

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
KARTAL KOŞUYOLU YÜKSEK İHTİSAS
EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
KARDİYOLOJİ KLİNİĞİ



KORONER ARTER HASTALIĞI OLMAYAN ASPIRİN
KULLANAN DİYABETİK HASTALARDA AKUT
EGZERSİZİN TROMBOSİT FONKSİYONLARI
ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. HAKAN ÇAKIR
UZMANLIK TEZİ
KARDİYOLOJİ KLİNİĞİ

İSTANBUL - 2014

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
KARTAL KOŞUYOLU YÜKSEK İHTİSAS
EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
KARDİYOLOJİ KLİNİĞİ

KORONER ARTER HASTALIĞI OLMAYAN ASPİRİN
KULLANAN DİYABETİK HASTALARDA AKUT
EGZERSİZİN TROMBOSİT FONKSİYONLARI
ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. HAKAN ÇAKIR
KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. CİHANGİR KAYMAZ

İSTANBUL - 2014

ÖZET

Amaç: İmpedans agregometre ile değerlendirilen platelet reaktivitesinin aspirin kullanan diyabetik ve kontrol grupları arasında farklılık gösterip göstermediğini ve platelet reaktivitesinin akut egzersiz ile nasıl değiştiğini araştırmaktır.

Yöntemler: Çalışmamıza tanısız amaçlı efor testi yapılan 43 tane bilinen diyabeti olan hasta ve 36 tane yaş ve cinsiyetleri diyabetik grup ile eşleştirilmiş diyabeti olmayan kontrol bireyleri alınmıştır. Tüm çalışma popülasyonu kullanım süresi en az 1 hafta olmak üzere 100 mg/gün aspirin almaktaydılar. Bu popülasyonlardan hem bazalde hemde recovery evresinin ilk 3 dakikalık döneminde platelet agregasyonunun değerlendirilmesi için kan alınmıştır.

Bulgular: Diyabetik grubunun ortalama yaşı 52.6 ± 6.1 (% 45.8'i kadın), kontrol grubunun ise yaş ortalaması 51.0 ± 6.7 (% 50.0'si kadın) saptanmıştır. Diyabetik ve kontrol grubu arasında istirahatte ölçülen Araşidonik asit aracılı platelet agregasyonu (ASPI) düzeyleri (22.97 ± 14.57 'e karşı 22.11 ± 12.71 , $p=0.781$) arasında fark bulunmamıştır. Hem kontrol grubunda (3.66 ± 5.87 , $p<0.01$) hem de diyabetik grupta (9.02 ± 13.08 , $p<0.01$) egzersiz ile ASPI düzeyleri anlamlı olarak artış göstermiştir. Diyabetik gruptaki ASPI artışının kontrol grubundaki artıştan daha fazla olduğu gözlenmiştir ($p<0.01$). Yapılan lineer regresyon analizinde ASPI artışıyla ilintili olarak, kontrol grubunda ortalama platelet hacmi (MPV) ve yüksek duyarlılıklı C reaktif proteininin (Hs-CRP), diyabetik grupta ise vücut kitle indeksinin (VKİ) bağımsız değişkenler oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamız, aspirin kullanan diyabetik ve kontrol gruplarının istirahatte agregasyon değerlerinin farklı olmadığını, akut egzersizle birlikte her iki grupta da agregasyon değerlerinin arttığını fakat bu artışın diyabetik grupta daha fazla olduğunu göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi' ne geldiğim, uzmanlık eğitimime başladığım günden bugüne kadar yanında çalışmaktan onur duyduğum, desteklerini ile hep yanımda hissettiğim, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen başta değerli hocam Doç. Dr. Cihangir KAYMAZ' a,

Sayın hastane yöneticimiz ve değerli hocam Prof. Dr. Ali Metin ESEN' e ve Başhekimimiz Doç.Dr. Selçuk PALA' ya,

Asistanlık eğitim sürem boyunca beraber çalıştığım eğitim görevlisi saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a, Doç. Dr. Cevat KIRMA'ya, Doç. Dr. Nihal ÖZDEMİR'e, Doç. Dr. Muhsin TÜRKMEN'e, Doç. Dr. Mustafa AKÇAKOYUN'a, Doç. Dr. Akın İZGİ'ye, Doç.Dr. Ramazan Kargın'a ve Doç. Dr. Mehmet Yunus EMİROĞLU'na,

Tezimin istatistiğini yapmamda bana yardımını esirgemeyen sevgili abim Doç. Dr. İbrahim Halil TANBOĞA'ya,

Mesleğimizi iyi bir şekilde öğrenip icra etmemize yardımcı olan, bilgi ve becerilerini bizlere aktaran, bizleri kardeşleri gibi gören hastanemizde şuan çalışan ve daha önce çalışıp ayrılan tüm uzman abi ve ablalarım,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışıp, mutlu ve heyecanlı günler geçirdiğimiz tüm asistan arkadaşlarıma, tüm hemşire ve sağlık personellerine,

Tez çalışmamda bana yardımcı olan efor bölümü hemşire ve personellerine,

Son olarak bu günlere gelmemde sonsuz fedakarlıkları olan kalbimin kahramanları anneannem ve dedeme, bana yuva olan annem, babam, kardeşim ve tüm aileme, ilk günden beri destek ve sevgilerini eksik etmeyen eşimin ailesine ve hayatımın 'iyi ki' yanı olan, mutluluk kaynağım, biricik mucizem sevgili eşim MERVEM' e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Platelet Fizyolojisi	3
2.1.1. Platelet Agonistleri	5
2.2. Platelet Fonksiyon Testleri	11
2.2.2 VerifyNow	12
2.2.3. Platelet Function Analyser-100 (PFA-100)	13
2.2.4. Flow Sitometri	13
2.2.5. Plateletworks	15
2.2.6. TEG Platelet Mapping sistem	15
2.2.7. Impact cone and plate(let) analyzer:	15
2.3. Diyabetes Mellitus ve Platelet Fonksiyonları	16
2.4. Aspirin Direnci	21
3. ÇALIŞMA	26
3.1. Materyal ve Metod	26
3.1.1. Çalışma popülasyonu	26
3.1.2. Tanımlamalar	27
3.1.3. Efor testi:	27
3.1.4. İmpedans Agregometre	28
3.1.5. İstatistik	29
3.2. Bulgular	29
3.3. Tartışma	34

3.4. Çalışma Kısıtlılıkları	37
3.5. Sonuç	38
4. KAYNAKLAR.....	39



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADP : Adenozin difosfat	SKB: Sistolik kan basıncı
AP-1: Aktivatör protein-1	TEG: Tromboelastografi
ASPI: Araşidonik asit aracılı platelet agregasyonu	TXA2:Tromboksan A2
ATP: Adenozin trifosfat	TGF α : Transformasyonu sağlayan çoğalma faktörü α
AUC: Eğrinin altında kalan alan	TG: Trigliserid
BKS: Beyaz küre sayısı	TRAP: Trombin reseptörünü aktive eden peptit
cAMP: Siklik adenozin monofosfat	VASP: Vasodilatör ile uyarılan fosfoprotein
COX: Siklooksijenaz	VKİ: Vücut kitle indeksi
DM: Diabetes Mellitus	VN:VerifyNow
DKB: Diyastolik kan basıncı	vWF: Von willebrand faktör
Hs-CRP: yüksek duyarlılık C reaktif protein	
HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein	
KH: Kalp hızı	
KVH: Kardiyovasküler hastalık	
LDL: Düşük yoğunluklu Lipoprotein	
MAP:Mitojen ile aktive olan protein	
METs: Metabolik eşdeğer	
MPV: Ortalama platelet hacmi	
NF κ B: Transkripsiyon faktörü κ B	
NO: Nitrik oksit	
PKC: Protein kinaz C	
PAR: Proteaz ile aktive olmuş reseptör	
PDGF: Platelet kökenli çoğalma faktörü	
PFA-100: Platelet fonksiyonu analizer 100	
ROS: Reaktif oksijen türevleri	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:

Sayfa

Şekil 1: Von willebrand faktörün vasküler hasar bölgesinde trombosit agregasyonu üzerindeki rolü.	4
Şekil 2: ADP aracılı reseptör aktivasyonu ve ikincil mesajcı sistemi.	6
Şekil 3: Prostaglandin ve Tromboksan A2 sentezi.....	7
Şekil 4: Trombin reseptörleri ve ikincil haberleşme sistemi.	8
Şekil 5: Plateletlerin kollajen tarafından GPVI reseptörü aracılığıyla uyarılma yolu.	10
Şekil 6: Hipergliseminin platelet fonksiyonları üzerine etkisi.	19
Şekil 7: Aspirin direncinin olası mekanizmaları.	22
Şekil 8: Aspirin tedavisi altındaki diyabet ve kontrol gruplarının, egzersizle artış gösteren platelet agregasyonlarının şematik olarak karşılaştırılması.	33

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No:

Sayfa

Tablo 1: Çalışma gruplarının klinik özellikleri	30
Tablo 2: Çalışma gruplarının laboratuvar bulguları.	31
Tablo 3: Çalışma gruplarının efor testi bulguları.	32
Tablo 4: Diyabetik ve kontrol gruplarının bazal ve egzersiz sonrası ASPI düzeyleri.....	32



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetin prevalansı hızlıca artmaktadır ve yapılan çalışmalarda 2030 yılında 350 milyondan fazla insanın diyabetten etkileneceği öngörülmektedir [1]. Bu populasyon kardiyovasküler hastalık (KVS) gelişimi açısından yüksek risk altındadır. Bu hastalarda trombotik komplikasyonların gelişmesinde önemli bir faktör platelet disfonksiyonudur. Daha önce yapılmış olan birçok çalışmada diyabetik hastalarda, istirahatteki platelet reaktivasyonunun diyabetik olmayanlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir [2-4].

