *sn*-2 pozisyonundaki serbest tiyollerin, 5,5' – ditiyobis (2-nitrobenzoik asit, DTNB) ile reaksiyonu 412 nm'de ölçülerek enzim aktivitesi tayin edilir. Yöntemdeki önemli basamak serumdaki serbest tiyollerin etkisini engellemektir. Bunun için numune tampon ortamı içinde DTNB ile 15 dk inkübasyona bırakılır, ardından substrat eklenerek istenen reaksiyon başlatılır ve açığa çıkan yeni oluşmuş serbest tiyoller DTNB ile reaksiyona girer. Oluşan renk değişikliği 412 nm'de kinetik olarak okunur.

3.5. Ayıraç ve Substrat Hazırlanması

1 mmol/L EGTA içeren 0.1 mol/L Tris HCl, pH: 7.2 tamponun hazırlanışı:

1 L tampon hazırlanması için molekül ağırlığı 121.14 g/mol olan Tris(hidroksimetil)aminometan'dan 12.114 g ve molekül ağırlığı 380.35 g/mol olan Etilen glikol-bis(2-aminoetileter)-N,N,N',N'-tetraasetik asitten (EGTA) 380 mg tartılarak 500 mL deiyonize suda çözüldü. Üzerine 1 mol/L HCl'den 89 mL ilave edilerek çözelti pH:7.2 olacak şekilde ayarlandı. Son hacim deiyonize su ilavesiyle 1 L'ye tamamlandı.

0.4 mol/L Tris HCl, pH: 7.2 tamponun hazırlanışı:

100 mL tampon hazırlanması için 4.84 g Tris (hidroksimetil) aminometan tartılarak 50 mL deiyonize suda çözüldü. Üzerine 35.6 mL 1 mol/L HCl ilave edilerek pH:7.2'ye ayarlandı. Deiyonize suyla 100 mL'ye tamamlandı.

10 mmol/L DTNB çözeltisinin hazırlanışı:

100 mL çözelti için molekül ağırlığı 396.35 g/mol olan DTNB'den 396 mg tartıldı. Bu miktar 0.4 mol/L Tris HCl tamponunda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Işıktan etkilenmesini engellemek için amber şişede saklandı.

400 µmol/L 2-tiyoPAF çözeltisinin hazırlanışı:

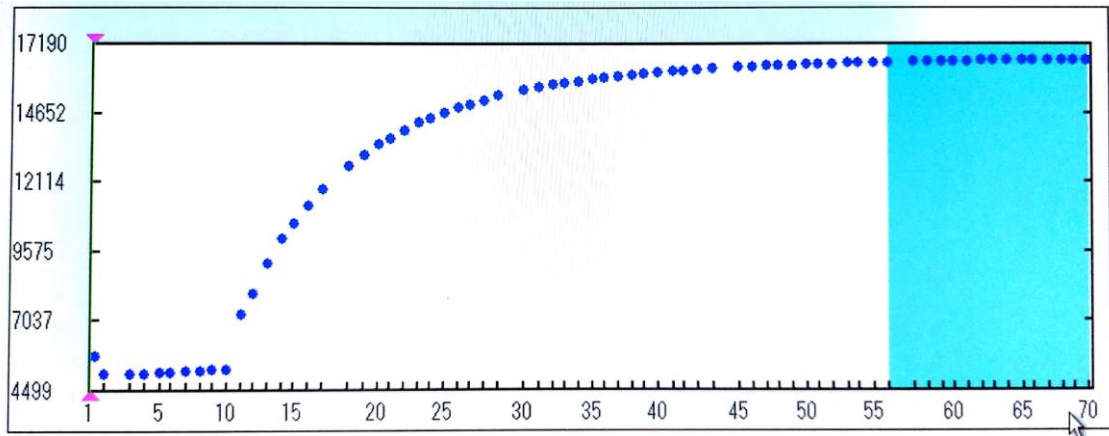
Öncelikle 1 mL etanol içinde çözünmüş olan 25 mg 2-tiyoPAF çözeltisinin sıvı kısmı azot gazı kullanılarak buharlaştırıldı. Substrat şişesine 3 mL 0.1 mol/L Tris HCl tampon eklenerek 25 mg/3mL konsantre substrat elde edildi. 100 mL substrat çözeltisinin hazırlanması için molekül ağırlığı 539.8 g/mol olan 2-tiyoPAF'tan 21.6 mg (2.6 mL konsantre substrat) tartılıp 0.1 mol/L Tris HCl tamponunda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltinin 2 hafta içinde kullanılması önerilmektedir [169].

3.6. Yöntemin Cihaza Uygulanması

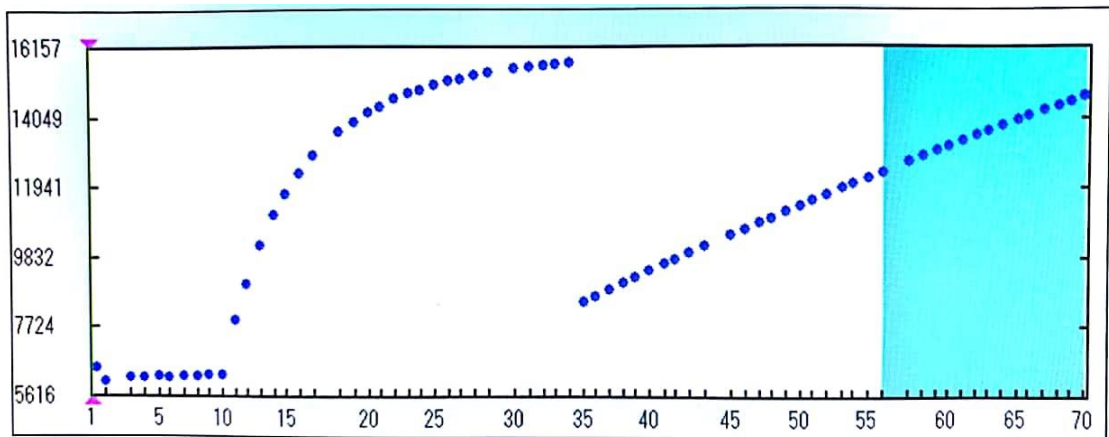
Cihaza uygulamanın önündeki en önemli engel örnekteki serbest tiyollerin DTNB ile reaksiyon vermesi için gereken 15 dk'nın otoanalizörün 10 dk'lık toplam ölçüm süresinin çok üzerinde olmasıydı. Serumdaki serbest tiyollerin tükenmesi için gereken süreyi test etmek amacıyla reaksiyon ortamına substrat eklemeyen, numune, tampon ve DTNB koyarak tepkimeyi izledik. DTNB eklendikten sonraki 30. saniyede serbest tiyollerin %37'si, 90. saniyede %72'si, 210. saniyede (substratın eklendiği nokta: 5. dakika) %95.5'inin DTNB ile reaksiyon verdiğini gördük. 8. ve 10. dakikalar arasında (ölçüm yaptığımız aralık) numunedeki tiyollerden geriye sadece %0.6'sı kalmıştı (Şekil 7). Böylece okuma aralığımız için 8. ve 10. dakikaların uygun olduğuna karar verdik.

Uygulama için cihazda açık kanal oluşturuldu. Rate A kinetik ölçüm, 10 dk çalışma süresi, ilk okuma 56. ve son okuma 70. noktalar (8 ve 10. dk) seçildi. Bu okuma noktaları arasında her 8 saniyede bir olmak üzere toplamda 15 noktada okumalar yapılarak dakikadaki absorbans değişiklikleri hesaplandı. Okumalar 415 nm'de yapıldı. 0.1 mol/L Tris HCl tamponu, 10 mmol/L DTNB ve 400 µmol/L 2-tiyoPAF çözeltileri olmak üzere 3 reaktif, tek reaktif kasedinde Roche Cobas c501 cihazına yüklenebildi. R1 (Tris HCl) 83 µL, R2 (DTNB) 10 µL, R3 (2-tiyoPAF) 112 µL ve örnek hacmi ise 20 µL olarak girildi (Tablo 6). Absorbans okumaları deiyonize su körüne karşı yapıldı.

Prosedürümüzde R1, örnek ve R2 reaksiyon küvetine pipetlenip ilk olarak örnekteki serbest tiyollerin reaksiyon vermesi sağlandı. Sonrasında ise 5. dk'da substrat eklenip asıl reaksiyon başlatıldı, 8 ve 10. dk'lar arasında her 8 saniyede bir olacak şekilde toplamda 15 okuma yapıldı. Böylece numunedeki serbest tiyollerin arkaplanda verdiği absorbans değişimlerinin ölçümü etkilememesi sağlandı. PAF-AH testine ait reaksiyon grafiği Şekil 8'de verilmiştir. Renkli alan ölçümün yapıldığı aralıkları göstermektedir.



Şekil 7. Numunedeki serbest tiyollerin DTNB ile verdiği reaksiyonun grafiği



Şekil 8: PAF-AH testi reaksiyon grafiği

Tablo 6. PAF-AH Çalışma Prosedürü

	Hacim (µL)	Süre (sn)
Örnek	20	-2.9
R1	83	0.0
R2	10	87
R3	112	297
İlk okuma		479
Son okuma		599

Hesaplama:

$$\text{PAF-AH aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = (\Delta A_{412}/\text{dk} \times 10^6 \times V_T) / (\epsilon \times d \times V_S)$$

$\Delta A_{412}/\text{dk}$: dakikadaki absorbans değişikliği ($\Delta A_{\text{NUMUNE}}/\text{dk} - \Delta A_{\text{KÖR}}/\text{dk}$)

10^6 : mol/L'den $\mu\text{mol/L}$ 'ye dönüştürme faktörü

ϵ : DTNB'nin 412 nm'deki molar absorbtivite katsayısı; $13\,600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

d : ışık yolu (cm)

V_T : toplam hacim

V_S : numune hacmi

Verilen değerler denkleme yerleştirilerek

$$\text{PAF-AH aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = (\Delta A_{412}/\text{dk} \times 10^6 \times 225) / (13600 \times 1 \times 20)$$

$$\text{PAF-AH aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = \Delta A \times 827$$

Sonuçlar U/L olarak hesaplandı. Bir enzim ünitesi 37 °C'de 1 μmol substratı (2-tiyoPAF) 1 dk'da ürüne dönüştüren enzim aktivitesi olarak tanımlandı.

3.7. Metot Performansı Çalışmaları

Kesinlik Çalışması

PAF-AH ölçüm yönteminin gün içi ve günler arası kesinlik (presizyon) çalışması için düşük ve yüksek düzeyde analit içeren serum havuzu oluşturuldu. Serum havuzları beş eş numuneye ayrılarak -80 °C’de saklandı. Kesinlik çalışmasında her gün 1 çift örnek (düşük ve yüksek konsantrasyondaki PAF-AH serum havuzu) çözülerek üçer saat arayla üç kez çalışıldı. Bu işlem art arda beş gün boyunca tekrarlandı. Tüm sonuçların ortalama, standart sapma ve % Varyasyon Katsayıları (%VK) hesaplandı.

Geri Kazanım Çalışması

PAF-AH geri kazanım çalışması için düşük ve yüksek düzeyde PAF-AH içeren iki ayrı serum havuzu kullanıldı. Düşük ve yüksek havuzların PAF-AH konsantrasyonları sırasıyla, 37.6 U/L ve 97.1 U/L idi. Havuzlar 3Y:1D, 2Y:1D, 1Y:1D, 1Y:2D ve 1Y:3D oranında karıştırılarak aynı anda çift olarak çalışıldı ve % geri kazanım (recovery) hesaplandı. Hesaplama $\%R = \frac{\text{ölçülen analit konsantrasyonu}}{\text{beklenen analit konsantrasyonu}} \times 100$ formülü kullanıldı.

Tayin Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)

LOQ saptamasında, düşük düzeyde PAF-AH içeren (40.5 U/L) hasta örneğine seri dilüsyonlar yapıldı (1/2, 1/4, 1/8). Her seviye 20 kez çalışılıp x, s ve %VK hesaplandı. %VK, %20’nin altında olan en düşük konsantrasyon LOQ olarak belirlendi.

Tespit Sınırı (Limit of Detection, LOD)

Numune içindeki çok düşük konsantrasyonlardaki analitin ölçümünden elde edilen sinyallerin kör numuneden ayrımının yapılması gerekir. LOD, kör numune veya

sıfır kalibratör dışında tespit edilebilen en küçük konsatrasyondur. LOD hesaplanmasında 20 kez çalışılan kör numune sonuçlarından elde edilen ortalama ($x_{kör}$) ve standart sapmalar ($s_{kör}$) kullanıldı.

$$LOD = x_{kör} + 3.3 * s_{kör} \text{ formülü ile hesaplandı.}$$

Doğrusallık

Ölçüm aralığı, analit konsantrasyonu ve dedektör yanıtının doğru orantılı olduğu aralıktır. Doğrusallık çalışmasında PAF-AH yüksek serum havuzu örneği ve bundan elde edilen seri dilüsyonlu örnekler (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) kullanıldı. Yine daha yüksek konsantrasyonlara ulaşmak için numune hacmi artırılarak (*1.75) da ölçüm yapıldı. Sonuçlar lineer regresyon grafiği ve formülü ile verildi.

3.8. Ekokardiyografik Değerlendirme

Transtorastik ekokardiyografi (TTE) işlemi aynı hekim tarafından, 3.5 MHz transdüserli ticari olarak temin edilebilir iki boyutlu ekokardiyografi cihazı (Vivid 7® GE Medical System, Horten, Norveç) ile en az üç (sinüs ritmi için) veya yedi (atriyal fibrilasyon için) ardışık kardiyak siklusu sırasında yapıldı. Tüm hastalar 10 dk dinlenme sonrası sol lateral dekübit pozisyonda incelendi. Amerikan ekokardiyografi kılavuzlarının önerdiği gibi Simpson yöntemindeki iki boyutlu ekokardiyografik apikal dört pencere görüntüleri, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu değerlendirmek için kullanıldı. Sol ve sağ ventrikül diyastol sonu çapları ile sol ve sağ atriyum çapları, parasternal longitudinal aks ve apikal dört boşluk görüntüleri kullanılarak M-Modu ve 2 boyutlu ekokardiyografi teknikleri ile ölçüldü [170]. Aort kapak kalsifikasyon derecesi görsel olarak standart görsel skor yöntemine göre; kalsifikasyon yok (1) ve kalsifikasyon var (2) (hafif derecede kalsifikasyondan tüm kapakçıkların aşırı kalınlaşması ve kalsifikasyonu dahil) [171].

3.9. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistiksel analizler [x, s, standart hata (SH), ortanca (M), çeyrekler arası aralık (IQR), en küçük ve en büyük değerler] yapıldı. Grupların normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Değişkenlerin çoğunun normal olmayan dağılım göstermesi ve gruplara ayırma sonucu azalan hasta sayısı sebebiyle parametrik olmayan testler kullanıldı. HD, PD ve kontrol grupları arasındaki çoklu karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İkili grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verileri karşılaştırmak için Ki-Kare analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi. Değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Tüm bu işlemler için "IBM SPSS for Windows versiyon 22.00" istatistik paket programı kullanıldı. G Power ile çalışma sonrası (post hoc) güç analizi yaptığımızda çalışmanın %5 hata payı ile diyaliz (n:92) ve karşılaştırma grubunda (n:86) ortalama ve standart sapması 50 ± 13 olan PAF-AH aktivitesindeki %10'luk bir artışı gösterebilme gücü % 80 olarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Diyaliz ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi

Çalışmamızda hemodiyaliz, periton diyalizi ve hGFH'ya göre ayrılmış kontrol gruplarındaki (Evre 1-2, 3a, 3b, 4, 5) hastaların demografik bilgileri Tablo 7'de verilmiştir.

Gruplar arasında hastaların yaşları Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı ve gruplar arasında yaş açısından istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$).

Gruplardaki kadın-erkek sayıları Ki Kare testiyle karşılaştırıldı ve gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$).

Tablo 7. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

	HD (n=46)	PD (n=46)	Evre 5 (n=16)	Evre 4 (n=15)	Evre 3b (n=17)	Evre 3a (n=18)	Evre 1-2 (n=20)
Yaş, yıl; M±IQR	57±26	56±22	57.5±24	60±11	64±19	60±18	51±17
Kadın, n(%)	16 (34.8)	22 (47.8)	11 (68.8)	7 (46.7)	9 (52.9)	11 (61.1)	13 (65)

HD: Hemodiyaliz; PD: Periton diyalizi; M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik,

4.2. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında PAF-AH Aktivite Ölçümleri ve Karşılaştırılması

Hemodiyaliz, periton diyalizi ve hGFH'ya göre ayrılmış kontrol grupları (Evre 1-2, 3a, 3b, 4, 5) arasında PAF-AH aktivite (U/L) ortanca ve çeyreklikler arası uzaklık kadın-erkek ve tüm grup için ayrı ayrı Tablo 8'de verilmiştir.

Gruplar arasında PAF-AH aktiviteleri Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$) (Şekil 9).

Tüm hastalar cinsiyete göre ayrılıp Mann-Whitney U testi ile değerlendirildiğinde PAF-AH aktivitesi ve cinsiyet arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$).

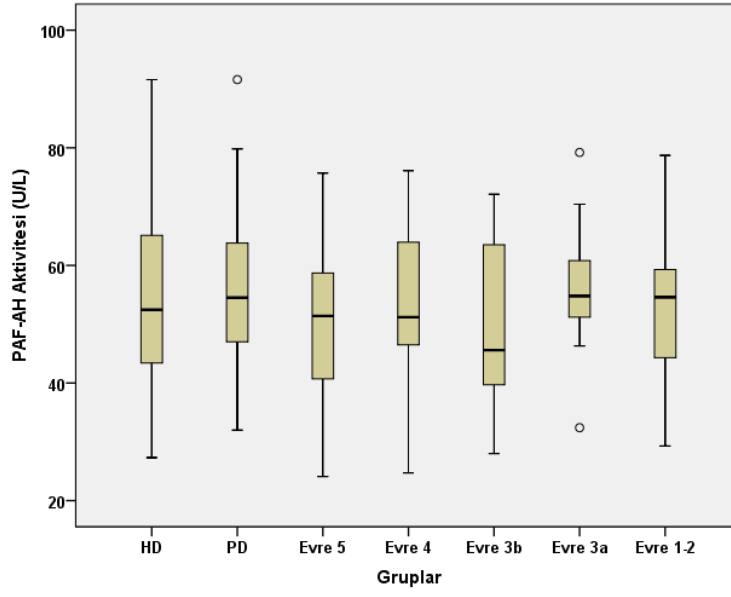
Tüm gruplar cinsiyete göre ayrılıp grup içi ve gruplar arasında PAF-AH aktiviteleri sırasıyla Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı. Grup içi karşılaştırmada sadece Evre 3b’de erkek hasta PAF-AH aktiviteleri kadınlara göre daha yüksekti (57.7 ± 20.9 ve 40.5 ± 13.3 U/L) ($p < 0.05$). Cinsiyete göre gruplar arası karşılaştırmada anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$) (Şekil 10).

Tüm hastalar değerlendirildiğinde PAF-AH aktivitesi ve yaş arasında bir korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Ancak grup içinde değerlendirme yapıldığında HD hastalarında PAF-AH aktivitesi yaşla hafif derecede ilişkili bulunmuştur (Spearman korelasyon katsayısı $r = 0.323$, $p < 0.05$). Tüm hastalar içinde PAF-AH aktivitesinin diğer değişkenlerle ilişkilerini incelediğimizde PAF-AH’nin; kolesterol ($r = 0.532$, $p < 0.05$), trigliserit ($r = 0.369$, $p < 0.05$), HDL ($r = -0.249$, $p < 0.05$) ve LDL ($r = 0.585$, $p < 0.05$) ile korele olduğu görüldü. Alt grupları incelediğimizde PAF-AH’nin kolesterol, trigliserit ve LDL ile olan korelasyonunun HD, PD ve Evre 5 hastalarda devam ettiği görüldü ($p < 0.05$). Tüm hastaları cinsiyete göre ayırıp PAF-AH aktivitesinin yaşla ilişkisini değerlendirdiğimizde anlamlı korelasyon bulunmadı ($p > 0.05$).

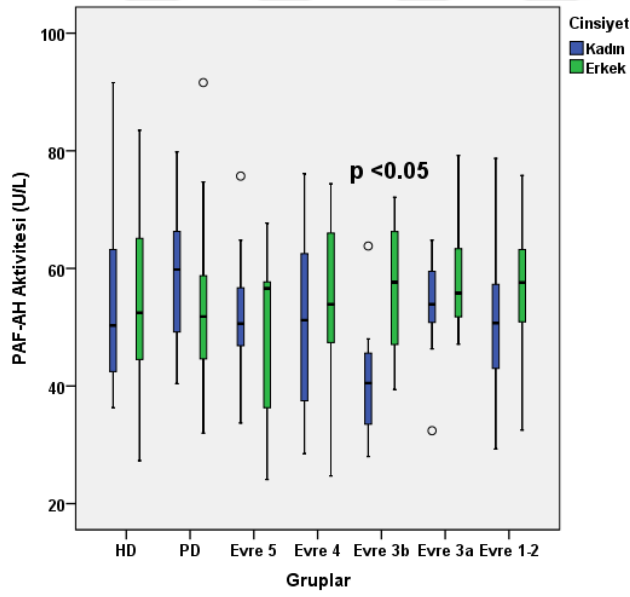
Tablo 8. Diyaliz ve kontrol grubundaki hastaların PAF-AH aktiviteleri

	HD	PD	Evre 5	Evre 4	Evre 3b	Evre 3a	Evre 1-2
	(n=46)	(n=46)	(n=16)	(n=15)	(n=17)	(n=18)	(n=20)
	(K=16)	(K=22)	(K=11)	(K=7)	(K=9)	(K=11)	(K=13)
PAF-AH (U/L)	52.5±22.1	54.5±17.3	51.4±20.7	51.2±21.7	45.6±24.1	54.8±10.7	54.6±16.4
M±IQR							
PAF-AH_K	50.3±24.4	59.8±17.3	50.6±14.6	51.2±39.3	40.5±13.3	53.9±11.6	50.7±15.2
PAF-AH_E	52.5±21.2	51.8±14.8	56.6±32.5	53.9±22	57.7±20.9	55.8±19.2	57.6±20.1

HD: Hemodiyaliz; PD: Periton diyalizi; M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik, K: kadın, E: erkek



Şekil 9. Diyaliz ve kontrol gruplarındaki PAF-AH aktiviteleri
 ° Kutudan 1.5 – 3 IQR (çeyreklikler arası aralık) uzaktaki değerler: uç değer



Şekil 10. Cinsiyete göre diyaliz ve kontrol gruplarındaki PAF-AH aktiviteleri
 ° Kutudan 1.5 – 3 IQR (çeyreklikler arası aralık) uzaktaki değerler: uç değer

4.3. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında Kalp Kapak Kalsifikasyonu ve Karşılaştırılması

Hemodiyaliz, periton diyalizi ve hGFH'ya göre ayrılmış kontrol grupları (Evre 1-2, 3a, 3b, 4, 5) arasında kalp kapak kalsifikasyon varlığı Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Diyaliz ve kontrol gruplarında kapak kalsifikasyon varlığı

		HD		PD		Evre 5		Evre 4		Evre 3b		Evre 3a		Evre 1-2	
		(n=30)		(n=37)		(n=12)		(n=12)		(n=12)		(n=15)		(n=18)	
		K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E
Kalsifikasyon	Yok	15		18		7		9		8		12		15	
		4	11	10	8	5	2	6	3	5	3	8	4	9	6
	Var	7	8	10	9	3	2	1	2	1	3	2	1	2	1
		15		19		5		3		4		3		3	
	(%)	50		51.4		41.7		25		33.3		20		16.7	

n: kişi sayısı, K: kadın, E: erkek

hGFH'ya göre ayrılmış gruplarda evre yükseldikçe kalsifikasyon varlığı yüzdesinin arttığı görüldü.

Gruplar arasında kapak kalsifikasyon durumlarının karşılaştırılması için Ki-Kare testi yapılmıştır. Ancak Ki-Kare testinin değerlendirilebilmesi için gerekli şartlar (tablo gözlerinin en az %80'inin 5'ten büyük olması) sağlanamadığından tüm grupların karşılaştırılması işlemi yapılamamıştır.

Bu şartı sağlamak için Evre 4 ve 5 ile Evre 3a ve 3b, ileri evre (hGFH <30 mL/dk) ve orta evre (hGFH: 30-60 mL/dk) olacak şekilde birleştirildi. Ki-Kare analizi yapıldığında gruplar arasında kalsifikasyon varlığı açısından anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0.05$).

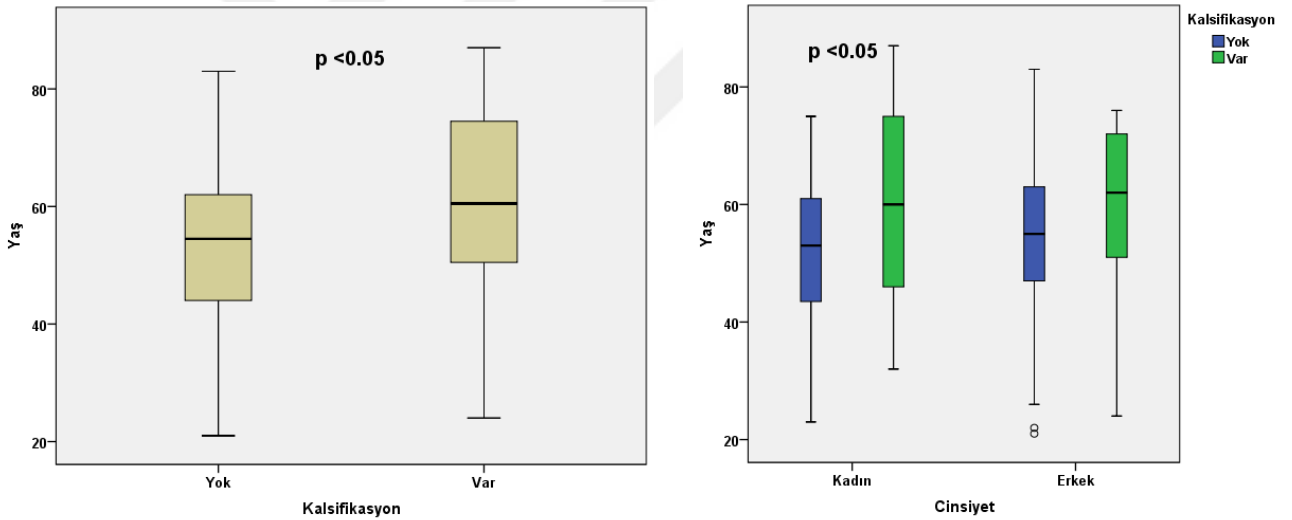
Ki-Kare testi ile gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında hemodiyaliz ile periton diyalizi arasında kalsifikasyon açısından fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Her iki diyaliz grubunun Evre 1-2 ve 3a ile arasında kalsifikasyon varlığı açısından anlamlı fark bulunurken ($p < 0.05$), benzer durum ileri evreler için (Evre 3b, 4 ve 5) bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tüm hastalar içinde kalsifikasyon varlığının cinsiyet ile ilişkisini değerlendirmek için Ki-Kare testi yaptığımızda kalsifikasyon varlığı ile cinsiyet arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tüm hastalar içinde kalsifikasyon varlığının yaş ile ilişkisini karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi yaptığımızda kalsifikasyonu olan grubun yaş ortancalarının daha yüksek olduğu görüldü (60.5 ± 25 ve 54.5 ± 19 yıl) ($p < 0.05$) (Şekil 11).

Kalsifikasyon ve yaş arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile cinsiyet bazında değerlendirildiğinde kalsifikasyonu olan kadınların yaş ortancalarının daha yüksek olduğu görüldü (60 ± 29 ve 53 ± 19 yıl) ($p < 0.05$) (Şekil 11).



Şekil 11. Yaşa ve cinsiyete göre kapak kalsifikasyon durumları

4.4. Diyaliz ve Kontrol Grupları Arasında PAF-AH Aktivitesi ve Kalp Kapak Kalsifikasyonu Karşılaştırılması

Tüm hastalar içinde PAF-AH aktivitesinin kalsifikasyon varlığıyla ilişkisini değerlendirmek için Mann-Whitney U testi yaptığımızda kalsifikasyon varlığında PAF-AH aktivitesinin daha yüksek olduğu bulundu (56.0 ± 19.4 ve 50.9 ± 18.1 U/L) ($p < 0.05$) (Şekil 12).

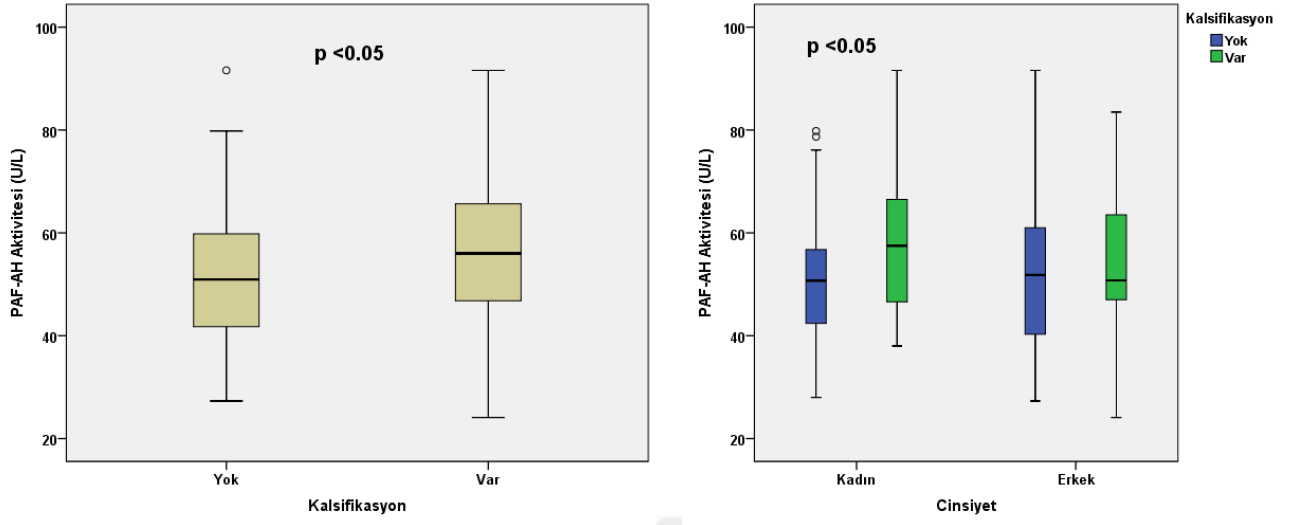
Mann-Whitney U testini kadın ve erkek için ayrı ayrı tekrarladığımızda kadınlarda kalsifikasyon varlığı durumunda daha yüksek PAF-AH aktiviteleri görüldü (57.5 ± 20.5 ve 50.7 ± 15.2 U/L) ($p < 0.05$) (Şekil 12).

Kalsifikasyon varlığı veya yokluğu durumunda gruplar arasında PAF-AH aktivitesini karşılaştırdığımızda her iki durumda da gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

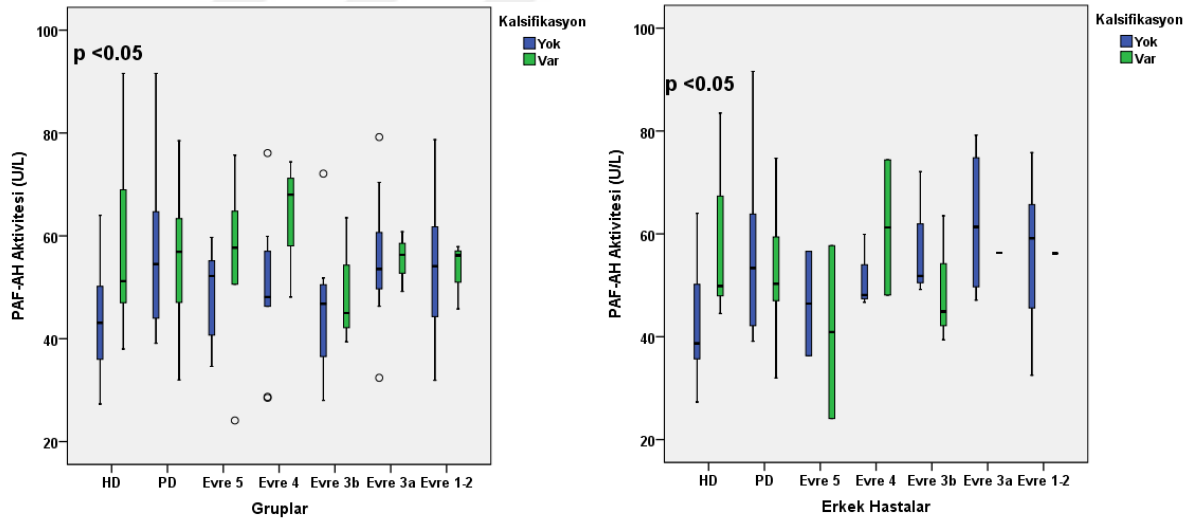
Grup içi PAF-AH aktivitesinin kalsifikasyon varlığıyla ilişkisi için Mann-Whitney U testi yapıldığında HD hastalarında kalsifikasyon varlığında PAF-AH aktivitesinin daha yüksek olduğu görüldü (51.2 ± 23.3 ve 43.1 ± 18.0 U/L) ($p < 0.05$) (Şekil 13). Diğer gruplar arasında benzer ilişki gözlenmedi ($p > 0.05$).

Grup içi PAF-AH aktivitesinin kalsifikasyon varlığıyla ilişkisini cinsiyet açısından incelemek için Mann-Whitney U testi yapıldığında erkek HD hastalarında kalsifikasyon varlığında PAF-AH aktivitesinin daha yüksek olduğu görüldü (49.9 ± 20.0 ve 38.7 ± 18.0 U/L) ($p < 0.05$) (Şekil 13). Kadın veya diğer erkek gruplarında ise fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Kapak kalsifikasyon varlığı veya yokluğu durumunda tüm hastalarda PAF-AH korelasyonları incelendi. PAF-AH'nin kolesterol ($r_1 = 0.489$, $r_2 = 0.695$), trigliserit ($r_1 = 0.371$, $r_2 = 0.319$) ve LDL ($r_1 = 0.541$, $r_2 = 0.75$) ile her iki durumda ($r_1 =$ kalsifikasyon var, $r_2 =$ kalsifikasyon yok) da korele oldukları bulundu ($p < 0.05$). Kalsifikasyon bulunan HD, PD ve Evre 5 hastalarda PAF-AH'nin kolesterol ve LDL ile olan korelasyonlarının devam ettiği görüldü ($p < 0.05$). Kalsifikasyon olmayan HD hastalarında da PAF-AH ve kolesterol arasında korelasyon görülmesine ($p < 0.05$) rağmen kalsifikasyon olan HD hastalarında PAF-AH, kolesterol ve LDL konsantrasyonları kalsifikasyon olmayan HD hastalarına göre daha yüksekti ($p < 0.05$).

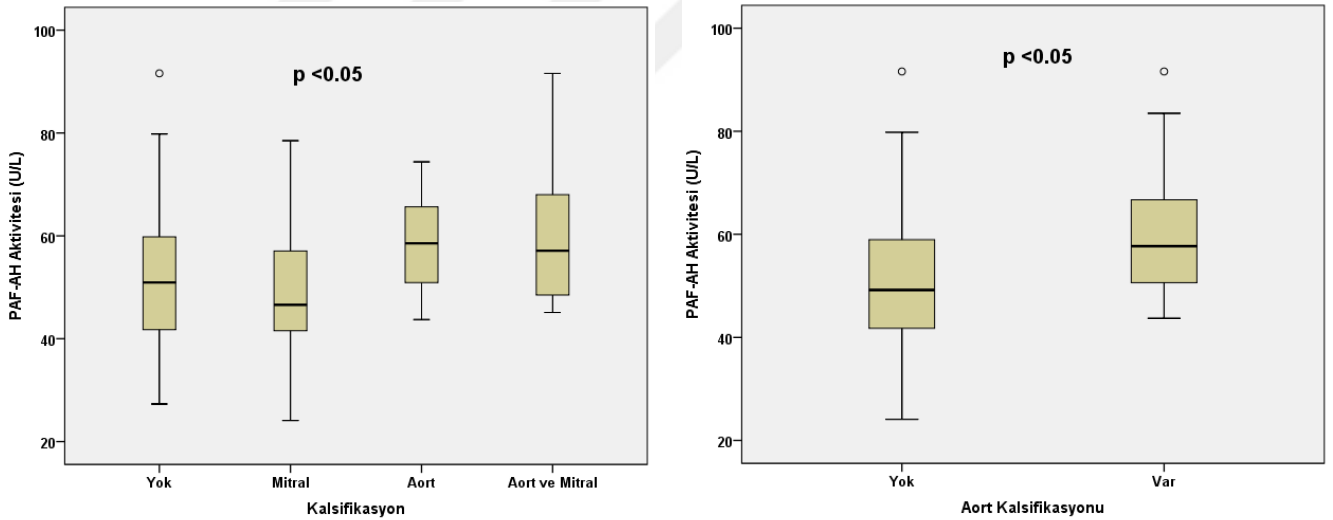


Şekil 12. Tüm hastalar ve cinsiyete göre ayrılmış hastalar arasında PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisi



Şekil 13. Kalsifikasyon durumlarına göre tüm gruplar ve erkek hasta gruplarında PAF-AH aktivitesi

Daha sonra kapak kalsifikasyonlarını tutulan kapağa göre sadece aort, sadece mitral ve hem aort hem de mitral kalsifikasyonu olarak ayırdık. Bu ayırım sonrası sadece aort kalsifikasyonu olan 16 hasta, sadece mitral kalsifikasyonu olan 19 hasta, hem aort hem mitral kalsifikasyonu olan 17 hasta olduğunu gördük. Bu şekilde ayırdığımız hastaları kendi aralarında ve kapak kalsifikasyonu olmayan hastalarla karşılaştırdık. Sadece aort kalsifikasyonu (58.6 ± 15.3 U/L) ve hem aort hem mitral kalsifikasyonu (57.1 ± 20.3 U/L) olan hastalarda PAF-AH aktivitelerinin sadece mitral kalsifikasyonu (46.6 ± 16.6 U/L) olan veya kalsifikasyonu olmayan (50.9 ± 18.1 U/L) hastalara göre daha yüksek olduğunu gördük ($p < 0.05$) (Şekil 14). Sadece aort kalsifikasyonu ile hem aort hem mitral kalsifikasyonu olan hastalar ve sadece mitral kalsifikasyonu olan ile kalsifikasyonu olmayan hastalar arasında PAF-AH aktiviteleri arasında fark bulunmadı ($p > 0.05$). Hastaları aort kalsifikasyonu olan (sadece aort veya hem aort hem mitral kalsifikasyonu olan) ve aort kalsifikasyonu olmayan (sadece mitral kalsifikasyonu olan veya kalsifikasyonu olmayan) olarak ayırdığımızda farkın devam ettiğini gördük ($p < 0.05$).