Egzersiz sedanter, bilinen vasküler hastalığı olan ve efor kapasitesi düşük olan bireylerde koroner ve arteriyel oklüzyonu tetiklediği gösterilmiştir [5]. Egzersiz trombosit aktivasyonunu birkaç yolak üzerinden arttırarak bu etkiyi ortaya çıkarmaktadır [6,7]. Farklı hasta gruplarında, egzersizin platelet fonksiyonları üzerine etkisini araştırma amaçlı yapılmış çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. Bunun çalışılan populasyonların heterojenitesinden ve kullanılan platelet fonksiyon testlerinin farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmüştür [8,9].

Aspirin kardiyovasküler trombo-embolik olayları engelleme amaçlı kullanılan en önemli antiplatelet ajanlardan biridir ve diyabetik hasta grubunda pirimer koruma amaçlı geniş endikasyon dahilinde kullanılmaktadır. Egzersizin platelet reaktivasyonunu arttırdığı düşünüldüğünde, aspirinin bunun üzerinde koruyucu etkisi olup olmadığı araştırılan bir konudur [10-11]. Literatürde aspirin kullanan diyabetik hasta grubuna yönelik bununla ilgili yapılmış henüz bir çalışma mevcut değildir.

Biz bu çalışmamızda aspirin kullanan diyabetik ve non-diyabetik hasta gruplarında impedans agregometre ile değerlendirilen platelet fonksiyonlarının maksimal egzersize yanıt olarak nasıl değiştiğini araştırmayı amaçladık.

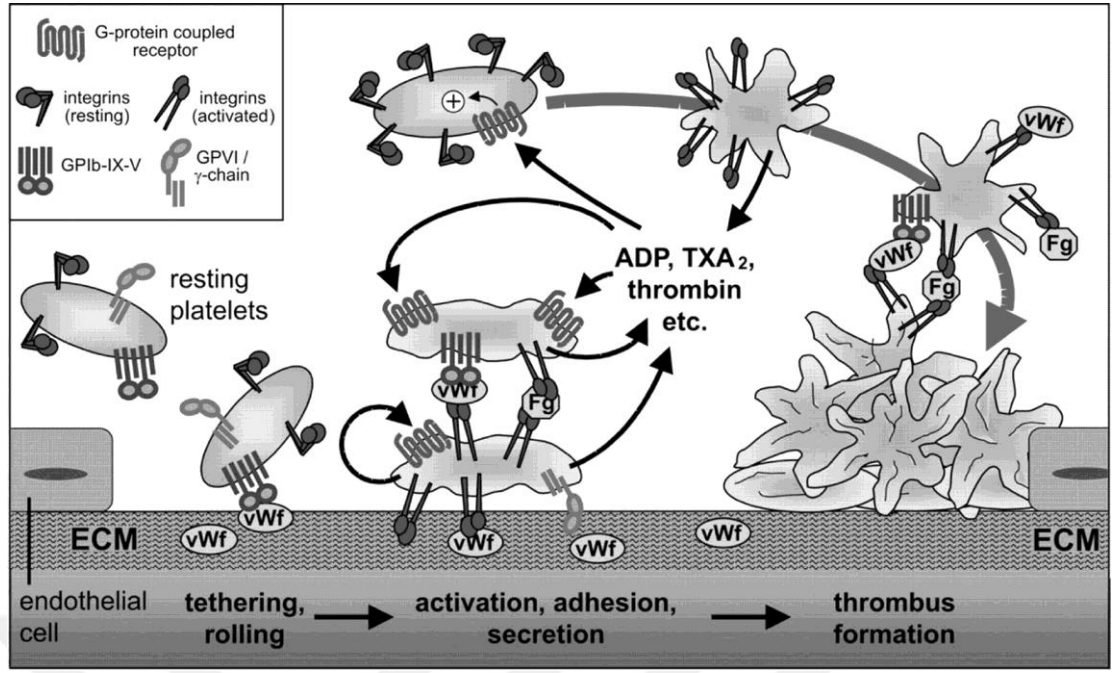


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Platelet Fizyolojisi

Plateletler uzun eksen 2-4 μm , hacmi 5-12 fl olan, megakaryositlerin sitoplazmalarından meydana gelmiş disk şeklinde hücrelerdir. Plateletlerin normal ve patolojik hemostazda, inflamasyonda, immün savunmada, yara iyileşmesinde ve tümör metastazı gelişiminde önemli rolleri vardır [12]. Plateletler çekirdeksiz hücrelerdir ve hacminin yaklaşık %20' sini granüller oluşturmaktadır. Bunlardan α granülleri fibrinojen, fibronektin, faktör 5 ve 8, platelet faktör 4, platelet kökenli çoğalma faktörü (PDGF) ve transformasyonu sağlayan çoğalma faktörü α (TGF α) içerirler. Diğer granüller ise yoğun cisimcikler veya delta granülleri olarak isimlendirilirler ve adenin nükleotidleri (ADP ve ATP), iyonize kalsiyum, serotonin, histamin ve epinefrin içermektedirler [13].

Plateletlerin pıhtı oluşumunda 3 önemli fonksiyonu mevcuttur. Bunlar adhezyon, sekresyon ve agregasyondur. Plateletler hasar görmüş bir damardaki subendotelyal dokuyla temas etikleri zaman GPIIb/IIIa reseptörleri aracılığıyla açığa çıkmış olan kollajene, GPIIb/IX-V reseptörleri aracılığıyla ise von willebrand faktöre (vWF) tutunurlar [14]. Plateletler ekstrasellüler matrikse doğrudan yapışabilirlerde vWF bu tutunmayı kolaylaştırır ve güçlendirir (Şekil 1) [15].



ADP: Adenin difosfat, ECM: Ekstraselüler matriks, Fg:Fibrinojen, TXA₂:Tromboksan A₂

Şekil 1: Von willebrand faktörün vasküler hasar bölgesinde trombosit agregasyonu üzerindeki rolü.

Subendotelyal vWF GPIb/IX/V reseptörü aracılığı ile hasar bölgesinde platelet ile ECM arasında bağlanmayı kolaylaştırmakta. Plazma vWF ise GPIIb/IIIa reseptörlerine bağlanarak platelet agregasyonunu ve thrombus oluşumunu indüklemekte.

Genetik olarak vWF'nün eksikliği veya reseptörlerinin yokluğunda (von Willebrand hastalığı) ciddi kanamaların olması bu etkileşimin önemini ortaya koymaktadır [13]. Subendotelyal dokuya yapışan plateletler biçim değiştirir ve aktive olurlar. Granül içeriklerini ortama sekrete ederler. Salınan ADP, TXA₂, epinefrin ve serotonin diğer plateletlerinde aktive olmasına ve lezyon bölgesinde kümeleşmesine neden olur [15-18]. Plateletlerin bu medyatörler aracılığıyla uyarılması, yüzey reseptörü GP IIb/IIIa reseptörlerinde fibrinojene bağlanmasını sağlayacak yapı

değişikliği oluşturur. Fibrinojen eşzamanlı olarak iki GpIIb/IIIa reseptörüne bağlanabilir ve her platelet yüzeyinde yaklaşık olarak 40000 ile 80000 arasında GpIIb/IIIa reseptörü bulunur. Bu sayede fibrinojen aracılığıyla aktivasyon bölgesinde büyük platelet agregatları oluşur [19, 20].