Şekil 14. Tutulan kapağa ve aort kapağı tutulumuna göre kalsifikasyon durumlarının PAF-AH ile değişimleri

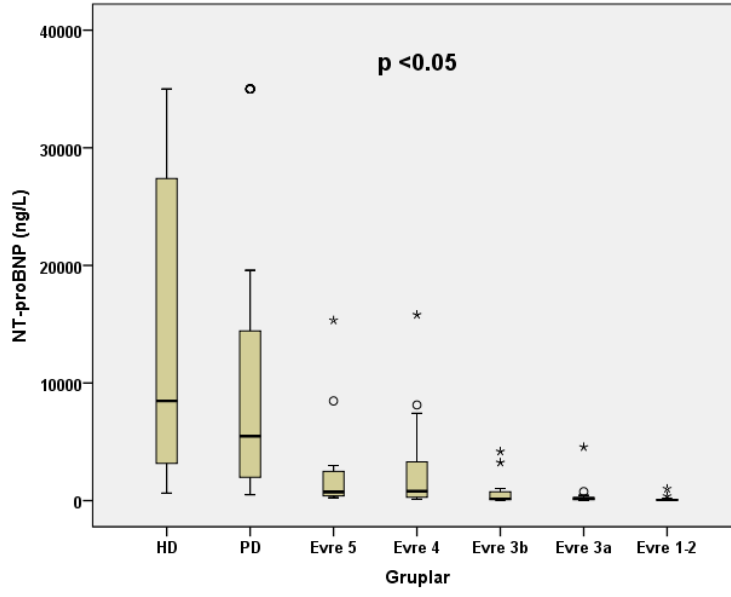
4.5. Grupların Diğer Değişkenler ile Karşılaştırmaları

Hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında üre, kolesterol, trigliserit, LDL, magnezyum ve 25-OH D vitamini diyaliz hastalarında anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). Üre (132.0 ± 52 ve 101.05 ± 41 mg/dL), magnezyum (0.89 ± 0.23 ve 0.82 ± 0.2 mmol/L) ve 25-OH D vitamini (6.0 ± 7.5 ve 4.8 ± 4.5 µg/L) hemodiyaliz hastalarında daha yüksek bulunmuştur. Aksine kolesterol (142.0 ± 48 ve 173.5 ± 60 mg/dL), trigliserit (132.0 ± 86 ve 164.0 ± 147 mg/dL) ve LDL (74.0 ± 43 ve 100.5 ± 45 mg/dL) ise periton diyalizi hastalarında yüksek bulunmuştur. Diyaliz hastalarında diğer biyokimyasal testler (PAF-AH, NT-proBNP, kreatinin, ürik asit, protein, albümin, HDL, ALP, ALT, kalsiyum, fosfat, iPTH ve CRP) bakımından fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

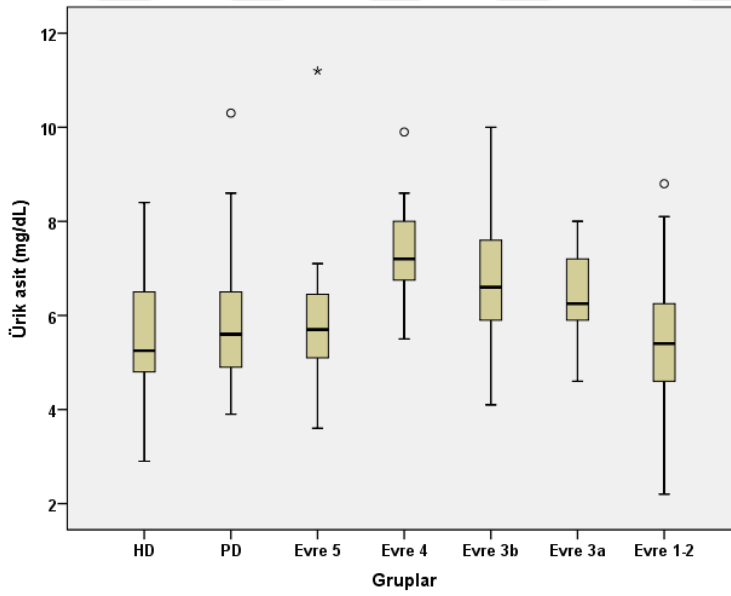
hGFH'ya göre ayrılmış kontrol gruplarını Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırdığımızda NT-proBNP, ürik asit, albümin, ALP, ALT, kalsiyum, fosfat, magnezyum, 25-OH D vitamini, iPTH, idrar albümin-kreatinin (AKO) ve protein-kreatinin oranı (PKO) değişkenleri kontrol gruplarında farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). PAF-AH, protein, kolesterol, trigliserit, HDL, LDL ve CRP açısından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Mann-Whitney U testiyle ikili karşılaştırmalar yaptığımızda Evre 1-2'deki NT-proBNP konsantrasyonu; HD, PD ve diğer kontrol gruplarına kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0.05$). Evre 3a ve 3b ile Evre 4 ve 5 arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$). HD ve PD grupları arasında fark görülmezken bu iki gruptaki NT-proBNP değerleri tüm kontrol gruplarına kıyasla anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$) (Şekil 15).

Ürik asit konsantrasyonlarının kontrol grubunda Evre 5 hariç hGFH düşüktükçe artış eğiliminde olduğu görüldü. Evre 3b ve 4'deki ürik asit konsantrasyonları Evre 1-2'ye göre daha yüksekti ($p < 0.05$). HD, PD, Evre 5 ve Evre 1-2 ürik asit konsantrasyonları arasında ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi ile fark görülmedi ($p > 0.05$) (Şekil 16).



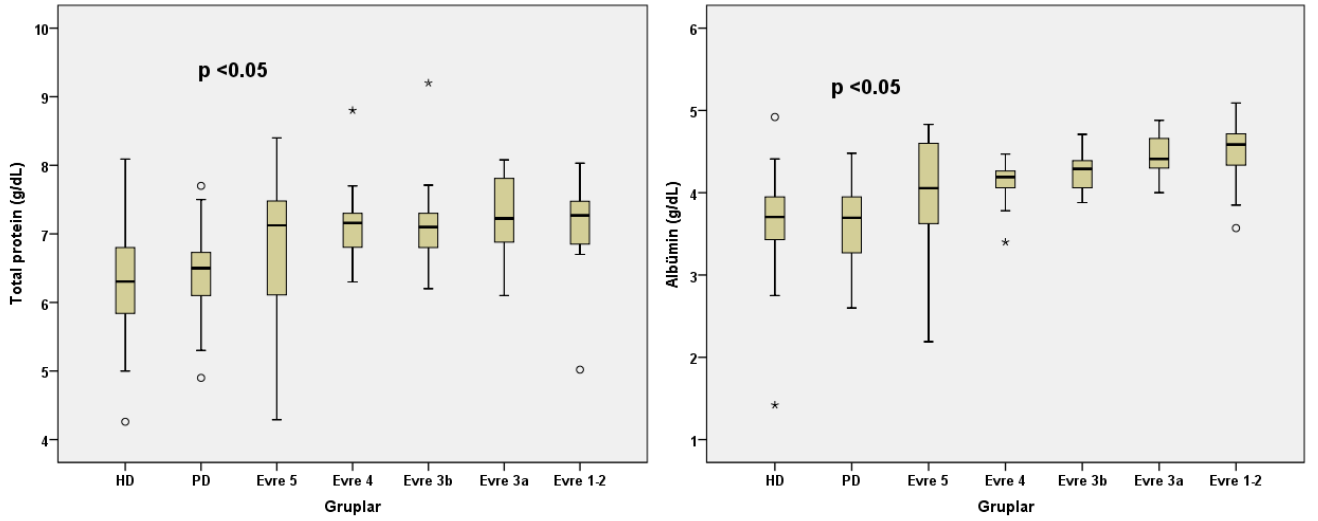
Şekil 15. HD, PD ve kontrol gruplarında NT-proBNP konsantrasyonlarının karşılaştırılması



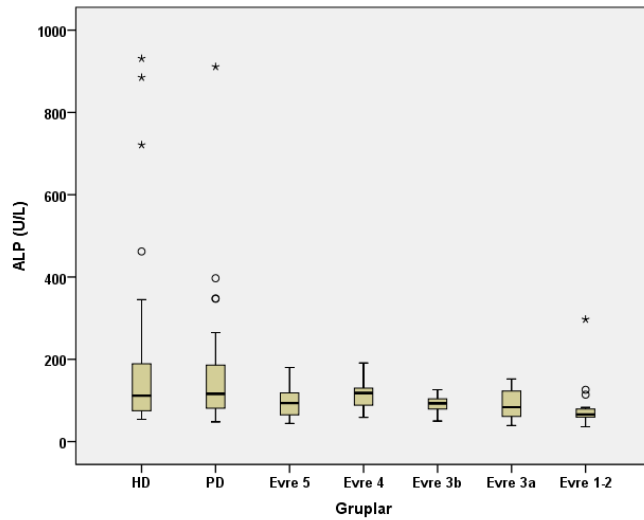
Şekil 16. HD, PD ve kontrol gruplarında ürik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Total protein konsantrasyonu HD ve PD hastalarında kontrol gruplarına kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 17). Evre 1-2 ve 3a albümin konsantrasyonları birbirlerinden farklı değilken ($p > 0.05$), bu iki gruptaki albümin konsantrasyonları diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). HD ve PD hastalarındaki albümin konsantrasyonları birbirlerinden farklı değilken ($p > 0.05$), bu iki gruptaki albümin konsantrasyonları kontrol gruplarına kıyasla anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$) (Şekil 17).

HD, PD ve Evre 4 hastaların ALP aktiviteleri Evre 1-2 ve 3a'ya kıyasla daha yüksekti ($p < 0.05$) (Şekil 18).



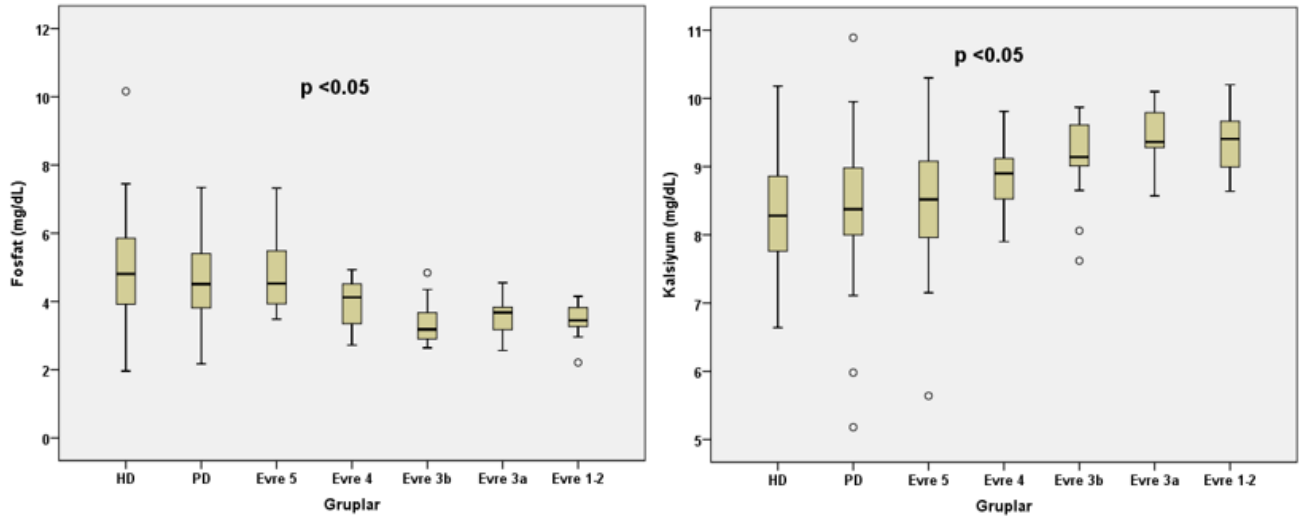
Şekil 17. HD, PD ve kontrol gruplarında total protein ve albümin konsantrasyonlarının karşılaştırılması



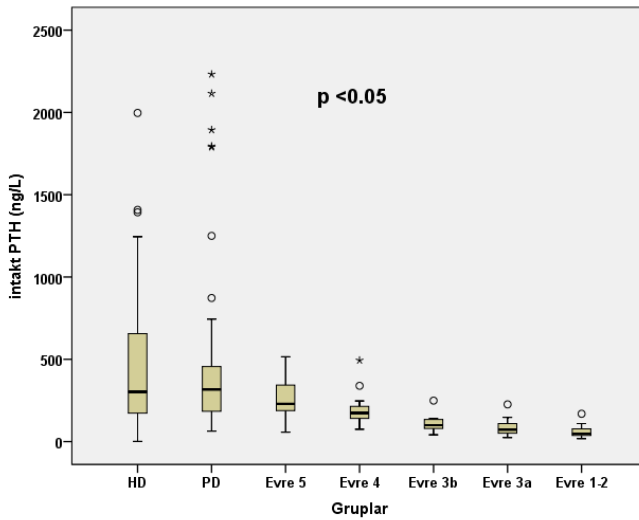
Şekil 18. HD, PD ve kontrol gruplarında ALP aktivitelerinin karşılaştırılması

HD, PD ve Evre 5 hastaların fosfat konsantrasyonları arasında fark yokken ($p > 0.05$), bu konsantrasyonlar diğer evrelerden anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). Benzer olarak HD, PD ve Evre 5 hastaların kalsiyum konsantrasyonları arasında fark yokken ($p > 0.05$), bu değerler diğer evrelerden anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$). Sadece Evre 4 ile 5 arasındaki farklılık anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Şekil 19).

HD, PD ve Evre 5 hastaların iPTH konsantrasyonları arasında fark yokken ($p > 0.05$), HD ve PD hastalarında iPTH verileri kontrol grubunun diğer evrelerine kıyasla daha yüksekti ($p < 0.05$). Evre 4 ve 5 hastaların da yine iPTH değerleri Evre 1-2, 3a ve 3b'den daha yüksekti ($p < 0.05$) (Şekil 20).



Şekil 19. HD, PD ve kontrol gruplarında kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının karşılaştırılması

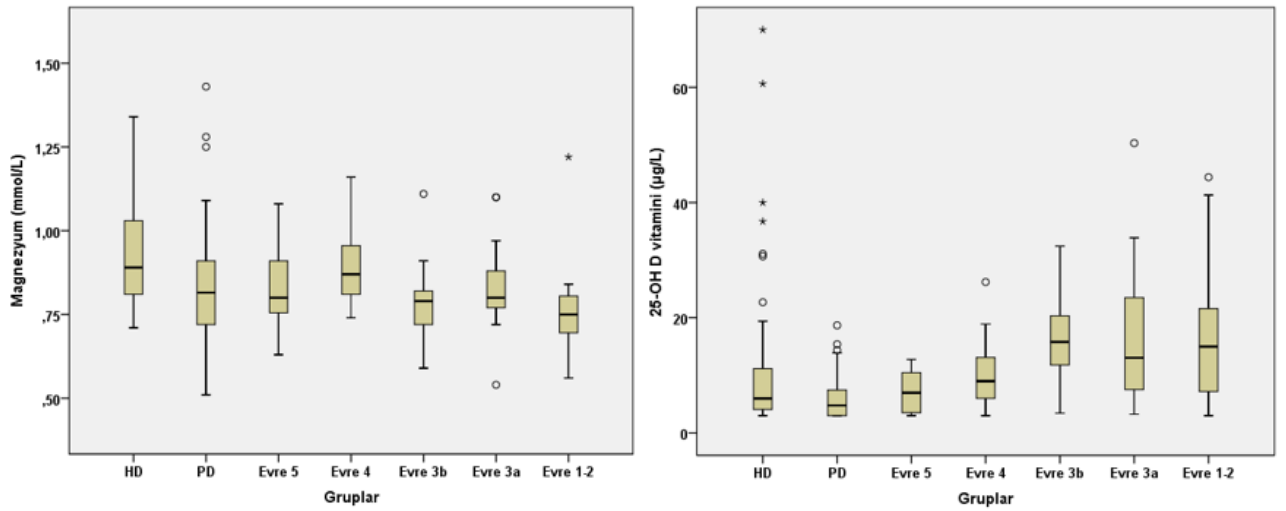


Şekil 20. HD, PD ve kontrol gruplarında intakt PTH konsantrasyonlarının karşılaştırılması

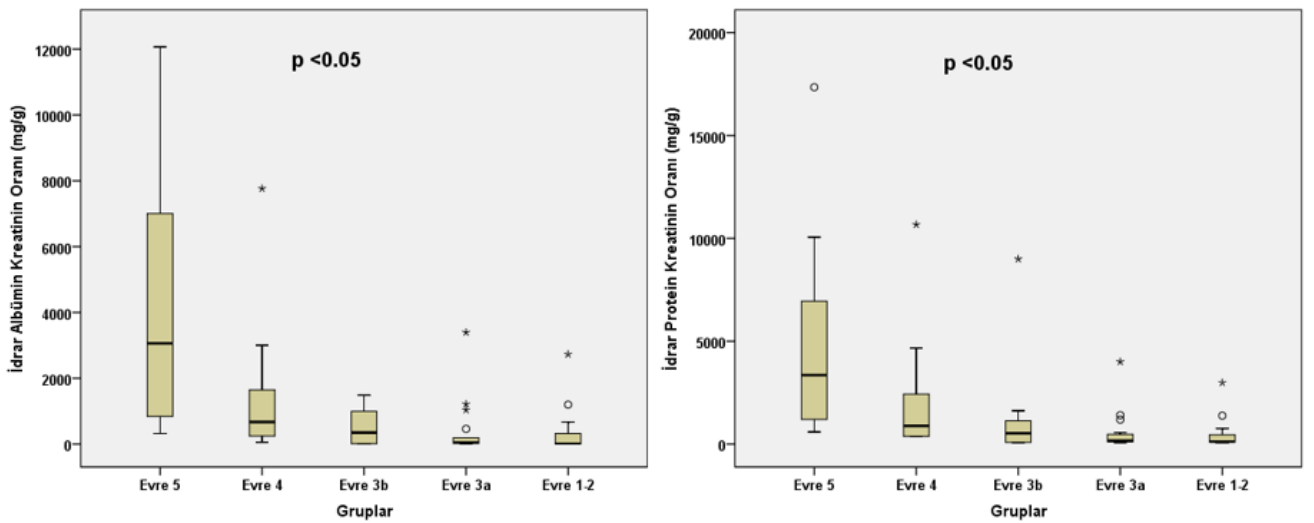
HD hastalarında magnezyum konsantrasyonları PD ve kontrol gruplarından (Evre 4 hariç) anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). PD hastaları ile kontrol grupları arasında böyle bir ilişki yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 21).

HD, PD ve Evre 5 hastaların 25-OH D vitamini konsantrasyonları Evre 1-2, 3a ve 3b kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 21).

Evre 5 hastaların albümin, protein ıtrah hızları (AKO ve PKO), diğer kontrol gruplarından daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). Sadece Evre 4 hastaların da AKO ve PKO değerleri Evre 1-2 ve 3a'ya göre yüksekti ($p < 0.05$) (Şekil 22).



Şekil 21. HD, PD ve kontrol gruplarında magnezyum ve 25-OH D vitamini konsantrasyonlarının karşılaştırılması



Şekil 22. Kontrol gruplarında idrar albümin-kreatinin, protein-kreatinin oranları karşılaştırılması

Kontrol hastaları albümin ıtrah hızlarına göre 3 gruba (AKO<30, 30-300 ve >300 mg/g) ayrıldı ve Mann-Whitney U testiyle ikili kıyaslamalar yapıldı. Evre yükseldikçe NT-proBNP ve kreatinin değerlerindeki artış da anlamlı bulundu (p <0.05). Normal albümin atılımlı hastalarla karşılaştırıldığında AKO>30 ve >300 mg/g olan hastalarda kalsiyum daha düşük, iPTH ise daha yüksek bulundu (p <0.05). Fosfat ise aşırı artmış albüminüri (AKO >300 mg/g) durumunda anlamlı olarak yüksek bulundu (p <0.05).

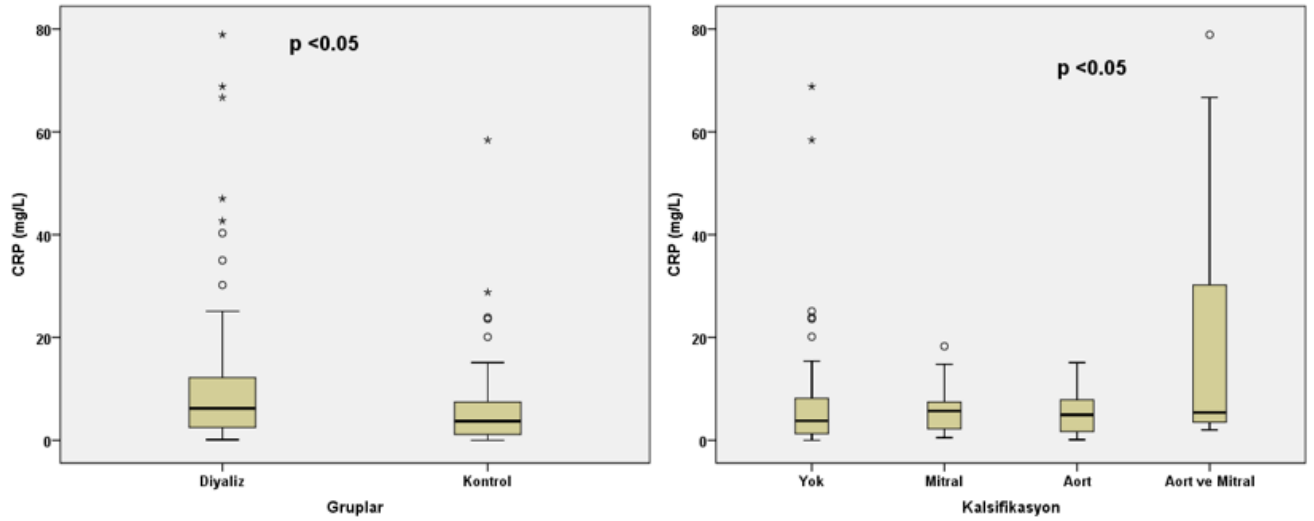
Hastalar kapak kalsifikasyon durumlarına göre iki gruba ayrılıp Mann-Whitney U testi yapıldı. Kapak kalsifikasyonu olan grupta yaş, PAF-AH, NT-proBNP, üre, kreatinin değerleri daha yüksek, protein, albümin ve kalsiyum ise düşük bulundu (p <0.05).

Diyaliz ve kontrol hastaları kendi içlerinde birleştirilip Mann-Whitney U testi yapıldı. Diyaliz grubunda NT-proBNP, ALP, fosfat, magnezyum, iPTH ve CRP konsantrasyonları daha yüksekken; ürik asit, protein, albümin, kolesterol, HDL, LDL, kalsiyum, 25-OH D vitamini ise kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur (p <0.05).

Diyaliz hastalarında, kontrol grubuna kıyasla CRP konsantrasyonları daha yüksek bulundu (6.2 ± 9.7 ve 3.7 ± 6.4 mg/L) (p <0.05) (Şekil 23). Tüm hastaları kalsifikasyon durumlarına göre ayırıp karşılaştırma yaptığımızda kalsifikasyon varlığı veya yokluğunda anlamlı değişiklikler gözlenmedi (p >0.05). Yine diyaliz ve kontrol grubunu ayırıp kalsifikasyon açısından kendi içlerinde karşılaştırdığımızda her iki grupta da CRP konsantrasyonları kalsifikasyon durumundan etkilenmemekteydi (p >0.05). Tutulan kapağa göre karşılaştırmalar yaptığımızda hem aort hem mitral kalsifikasyonu olan hastalarda kalsifikasyonu olmayan hastalara göre daha yüksek CRP değerleri görüldü (5.4 ± 29.6 ve 3.8 ± 7.0 mg/L) (p <0.05) (Şekil 23). Gruplar arasındaki farklılıkları incelediğimizde HD ve PD hastalarında Evre 1-2 hastalara göre CRP konsantrasyonları daha yüksek bulundu (p <0.05). Kontrol hastalarını albümin atılımlarına göre grupladığımızda CRP konsantrasyonları arasında fark olmadığı görüldü (p >0.05). Tüm hastaları incelediğimizde CRP'nin NT-proBNP (r= 0.309), kreatinin (r= 0.177), albümin (r= -0.256), HDL (r= -0.195), ALP (r= 0.261), kalsiyum (r= -0.197) ve magnezyum (r= -0.177) ile korelasyonları bulundu (p <0.05). Diyaliz

hastalarında bu ilişkilerin NT-proBNP, HDL, ALP ve magnezyum için devam ettiğini gördük ($p < 0.05$). Hastaları kalsifikasyon durumlarına göre ayırdığımızda CRP ile NT-proBNP ve ALP ilişkisinin hala bulunduğunu gördük ($p < 0.05$). PAF-AH ve CRP arasında tüm hastalar, HD, PD ve kontrol grupları, kadın-erkek, kalsifikasyon grupları ve albüminüri grupları arasında korelasyon bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Diyaliz grubu, kontrol grubu ve bu iki gruptaki tüm hastalarda ölçülen analitler için ikili korelasyon çalışmaları yapılmıştır. Korelasyon tabloları Ek 3, 4 ve 5'te verilmiştir.



Şekil 23. Diyaliz ve kontrol grupları ile tutulan kapağa göre kalsifikasyon durumlarının CRP ile ilişkisi

4.6. Serum PAF-AH Aktivitesi Ölçümlerinin Performans Özellikleri

4.6.1. PAF-AH Kesinlik Çalışması

CLSI EP-15A2 önerileri doğrultusunda PAF-AH aktivitesi kesinlik çalışması için hazırlanan iki farklı konsantrasyondaki örnekler 5 gün boyunca her gün 3 kez tekrarlanarak çalışıldı. Aynı kılavuzdaki formüllerle gün içi (s_r), günler arası (s_b) ve laboratuvar içi standart sapmalar (s_l) ve %VK hesaplandı. Sonuçlar Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. PAF-AH aktivitesi kesinlik çalışması ve sonuçları

	1. gün		2. gün		3. gün		4. gün		5. gün	
1. çalışma	31.1	93.1	35.9	92.8	35.1	90.8	35.9	93.1	33.0	89.0
2. çalışma	31.3	93.0	35.5	93.3	36.0	93.7	36.4	93.9	31.2	86.4
3. çalışma	33.9	93.8	36.2	94.3	36.6	96.0	37.7	96.5	31.7	88.4
	1. seviye		2. seviye							
%VK _r	2.9		1.7							
%VK _b	6.6		2.8							
%VK _l	7.0		3.2							

%VK_r: gün içi varyasyon katsayısı

%VK_b: günler arası varyasyon katsayısı

%VK_l: laboratuvar içi varyasyon katsayısı

4.6.2. Geri Kazanım Çalışması

PAF-AH için tüm havuzların ortalamaları üzerinden % geri kazanım (recovery) 100.8 olarak hesaplandı. Sonuçlar Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. PAF-AH geri kazanım çalışması

Oran	Beklenen değer	Ölçülen değer	%R
Y		97.1	
3Y/1D	82.2	83.5	101.6
2Y/1D	77.3	75.6	97.8
1Y/1D	67.4	67.1	99.6
1Y/2D	57.4	58.7	102.2
1Y/3D	52.5	53.8	102.5
D		37.6	
Ortalama			100.8

D: düşük, Y: yüksek

4.6.3. Tayin Sıırı (LOQ)

LOQ saptamasında, düşük düzeyde PAF-AH içeren (40.5 U/L) hasta örneğine seri dilüsyonlar yapıldı (1/2, 1/4, 1/8). %VK, %20’nin altında olan en düşük konsantrasyon (5.4 U/L) LOQ olarak belirlendi. Sonuçlar Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. PAF-AH tayin sınırı (LOQ) çalışması

	PAF-AH ½	PAF-AH 1/4	PAF-AH 1/8
1. ölçüm	19.9	11.2	5.2
2. ölçüm	19.7	10.0	5.4
3. ölçüm	20.1	11.5	4.8
4. ölçüm	21.7	10.2	4.7
5. ölçüm	20.1	10.5	4.9
6. ölçüm	19.3	9.8	4.2
7. ölçüm	20.0	11.0	5.7
8. ölçüm	19.9	9.5	4.8
9. ölçüm	19.8	10.1	6.4
10. ölçüm	21.3	9.8	5.8
11. ölçüm	19.7	10.1	4.6
12. ölçüm	20.0	9.1	6.1
13. ölçüm	20.1	11.7	7.5
14. ölçüm	20.6	9.7	5.0
15. ölçüm	20.0	9.8	6.2
16. ölçüm	20.2	8.7	4.4
17. ölçüm	20.5	12.8	4.9
18. ölçüm	20.0	9.9	6.6
19. ölçüm	19.7	13.8	4.5
20. ölçüm	22.4	10.0	6.4
x	20.3	10.5	5.4
s	0.8	1.2	0.9
%VK	3.7	11.8	16.5

x: ortalama, s: standart sapma, %VK: varyasyon katsayısı

4.6.4. Tespit Sınırı (LOD)

LOD hesaplanmasında 20 kez çalışılan kör numune sonuçlarından elde edilen ortalama ve standart sapmalar kullanıldı. Kör numunenin ortalama ($x_{kör}$) ve standart sapması ($s_{kör}$) sırasıyla -0.5 ve 0.6 bulundu ve diğer hesaplamalar yapıldı.

$$LOB = x_{kör} + 1.645*s_{kör}$$

$$LOD = x_{kör} + 3.3*s_{kör}$$

$$LOQ = x_{kör} + 10*s_{kör}$$

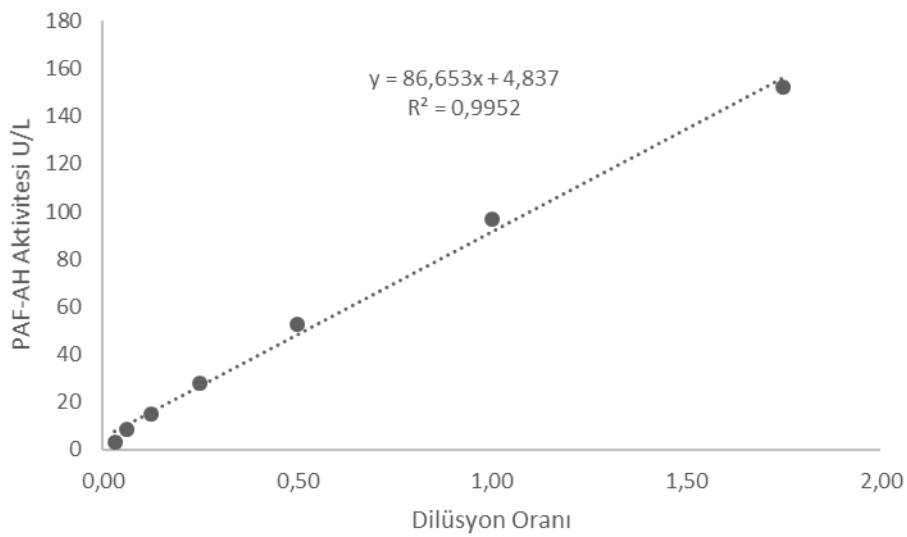
LOB, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.6, 1.6 ve 5.8 U/L olarak hesaplandı.

4.6.5. Doğrusallık

PAF-AH yüksek serum havuzu (96.5 U/L) ve bundan elde edilen seri dilüsyonlu örnekler (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) doğrusallık çalışması için kullanıldı. Yine daha yüksek konsantrasyonlara ulaşmak için numune hacmi artırılarak (*1.75) da ölçüm yapıldı. Yaptığımız doğrusallık çalışmasında yöntemin 150 U/L'ye kadar lineer olduğu, alt belirleme sınırının ise 5.4 U/L olduğu saptandı. Sonuçlar ve lineer regresyon grafiği aşağıda verilmiştir.

Tablo 13. Doğrusallık çalışmasında elde edilen PAF-AH aktivitesi ve seyreltme oranları

PAF-AH Aktivitesi (U/L)	Seyreltme Oranı
152.3	1.75
96.5	1
52.7	1/2
28	1/4
15	1/8
8.3	1/16
3.3	1/32



Şekil 24. Doğrusallık çalışması sonuçlarının Lineer regresyon grafiği ve denklemi

5. TARTIŞMA

Hemodiyaliz, periton diyalizi ve hGFH değerlerine göre ayırdığımız KBH hastalarında PAF-AH aktivitelerinin kapak kalsifikasyonları ile ilişkisini araştırdık. Bulgularımız kalsifikasyonu olan hastalarda, kalsifikasyonu olan kadın hastalarda ve kalsifikasyonu olan HD hastalarında PAF-AH yüksekliklerini göstermektedir. PAF-AH yüksekliğinin mitral kapak tutulumundan ziyade aort kalsifikasyonunda belirgin olması önemlidir. Yine PAF-AH ve lipitler arasındaki ilişkiler ve kalsifikasyon varlığında gözlenen kolesterol ve LDL'deki artışlar dikkat çekicidir.

Dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden ve toplum sağlığı açısından en önemli tehlike olan kronik hastalıklar, gelişmiş ve düşük veya orta gelirli ülkeleri ilgilendiren küresel bir sorun haline gelmiştir [1, 2].

Tüm dünyada salgın haline gelmiş olan Kronik Böbrek Hastalığı, erken tanı ve farkındalığı düşük, bireyin yaşam kalitesini bozan, mortalite, morbiditesi ve tedavi maliyetleri yüksek olan önemli bir halk sağlığı sorunudur [4].

GFH'nın 60 mL/dk'nın altında olması veya albüminüri varlığı durumunda başta SDBY hastaları olmak üzere tüm KBH hastalarında yaşam sürelerini kısaltan kardiyovasküler mortalite riski, özellikle renal replasman tedavileri alan diyaliz hastalarında genel nüfusa göre ölüm oranlarını 10-30 kat artırmaktadır [8, 18].

KBH hastalarının SDBY'ye ilerlemekten ziyade kardiyovasküler bir olay yaşama olasılığı daha yüksektir. KBH'da kardiyovasküler olayların yüksek olmasının nedeni, geleneksel risk faktörlerine ek olarak hastalığa özgü risk faktörleri ve mineral dengesinin (Ca, P, PTH, D vitamini anormallikleri) bozulmasıdır. KBH hastalarında önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan kardiyovasküler hastalıklara yol açan yeni risk faktörlerinin bulunması, bu hastalıkların daha erken tanınması veya erken tanısına yönelik uygulamaların geliştirilmesi ile sonuçlanabilir.

Aort kapak kalsifikasyonu (AKK) veya mitral anulus kalsifikasyonu (MAK) ağırlıklı olarak yaşlı hastalarda görülen, kronik ancak inflamatuvar olmayan dejeneratif bir süreç olarak düşünülmüştür [26]. Diyaliz hastalarında yüksek sıklıkla görülen kalp kapak kalsifikasyonuna yatkınlık oluşturan en önemli faktör

hiperfosfatemi, hiperkalsemi, artmış Ca-P ürünü gibi durumlara sebep olan hiperparatiroidizmdir [29]. Kapak kalsifikasyonu, inflamasyon, karotid aterosklerozu ve arteriyel kalsifikasyon arasındaki ilişkiler, kapak kalsifikasyonunun SDBY hastalarında ateroskleroz ve arteriyel kalsifikasyon göstergesi olduğunu ortaya koyar [31]. CRP ve valvüler kalsifikasyon arasında anlamlı ilişkinin gösterilmesi, SDBY hastalarında kalsifikasyonun sadece pasif dejeneratif bir süreç olmasından ziyade aktif inflamasyonu içerebileceğini düşündürmektedir [31]. Patolojik çalışmalarda, erken aterosklerotik lezyonları temsil eden köpüksü hücre gruplarının koroner ateroskleroz gelişen hastaların aort ve mitral kapakları üzerinde görülmesi, büyük popülasyon çalışmaları ile kapak kalsifikasyonu ve ateroskleroz için yaş, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti içeren ortak risk faktörleri, lipoprotein birikimi, makrofaj ve T hücre infiltrasyonu ile birlikte kronik inflamasyon, doku remodeling'i, angiogenezis, kalsifikasyon gibi benzerlikler, ateroskleroz ve kapak kalsifikasyonu ilişkisini güçlendirmekte, kapak kalsifikasyonlarının ateroskleroz varlığını gösterebileceğini düşündürmektedir [35, 36]. Kohort çalışmalarında, aort kapağı ve mitral anulus kalsifikasyonu artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkili bulunurken, vasküler veya kapak kalsifikasyonu varlığı da diyaliz hastalarında kötü prognoz göstergesi olmuştur [34].

Başlıca makrofajlardan salgılanan PAF-AH, plazmada PAF'ın *sn*-2 pozisyonundaki asetil ester grubunu kopararak PAF'ı inaktif metaboliti olan lizoPAF'a çeviren fosfolipaz A₂ (PLA₂) enzim ailesinin kalsiyumdan bağımsız bir üyesidir [38]. Plazmada düşük ve yüksek dansiteli lipoproteinler ile birlikte dolaşan PAF-AH'nin %70-80'i LDL'ye, %20-30'u HDL'ye bağlanmaktadır. *In vivo* olarak uygulanan PAF-AH'nin, PAF kaynaklı ödemi engellemesi ve vasküler sızıntıyı azaltması PAF-AH'nin antiinflamatuvar özelliklerini gösterirken [46], HDL ilişkili PAF-AH'nin, HDL'nin antioksidatif ve antiinflamatuvar potansiyeline katkıları, aterosklerozdan koruyucu rolü yönündeki önerileri güçlendirir [64]. Buna karşılık PAF-AH'nin okside fosfolipitleri parçalayarak endotel üzerine zararlı etkileri olan lizofosfatidilkolin (lizoPC) ve okside serbest yağ asitleri gibi proinflamatuvar ve proaterojenik ürünler oluşturması PAF-AH aktivitesindeki değişikliklerin yorumlanmasını güçleştirmektedir [65].

Çalışmamızda renal replasman tedavisi olarak hemodiyaliz ve periton diyaliz tedavisi alan hastalar ile serum kreatinine dayalı CKD-EPI formülü ile hesaplanmış GFH (mL/dk) değerlerine göre Evre 1-2 (>60), Evre 3a (45-59), Evre 3b (30-44), Evre 4 (15-29) ve Evre 5 (<15) olarak ayrılmış henüz diyaliz tedavisi almayan KBH hastaları karşılaştırıldı. Kalp kapak kalsifikasyonlarının ateroskleroz ile ortak risk faktörlerine sahip olması, ateroskleroz ile PAF-AH aktivitesinin ilişkisi ve sadece birkaç çalışmada PAF-AH ve kapak kalsifikasyon ilişkisinin araştırılmış olması sebebiyle çalışmamızı bu yönde şekillendirdik. Diyaliz hastalarında görülme sıklığı daha yüksek olan kapak kalsifikasyonlarının PAF-AH aktivitesi ile ilişkisi, kalsifikasyon durumunun hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları arasındaki farkı, PAF-AH aktivitesi ile bu farklı durumların ilişkisi, diyaliz tedavisi öncesi farklı evrelerdeki KBH hastalarında PAF-AH aktivitesi ve kalsifikasyon durumlarının diyaliz gruplarıyla karşılaştırılması ve bu ilerleyici süreçte kalsifikasyona etki edebilecek değişkenlerin (PAF-AH veya diğer biyokimyasal testler) tespiti gibi amaçlarla çalışma başlatıldı.

Çalışmamızda HD, PD ve kontrol grupları (Evre 1-2, 3a, 3b, 4, 5) yaş ortancaları ve cinsiyet açısından birbirlerinden farklı değillerdi ($p >0.05$). Tüm bu hastaların PAF-AH aktivitelerini HD, PD ve kontrol grupları arasında karşılaştırdığımızda PAF-AH aktivitelerinin birbirlerinden farklı olmadıklarını gördük ($p >0.05$). Yine HD ve sağlıklı kontrol gruplarında PAF-AH aktivitesini karşılaştıran bir çalışma, PAF-AH aktivitesinin kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda değişiklik göstermediğini bildirmiştir [172]. Ancak HD, PD, KBH ve sağlıklı kişilerde PAF-AH aktivitelerini karşılaştıran bir diğer çalışmada PAF-AH aktivitesinin özellikle PD hastaları olmak üzere üremik hastalarda arttığını, HD ve KBH hastaları arasında fark olmadığını bildirmiştir [173]. Çalışmamızdaki sonuçlar, böbrek fonksiyon bozukluğu derecesinin plazma PAF-AH aktivitesini etkilemediğine dair kanıtları [173] desteklerken, böbreklerin plazma enzim havuzunun önemli bir kaynağı olmadığını gösteren diğer çalışmalarla da uyumludur [174].