Pıhtılaşma sisteminin de aktive olmasıyla trombin açığa çıkar. Trombin platelet yüzey reseptörlerine bağlanarak daha fazla plateletlerin aktive olmasını ve fibrinojenden fibrin oluşumunu uyararak, platelet agregatı ve fibrinden oluşan pıhtı oluşumunu sağlar.

2.1.1. Platelet Agonistleri

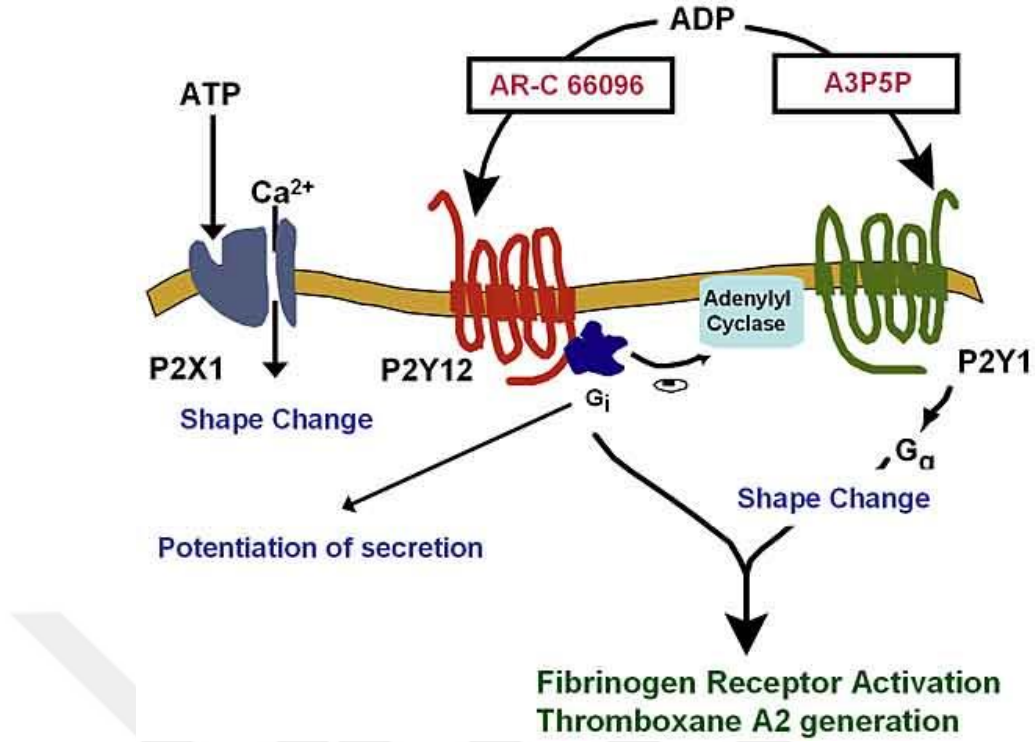
2.1.1.1. Adenozin Difosfat (ADP)

ADP ilk tanımlanan platelet agonistidir. Normal koşullarda plazmada bulunmaz ve vasküler hasar durumlarında eritrositler ve endotel hücrelerinden serbestleşir [21]. Plateletlerin yoğun granülleri önemli ADP kaynaklarıdır ve plateletler aktive olduğunda ortama salınırlar.

ADP etkisini platelet yüzeyindeki iki tip reseptör üzerinden gösterir (Şekil 2) [22].

1-İyon kanalı yapısında P2X reseptörleri

2-G protein aracılı P2Y resptörleri (P2Y1-P2Y12)

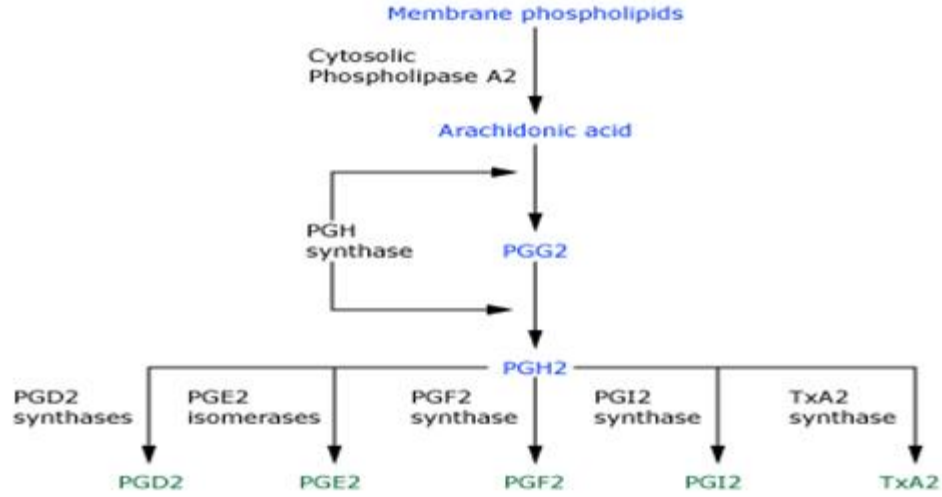


Şekil 2: ADP aracılı reseptör aktivasyonu ve ikincil mesajcı sistemi.

P2X reseptörleri ATP bağımlı Ca kanallarıdır ve uyarıldıklarında platelet içerisine hızlı Ca akımına izin veriler. P2Y1 aktive olduğunda fosfolipaz C yi aktive eder ve bu da platelette şekil değişikliğini tetikler. P2Y12 ise Gi ye bağlanır ve adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder. P2Y12 reseptörünün uyarılması TXA₂ üretimi, trombosit α granül içeriğinin serbestleşmesine ve trombosit hücre zarında bir adezyon molekülü olan P-selektinin hücre zarında dışavurumuna neden olur [23].

2.1.1.2. Tromboksan A2

TXA2 membran fosfolipitlerinin fosfolipaz A2 enzimi ile katalizinden oluşan araşidonik asitten üretilir (Şekil 3).

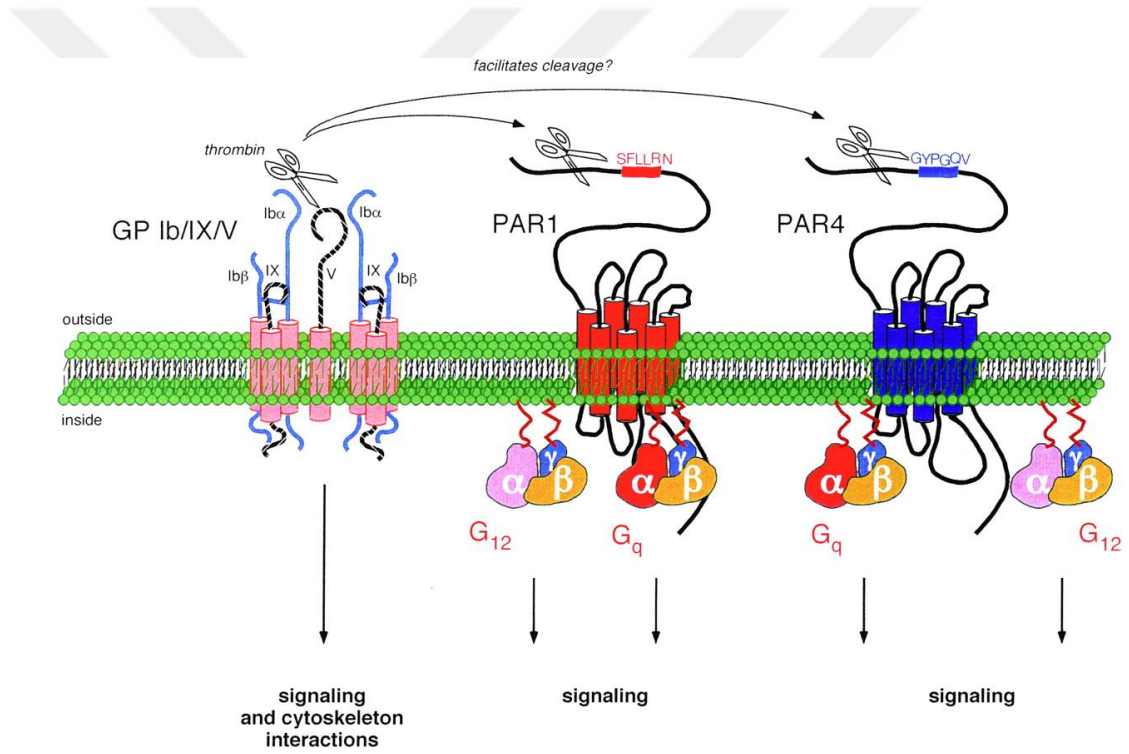


Şekil 3: Prostaglandin ve Tromboksan A2 sentezi

TXA2 çok kısa yarı ömürlü (30sn) bir aracı olması nedeniyle yalnızca üretildiği hücrenin etrafında parakrin ve otokrin etki gösterir [24]. Hızla non-enzimatik olarak inaktif TxB2'ye hidrolize edilir. TXA2 etkisini α ve β alt tipleri bulunan TP reseptörleri üzerinden oluşturur. Her iki reseptör alt tipi de fosfolipaz C enzimini aktive etmek suretiyle sekonder aracılar inositol 1,4,5 trifosfat ve diaşilgliserol üzerinden etkilerini ortaya çıkarır. Bununla birlikte her iki reseptör alt tipinin siklik adenosin monofosfat (cAMP) üzerinde ters etkileri vardır. α alt ünitesi cAMP düzeyini artırırken β alt ünitesi ise azaltmaktadır [25-28]. TXA2 güçlü bir vasokonstriktör ve platelet agonistidir.

2.1.1.3. Trombin

Trombin serin proteaz yapısında, koagülasyon kaskadında protrombinin proteolizi sonucunda oluşan bir enzimdir. Fibrin oluşumu görevinin yanında, güçlü bir platelet uyarıcısıdır. Bununla birlikte vasküler kas tonunun düzenlenmesinde, düz kas hücrelerinin çoğalması ve göçünde, inflamasyonda [29-32], angiogenezde [33] ve embriyonik gelişimde [34] rolü vardır. Trombin etkisini PARs (Proteaz ile aktive olmuş reseptörler) üzerinden gösterir (Şekil 4) [35].



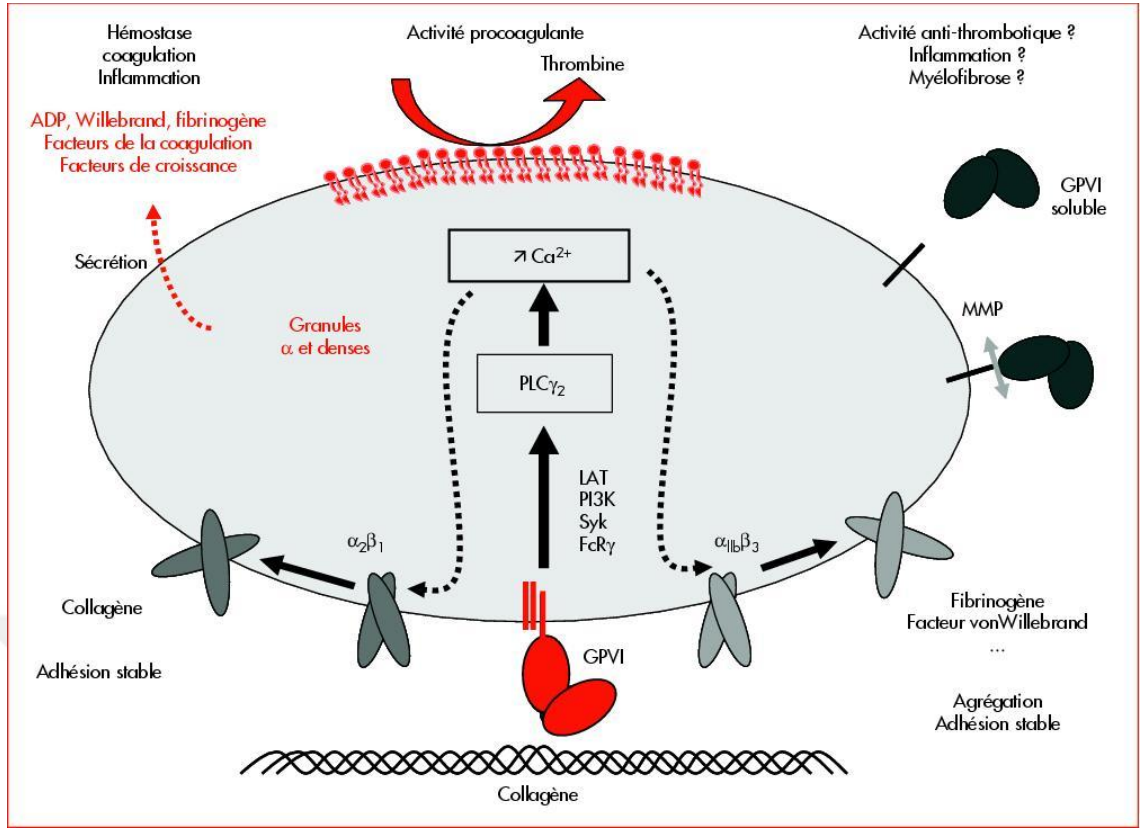
Şekil 4: Trombin reseptörleri ve ikincil haberleşme sistemi.

Dört tür PAR reseptörü tanımlanmıştır. PAR1 ve PAR4 insan plateletlerinde bulunan trombin reseptörleridir. Trombin bu reseptörlerin hücre dışı yüzeylerinde proteolize neden olur ve bu reseptörleri aktive eder. Gq ikincil haberleşme sistemi aracılığıyla hücre içi Ca seviyesini artırır.

Ayrıca trombin plateletlerdeki von Willebrand reseptörü (GP1b/IX) α alt ünitesine bağlanarak platelet aktivitesini başka bir yolak üzerinden de artırır. Bu bağlanma trombinin PAR reseptörleri üzerindeki etkisini artırır [35].

2.1.1.4. Kollajen

Damar endoteli herhangi bir nedenden ötürü hasar gördüğünde plateletler kollajen ile temas ederler ve aktifleşirler. Platelet yüzeyinde kollajene bağlanan birden fazla reseptör bulunsa da adezyonda en önemli reseptörün GP1a/2a, agonist etkilerden sorumlu reseptörün ise GPVI olduğu kabul görmüştür [36]. GPVI platelet membranında immunglobin reseptör ailesine ait bir molekül olan Fc reseptör γ zinciri ile birlikte eksprese edilir. GPVI kollajen ile uyarıldığında reseptörde tirozin kinaz ile oluşturulan fosforilasyona neden olur. Bu ise sonuçta fosfolipaz C nin aktivasyonu ile sonuçlanan kaskatı başlatır [37]. Bu şekilde uyarım, ikincil haberci olarak G proteinlerini kullanan diğer agonistlerden farklılık gösterir (Şekil 5) [38].



Şekil 5: Plateletlerin kollajen tarafından GPVI reseptörü aracılığıyla uyarılma yolu.

2.1.1.5. Epinefrin ve Shear Stress

Epinefrin plateletler üzerindeki etkisini α_2 reseptörleri üzerinden cAMP düzeyini azaltarak gösterir. Zayıf bir agonisttir. Tam bir platelet agregasyonu için diğer agonistlere ihtiyaç duyar [39]. Düşük dozlarda, plateletlerin shear strese bağlı aktivasyon eşiğini düşürerek etkisini gösterir [40].

Yüksek shear stress, vWF'ün GP1b/IX-V bağlanmasını ve hücre içi kalsiyum düzeyinin artmasının sağlayarak, protein kinaz G aktivasyonu üzerinden MAP (Mitojen-activated protein) kinaz oluşumunu indükleyerek ve GPIIb/IIIa reseptörlerini aktive ederek plateletleri aktive eder [39].

2.2. Platelet Fonksiyon Testleri

Platelet fonksiyon testleri, kardiyoloji pratiğinde antiplatelet tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [41]. Bu testler agonist ile aktive edilen plateletlerin oluşturduğu agregatların ölçümü esasına dayanır. Klinik çalışmalarda platelet fonksiyon testleri ile aspirin yada klopidoğral direnci tespit edilmiş olan hastalarda, koroner ve serebrovasküler hastalık sıklığı artmış bulunmuştur [42-44].

Güncel platelet fonksiyon testleri şunlardır:

- 1-Platelet Agregometrilere (Optik ve İmpedans Agregometrilere)
- 2-VerifyNow
- 3-Platelet function analyzer-100
- 4-Flow sitometri
- 5-Plateletworks
- 6-TEG platelet mapping sistem
- 7- İmpact cone and Plate(let) analyser

2.2.1. Turbidimetrik Platelet Agregasyonu (Optik Agregometri)

“Light Transmission Agregometry-LTA” olarak bilinir. Antiplatelet etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan en eski ve yaygın yöntemdir [45]. Klinik çalışmalarda en sık kullanılmış olan testtir. Plateletler çeşitli agonistler (ADP,

araşidonik asit, kollajen, epinefrin, trombin, ristosetin) ile uyarılarak agregasyon incelenir. Oluşan agregatlar transmittansı arttırır. Buna bağlı olarak cihaz ile ölçüm yapılır. Bu test altın standart olarak değerlendirilir fakat bu testin plateletten zengin ve yüksek örnek hacim gerektirmesi ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları vardır [46].