Tüm hastaları kadın-erkek olarak ayırıp cinsiyet açısından PAF-AH aktivitelerini karşılaştırdığımızda cinsiyete bağlı farklılıkların PAF-AH'yi etkilemediğini fark ettik ($p >0.05$). Üç binden fazla sağlıklı Japon nüfusta yapılan çalışmada PAF-AH aktivitesinin kadınlarda erkeklere göre %5 oranında düşük olduğu

ve postmenapozal döneme kadar düşük kaldığı bulunmuştur [166]. Çalışmamızdaki elli yaşından küçük hastaları incelediğimizde PAF-AH aktivitesi kadınlarda erkeklerden daha düşüktü, ancak bu fark anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). PAF-AH aktivitelerini grup içinde cinsiyete göre değerlendirdiğimizde Evre 3b erkek hastaların kadınlara göre daha yüksek aktiviteye sahip olduklarını gördük ($p < 0.05$). Bu grubun yaşları ve diğer biyokimyasal verilerini karşılaştırdığımızda fosfat konsantrasyonlarının kadınlarda yüksek olması ($p < 0.05$) dışında anlamlı fark bulunmadı. Yine kadınlardaki daha düşük yaş ortalamasının anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Tüm hastaları değerlendirdiğimizde PAF-AH ile yaş arasında anlamlı korelasyon bulunmadı ($p > 0.05$). Grup içinde ilişkiyi araştırdığımızda HD grubunda PAF-AH ile yaş arasında hafif derecede korelasyon bulundu ($r = 0.323$, $p < 0.05$). Tüm hastaları cinsiyete göre ayırıp PAF-AH aktivitesinin yaşla ilişkisini değerlendirdiğimizde anlamlı korelasyon bulunmadı ($p > 0.05$). Sağlıklı kişilerde PAF-AH aktivitesinin elli yaşa kadar arttığı ve bu artışın kadınlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir [166]. Sağlıklı insanlarda yaşlanmayla beraber PAF ve okside fosfolipitlerin birikimine yanıt olarak PAF-AH'nin arttığı düşünülmektedir [114]. PAF-AH aktivitesindeki yaşla artış trendi HD hastalarında da gösterilmişken [172], PD hastalarında PAF-AH ve yaş arasında çoklu lineer regresyon modelinde ilişki bulunamamıştır [139].

HD, PD ve kontrol gruplarında böbrek yetmezliğinin şiddeti arttıkça kapak kalsifikasyon oranlarının arttığı görülmektedir. HD ve PD hastalarında kapak kalsifikasyon oranları açısından ise fark bulunamadı ($p > 0.05$). Diyaliz hastalarının %40'ında mitral kapak kalsifikasyonu bulunurken, aort kapak kalsifikasyonu görülme sıklığı ise %55'e ulaşabilmektedir [175]. Çalışmamızdaki diyaliz grubunda kapak kalsifikasyon sıklığı %50 olarak literatürle uyumlu bulunmuştur. Kapak kalsifikasyonu olan hastaların yaş ortancaları da beklenildiği gibi kalsifikasyonu olmayan gruba göre daha yüksek çıkmıştır ($p < 0.05$).

Çalışmamızda kapak kalsifikasyonu olan grupta PAF-AH aktiviteleri kalsifikasyon olmayan gruba göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca kapak kalsifikasyonu olan hastalarda yaş, üre, kreatinin konsantrasyonları daha yüksek,

protein, albümin ve kalsiyum konsantrasyonları ise düşük bulunmuştu ($p < 0.05$). Diyaliz grubuyla, kontrol grubunu birleştirip kalsifikasyon oranlarını karşılaştırdığımızda diyaliz grubundaki kalsifikasyon oranı yüksekliğinin anlamlı olduğunu gördük ($p < 0.05$). Gruplar arasındaki üre, kreatinin, protein, albümin ve kalsiyumdaki anlamlı farklılıklar da kalsifikasyon ve diyaliz ilişkisini düşündürür. Ancak çalışmamızdaki sonuçlar ve böbrek fonksiyon bozukluğu derecesinin PAF-AH düzeylerini etkilemediğine dair literatür verileri [173] ile böbreklerin PAF-AH enzim havuzunun önemli bir kaynağı olmadığını gösteren diğer çalışmaları [174] da hesaba katarsak PAF-AH'deki yüksekliğin sadece KBH'ya bağlı olmadığı açıktır. Bu durumda PAF-AH'deki artışın kaynağı olarak kapak kalsifikasyonlarını düşünebiliriz. Kalsifikasyonu olan kadın hastalardaki PAF-AH yüksekliklerinin, kalsifikasyonu olmayan kadınlara göre daha belirgin olduğu da görüldü ($p < 0.05$). Bu hastaları incelediğimizde durumun yukarıdakine benzer olduğunu gördük. Kalsifikasyon varlığı diyaliz grubunda daha yüksek ve bu da kalsifikasyon olan grupta üre, kreatinin, albümin, kalsiyum, fosfat konsantrasyonları arasındaki anlamlı farkla uyumluydu ($p < 0.05$). PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisinin erkek hastalarda neden olmadığını anlamak için erkek hastaları incelediğimizde diyaliz ve kontrol grubu arasında kalsifikasyon açısından fark yoktu ve bu durum da değişkenler arasında KBH ilişkili farklılıkların görülmemesiyle doğrulandı ($p > 0.05$). Bu verilerle diyaliz hastalarında kalsifikasyon varlığında PAF-AH'deki artışların daha belirgin olduğu sonucuna varabiliriz. Grupları incelediğimizde ise HD hastalarında kalsifikasyon durumunda PAF-AH aktivite yükseklikleri dikkat çekiciydi ($p < 0.05$). HD ile PD arasında kalsifikasyon oranları açısından fark yokken ($p > 0.05$) HD hastalarında kalsifikasyon ile birlikte PAF-AH yüksekliğinin PD hastalarında görülmemesi, PAF-AH yüksekliğinin KBH'dan bağımsız olarak HD hastalarında kalsifikasyonla ilişkili olduğunu düşündürür. Erkek HD hastalarında kalsifikasyon varlığında PAF-AH aktivitelerinin de yüksek olduğu izlendi ($p < 0.05$). Bu veri de HD hastalarındaki PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisini güçlendirir.

Önceki verilerimize dönüp kadın hastalarda kalsifikasyon varlığında PAF-AH'deki yüksekliğin erkek hastalarda neden görülmediğini tekrar incelediğimizde şu yorumları yapabiliriz: Kalsifikasyonu olan kadın hastalarda KBH ilişkili değişkenlerde anlamlı farklar varken bu durum erkek hastalarda yoktu. Bu durumda

diyaliz grubu ve PAF-AH ilişkisini ele alıp, PD hastalarında kalsifikasyonun PAF-AH ile ilişkili olmadığı verileriyle birleştirirsek HD hastalarında PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisini doğrulamış oluruz. Tüm hastaları HD ve diğerleri olarak ayırıp cinsiyet bazında kalsifikasyon durumlarına HD hastalarının katkılarını incelediğimizde şu sonuçlara varmak mümkündür: Kalsifikasyon oranı kadın HD hastalarında diğer hastalardakinden yüksekken ($p < 0.05$) kalsifikasyon oranı erkek HD hastalarında diğer hastalardan farksızdır ($p > 0.05$). Bu durum da kadın hastalarda kalsifikasyon varlığındaki PAF-AH yüksekliğini HD ile ilişkilendirir.

Kapak kalsifikasyonlarını tutulan kapağa göre sadece aort, sadece mitral ve hem aort hem mitral kapak kalsifikasyonu olarak da grupladık. Grup karşılaştırmaları sonucunda sadece aort ve hem aort hem mitral kapak kalsifikasyonunda PAF-AH aktivitelerinin sadece mitral kalsifikasyonu olan veya kalsifikasyonu olmayan hastalardan daha yüksek olduğunu gördük ($p < 0.05$). Böylece PAF-AH'nin aort kalsifikasyonu patogeneziyle ilişkili olabileceği ancak aynı durumun mitral kalsifikasyon için geçerli görünmediği yorumunu yapabiliriz. Tutulan kapağa göre değişen PAF-AH ilişkisinin HD, PD ve kontrol grubunda geçerli olup olmadığını görmek için de karşılaştırmalar yaptık. Hastaları aort kalsifikasyonu olan ve aort kalsifikasyonu olmayan olarak grupladığımızda aort kalsifikasyon varlığında HD hastalarında PAF-AH yüksekliği anlamlıyken ($p < 0.05$) bu durum PD ve kontrol grubunda görülmedi ($p > 0.05$). Aynı zamanda aort kalsifikasyon sıklığı açısından bu üç grup arasında da fark bulunmadı ($p > 0.05$). Çalışmamızdaki bulgular HD hastalarında kalsifikasyon varlığıyla PAF-AH yüksekliği ilişkisinin özellikle aort kapağı tutulumunda belirgin olduğunu göstermektedir.

Kalsifikasyon ve PAF-AH ilişkisinin HD hastalarında belirgin PD hastalarında neden görülmediğini inceleyelim. HD hastalarında PD hastalarına kıyasla kolesterol, trigliserit ve LDL konsantrasyonları düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Kalsifikasyon varlığında HD ve PD hastalarını karşılaştırdığımızda HD'deki kolesterol, trigliserit ve LDL konsantrasyonlarındaki düşüklüğün devam ettiğini gördük ($p < 0.05$). Kalsifikasyon varlığında HD hastalarında kolesterol ve LDL konsantrasyonları yükselirken ($p < 0.05$) aksine PD hastalarında farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). HD ve PD hastalarında kapak kalsifikasyon oranları bakımından da fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Kapak kalsifikasyon varlığı veya

yokluğu durumunda PAF-AH'nin kolesterol, trigliserit ve LDL ile her iki durumda da korele oldukları bulundu ($p < 0.05$). Kalsifikasyon bulunan HD ve PD hastalarında PAF-AH'nin kolesterol ve LDL ile olan korelasyonlarının devam ettiği görüldü ($p < 0.05$). Kalsifikasyon olmayan HD hastalarında da PAF-AH ve kolesterol arasında korelasyon görülmesine ($p < 0.05$) rağmen kalsifikasyon olan HD hastalarında, kolesterol ve LDL konsantrasyonları kalsifikasyon olmayan HD hastalarına göre daha yüksekti ($p < 0.05$). PAF-AH'nin kolesterol ve LDL ile korelasyonlarını düşünürsek HD hastalarında kalsifikasyon varlığında lipitlerdeki artışın PAF-AH yüksekliklerine neden olduğunu ancak PD hastalarında lipitlerde bir artış olmadığı için bunun da PAF-AH aktivitelerine yansımadağını söyleyebiliriz. HD hastalarında lipit yükseklikleri PAF-AH aktivitesi ve kalsifikasyonla ilişkili olabilir. Bununla birlikte retrospektif çalışmalar, PAF-AH aktivitesini düşüren statin kullanımının aort kapak kalsifikasyonu (AKK) progresyonunu yavaşlatacağını önermesine rağmen, prospektif randomize çalışmalar statin kullanımının AKK progresyonunda etkili olmadığını da göstermiştir [141]. Bazı yazarlar, statin kullanımının hastalığın kalsifikasyonla ilişkili olan şiddetli ya da ilerlemiş aort stenozunda değil de, inflamasyonun baskın olduğu erken aşamalarında faydalı olabileceğini önermişlerdir [176]. Pozitron emisyon tomografisi, AS'ye kapak kalsifikasyon ve inflamasyonun göreceli katkılarını gösterebilir ve bu nedenle, AS'de inflamasyonun baskın olduğu erken evrelerinin tespiti ve lipit girişimlerinin hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılmasında etkili olup olmayacağı konusunda yararlı olabilir [176]. Statin kullanımı, LDL konsantrasyonunu düşürerek dolaşımdaki PAF-AH düzeyini düşürse de, makrofajların de novo sentezi ve sekresyonunu önlemez, aort kapağı içinde PAF-AH lokal sekresyonunu etkilemezler. AS hastalarının büyük bir kısmında LDL kolesterol referans aralıktadır. Statin kullanımı ile kardiyovasküler olayların azaltılmasına rağmen AS ilerlemesinin yavaşlatılamaması, şiddetli AS hastalarında PAF-AH ve LDL kolesterolün birliktelik göstermediğini ve diğer faktörlerin bu kapak hastalığında PAF-AH'de yükselişe neden olabileceğini düşündürmektedir.

İlk kez 2012 yılında aort kapak stenozu (AS) hastalarında kontrol grubuna kıyasla PAF-AH seviyelerinin yükseldiğinin gösterilmesiyle, PAF-AH aktivitesinin kapak hastalıklarıyla ilişkili olabileceği önerilmiştir [147]. Çalışma hastalarında açıkça aterosklerotik vasküler hastalık bulunmadığından AS'nin kendisinin bu artışta katkısı

olduğu düşünülmüştür. PAF-AH'nin yapısal kapak dejenerasyonu, biyoprotez kapaklardaki makrofaj yoğunluğu ve okside LDL miktarı ile ilişkili olduğu immünokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir [148]. Biyoprotez kapak dokusunda lokal olarak üretilen PAF-AH'nin, LizoPC ile vasküler hücre mineralizasyonunu uyarıp, inflamatuvar süreci şiddetlendirerek kapakçıkların parçalanmasına katkıda bulunması olasıdır. Sonraki çalışmalarda, PAF-AH'nin stenotik aort kapak dokularında yüksek oranda eksprese edildiği ve PAF-AH'nin LizoPC üretimi ile kapak mineralizasyonuna katkıda bulunduğu raporlanmıştır [149]. Lokal olarak kapaklarda makrofajlardan sentezlenen PAF-AH, LDL ve lipoprotein(a) ile taşınıp inflamatuvar olayları başlatabilir. Çalışmada, oksLDL ve lizoPC'nin birlikte bulundukları histolojik olarak gösterilmiş ve PAF-AH ile AS hemodinamik şiddeti ve kapak remodeling indeksleri arasında ılımlı korelasyonlar bulunmuştur. Plazma oksLDL seviyesinin stenotik aort kapak remodeling'iyle, küçük yoğun LDL oranının AKK dokuları içindeki oksLDL miktarıyla ve PAF-AH'nin yüksek oranda küçük yoğun LDL ile ilişkili oldukları gösterilmiştir [149]. Bu nedenle yüksek oksidasyon oranına sahip küçük yoğun LDL'nin, oksLDL birikimini arttırması ve bunun da AKK sırasında aort kapağındaki PAF-AH ekspresyonunu uyarması mümkündür.

PAF-AH'nin aort stenozu progresyonu ile ilişkisini araştıran kohort çalışmasında PAF-AH aktivitesinin hafif AS grubunda daha hızlı stenoz progresyon hızıyla ilişkili olduğu gösterilirken, tüm AS hastalarında bu ilişki gözlenmemiştir [150]. Bu durum erken aortik stenozun lipit-inflamasyon kaynaklı ve dolayısıyla PAF-AH ile ilişkili olabileceği, aksine ileri stenozda kalsifikasyon ilişkileri sebebiyle PAF-AH ilişkisinin gösterilememiş olabileceği fikirlerini destekler. PAF-AH'nin hafif AS hastalarında stenoz progresyon belirteci olarak kullanılabilecek olması tedavi hedefi olabileceğini düşündürür.

İnflamatuvar, lipit ve mineral metabolizma belirteçlerinin ekokardiyografik kardiyak kalsifikasyon ile ilişkisini ileri yaşlı geniş popülasyon kohortunda inceleyen çalışmada, FGF-23 ve fetuin-A'nın MAK ile PAF-AH aktivitesi veya kütlesi, sCD14 ve Lp(a)'nın AKK ile ilişkileri gösterilmiştir [151]. Akut faz proteini olan ve karaciğer veya makrofajlarca salınan sCD14'ün AKK ile hafif derecedeki korelasyonu makrofaj ilişkili yolların ileri araştırmalarını gerektirir. AKK ile histopatolojik benzerlikleri olan MAK için en önemli risk faktörü, mineral metabolizma bozukluğuyla ilişkili olan

kronik böbrek hastalığıdır. Artmış serum fosfatının, aort kapak-anulus kalsifikasyonları ve MAK ile bağlantılı olmasına rağmen KBH'nın aort kalsifikasyonları değilde MAK ile olan kuvvetli bağlantıları sebebiyle MAK gelişiminin kalsiyum fosfat metabolizmasındaki değişikliğe daha duyarlı olduğu söylenebilir [177]. Hem fetüin-A hem de FGF-23, yumuşak dokularda kalsiyumun çökmesini önleyen önemli mineral metabolizması düzenleyicileridir. MAK ile fetüin-A arasında negatif bir korelasyon varken, FGF-23 arasında pozitif ilişki kurulmuştur [151].

Okside fosfolipitler (oksPL), PAF-AH ile okside serbest yağ asitleri (oksSYA) ve lizoPC'ye parçalanır. PAF-AH aktivitesi ile oluşan bu ürünler de oksPL gibi proinflamatuvar ve proaterojenik etkiler gösterir. Aortik düz kas hücrelerinin OksPL ile kalsifikasyonu, alkalen fosfataz ekspresyonunu ve osteoblastik farklılaşma karakteristiği olan kalsiyum içeren hücre agregatlarının oluşumunu uyarır. PAF-AH plazma aktivitesinin büyük kısmı LDL ile ilişkiliyken küçük bir kısmı da HDL ile birliktedir. Ekimolar protein konsantrasyonu bakımından değerlendirildiğinde Lp(a), LDL'ye kıyasla 2 kat daha fazla PAF-AH enzim kütlesi ve 7 kat daha yüksek enzim aktivitesi içerdiğinden Lp(a), PAF-AH açısından daha zengindir [69]. Arteriyel duvarda Lp(a)'ya bağlı OksPL'ler, Lp(a)PAF-AH tarafından plak oluşumuna katkıda bulunan OksSYA'ya ve lizoPC'ye hidroliz edilerek aterogenez geliştirebilir [72]. Plazmada lipoprotein(a) ile taşınıp salınan OksPL'ler, Lp(a)'nın aterojenisitesine, bunun kardiyovasküler hastalık riskini artırmasına ve Lp(a)'nın AS patofizyolojisindeki rolüne önemli katkılarda bulunabilir. Lp(a)PAF-AH'nin anormal fonksiyonu Lp(a) işlevselliğini önemli ölçüde etkileyebilir. Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada, lipoprotein(a) gen polimorfizminin AKK ile anlamlı derecede ilişkili olduğu vurgulanmıştır [178]. Bu sonuçlar prospektif bir randomize çalışmada, yüksek lipoprotein(a) konsantrasyonlarına sahip hastaların AKK için artmış risk altında olduğunun gösterilmesiyle de doğrulanmıştır [179].

Düşük kardiyovasküler hastalık insidansı ile ilişkili ApoA-I rekombinant formu olan apolipoprotein A-I Milano (rApoA-1m) 'nun önceden varolan lipit açısından zengin plakların boyutunu azalttığı ve zararsız lezyonları da daha karalı hale getirdiği gösterilmiştir. Araştırmacılar, rApoA-1m uygulamasının, antiinflamatuvar yolaklar ve artmış ters kolesterol taşınması üzerinden, fibrokalsifik AS tedavisi ve

önlenmesinde etkili olabileceğini önermektedir. Aterojenik diyet ile beslenmiş hayvanlarda yapılan bir çalışma rApoA-1m uygulamasının AS'yi tersine çevirdiği ve histopatolojik incelemede kapak kalınlığı, inflamasyon ve kalsifikasyonda anlamlı azalma yaptığı gösterilmiştir. OksLDL'ye maruz bırakılan aort kapaklarında monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) sentezinin arttarken, rApoA-1m ile tedavinin MCP-1 mRNA, MCP-1 üretimini ve hücre içi kolesterol içeriğini azalttığı bildirilmiştir [180].