- **İmpedans Agregometri**

Bu test , agonist tarafından aktive edilen plateletlerin oluşturduğu agregatların iki elektrot arasındaki rezistansı arttırma prensibine dayanır. Akım gücündeki azalma, direkt olarak agrege olan trombosit sayısı ile doğru orantılıdır. Teknik olarak impedans agregometri ve optik agregometri aynı şeyi ölçerler fakat impedans agregometrinin trombositten zengin plazma gerektirmemesi ve daha fizyolojik olması major avantajlarıdır [45].

2.2.2 VerifyNow

VerifyNow(VN) (Accumetrics), eskiden Ultegra rapid platelet function analyzer (RPFA) olarak bilinmekteydi. Bu teste fibrinojen kaplı boncuklar ADP, arşidonik asit, TRAP (Trombin reseptörünü aktive eden peptit) gibi agonistler ile birlikte karıştırıcı odada bulunur. VN sistemi içinde bulunan fibrinojen kaplı çubuklar, GpIIb/IIIa bağımlı sinyal mekanizmalarını güçlendirir [47]. Tam kan karıştırıcı bölme eklendiğinde plateletler buradaki agonistler tarafından aktive edilir ve fibrinojen boncuklar üzerinde platelet agregatları meydana gelir. Daha sonra optik agregometriye benzer şekilde ışığın odayı geçmesi ile saptanabilen,

agregasyona bağlı ışık geçirgenliğindeki değişiklik ile agregasyon oranı belirlenir [48]. Bu testin en büyük avantajları hızlı ve kolay uygulanabilir olmasıdır.

2.2.3. Platelet Function Analyser-100 (PFA-100)

PFA-100 in-vitro kanama zamanı cihazı olarak kabul edilir [49]. Bu teste yapay olarak vasküler sistem taklit edilir ve yapay damarın rezervuar, kapiller ve merkezi açıklık içeren biyolojik membran olmak üzere üç kısmı vardır. Membran açıklığı kollajen, ADP ve epinefrin ile kaplanmıştır ve hasarlı damar duvarını temsil eder. Rezervuar kısımdaki kan negatif basınç ile kapillere ve açıklık içeren membrana doğru hareketlendirilir. Burada agrege olan plateleler akımı zamanla azaltır ve durdururlar. Kan akımının tamamen durmasına kadar geçen süre kapanma zamanı olarak hesaplanır [45]. Bu testin hızlı okunması, hazırlığa gerek olmadan yapılabilmesi ve tam kanda çalışılabilir olması avantajlarıdır. En önemli dezavantajları ise kapanma süresinin vWF ve hematokrite olan bağlılığıdır [50].

2.2.4. Flow Sitometri

Flow sitometri yönteminde spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak platelet yüzeyinde eksprese olan proteinler ölçülür. Bu test klinikte en sık olarak platelet yüzey glikoproteinlerinin genetik eksikliğinin tanısında kullanılır. Flow sitometri trombosit yüzeyinde GP1b (Bernard-Soulier sendromu) [51] ve GPIIb/IIIa'nın (Glanzman trombastenisi) [52] azalmış ekspresyonunu ya da yokluğunu tespit edebilir. Bunun yanında bu yöntem platelet aktivasyonun değerlendirilmesinde,

antiplatelet ilaçlara yanıtın tespitinde ve trombopoezin monitörizasyonunda kullanılır [53].

GpIIb/IIIa fibrinojen reseptörleri normalde platelet yüzeyinde bulunur ve platelet aktivasyonu ile beraber bu reseptörlerde yapısal değışiklikler meydana gelir. Bu durumda spesifik monoklonal antikor olan, PAC-1 GpIIb/IIIa reseptörlerine bağlanır ve bunun gösterimi sayesinde aktivasyon düzeyi tespit edilebilir [54].

Plateletler aktive olduğu zaman degranüle olur. Normalde, istirahat halinde alfa-granül membranında bulunan P-Selektin, degranülasyon işlemi ile birlikte platelet yüzey mebranına taşınır. P-Selektin eksprese eden plateletler glikoprotein ligand 1 reseptörü aracılığıyla lökositlere de bağlanıp agregatlar oluşturabilir [55]. Monoklonal antikor kullanılarak P-selektin ve platelet-lökosit agregatları tespit edilebilir. Bu yöntemin avantajları tam kanda, düşük hacimde ve trombositopenik hastalarda da çalışılabiliyor olmasıdır [53].

Bir diğeri flow sitometrik ölçüm VASP fosforilasyonunun gösterilmesidir. VASP (Vazodilatör ile uyarılan fosfoprotein) platelet agregasyonunda önemli rol oynayan aktin düzenleyici bir proteindir [56]. Nitrik oksit ve prostoglandin E1 bu proteinin fosforilasyonu aracılığıyla antiagregan etki gösterir. ADP ise P2Y12 reseptörleri üzerinden Gi ikincil mesajcı yolağı kullanarak adenilaz siklaz enzimini inhibe eder ve VASP fosforilasyonuna engel olur. P2Y12 antagonistleri ise bu etkiyi inhibe eder, böylece fosforile VASP miktarı P2Y12 antagonizmasının derecesini gösterir [57]. VASP ölçümünün önemli bir avantajı, ölçümün direk olarak klopidoğrelinin hedefi (P2Y12) ile ilişkili olmasıdır.

2.2.5. Plateletworks

Özellikle kardiyopulmoner bypass ve kardiyak kateterizasyon yapan merkezlerde agregasyonun hızlı bir şekilde değerlendirilebilmesi için planlanmıştır. Kan örneğinde fonksiyonel trombositlerin agregasyonuna bağlı olarak trombosit sayısında oluşan değişiklikleri tespit eder. Tam kanda ve az örnek hacmi ile çalışılabilir. En önemli dezavantajı yeterli klinik çalışmasının olmamasıdır [47].

2.2.6. TEG Platelet Mapping sistem

Tromboelastografi (TEG) yaklaşık 50 yıl önce geliştirilmiş olmasına rağmen, hemostatik değişikliklerin çok hızlı olduğu olgularda, acil sonuç elde etme gereksimi nedeniyle günümüzde platelet fonksiyon testi olarak güncellenmiştir. Bu yöntemde, örneğe reptilaz ve Faktör XIII eklenmesi ile heparinize kanda zayıf bir pıhtı üretilir. Platelet agonistlerinin eklenmesi ile pıhtı güçlülüğü önemli ölçüde artar. Bu şekilde test ile platelet fonksiyonlarının yanında, pıhtı gücüne plateletlerin katkısıda gösterilebilir [58]. Tam kanda çalışılabilir. Yeterli klinik çalışması yoktur.

2.2.7. Impact cone and plate(let) analyzer:

Bu teste tam kan standardize shear strese maruz bırakılır ve oluşan agregasyon cihaz tarafından ölçülür [47]. Koroner arter hastalığı olanlarda shear stres önemli bir platelet aktifleyicisi olması nedeniyle bunun taklidi önemli bir özelliğidir

[59]. Tam kanda, düşük volümde hızlı bir şekilde çalışılabilir. Henüz yaygın olarak test edilmemiştir. Bu test ile ilgili kapsamsı çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.3. Diyabetes Mellitus ve Platelet Fonksiyonları

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Diyabet sınıflamasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunlardan üçü (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve Gestasyonel DM) primer, diğeri (spesifik diyabet tipleri) ise sekonder diyabet formları olarak bilinmektedir [60].

Diyabetli hastalarda (KVH) en önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Diyabet dünya genelinde yaklaşık 285 milyon kişiyi etkilemekte, kardiyovasküler nedenli ölümlerin önemli bir nedenini oluşturmaktadır [61]. Tip 2 diyabeti olan hastalar sağlıklı bireylere göre 2 ila 4 kat arası daha fazla serebral, koroner ve periferik vasküler hastalık geçirme riski altındadırlar [62-63]. Diyabetik hastalarda ateroskleroz daha erken yaşlarda ortaya çıkar, multisegmenter tutulumlu ve daha yaygındır. Koroner arter hastalığı öyküsü olmayan diyabetik hastaların akut koroner sendrom geçirme riski, daha önce myokart enfartüsü geçirmiş olan non-diyabetik hastalarla aynı bulunmuştur [64].

Diyabet kardiyovasküler hastalık gelişiminde birçok mekanizma aracılığıyla rol oynar. Diyabet ve buna eşlik eden metabolik disfonksiyon bundan sorumludur. Endotel disfonksiyonu, platelet aktivasyonu, insülin resistansı ve hiperglisemi aterosklerotik hastalık gelişimine etki eden başlıca nedenlerdir [65].

- **Endotel disfonksiyonu**

Endotel disfonksiyonu aterosklerotik hastalık gelişiminde merkezi bir rolü vardır. Endotel hücreleri damar tonusunu ve trombotik süreci kontrol etmek için hem vazodilatör (NO, PGI₂ vb.) hem de vazokonstriktif (endotelin, anjiotensin 2 vb.) ajanlar üretir ve sekrete ederler. Diyabetik hastalarda bu denge vazokonstriktif ve protrombotik ajanlar lehine bozulmuştur [66]. Hiperglisemi eNOS enzim aktivitesini inhibe ederek ve reaktif oksijen türevi oluşumuna neden olarak nitrik oksit (NO) üretimini azaltır. Reaktif oksijen türevleri bunun yanında transkripsiyon faktörü κ B (NF κ B) ve aktivatör protein-1 (AP-1) aracılığıyla endotel hücrelerinde ve düz kaslarda proinflatuar ve adezyon moleküllerinin üretimini artırır [67].

- **Platelet Aktivasyonu**

Plateletler vasküler hasar durumlarında adezyon ve sekresyon aracılığıyla trombotik süreci başlatması nedeniyle merkezi role sahiptir. Bu özelliklerinden ötürü aterosklerotik hastalıkların önlenmesinde, plateletler primer tedavi hedefi haline gelmiştir. Plateletlerin diyabetik hastalarda artmış TXA₂ üretimi ve aktivasyonu çalışmalarda gösterilmiştir [68-69]. Bunun yanında diyabetiklerde doğal vasodilatör ve antiagregan ajanlar olan NO ve protosikline (PGI₂) karşı azalmış platelet yanıtı izlenmiştir [70-71]. Diyabetik hastalardaki bu platelet hiperaktivitesinde endotel disfonksiyonu, hiperglisemi, oksidatif ajanlar gibi birden çok etyolojik faktörün etkisi söz konusudur.

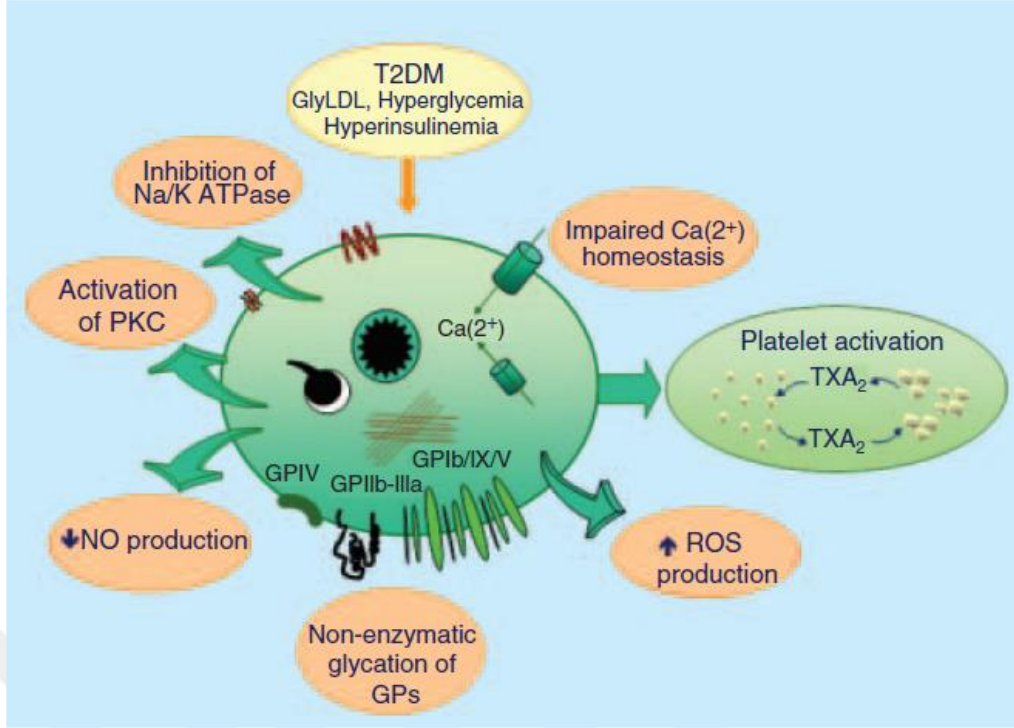
- **İnsülin rezistansı**

Tip 2 diyabet tüm diyabet olgularının yaklaşık %90-95' ini oluşturmaktadır ve dokuların insüline azalmış yanıtı ile karakterizedir. İnsülin plateletler üzerindeki düzenleyici etkisini direkt olarak insülin reseptörleri üzerinden gösterir [72]. Sağlıklı bireylerde insülin plateletler üzerindeki reseptörüne bağlandığında reseptörde otofosforilasyona neden olur ve hücre içi cAMP düzeyini arttıracak kaskadı başlatır. cAMP düzeyinin artışı platelet aktivasyonunu baskılar [73].

İnsülinin, plateletlerin ADP, kollajen, trombin, TXA2 gibi agonistlere olan yanıtını azalttığı kabul görmektedir [74]. Ayrıca insülin platelet membranında PGI2 reseptör sayısını da artırarak antitrombotik etkiye katkıda bulunur [75]. Tip 2 diyabetik hastalarda azalmış insülin sensivitesi ile sonuçlanan, platelet yüzeyindeki insülin reseptörlerinin sayısında ve afinitesinde azalma gösterilmiştir [76]. Azalmış insülin duyarlılığı cAMP düzeyinin azalmasına, artmış hücre içi CA konsantrasyonuna ve platelet aktivasyonuna neden olmaktadır [77].

- **Hiperglisemi**

Hiperglisemi, postprandiyel daha önemli olmak üzere, diyabetle ilişkili kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde ve protrombotik durumun oluşmasında önemli rol oynar [78]. Hiperglisemi platelet aktivasyonunu birden çok mekanizma üzerinden sağlamaktadır (Şekil 6).



GP: Glikoprotein, ROS: Reaktif oksijen türevleri, PKC: Protein kinaz C

Şekil 6: Hipergliseminin platelet fonksiyonları üzerine etkisi.

Akut ve kronik hiperglisemi, bazı agonistlerin de etki göstermesinde aracı enzim olan protein kinaz C yi (PKC) aktive eder ve platelet aktivasyonunu sağlar [79]. Kronik hiperglisemi proteinlerin enzimatik olmayan yol ile glikolizasyonlarına, bunun sonucu olarak da glikolizasyon son ürünlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Bu glikolizasyon son ürünleri platelet membranına direkt toksik etkide bulunurlar. Membran akışkanlığını azaltırlar ve plateletlerin agonistlere olan duyarlılığını arttırlar [80]. Hiperglisemi platelet membranında P selektin ve GPIIb/IIIa gibi adezyon moleküllerinin de artmış ekspresyonuna neden olur [81].

Diyabetik hastalarda sıklıkla lipid metabolizma bozuklukları da birlikte bulunmaktadır. Hiperglisemi enzimatik olmayan yol ile düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) molekülünün glikolizasyonuna neden olur. Oluşan bu glikolize

LDL, NO üretimini etkileyerek ve intrasellüler kalsiyum düzeyini arttırarak platelet aktivasyonuna neden olur [82].

- **Oksidatif Stres ve İnflamasyon**

Diyabetik hastalar sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldıklarında artmış inflamasyon ve oksidatif stresin altındadırlar [83]. İnflamasyon ve oksidatif stres diyabetik komplikasyonların gelişiminde önemli etyolojik faktörlerdir. Hipergliseminin kendisi direkt olarak glukoz metabolizması üzerinden, indirekt olarak ise glikolize son ürünler aracılığıyla reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu arttırır. Bu radikaller PKC enzimini aktive ederler ve NFκB proteini üzerinden plateletlerde adezyon protein üretimini arttırırlar [84]. Oksidatif stresin bir göstergesi olan ve araşidonik asidin enzimatik olmayan peroksidasyonu sonucu oluşan 8-iso-prostaglandin F2α (8-iso-prostane), diyabetik hastalarda yüksek seviyelerde bulunmuştur. 8-iso-prostane vasokonstriksiyona neden olur ve plateletlerin düşük dozda agonistlere yanıt vermesini kolaylaştırır [85].