Çalışmamızda diyaliz hastalarının kontrol grubundaki KBH hastalarına göre daha yüksek CRP konsantrasyonlarına sahip oldukları görüldü ($p < 0.05$). HD ve PD grubundaki CRP yükseklikleri Evre 1-2 hastalara kıyasla belirgindi ($p < 0.05$). GFH veya albümin atılımlarına göre gruplanmış kontrol hastaları arasında anlamlı CRP değişiklikleri yoktu ($p > 0.05$). Üremik durum, proinflamatuvar sitokinlerin artışı, oksidatif stres, diyaliz ilişkili enfeksiyonlar gibi altta yatan pek çok faktör KBH ve özellikle SDBY hastalarında kronik inflamatuvar süreçlerin sık görülmesine neden olur. CRP'nin üç aydan uzun süreyle 5 mg/L'den yüksek olmasıyla tanımlanan KBH ilişkili kronik inflamasyon diyaliz hastalarının %30-60'ında bildirilmiştir [181]. Diyaliz hastalarındaki CRP yükseklikleri ve yine CRP'nin albümin, kalsiyum ve magnezyum ile olan negatif ilişkileri inflamatuvar durumu belki de kronik inflamasyonu yansıtmaktadır. CRP'nin albümin ile olan negatif korelasyonları CRP'nin pozitif, abüminin ise negatif akut faz proteini olmasıyla açıklanabilir. Yine CRP ile kalsiyum ve magnezyum arasındaki ters ilişki, bu minerallerin albümine bağlanması ve albümindeki azalışın konsantrasyonlarına yansmasıyla ilişkilidir. Tüm hastalar veya diyaliz ve kontrol hastaları içinde kalsifikasyon durumlarını karşılaştırdığımızda grup içlerinde kalsifikasyon varlığı veya yokluğunun CRP'de anlamlı değişikliklere neden olmadığını gördük ($p > 0.05$). Kapak kalsifikasyonlarını tutulan kapağa göre değerlendirip grupları kıyasladığımızda hem aort hem mitral kalsifikasyonu olan hastalarda kalsifikasyonu olmayan hastalara göre CRP değerlerinin arttığı görüldü ($p < 0.05$). Ancak bu durumun da diyaliz hastalarında görülen CRP yüksekliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz; çünkü aort ve mitral kapak kalsifikasyon oranı diyaliz grubunda anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). CRP dahil inflamasyon belirteçlerinin aort kapak kalsifikasyonları ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir [151]. PAF-AH ve CRP için tüm hastalar, HD, PD ve kontrol, kadın-erkek, kalsifikasyon ve albüminüri grupları arasında korelasyon araştırılmış ancak

ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bu durum, CRP'nin sistemik inflamasyon göstergesi olması, aksine PAF-AH'nin ise vasküler spesifik bir inflamasyon belirtici olarak düşünülmesiyle uyumludur [147].

5.1. Grupların Diğer Değişkenler Açısından Karşılaştırılması ve Korelasyonlar

Tüm hastalar içinde PAF-AH aktivitesinin değişkenlerle korelasyonlarını incelediğimizde PAF-AH ile kolesterol, trigliserit ve LDL arasında pozitif yönde bir ilişki varken HDL arasında negatif ilişki olduğu görüldü ($p < 0.05$). Alt grupları incelediğimizde PAF-AH'nin kolesterol, trigliserit ve LDL ile olan korelasyonunun HD, PD ve Evre 5 hastalarda devam ettiği görüldü ($p < 0.05$). Kapak kalsifikasyon varlığı veya yokluğu durumunda tüm hastalarda PAF-AH korelasyonları incelendi. PAF-AH'nin kolesterol, trigliserit ve LDL ile her iki durumda da korele oldukları bulundu ($p < 0.05$). Kalsifikasyon bulunan HD, PD ve Evre 5 hastalarda PAF-AH'nin kolesterol ve LDL ile korelasyonları hala mevcuttu ($p < 0.05$). Kalsifikasyon olmayan HD hastalarında da PAF-AH ve kolesterol arasında korelasyon görülmesine ($p < 0.05$) rağmen kalsifikasyon olan HD hastalarında PAF-AH, kolesterol ve LDL konsantrasyonları kalsifikasyon olmayan HD hastalarına göre daha yüksekti ($p < 0.05$).

Hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları karşılaştırıldığında üre, magnezyum ve 25-OH D vitamini hemodiyaliz hastalarında daha yüksekken aksine kolesterol, trigliserit ve LDL ise periton diyalizi hastalarında yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Diyaliz hastalarında diğer biyokimyasal testler (PAF-AH, NT-proBNP, kreatinin, ürik asit, protein, albümin, HDL, ALP, ALT, kalsiyum, fosfat, iPTH ve CRP) bakımından fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Kontrol gruplarını karşılaştırdığımızda NT-proBNP, ürik asit, albümin, ALP, ALT, kalsiyum, fosfat, magnezyum, 25-OH D vitamini, iPTH, idrar albümin-kreatinin (AKO) ve protein-kreatinin oranı (PKO) değişkenleri kontrol gruplarında farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). PAF-AH, protein, kolesterol, trigliserit, HDL, LDL ve CRP açısından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Hastalar kapak kalsifikasyon durumlarına göre iki gruba ayrıldığında kapak kalsifikasyonu olan grupta yaş, PAF-AH, NT-proBNP, üre, kreatinin değerleri daha

yüksek, protein, albümin ve kalsiyum ise düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Diyaliz hastalarında daha yüksek olan kalsifikasyon oranları, kalsifikasyon grubunda diyaliz hasta sayısının daha fazla olmasına ve iki grup arasında KBH ile ilişkili değişkenlerde fark bulunmasına sebep olmuştur. Kalsifikasyon gruplarında ALP, iPTH, CRP, Ca-P ürünü ve düzeltilmiş kalsiyum konsantrasyonları arasında anlamlı fark olmaması dikkat çekicidir ($p > 0.05$). Ancak bu durum hasta popülasyonumuzun kronik böbrek hastaları olmasıyla ilgili olabilir. Diyaliz ve kontrol hastaları kendi içlerinde birleştirilip karşılaştırıldığında ise diyaliz grubunda NT-proBNP, ALP, fosfat, magnezyum, iPTH ve CRP konsantrasyonları daha yüksekken; ürik asit, protein, albümin, kolesterol, HDL, LDL, kalsiyum, 25-OH D vitamini ise kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).

5.2. PAF-AH Aktivitesi Ölçüm Yönteminin Performans Değerlendirmesi

Plazma PAF-AH aktivite tayini için kullanılan yöntemler radyometrik, florimetrik ve kolorimetrik yöntemlerdir. PAF-AH kütle ölçümü için immüno-türbüdometrik yöntem temelindeki ELISA kitleri günümüzde kullanılmamaktadır. Substratın parçalanması sonucu oluşan nitrofenolün spektrofotometrik ölçümüne dayalı PAF-AH aktivite testinin pek çok klinik kimya cihazına uygulanması mümkündür [159]. Bizim kullandığımız substrat olarak 2-tiyoPAF kullanan kolorimetrik yöntem ise oluşan ürünlerin DTNB ile reaksiyonuna dayanmaktadır [160]. Ancak serum/plazmada DTNB ile reaksiyon veren serbest tiyollerin bulunması sebebiyle çalışmada 15 -30 dk inkübasyona ihtiyaç duyulmakta ve yöntemin bu haliyle otoanalizöre uygulanması mümkün görünmemektedir. Yaptığımız çalışmada serumdaki serbest tiyollerin DTNB ile verdiği reaksiyon sürelerini izledik ve gördük ki 3.5 dakikada tiyollerin %95'i DTNB ile reaksiyon vermektedir. Sonrasında reaksiyonunun bu etkileşimden en uzak olması için substrat eklenme (5. dk) ve okuma noktalarını mümkün olduğunca geriye çektik (ilk okuma 8. dk). Bu şekilde yöntemin cihaza uygulanmasını ilk kez başarmış olduk. Orijinal prosedürde pipetleme işlemleri kullanıcı tarafından yapılmaktadır. Hız ölçümü yapıldığından zamanlama son derece önemli olmaktadır. Yaptığımız bu değişiklik tüm bu değişkenlerin önüne geçip, yöntemin performansını artıracak bir gelişmedir.

Bu yöntemin performansını değerlendirmek amacıyla kesinlik (gün içi, günler arası, laboratuvar içi), doğrusalılık, geri kazanım, tespit ve tayin sınırları (LOB, LOD, LOQ) belirleme çalışmaları yaptık. Kesinlik çalışmasında gün içi, günler arası ve laboratuvar içi %varyasyon katsayıları düşük seviye için sırasıyla %2.9, %6.6 ve %7.0, yüksek seviye için %1.7, %2.8, %3.2 bulunmuştur. Bu değerlerin elde edilmesinde yöntemin cihaza uygulanmasının katkıları büyüktür. Doğrusallık çalışmasında yöntemin 150 U/L'ye kadar lineer olduğu görülmüştür. Yine cihaza adaptasyonun getirdiği otomatik dilüsyon seçenekleriyle çok daha yüksek aktiviteler daha kesin ve doğru olarak ölçülebilir. Yöntemin doğruluğunu test etmek için elimizde standart referans materyal olmadığı için geri kazanım çalışmaları yapmak durumundaydık. Ortalama % gerikazanım 100.8 olarak hesaplandı. Mevcut imkanlarla yaptığımız çalışma sonuçlarına göre yöntemin doğruluğunun kabul edilebilir olduğunu söyleyebiliriz. Yöntemin alt ölçüm limitleri; LOB, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.6, 1.6 ve 5.4 U/L olarak belirlendi. Çalışmamızda bu kadar düşük aktivitelere sahip hasta olmasa da bu seviyelerdeki ölçümlerin kesinliği genetik mutasyonların sebep olduğu düşük aktiviteye sahip bireylerin tespitinde önemli olabilir.

PAF-AH ölçümü için kullandığımız kimyasalların liste fiyatları 25 mg 2-tiyoPAF için 985 \$ ve 10 g EGTA için 80 \$ olarak belirlenmiştir. 25 mg 2-tiyoPAF ile teorik olarak 1000 test çalışılabilir. Ancak bu rakam Cobas 6000 cihazı için üretici önerileri doğrultusunda kaset dolumu yapınca 820 teste düşmektedir. Reaktiflerin hazırlanması için laboratuvar imkanları dahilinde kullanılan diğer kimyasalları ve cihazın tükettiği sarf malzemeleri hesap dışı bırakırsak birim test maliyeti yaklaşık 1.3 \$ olarak hesaplanmıştır. Piyasada 96 testlik kitlerin 300 \$ civarındaki fiyatı esas alınarak birim test maliyeti 3\$ olarak hesaplanmıştır. Eğer okumalar bu ticari kitler gibi ELISA cihazlarında yapılır ise kaset dolumundaki ölü hacimler geri kazanılır ve teorik test sayısına ulaşılabilir. Bu durumda birim test maliyeti 1 \$'a yaklaşacak olsa da ticari kitlerin içinde kontrol ve standart bulunması kitlerin avantajıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda PAF-AH yüksekliklerinin kapak kalsifikasyonu olan kişilerde anlamlı olduğunu gördük. Kapak kalsifikasyonu durumunda PAF-AH'deki bu artışların hemodiyaliz hastalarında belirgin olduğunu ancak periton diyalizi hastalarında görülmediğini fark ettik. Çalışmamızın verileri yüksek PAF-AH aktivitelerinin KBH'dan bağımsız olarak hemodiyaliz hastalarında kalsifikasyon ile ilişkili olduğunu önermektedir. Ancak bu ilişki mitral kapak tutulumundan ziyade aort kapak kalsifikasyonu durumunda belirgindir. Yine PAF-AH ile kolesterol ve LDL arasındaki bağlantılar lipit profilindeki değişikliklerin PAF-AH aktivite yüksekliği ve kalsifikasyonla ilişkili olabileceğini önerir.

Günümüzde, rApoA-1m ve aort kapak stenozu ilerlemesinin yavaşlatılması için Lp(a) seviyelerini ve muhtemelen PAF-AH ekspresyonunu azaltmayı amaçlayan yeni farmakolojik ajanların geliştirilmesine karşı büyük bir ilgi vardır. Ancak aort kalsifikasyonu patofizyolojisinde PAF-AH, Lp(a) ve okside fosfolipitlerin rolünü, biyobelirteç olarak veya enzim inhibitörleriyle potansiyel bir tedavi hedefi olarak kullanımını aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda toplam hasta sayımızın kabul edilebilir olmasına rağmen tüm hastalara ekokardiyografi yapamamış olmamız, kontrol hastalarımızı evrelere ayırdığımızda bu sayıların azalması ve yine hafif veya orta evredeki KBH hastalarımızda daha az sayıda bulunan kalsifikasyonun kontrol grupları arasında PAF-AH ve kalsifikasyon ilişkisini karşılaştırmamıza imkan vermemesi, kalsifikasyon şiddetini değerlendirebileceğimiz bir değişkenin olmayışı çalışmamızın kısıtlamaları olabilir. Daha büyük hasta gruplarında kapak hastalığının erken ve ileri aşamalarını ayırabilen, hastalığının şiddetini değerlendirebilen ve ateroskleroz ile ilişkileri sebebiyle aterosklerozun da değerlendirildiği çalışmalardan elde edilecek veriler önemli olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Assessing national capacity for the prevention and control of noncommunicable diseases: report of the 2015 global survey. Geneva, 2016: World Health Organization.
2. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. 2014: World Health Organization.
3. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
4. Türkiye Böbrek Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı. 2014, Ankara: Sağlık Bakanlığı Yayın No: 946.
5. Plantinga LC, Boulware LE, Coresh J, et al. Patient awareness of chronic kidney disease: trends and predictors. *Arch Intern Med* 2008;168:2268-2275.
6. Süleymanlar G, Utaş C, Arinsoy T, et al. A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey—the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant* 2010;26:1862–71.
7. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2275-2284.
8. United States Renal Data System. 2013 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2013.
9. Nahas ME. The global challenge of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68:2918-2929.
10. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet* 2012;379:165-80.
11. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S, et al. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int* 2011;80:1258-1270.
12. Seyahi N, Altıparmak MR, Ateş K, et al. Türkiye’de Renal Replasman Tedavilerinin Güncel Durumu: Türk Nefroloji Derneği Kayıt Sistemi 2014 Yılı Özet Raporu Current Status of Renal Replacement Therapy in Turkey: A Summary of Turkish Society of Nephrology 2014 Annual Registry Report. *Turk Neph Dial Transpl* 2015;24:10-16.
13. Kazancıoğlu R. Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Kidney Int Suppl* 2013;3:368-371.
14. Tangri N, Stevens LA, Griffith J, et al. A predictive model for progression of chronic kidney disease to kidney failure. *JAMA* 2011;305:1553-1559.
15. Go AS, Chertow GM, Fan D, et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351:1296-1305.
16. Consortium CKDP. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *The Lancet* 2010;375:2073-2081.

17. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, et al. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002;106:1777-1782.
18. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S112-S119.
19. Seyahi N, Ates K, Suleymanlar G. Current Status of Renal Replacement Therapies in Turkey: Turkish Society of Nephrology Registry 2015 Summary Report. *Turk Neph Dial Transpl* 2017;26:154-160.
20. Block G, Port FK. The clinical epidemiology of cardiovascular diseases in chronic kidney disease: Calcium phosphate metabolism and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Seminars in dialysis* 2003;16:140-147.
21. Eifinger F, Wahn F, Querfeld U, et al. Coronary artery calcifications in children and young adults treated with renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1892-1894.
22. Moe SM, Chen NX. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. *Circ Res* 2004;95:560-567.
23. Cozzolino M, Dusso AS, Slatopolsky E. Role of calcium-phosphate product and bone-associated proteins on vascular calcification in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2511-2516.
24. K/DOQI clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45:S1-153.
25. Floege J, Ketteler M. Vascular calcification in patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:v59-v66.
26. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:630-634.
27. Rostand SG, Brunzell JD, Cannon RO, et al. Cardiovascular complications in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1991;2:1053-1062.
28. Wang AYM, Woo J, Wang M, et al. Association of inflammation and malnutrition with cardiac valve calcification in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1927-1936.
29. Forman MB, Virmani R, Robertson RM, et al. Mitral anular calcification in chronic renal failure. *Chest* 1984;85:367-371.
30. Floege J. When man turns to stone: extraosseous calcification in uremic patients. *Kidney Int* 2004;65:2447-2462.
31. Wang AY-M, Ho SS-Y, Wang M, et al. Cardiac valvular calcification as a marker of atherosclerosis and arterial calcification in end-stage renal disease. *Arch Intern Med* 2005;165:327-332.
32. Stinebaugh J, Lavie CJ, Milani RV, et al. Doppler echocardiographic assessment of valvular heart disease in patients requiring hemodialysis for end-stage renal disease. *South Med J* 1995;88:65-71.
33. Varma R, Aronow WS, McClung JA, et al. Prevalence of valve calcium and association of valve calcium with coronary artery disease, atherosclerotic vascular disease, and all-cause mortality in 137 patients undergoing hemodialysis for chronic renal failure. *Am J Cardiol* 2005;95:742-743.
34. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, et al. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med* 1999;341:142-147.

35. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, et al. Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994;90:844-853.
36. Boon A, Cheriex E, Lodder J, et al. Cardiac valve calcification: characteristics of patients with calcification of the mitral annulus or aortic valve. *Heart* 1997;78:472-474.
37. Wang AY-M, Wang M, Woo J, et al. Cardiac valve calcification as an important predictor for all-cause mortality and cardiovascular mortality in long-term peritoneal dialysis patients: a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:159-168.
38. Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol* 1980;15:318-330.
39. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, et al. Platelet-activating factor and related lipid mediators. *Annu Rev Biochem* 2000;69:419-445.
40. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 2001;294:1871-1875.
41. Rivera R, Chun J, Biological effects of lysophospholipids, in *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2006, Springer. p. 25-46.
42. Nevalainen TJ. Serum phospholipases A2 in inflammatory diseases. *Clin Chem* 1993;39:2453-2459.
43. Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim Biophys Acta* 2006;1761:1246-1259.
44. Karasawa K, Harada A, Satoh N, et al. Plasma platelet activating factor-acetylhydrolase (PAF-AH). *Prog Lipid Res* 2003;42:93-114.
45. Hattori K, Hattori M, Adachi H, et al. Purification and characterization of platelet-activating factor acetylhydrolase II from bovine liver cytosol. *J Biol Chem* 1995;270:22308-22313.
46. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 1995;374:549.
47. Tjoelker LW, Eberhardt C, Unger J, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is a secreted phospholipase A2 with a catalytic triad. *J Biol Chem* 1995;270:25481-25487.
48. Tselepis AD, Karabina S-AP, Stengel D, et al. N-linked glycosylation of macrophage-derived PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J Lipid Res* 2001;42:1645-1654.
49. Stremler KE, Stafforini DM, Prescott SM, et al. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem* 1991;266:11095-11103.
50. Davis B, Koster G, Douet LJ, et al. Electrospray ionization mass spectrometry identifies substrates and products of lipoprotein-associated phospholipase A2 in oxidized human low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2008;283:6428-6437.
51. Stafforini DM, Sheller JR, Blackwell TS, et al. Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases. *J Biol Chem* 2006;281:4616-4623.
52. Kriska T, Marathe GK, Schmidt JC, et al. Phospholipase action of platelet-activating factor acetylhydrolase, but not paraoxonase-1, on long fatty acyl chain phospholipid hydroperoxides. *J Biol Chem* 2007;282:100-108.