İnflamasyon endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir ve kollajene yanıtta görev yapan Fcγ-RIIA reseptörü gibi platelet aktivasyonunu sağlayan proteinlerin sentezini arttırır [86]. Oksidatif stres ve inflamasyon durumlarında hızlı platelet turnoveri nedeniyle dolaşımda immatür plateletler izlenir. İmmatür plateletler daha aktiftirler ve aspirin ve klopidoğrel gibi antiplatelet tedavilere azalmış yanıt ile ilişkilidirler [87].

2.4. Aspirin Direnci

Araşidonik asit plateletlerde COX1ve tromboksan sentaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlarla tromboksan A2 ye çevrilir. Aspirin (asetilsalisilik asit) siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimini inhibe eder ve sonuç olarak TXA2 düzeyini azaltarak antiagregan etki gösterir [88].

COX1 inhibisyonu hızlı, düşük dozlarla sağlanabilen, geri dönüşümsüz ve plateletlerin protein sentez kapasitesi olmamasından ötürü plateletlerin yaşam döngüsü boyunca süregelen bir inhibisyonudur [45].

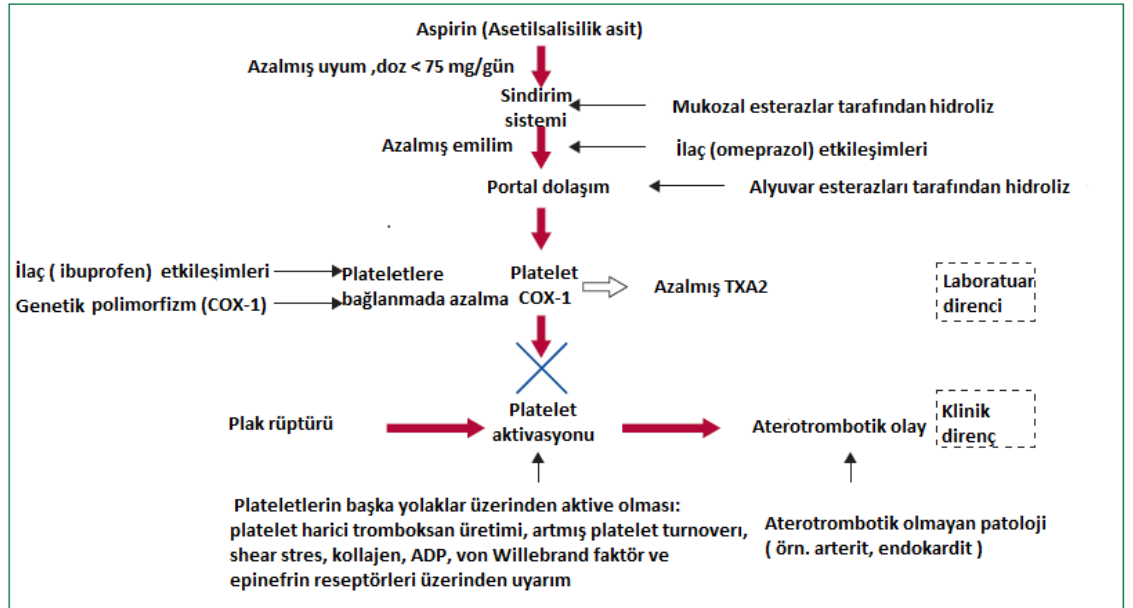
Aspirinin etkisini değerlendirmek için platelet fonksiyon testleri kullanılmaktadır. Ayrıca vücuttaki TXA2 üretimi, metabolitleri olan tromboxane B2'nin serumda, 11-dehydro tromboksane B2'nin ise idrarda ölçülmesi ile tespit edilebilir. Serum tromboksan B2 düzeyi büyük oranda plateletlerdeki COX1 aktivitesine bağlı olduğu için bu ölçüm aspirinin plateletler üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek için kullanılmaktadır [89].

Aspirin direncini değerlendirmek için yapılan laboratuvar testlerinin bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Tromboksan A2 aterosklerotik plak içerisinde bulunan monosit ve makrofajlar tarafından COX2 ve tromboksan sentaz aracılığıyla üretilir. Bu hücrelerde COX2 aktivasyonuna kardiyovasküler hastalığa eşlik eden proinflamatuvar sitokinler neden olmaktadır [90]. Bunun yanında platelet turnoverinin hızlı olduğu durumlarda (enfeksiyon, inflamasyon vs.) immatur plateletler dolaşıma karışır ve bu plateletlerde COX2 aracılığıyla TXA2 üretebilir [91]. Bütün bunlar serumda TXA2 ölçümü yoluyla aspirin direncini araştıran yöntemlerin değerini kısıtlar. Araşidonik asitin agonist olarak kullanıldığı platelet fonksiyon testlerinin ise

plateletlerin kollajen, ADP, epinefrin, trombin gibi başka agonistler tarafındanda aktive edilebilmesi nedeniyle spesifiteleri düşüktür [92].

Yapılan klinik çalışmalarda, aspirin direnci tespit edilmiş olan hastalarda kardiyovasküler olay sıklığı daha fazla bulunmuştur [42, 93, 94].

Aspirin direnci, laboratuvar direnci ve klinik direnç şeklinde 2 şekilde tarif edilebilir. Laboratuvar aspirin direnci, aspirinin tromboksan A2 üretiminin inhibisyonunda başarısız kalması ve buna bağlı olarak platelet fonksiyon tetlerinde bunun tespit edilmesi ile tarif edilirken, klinik aspirin direnci ise aspirinin aterotromboembolik olayları engellemede başarısız olması şeklinde tanımlanır [95]. Aspirin direnci farklı mekanizmalar aracılığıyla gelişebilir (Şekil 7) [91].



Şekil 7: Aspirin direncinin olası mekanizmaları.

Çalışmalarda %40 varan oranlarda kardiyovasküler hastalığı olanların aspirin tedavisine zayıf uyum gösterdiği gösterilmiştir [96-97]. Doktorlar tarafından sıklıkla

ihmal edilebilen tedaviye zayıf uyum aspirin tedavisine yanıtınlığının sık bir nedenidir.

Yapılan randomize klinik çalışmalarda 75 mg/gün ile 1300 mg/gün arasında değışen aspirin dozları placebo ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalarda bu doz aralığında aspirin etkisinde farklılık olmadığı fakat yan etki sıklığının artan dozlarla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda aspirinin etkisi kardiyovasküler olayı engelleme başarısı şeklinde tanımlanmıştır [98-100]. Aspirin etkisinin direkt olarak platelet fonksiyon testleri aracılığıyla karşılaştırıldığı çalışmalarda ise 300 mg/gün aspirin dozunun 100 mg/gün aspirinden daha fazla platelet inhibisyonu sağladığı tespit edilmiştir fakat bunun klinik olaylar ile korelasyonu gösterilememiştir [101-103].

Aspirin zayıf asidik ve lipofilik özelliğinden dolayı mideden ve duodenum mukozasından kolay emilir. Mukozadan emilim sürecinde ve portal dolasında aspirinin bir kısmı esterazlar tarafından inaktif form olan salisilik asite çevrilir [104]. Kişiler arasında mukozal esteraz aktivitesi farklılık gösterir ve bu farmokinetik farklılık bazı hastalarda düşük doz aspirin direncine neden olabilir [105]. Ayrıca aspirin ile birlikte kullanılabilen proton pompa inhibitörleri mukozal esterazların etkinliğini artırır ve bu da aktif form olan asetilsalisilik asitin emiliminde azalmayla sonuçlanır [106].

Ibuprofen, indometazin gibi non-steroid antiinflatuar ilaçlar, aspirinin COX-1'e bağlanmasına engel olurlar ve bu şekilde aspirinin antiplatelet etkinliğini azaltırlar [107]. Non-steroid ilaçlar aspirin ile birlikte kullanımında kanama komplikasyonlarını da artabileceğinden ötürü birlikte kullanımdan kaçınılmalıdır.

Tromboksane A2 platelet haricinde monositlerde ve makrofajlarda, COX-2 ve tromboksane sentez aracılığıyla sentezlenebilir. Bu reaksiyon COX-2 enziminin upregüle olduğu inflamatuvar durumlarda meydana gelir [108].