53. Stafforini DM, McIntyre TM. Determination of phospholipase activity of PAF acetylhydrolase. *Free Radic Biol Med* 2013;59:100-107.
54. Elstad M, Stafforini D, McIntyre T, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1989;264:8467-8470.
55. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem* 1998;273:4012-4020.
56. Narahara H, Frenkel RA, Johnston JM. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase following phorbol ester-stimulated differentiation of HL-60 cells. *Arch Biochem Biophys* 1993;301:275-281.
57. Shi Y, Zhang P, Zhang L, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A 2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis* 2007;191:54-62.
58. Miyaura S, Maki N, Byrd W, et al. The hormonal regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase activity in plasma. *Lipids* 1991;26:1015-1020.
59. Stafforini D, McIntyre T, Carter M, et al. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1987;262:4215-4222.
60. Sanchez-Quesada J, Benítez S, Perez A, et al. The inflammatory properties of electronegative low-density lipoprotein from type 1 diabetic patients are related to increased platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Diabetologia* 2005;48:2162-2169.
61. Stafforini DM, Prescott SM, Zimmerman GA, et al. Mammalian platelet-activating factor acetylhydrolases. *Biochim Biophys Acta* 1996;1301:161-173.
62. Tsimihodimos V, Karabina S-AP, Tambaki AP, et al. Altered distribution of platelet-activating factor-acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2002;43:256-263.
63. Tsimihodimos V, Karabina S-AP, Tambaki AP, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:306-311.
64. Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, et al. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:481-488.
65. MACPHEE CH, MOORES KE, DHANAK D, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J* 1999;338:479-487.
66. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2000;343:1148-1155.
67. Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, et al. Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in

- patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest* 1997;27:595-602.
68. Papavasiliou EC, Gouva C, Siamopoulos KC, et al. PAF-acetylhydrolase activity in plasma of patients with chronic kidney disease. Effect of long-term therapy with erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1270-1277.
 69. Blencowe C, Hermetter A, Kostner GM, et al. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1995;270:31151-31157.
 70. Tsimikas S, Brilakis ES, Miller ER, et al. Oxidized phospholipids, Lp (a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;353:46-57.
 71. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein (a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1788-1795.
 72. Tselepis A. Oxidized phospholipids and lipoprotein-associated phospholipase A2 as important determinants of Lp (a) functionality and pathophysiological role. *J Biomed Res* 2016;31:1-9.
 73. Miwa M, Miyake T, Yamanaka T, et al. Characterization of serum platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase. Correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J Clin Invest* 1988;82:1983.
 74. Stafforini DM, Satoh K, Atkinson DL, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency. A missense mutation near the active site of an anti-inflammatory phospholipase. *J Clin Invest* 1996;97:2784.
 75. Jang Y, Kim OY, Koh SJ, et al. The Val279Phe variant of the lipoprotein-associated phospholipase A2 gene is associated with catalytic activities and cardiovascular disease in Korean men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3521-3527.
 76. Wang B, Rao L, Zhang L, et al. Correlation between desmin gene, platelet-activating factor acetylhydrolase gene and dilated cardiomyopathy. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006;37:391-394.
 77. Liu PY, Li YH, Wu HL, et al. Platelet-activating factor-acetylhydrolase A379V (exon 11) gene polymorphism is an independent and functional risk factor for premature myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2006;4:1023-1028.
 78. Balta G, Gurgey A, Kudayarov DK, et al. Evidence for the existence of the PAF acetylhydrolase mutation (Val279Phe) in non-Japanese populations: a preliminary study in Turkey, Azerbaijan, and Kyrgyzstan. *Thromb Res* 2001;101:231-234.
 79. Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:73-83.
 80. Quarck R, De Geest B, Stengel D, et al. Adenovirus-Mediated Gene Transfer of Human Platelet-Activating Factor-Acetylhydrolase Prevents Injury-Induced Neointima Formation and Reduces Spontaneous Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Circulation* 2001;103:2495-2500.
 81. Tsukioka K, Matsuzaki M, Nakamata M, et al. Increased plasma level of platelet-activating factor (PAF) and decreased serum PAF acetylhydrolase

- (PAFAH) activity in adults with bronchial asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1995;6:22-29.
82. Tetta C, Bussolino F, Modena V, et al. Release of platelet-activating factor in systemic lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol* 1990;91:244-256.
 83. Tselepis AD, Elisaf M, Besis S, et al. Association of the inflammatory state in active juvenile rheumatoid arthritis with hypo-high-density lipoproteinemia and reduced lipoprotein-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Arthritis Rheum* 1999;42:373-383.
 84. Partrick DA, Moore EE, Moore FA, et al. Reduced PAF-acetylhydrolase activity is associated with postinjury multiple organ failure. *Shock* 1997;7:170-174.
 85. Serebruany VL, Gurbel PA, Murugesan SR, et al. Depressed Plasma Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase in Patients Presenting with Acute Myocardial Infarction. *Cardiology* 1998;90:127-130.
 86. Graham RM, Stephens CJ, Silvester W, et al. Plasma degradation of platelet-activating factor in severely ill patients with clinical sepsis. *Crit Care Med* 1994;22:204-212.
 87. Kald B, Smedh K, Olaison G, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity in intestinal mucosa and plasma of patients with Crohn's disease. *Digestion* 1996;57:472-477.
 88. Satoh K, Yoshida H, Imaizumi T-a, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma lipoproteins from patients with ischemic stroke. *Stroke* 1992;23:1090-1092.
 89. Ostermann G, Lang A, Holtz H, et al. The degradation of platelet-activating factor in serum and its discriminative value in atherosclerotic patients. *Thromb Res* 1988;52:529-540.
 90. Pritchard PH, Chonn A, Yeung C. The degradation of platelet-activating factor in the plasma of a patient with familial high density lipoprotein deficiency (Tangier disease). *Blood* 1985;66:1476-1478.
 91. Meade CJ, Metcalfe S, Svvennsen R, et al. Serum PAF acetylhydrolase and chronic cholestasis. *Lancet* 1991;338:1016-7.
 92. Hofmann B, Rühling K, Spangenberg P, et al. Enhanced degradation of platelet-activating factor in serum from diabetic patients. *Pathophysiol Haemost Thromb* 1989;19:180-184.
 93. Dulouist A, Hilliquin P, Menkes C-J, et al. Paf-acether acetylhydrolase activity is increased in patients with rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol* 1992;21:161-164.
 94. Satoh F, Imaizumi T, Kawamura Y, et al. Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension. *Prostaglandins* 1989;37:673-682.
 95. Ostermann G, Rühling K, Zabel-Langhennig R, et al. Plasma from atherosclerotic patients exerts an increased degradation of platelet-activating factor. *Thromb Res* 1987;47:279-285.
 96. Imaizumi T-a, Satoh K, Yoshida H, et al. Activity of platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase in plasma from healthy habitual cigarette smokers. *Heart Vessels* 1990;5:81-86.
 97. Rubin A, Smith LJ, Patterson R. The bronchoconstrictor properties of platelet-activating factor in humans. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1145-1151.

98. Guinot P, Brambilla C, Duchier J, et al. Effect of BN 52063, a specific PAF-acether antagonist, on bronchial provocation test to allergens in asthmatic patients a preliminary study. *Prostaglandins* 1987;34:723-731.
99. Hahn H, Purnama I, Lang M, et al. Effects of platelet activating factor on tracheal mucus secretion, on airway mechanics and on circulating blood cells in live ferrets. *Eur J Respir Dis Suppl* 1986;146:277.
100. Stenton S, Kingston W, Goadby P, et al. Platelet-activating factor in bronchoalveolar lavage fluid from asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1990;3:408-413.
101. Hsieh K-H, Ng C-K. Increased plasma platelet-activating factor in children with acute asthmatic attacks and decreased in vivo and in vitro production of platelet-activating factor after immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:650-657.
102. Stafforini DM, Numao T, Tsodikov A, et al. Deficiency of platelet-activating factor acetylhydrolase is a severity factor for asthma. *J Clin Invest* 1999;103:989.
103. Mueller HW, Haught CA, McNatt JM, et al. Measurement of platelet-activating factor in a canine model of coronary thrombosis and in endarterectomy samples from patients with advanced coronary artery disease. *Circ Res* 1995;77:54-63.
104. IMAIZUMI TA, STAFFORINI DM, Yamada Y, et al. Platelet-activating factor: a mediator for clinicians. *J Intern Med* 1995;238:5-20.
105. Patel K, Zimmerman G, Prescott S, et al. Novel leukocyte agonists are released by endothelial cells exposed to peroxide. *J Biol Chem* 1992;267:15168-15175.
106. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
107. Watson AD, Navab M, Hama SY, et al. Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;95:774.
108. Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, et al. Identification of the G994→ T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men. *Metabolism* 1998;47:177-181.
109. Hiramoto M, Yoshida H, Imaizumi T, et al. A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Val279→ Phe) is a genetic risk factor for stroke. *Stroke* 1997;28:2417-2420.
110. Ichihara S, Yamada Y, Yokota M. Association of a G 994→ T missense mutation in the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene with genetic susceptibility to nonfamilial dilated cardiomyopathy in Japanese. *Circulation* 1998;98:1881-1885.
111. Yamada Y, Ichihara S, Izawa H, et al. Association of a G994→ T (Val279→ Phe) polymorphism of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene with myocardial damage in Japanese patients with nonfamilial hypertrophic cardiomyopathy. *J Hum Genet* 2001;46:436-441.
112. Yoshida H, Imaizumi T, Fujimoto K, et al. A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Val279Phe) is a genetic risk factor for cerebral hemorrhage but not for hypertension. *Thromb Haemost* 1998;80:372-375.

113. Unno N, Nakamura T, Kaneko H, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency is associated with atherosclerotic occlusive disease in Japan. *J Vasc Surg* 2000;32:263-267.
114. Yamada Y, Yoshida H, Ichihara S, et al. Correlations between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity and PAF-AH genotype, age, and atherosclerosis in a Japanese population. *Atherosclerosis* 2000;150:209-216.
115. Unno N, Nakamura T, Mitsuoka H, et al. Single nucleotide polymorphism (G 994→ T) in the plasma platelet-activating factor-acetylhydrolase gene is associated with graft patency of femoropopliteal bypass. *Surgery* 2002;132:66-71.
116. Häkkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2909-2917.
117. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;150:413-419.
118. Sönmez D, Fidan Y, Ozcan O, et al. Is There a Relationship between Small, Dense LDL and Lipoprotein - Associated Phospholipase A(2) Mass in Dialysis Patients? *Clin Lab* 2014;60:1431-7.
119. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 2004;109:837-842.
120. Winkler K, Winkelmann BR, Schrnagl H, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity indicates angiographic coronary artery disease independently of systemic inflammation and other risk factors. *Circulation* 2005;111:980-987.
121. Blankenberg S, Stengel D, Rupprecht HJ, et al. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease results of a cross-sectional analysis. *J Lipid Res* 2003;44:1381-1386.
122. Camussi G, Pawlowski I, Saunders R, et al. Receptor antagonist of platelet activating factor inhibits inflammatory injury induced by in situ formation of immune complexes in renal glomeruli and in the skin. *J Lab Clin Med* 1987;110:196-206.
123. Noris M, Benigni A, Boccardo P, et al. Urinary excretion of platelet activating factor in patients with immune-mediated glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993;43:426-429.
124. Benigni A, Boccardo P, Noris M, et al. Urinary excretion of platelet-activating factor in haemolytic uraemic syndrome. *The Lancet* 1992;339:835-836.
125. Xu H, Iijima K, Tanaka SSR, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase gene mutation in Japanese nephrotic children. *Kidney Int* 1998;54:1867-1871.
126. Sirois MG, Edelman E. VEGF effect on vascular permeability is mediated by synthesis of platelet-activating factor. *Am J Physiol* 1997;272:H2746-H2756.
127. Pinckard RN, Farr RS, Hanahan DJ. Physicochemical and functional identity of rabbit platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE

- anaphylaxis with PAF released in vitro from IgE sensitized basophils. *J Immunol* 1979;123:1847-1857.
128. Ishii S, Kuwaki T, Nagase T, et al. Impaired anaphylactic responses with intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J Exp Med* 1998;187:1779-1788.
 129. Matsumoto K, Taki F, Kondoh Y, et al. Platelet-activating factor in bronchoalveolar lavage fluid of patients with adult respiratory distress syndrome. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992;19:509-515.
 130. Sörensen J, Kald B, Tagesson C, et al. Platelet-activating factor and phospholipase A 2 in patients with septic shock and trauma. *Intensive Care Med* 1994;20:555-561.
 131. Svetlov SI, Howard KM, Miwa M, et al. Interaction of platelet-activating factor with rat hepatocytes: uptake, translocation, metabolism, and effects on PAF-acetylhydrolase secretion and protein tyrosine phosphorylation. *Arch Biochem Biophys* 1996;327:113-122.
 132. Fukuda Y, Kawashima H, Saito K, et al. Effect of human plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in two anaphylactic shock models. *Eur J Pharmacol* 2000;390:203-207.
 133. Nathan N, Denizot Y, Huc M, et al. Elevated levels of paf-acether in blood of patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabete Metab* 1991;18:59-62.
 134. Serban M, Tanaseanu C, Kosaka T, et al. Significance of platelet-activating factor acetylhydrolase in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus. *J Cell Mol Med* 2002;6:643-647.
 135. Beck JC, Goodner CJ, Wilson C, et al. Effects of ginkgolide B, a platelet-activating factor inhibitor on insulinitis in the spontaneously diabetic BB rat. *Autoimmunity* 1991;9:225-235.
 136. Lee ES, Jiang J, Sund GC, et al. Recombinant human platelet-activating factor acetylhydrolase reduces the frequency of diabetes in the diabetes-prone BB rat. *Diabetes* 1999;48:43-49.
 137. Millionis HJ, Tambaki AP, Kanioglou CN, et al. Thyroid substitution therapy induces high-density lipoprotein-associated platelet-activating factor-acetylhydrolase in patients with subclinical hypothyroidism: a potential antiatherogenic effect. *Thyroid* 2005;15:455-460.
 138. Rizos E, Tambaki AP, Gazi I, et al. Lipoprotein-associated PAF-acetylhydrolase activity in subjects with the metabolic syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72:203-209.
 139. Liberopoulos EN, Papavasiliou E, Miltiadous GA, et al. Alterations of paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2004;24:580-589.
 140. Cederholm A, Svenungsson E, Stengel D, et al. Platelet-activating factor-acetylhydrolase and other novel risk and protective factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50:2869-2876.
 141. Rajamannan NM, Evans FJ, Aikawa E, et al. Calcific aortic valve disease: not simply a degenerative process. *Circulation* 2011;124:1783-1791.
 142. Mohler ER, Gannon F, Reynolds C, et al. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103:1522-1528.

143. Olsson M, Thyberg J, Nilsson J. Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1218-1222.
144. Garza CA, Montori VM, McConnell JP, et al. Association between lipoprotein-associated phospholipase A 2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc* 2007;82:159-165.
145. Atik B, Johnston SC, Dean D. Association of Carotid Plaque Lp-PLA2 with Macrophages and Chlamydia pneumoniae infection among patients at risk for stroke. *PLoS One* 2010;5:e11026.
146. Vickers KC, Castro-Chavez F, Morrisett JD. Lyso-phosphatidylcholine induces osteogenic gene expression and phenotype in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2010;211:122-129.
147. Kolasa-Trela R, Fil K, Bazanek M, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is elevated in patients with severe aortic valve stenosis without clinically overt atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1825-1831.
148. Mahmut A, Mahjoub H, Boulanger MC, et al. Lp-PLA2 is associated with structural valve degeneration of bioprostheses. *Eur J Clin Invest* 2014;44:136-145.
149. Mahmut A, Boulanger M-C, El Hussein D, et al. Elevated expression of lipoprotein-associated phospholipase A2 in calcific aortic valve disease: implications for valve mineralization. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:460-469.
150. Capoulade R, Mahmut A, Tastet L, et al. Impact of plasma Lp-PLA2 activity on the progression of aortic stenosis: the PROGRESSA study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;8:26-33.
151. Bortnick AE, Bartz TM, Ix JH, et al. Association of inflammatory, lipid and mineral markers with cardiac calcification in older adults. *Heart* 2016;102:1826-1834.
152. Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM. [39] Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol* 1990;187:344-357.
153. Blank ML, Lee T-c, Fitzgerald V, et al. A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (a hypotensive and platelet-activating lipid). *J Biol Chem* 1981;256:175-178.
154. Schindler PW, Walter R, Hendrickson HS. Fluorophore-labeled ether lipids: substrates for enzymes of the platelet-activating factor cycle in peritoneal polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem* 1988;174:477-484.
155. Steinbrecher UP, Pritchard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res* 1989;30:305-315.
156. Kitsiouli EI, Nakos G, Lekka ME. Differential determination of phospholipase A2 and PAF-acetylhydrolase in biological fluids using fluorescent substrates. *J Lipid Res* 1999;40:2346-2356.
157. Balestrieri C, Camussi G, Giovane A, et al. Measurement of platelet-activating factor acetylhydrolase activity by quantitative high-performance liquid chromatography determination of coumarin-derivatized 1-O-alkyl-2-sn-lysoglycerol-3-phosphorylcholine. *Anal Biochem* 1996;233:145-150.
158. Tew DG, Southan C, Rice SQ, et al. Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved

- in the oxidative modification of low-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:591-599.
159. Kosaka T, Yamaguchi M, Soda Y, et al. Spectrophotometric assay for serum platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Clin Chim Acta* 2000;296:151-161.
 160. Aarsman AJ, Neys FW, Bosch H. Catabolism of platelet-activating factor and its acyl analog. *The FEBS Journal* 1991;200:187-193.
 161. Vadas P, Gold M, Perelman B, et al. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N Engl J Med* 2008;358:28-35.
 162. Corsetti JP, Rainwater DL, Moss AJ, et al. High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem* 2006;52:1331-1338.
 163. Castro SHd, Neto F, de Castro HC, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in patients with type 1 diabetes mellitus. *Arq Bras Cardiol* 2007;88:179-184.
 164. Maiolino G, Bisogni V, Rossitto G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 prognostic role in atherosclerotic complications. *World J Cardiol* 2015;7:609.
 165. Zhuo S, Wolfert RL, Yuan C. Biochemical differences in the mass and activity tests of lipoprotein-associated phospholipase A2 explain the discordance in results between the two assay methods. *Clin Biochem* 2017.
 166. Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta* 2001;312:179-183.
 167. Cerelli MJ, Grimm K, Duan X, et al. Evaluation of recombinant enzyme calibration to harmonize lipoprotein-associated phospholipase A 2 activity results between instruments. *Clin Biochem* 2016;49:480-485.
 168. Donato LJ, Meeusen JW, Jenkins SM, et al. Biological variability of lipoprotein-associated phospholipase A 2 activity in healthy individuals. *Clin Biochem* 2017;50:347-349.
 169. Stewart A, Grigoriadis G. Structure-activity relationships for platelet-activating factor (PAF) and analogues reveal differences between PAF receptors on platelets and macrophages. *J Lipid Mediat* 1991;4:299-308.
 170. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006;7:79-108.
 171. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000;343:611-617.
 172. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, et al. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998;44:179-181.
 173. Milionis HJ, Elisaf MS, Karabina S-AP, et al. Plasma and Lp (a)-associated PAF-acetylhydrolase activity in uremic patients undergoing different dialysis procedures. *Kidney Int* 1999;56:2276-2285.
 174. Meade C, Birke F, Metcalfe S, et al. Serum PAF-acetylhydrolase in severe renal or hepatic disease in man: relationship to circulating levels of PAF and effects of nephrectomy or transplantation. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1994;9:205-215.

175. Straumann E, Meyer B, Misteli M, et al. Aortic and mitral valve disease in patients with end stage renal failure on long-term haemodialysis. *Heart* 1992;67:236-239.
176. Dweck MR, Jones C, Joshi N, et al. Assessment of valvular calcification and inflammation by positron emission tomography in patients with aortic stenosis. *Circulation* 2012;125:76-86.
177. Fox CS, Guo C-Y, Larson MG, et al. Relations of inflammation and novel risk factors to valvular calcification. *Am J Cardiol* 2006;97:1502-1505.
178. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, et al. Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med* 2013;368:503-512.
179. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Dubé M-P, et al. Lipoprotein (a) levels, genotype and incident aortic valve stenosis: a prospective mendelian randomization study and replication in a case-control cohort. *Circ Cardiovasc Genet* 2014;7:304-10.
180. Speidl WS, Cimmino G, Ibanez B, et al. Recombinant apolipoprotein AI Milano rapidly reverses aortic valve stenosis and decreases leaflet inflammation in an experimental rabbit model. *Eur Heart J* 2010;31:2049-2057.
181. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, et al. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000;35:469-476.

8. ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı- Soyadı: Serkan Bolat
Doğum yeri ve tarihi: Adana, 01/01/1989
Uyruğu: TC vatandaşı
Medeni durumu: Bekar
Askerlik durumu: Yapılmadı
İletişim adresi ve telefonu: drsbolat@gmail.com, 507 439 0028
Yabancı dil: İngilizce

Eğitimi

2013-2017: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Biyokimya
İhtisası
2008-2012: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
2005-2008: Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi

Ünvanları

2012: Doktor
2018: Biyokimya uzmanı

Mesleki Deneyimi

2012: Adana Aladağ Toplum Sağlığı Merkezi
2013-2017: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi

Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Biyokimya Derneği

Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:
Relationship between high sensitivity troponins and estimated glomerular
filtration rate. Clin Biochem 2016;49:467-471.
The effects of enoxaparin on the liver in experimental pneumoperitoneum
model. Acta Cir Bras 2016;31:736-743.
Can platelet-rich plasma be used safely in intra-abdominal operations? Bratisl
Lek Listy 2016;117:525-529.

Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller: Sivas Biyokimya Günleri 2016, En İyi Poster Ödülü,
Katıldığı paneller:
Klinik Laboratuvarlarda Kalite Yönetimi, 2014
Laboratuvar Yönetimi: Kalite – Standardizasyon – Akreditasyon, 2014
27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2015
TBD Preanalitik Evre Sempozyumu, 2016
Sivas Biyokimya Günleri, 2016
28. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2017

9. EKLER

EK 1: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulu Onayı

EK 2: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu Onayı

EK 3: Diyaliz Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları

EK 4: Kontrol Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları

EK 5: Tüm Hastalarda Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları



EK 1: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulu Onayı



**T.C.
Sağlık Bakanlığı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Eğitim, Planlama ve Koordinasyon Kurulu
Karar Defteri**

Toplantı No: 0672

25.01.2017

BAŞKAN
Doç.Dr.Recep Pekcici
Başhekim

EPKK ASİL ÜYELERİ	EPKK YEDEK ÜYELERİ
Doç.Dr.Yalçın Aral Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Necmi Arslan KBB Hastalıkları Kliniği
Op.Dr.Firdevs Örnek Göz Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Meliha Korkmaz Nükleer Tıp Kliniği
Doç.Dr.Hülya Başar Anestezi ve Reanimasyon Kliniği	
Doç.Dr.Nadir Turgut Çavuşoğlu Genel Cerrahi Kliniği	

KARAR:

5642.Diyaliz hastalarında kalp kapak kalsifikasyonunun lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 ile ilişkisi. T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi **Tıbbi Biyokimya-Kardiyoloji-Nefroloji** Kliniği (Dr.Serkan Bolat, Dr.Vildan Fidancı, Dr.Deniz Elçik, Dr.Özlem Kavraz Tomar, Doç.Dr.Sani Namık Murat, Doç.Dr.Murat Duranay, Doç.Dr.Doğan Yücel) çalışması, **Prospektif-Tez** Çalışmasının protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden **“TEKNİK”** ve **“ETİK”** değerlendirmesinde **“UYGUN”** **“OLDUĞUNA”** / **“GÖRÜLMÜŞÜNE”** **“OYÇOKLUĞU”** **“OYBİRLİĞİ”** ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen uygulama, tetkik ve girişimlerin araştırma gurubunca karşılanması kaydı ile çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin kullanılmasına **“İZİN”** **“VERİLMİŞTİR”** / **“GÖRÜLMÜŞÜNE”**. **“ETİK KURUL ONAYI”** **“GEREKTİRİR”** / **“GÖRÜLMÜŞÜNE”**.

Doç.Dr.Yalçın Aral
Doç.Dr.Necmi Arslan
KBB KLİNİK EĞİTİM GÖREVLİSİ
Dip. No: 40863 Uzmanlık No: 31440

Doç.Dr.Hülya Başar

Op.Dr.Firdevs Örnek
Dip.No: 8744A 111
Nükleer Tıp Kliniği
İdari ve Eğitim Sorumlusu

Doç.Dr.Nadir Turgut Çavuşoğlu

Doç.Dr.Recep Pekcici
Başhekim

EK 2: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu Onayı



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

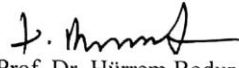


Sayı : E.Kurul –E-17-1384

1384-no'lu çalışma

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Kliniği'nden "Diyaliz hastalarında lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2'nin kalp kapak kalsifikasyonu ile ilişkisi" konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

10.05.2017


Prof. Dr. Hürrem Bodur
Etik Kurul Başkanı

EK 3: Diyaliz Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları

		Yaş	PAF-AH Aktivitesi (U/L)	NT-proBNP (ng/L)	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Ürik asit (mg/dL)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Kolesterol (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	HDL Kolesterol (mg/dL)	LDL Kolesterol (mg/dL)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfat (mg/dL)	Magnezyum (mmol/L)	eGFR (mL/dk 1.73 m2)	25-OH D vitamini (µg/L)	intakt PTH (ng/L)	CRP (mg/L)
Yaş	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	1																				
PAF-AH Aktivitesi (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,260 [*]	1																			
NT-proBNP (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,018	-,152	1																		
Üre (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,187	-,276 ^{**}	,152	1																	
Kreatinin (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,557 ^{**}	-,206 [*]	,252 [*]	,426 ^{**}	1																
Ürik asit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,039	-,129	-,020	,325 ^{**}	,088	1															
Total protein (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,047	,078	,010	-,042	-,047	,151	1														
Albumin (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,151	-,006	-,048	,214 [*]	,210 [*]	,177	,632 ^{**}	1													
Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,211 [*]	,595 ^{**}	-,173	-,365 ^{**}	-,153	-,018	,191	,115	1												
Trigliserit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,119	,344 ^{**}	-,300 ^{**}	-,309 ^{**}	-,021	,128	,265 [*]	,254 [*]	,601 ^{**}	1											
HDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,031	-,175	-,012	-,047	-,136	,002	-,208 [*]	-,075	,147	-,291 ^{**}	1										
LDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,352 ^{**}	,640 ^{**}	-,040	-,318 ^{**}	-,190	-,081	,193	,031	,911 ^{**}	,323 [*]	,049	1									
ALP (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,255 [*]	,045	-,076	,052	,162	,075	,060	,066	-,091	,009	-,007	-,136	1								
ALT (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,100	-,098	-,106	,051	,003	-,104	-,034	,043	-,046	,047	,096	-,130	,080	1							
Kalsiyum (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,080	,125	-,270 ^{**}	-,201	,040	-,024	,119	,160	,133	,059	,102	,122	,091	,055	1						
Fosfat (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,157	-,127	,156	,576 ^{**}	,366 [*]	,153	-,143	,026	-,115	-,167	,073	-,109	-,012	-,108	-,111	1					
Magnezyum (mmol/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,304 ^{**}	-,202	,009	,175	,219 [*]	-,021	,110	,273 ^{**}	-,180	-,247 [*]	,260 [*]	-,186	-,091	-,021	,118	,212 [*]	1				
eGFR (mL/dk 1.73 m2)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,340 ^{**}	,091	-,197	-,311 ^{**}	-,700 ^{**}	,126	,073	-,120	,035	-,006	,035	,082	-,074	-,070	,061	-,276 ^{**}	-,214 [*]	1			
25-OH D vitamini (µg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,145	-,110	,141	,173	,107	,170	-,145	,045	-,256 [*]	-,060	,045	-,321 ^{**}	,254 [*]	,013	-,009	,301 ^{**}	,202	-,036	1		
intakt PTH (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-,171	,086	,024	,017	,128	-,012	-,027	-,038	-,069	-,066	,045	-,078	,764 ^{**}	-,073	,105	,114	-,151	-,133	,093	1	
CRP (mg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,080	-,131	,222 [*]	,107	,102	,249 [*]	,142	-,088	,002	-,056	-,159	,084	-,058	-,060	-,171	,044	-,213 [*]	-,053	-,072	-,050	1

*. p< 0.05 (2-tailed).

** p< 0.01 (2-tailed).

EK 4: Kontrol Hastalarında Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları

		Yaş	PAF-AH Aktivitesi (U/L)	NT-proBNP (ng/L)	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Ürik asit (mg/dL)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Kolesterol (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	HDL Kolesterol (mg/dL)	LDL Kolesterol (mg/dL)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfat (mg/dL)	Magnezyu m (mmol/L)	eGFR (mL/dk 1.73 m2)	25-OH D vitamini (µg/L)	intakt PTH (ng/L)	CRP (mg/L)	Kırar Albumin Kreatinin Oranı (mg/g)	Kırar Protein Kreatinin Oranı (mg/g)
Yaş	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	1 86																						
PAF-AH Aktivitesi (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-105 .336 86	1 86																					
NT-proBNP (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.277** .010 86	-.146 .178 86	1 86																				
Üre (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.112 .304 86	-.132 .227 86	.430** .000 86	1 86																			
Kreatinin (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.051 .640 86	-.116 .288 86	.370** .000 86	.875** .000 86	1 86																		
Ürik asit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.080 .462 86	.076 .487 86	.130 .232 86	.365** .001 86	.186 .087 86	1 86																	
Total protein (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.073 .502 86	.094 .387 86	-.197 .069 86	-.114 .298 86	-.225* .038 86	.083 .448 86	1 86																
Albumin (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.125 .252 86	.044 .690 86	-.225* .038 86	-.274* .011 86	-.403** .000 86	.033 .764 86	.635** .000 86	1 86															
Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.030 .781 86	.466** .000 86	-.118 .279 86	-.231* .033 86	-.126 .249 86	-.069 .529 86	-.195 .072 86	1 86															
Trigliserit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.027 .808 86	.245* .023 86	-.226* .037 86	-.154 .156 86	-.144 .184 86	-.032 .014 86	-.073 .504 86	.473** .000 86	1 86														
HDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.132 .226 86	-.272* .011 86	.024 .827 86	-.228* .035 86	-.174 .108 86	-.020 .858 86	-.040 .718 86	.087 .426 86	-.336** .002 86	1 86													
LDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.092 .401 86	.515* .000 86	-.035 .749 86	-.125 .251 86	-.021 .850 86	-.042 .699 86	-.190 .609 86	.923** .000 86	.251* .020 86	-.083 .446 86	1 86												
ALP (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.147 .178 86	.037 .737 86	-.015 .889 86	.174 .109 86	.125 .250 86	-.043 .693 86	-.016 .884 86	.014 .899 86	-.122 .262 86	-.081 .460 86	-.157 .149 86	-.068 .537 86	1 86										
ALT (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.072 .511 86	.047 .666 86	-.111 .307 86	-.212 .050 86	-.235* .030 86	.152 .163 86	-.007 .947 86	.168 .121 86	.038 .725 86	.086 .429 86	-.042 .698 86	-.001 .994 86	-.047 .667 86	1 86									
Kalsiyum (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.012 .913 86	.038 .725 86	-.317** .003 86	-.294* .006 86	-.450** .000 86	.127 .243 86	.513** .000 86	.590** .000 86	-.066 .547 86	.045 .682 86	-.128 .240 86	-.065 .550 86	-.020 .853 86	.257* .017 86	1 86								
Fosfat (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.024 .824 86	-.085 .437 86	.274 .011 86	.632** .000 86	.616** .000 86	.050 .646 86	-.215* .047 86	-.370** .000 86	.037 .732 86	-.066 .549 86	-.019 .862 86	.071 .518 86	-.029 .789 86	-.178 .100 86	-.322** .003 86	1 86							
Magnezyu m (mmol/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.060 .586 86	-.007 .946 86	.088 .419 86	.219 .043 86	.168 .123 86	.075 .490 86	.160 .141 86	.106 .330 86	.082 .453 86	-.118 .280 86	.012 .915 86	.157 .148 86	.058 .596 86	.028 .801 86	.180 .179 86	.179 86	1 86						
eGFR (mL/dk 1.73 m2)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.324** .002 86	.098 .367 86	-.327** .002 86	-.705** .000 86	-.771** .000 86	-.314* .003 86	.089 .416 86	.393** .379 86	.096 .110 86	.173 .665 86	.047 .826 86	.024 .091 86	-.183 .012 86	.269* .000 86	.389** .000 86	-.407** .000 86	-.204 .060 86	1 86					
25-OH D vitamini (µg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.099 .366 86	-.033 .765 86	.084 .442 86	-.315** .003 86	-.331** .002 86	-.025 .822 86	-.003 .980 86	.250* .020 86	-.143 .188 86	-.079 .472 86	.185 .088 86	-.190 .080 86	-.148 .173 86	.249* .021 86	.059 .591 86	-.173 .111 86	-.097 .376 86	.222* .040 86	1 86				
intakt PTH (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.046 .676 86	-.044 .685 86	.227* .036 86	.562** .000 86	.680** .000 86	.111 .310 86	-.056 .606 86	-.202 .062 86	-.112 .306 86	-.154 .156 86	-.110 .314 86	-.017 .875 86	.274* .011 86	-.272* .001 86	-.486** .001 86	.345* .002 86	.008 .942 86	-.592** .008 86	-.285** .008 86	1 86			
CRP (mg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.084 .440 86	.031 .777 86	-.009 .934 86	-.055 .613 86	-.004 .973 86	-.023 .830 86	-.073 .502 86	-.176 .105 86	.035 .750 86	-.074 .498 86	-.059 .588 86	.095 .383 86	.055 .614 86	-.078 .477 86	-.090 .784 86	-.030 .277 86	-.119 .391 86	-.094 .884 86	.016 .003 86	-.028 .003 86	1 86		
Kırar Albumin Kreatinin Oranı (mg/g)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.040 .719 83	-.004 .973 83	.309** .005 83	.351** .001 83	.574** .000 83	-.173 .117 83	-.581** .000 83	-.743** .000 83	.326* .003 83	.064 .566 83	.092 .406 83	.325* .003 83	.026 .816 83	-.176 .111 83	-.540** .000 83	.472* .000 83	-.022 .843 83	-.376* .004 83	-.310** .004 83	.336* .002 83	.070 .529 83	1 83	
Kırar Protein Kreatinin Oranı (mg/g)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.082 .454 86	.001 .989 86	.268* .012 86	.318* .003 86	.522** .000 86	-.184 .089 86	-.556** .000 86	-.732** .000 86	.280* .009 86	.007 .949 86	.065 .549 86	.308* .004 86	.060 .585 86	-.148 .175 86	-.519** .000 86	.408* .000 86	-.020 .856 86	-.372** .000 86	-.310** .004 86	.317* .003 86	.298** .005 86	.945** .000 83	1 86

** p<0.01 (2-tailed).

* p<0.05 (2-tailed).

EK 5: Tüm Hastalarda Değişkenlerin Birbirleri ile Korelasyonları

		Yaş	PAF-AH Aktivitesi (U/L)	NT-proBNP (ng/L)	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Ürik asit (mg/dL)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Kolesterol (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	HDL Kolesterol (mg/dL)	LDL Kolesterol (mg/dL)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfat (mg/dL)	Magnezyum (mmol/L)	eGFR (mL/dk 1.73 m2)	25-OH D vitamini (µg/L)	intakt PTH (ng/L)	CRP (mg/L)
Yaş	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	1																				
PAF-AH Aktivitesi (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.103 .172 178	1																			
NT-proBNP (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.027 .716 178	-.055 .463 178	1																		
Üre (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.049 .515 178	-.126 .093 178	.367** .000 178	1																	
Kreatinin (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.266** .000 178	-.031 .684 178	.537** .000 178	.666** .000 178	1																
Ürik asit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.023 .762 178	-.044 .556 178	-.100 .185 178	.206** .006 178	-.082 .277 178	1															
Total protein (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.064 .396 178	.027 .722 178	-.258** .001 178	-.281** .000 178	-.410** .000 178	.192** .010 178	1														
Albumin (g/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.102 .174 178	-.045 .551 178	-.334** .000 178	-.280** .000 178	-.402** .000 178	.197** .008 178	.721** .000 178	1													
Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.104 .167 178	.494** .000 178	-.223** .003 178	-.351** .000 178	-.248** .001 178	-.001 .994 178	.156* .038 178	.093 .216 178	1												
Trigliserit (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.060 .428 178	.304** .000 178	-.180** .016 178	-.172** .022 178	.010 .896 178	.178** .017 178	.078 .298 178	.060 .426 178	.512** .000 178	1											
HDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.081 .283 178	-.243** .001 178	-.165** .027 178	-.269** .000 178	-.322** .000 178	-.158** .035 178	.052 .487 178	.125 .096 178	.173** .021 178	-.315** .000 178	1										
LDL Kolesterol (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.139 .065 178	.536** .000 178	-.129** .087 178	-.271** .000 178	-.225** .002 178	-.016 .830 178	.140 .062 178	.045 .548 178	.920** .000 178	.266** .000 178	.039 .609 178	1									
ALP (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.174** .020 178	.065 .385 178	.087 .249 178	.185** .013 178	.310** .000 178	-.019 .800 178	-.098 .191 178	-.115 .127 178	-.136 .071 178	.012 .870 178	-.115 .128 178	-.148* .049 178	1								
ALT (U/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.077 .307 178	-.039 .606 178	-.165** .028 178	-.179** .017 178	-.191** .011 178	.084 .266 178	.070 .357 178	.189** .012 178	.055 .584 178	.073 .470 178	-.015 .336 178	-.014 .848 178	1								
Kalsiyum (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.037 .622 178	.037 .624 178	-.402** .000 178	-.387** .000 178	-.366** .000 178	.126 .093 178	.431** .000 178	.481** .000 178	.123 .102 178	.024 .754 178	.120 .110 178	.106 .157 178	-.057 .448 178	.215** .004 178	1						
Fosfat (mg/dL)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.114 .128 178	-.058 .441 178	.334** .000 178	.648** .000 178	.555** .000 178	.013 .862 178	-.320** .000 178	-.303** .000 178	-.134 .074 178	-.093 .216 178	-.093 .216 178	-.109 .148 178	.101 .179 178	-.191** .011 178	-.313** .000 178	1					
Magnezyum (mmol/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.215** .004 178	-.096 .202 178	.136 .069 178	.272** .000 178	.306** .000 178	-.027 .724 178	.003 .969 178	.041 .584 178	-.114 .129 178	-.176** .019 178	.066 .379 178	-.075 .319 178	.005 .947 178	-.041 .584 178	.030 .688 178	.273** .000 178	1				
eGFR (mL/dk 1.73 m2)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.077 .307 178	-.003 .966 178	-.406** .000 178	-.688** .000 178	-.730** .000 178	-.028 .713 178	.345** .000 178	.490** .000 178	.190** .011 178	.047 .538 178	.225** .002 178	.149** .047 178	-.222** .003 178	.263** .000 178	.435** .000 178	-.443** .000 178	-.269** .000 178	1			
25-OH D vitamini (µg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.041 .589 178	-.097 .197 178	-.016 .831 178	-.160** .033 178	-.176** .019 178	.114 .129 178	.033 .662 178	.225** .003 178	-.147 .050 178	-.080 .291 178	.170** .024 178	-.199** .008 178	.098 .194 178	.166 .027 178	.105 .163 178	.039 .604 178	.036 .635 178	.235** .002 178	1		
intakt PTH (ng/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.136 .070 178	.093 .217 178	.217** .004 178	.235** .002 178	.376** .000 178	-.071 .346 178	-.192** .010 178	-.242** .001 178	-.133 .077 178	-.036 .630 178	-.099 .191 178	-.121 .108 178	.769** .000 178	-.138 .066 178	-.122 .106 178	.253** .001 178	-.023 .757 178	-.321** .000 178	-.041 .591 178	1	
CRP (mg/L)	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	.066 .385 178	-.073 .332 178	.263** .000 178	.128 .088 178	.179** .017 178	.120 .112 178	.002 .975 178	-.159** .034 178	-.029 .703 178	-.039 .604 178	-.157** .036 178	.033 .660 178	-.005 .944 178	-.076 .316 178	-.191** .011 178	.095 .206 178	-.139 .065 178	-.124 .099 178	-.086 .256 178	.014 .855 178	1

**. p<0.01 (2-tailed).

*. p<0.05 (2-tailed).