Aspirine duyarsız tromboksan sentezi artmış F2-isoprostan düzeyi ile ilişkilir. F2-isoprostanlar, araşidonik asidin serbest radikallerin katalizlediği enzimatik olmayan peroksidasyonu sonucu oluşurlar [109]. Sigara kullanımı, diyabet, hiperlipidemi ve unstabil anjina klinik tabloları isoprostan sentezinde artışa neden olur [110-111]. Bu etki klasik kardiyovasküler risk faktörleri ile platelet aktivasyonu arasındaki mekanizmayı açıklar [112-115].

Koroner arter bypass cerrahisi, enfeksiyon ve inflamasyon gibi durumlarda artan platelet turnoveri dolaşıma aspirin etkisi altında olmayan immatür plateletlerin karışmasına neden olur. Bu plateletler daha büyük ve aktiftirler ve aspirinin etkisinde azalma ile ilişkilidirler [105].

Aspirin tedavisi altındaki hastalarda uzun dönemde platelet agregasyon inhibisyonunda azalma olduğu bildirilmiştir [117-118]. Bu öncesinde aspirin kullanan hastalarda artan kardiyovasküler olay sıklığı ile tutarlı bir bulgudur [119]. Uzun dönem kullanımında aspirin etkisinde oluşan azalmanın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bunun aterosklerozun ilerlemesi yada yada azalmış kompiansla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

COX-1, COX-2 ve diğer platelet genlerini içeren tek nükleotid polimorfizmleri plateletlerin aspirin yanıtlarını etkileyebilir [120-121]. Epidemiyolojik çalışmalarda laboratuvar testleri ile belirlenen antiplatelet ilaç yanıtındaki varyasyonun yaklaşık olarak üçte birinin genetik kökenli olduğu gösterilmiştir [122]. Tromboksan sentez yolağı ile ilişkili birçok gende tek nükleotid polimorfizmi tanımlanmıştır. Fakat bu polimorfizmlerin aspirin dirençi üzerindeki etkileri belirsizdir [46].

İskemik vasküler olaylar her zaman aterotrombotik zeminde gelişmez. Arteryal disseksiyon, vaskülit ve infektif endokardit gibi tablolar iskemik olaylara neden olabilir. Aspirinin aterotrombotik olmayan durumlardaki koruyuculuğu net değildir [46]. Bu gibi tablolar klinik aspirin direncine neden olabilir.



3. ÇALIŞMA

3.1. Materyal ve Metod

3.1.1. Çalışma popülasyonu

Çalışmamıza Temmuz 2013 - Kasım 2013 tarihleri arasında Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Efor Testi Ünitesi'nde tanısal amaçlı treadmill egzersiz testi yapılan 43 tane bilinen tip-2 diyabet hastası ile 36 tane yaş ve cinsiyeti diyabetik grup ile eşleştirilmiş kontrol bireyleri dahil edildi. Kullanım süresi en az bir hafta olmak üzere çalışma popülasyonunun tümü primer koruma amaçlı günde 100 mg aspirin almaktaydılar.

Bilinen KVH öyküsü, böbrek ve karaciğer yetersizliği, aspirin harici antiplatelet ve antikoagülan kullanımı, atrial fibrilasyon varlığı ve pozitif efor testi yanıtı dışlama kriterleri olarak belirlendi. Diyabetik hasta grubundan altı, kontrol grubundan ise üç hasta bu dışlama kriterlerinin tespiti ile çalışmadan çıkarıldı.

Çalışmaya alınan diyabet ve kontrol grubunun klinik risk faktörleri sorgulandı. Boy ve kilo ölçümleri, egzersize başlamadan önce impedans agregometri ile değerlendirilen platelet fonksiyonları, tam kan ve lipid değerleri, biyokimyasal ve inflamasyon belirteçleri, spot idrarda mikroalbuminüri düzeyi, açlık kan şekeri ve HbA1c değerleri ölçüldü. Ayrıca, çalışma popülasyonundan efor testinin recovery evresinin ilk üç dakikası içerisinde impedans agregometri ile platelet fonksiyonları tekrar değerlendirildi.

3.1.2. Tanımlamalar

Tüm hastaların boy (m) ve ağırlık (kg) değerleri ölçüldü ve bu verilerden vücut kitle indexi (VKİ) $\text{Ağırlık (kg)/Boy (m)}^2$ olarak hesaplandı.

Hipertansiyon, antihipertansif ilaç kullanım öyküsü olan veya en az iki kez ölçülmüş kan basıncı değerleri kontrol grubunda $>140/90$ mmHg, diyabetik grupta ise $>130/85$ mm Hg olması şeklinde tanımlandı.

Hiperlipidemi, antihiperlipidemik ajan kullanım öyküsü olan veya diyabetik grup için $\text{LDL} > 100$ mg/dl olması, kontrol grubu için ise ESC hiperlipidemi kılavuzunun önerdiği şekilde risk faktörlerinin kombinasyonu göz önüne alınacak şekilde tanımlandı. [123].

Sigara içiciliği aktif olarak içenler veya içmeyenler şeklinde iki şekilde tanımlandı.

3.1.3. Efor testi:

Çalışma popülasyonundan efor testine ve çalışmaya katılmadan önce detaylı bilgi verilerek yazılı bilgilendirilmiş onamları alındı. Efor testi (Siemens quinton q stress tm 55 marka cihaz ile) Bruce protokolüne uygun olarak yapıldı. Tüm hastalar son aspirin dozunu efor testinden yaklaşık olarak 10-12 saat önce almıştı. Egzersiz testi semptom kısıtlı veya yaşa göre öngörülen maksimum kalp hızı kısıtlı ($220 - \text{Yaş}$) olarak yapıldı. Egzersiz testi esnasında semptom gelişmesi veya yaşa göre öngörülen maksimum kalp hızının en az %85'ine ulaşılması durumunda test sonlandırıldı.

Efor testine başlamadan önce tüm hastaların bazal sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri ve kalp hızları kaydedildi. Ayrıca pik egzersiz döneminde ve egzersiz testi sonlandırıldıktan sonraki 1. Dakikada, hem kalp hızları hem de sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri tekrar kaydedildi. Hastaların kalp hızı değişkenliği recovery evresinin 1. dakikasında hesaplandı. Hastaların efor testindeki fonksiyonel kapasiteleri METs (metabolik eşdeğer) olarak değerlendirildi.

3.1.4. İmpedans Agregometre

Platelet fonksiyonlarının ölçümü için İmpedans Agregometre (Multiplate Analyser, Dynabyte, Munich, Germany) kullanıldı. İmpedans Agregometre plateletler aracılıklı adezyon ve agregasyonu, elektriksel impedans yöntemiyle ölçen tam kanla çalışılan cihazdır. Cihaz, üzerinde birbirine paralel 5 adet kanal ve analizin yapılması için bilgisayar sisteminden oluşmaktadır. Test için hirudin içeren 4cc'lik tüplere kan alınır ve oda ısısında yaklaşık 30 dk bekletildikten sonra çalışılır. Antikoagüle kan, %0,9 NaCl (sodyum klorür) ile 1:1 oranında karıştırılır ve 3 dk. inkübe edilir. Daha sonra agonist eklenir ve 6 dakika beklenir. Aspirin etkisini değerlendirmek için agonist olarak araşidonik asit (20 µl- ASPI test) kullanılır. Test hücrelerinde 2 çift elektrot ile tüm işlem boyunca agregat olan ve elektrotlara yapışan trombositlerin meydana getirdiği direnç değişimleri kaydedilir. Elektrotlara yapışan trombositler ile artan direnç cihaz tarafından agregasyon birimine (AU) çevrilir agregasyon zaman grafiği çizilir. Trombosit aktivitesini en iyi yansıtan parametre olan agregasyon çizgisi altında kalan alan ($AUC = \text{Eğri altındaki alan}$) hesaplanır. AUC yaklaşık 1 ohm'a karşılık gelmektedir.

3.1.5. İstatistik

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi. P değeri $<0,05$ olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi. Çalışma ve kontrol grubu karşılaştırmalarında, normal dağılan sayısal değişkenlerde student-t testi, normal dağılmayan sayısal değişkenlerde ise Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı.

Hem diyabet hemde kontrol grubunda egzersiz öncesi ve sonrası platelet fonksiyonlarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t-test kullanıldı. Platelet agregasyonundaki değişimlerin diğer parametreler ile ilişkisini araştırmak için korelasyon analizi, bağımsız değişkenlerin tespiti için ise lineer regresyon analizi yapıldı. İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Social Science) programı (Chicago versiyon14) kullanıldı.

3.2. Bulgular

Çalışma hastalarının klinik özellikleri Tablo 1' de sıralanmıştır. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından diyabetik grup ile eşleştirilmiştir. Diyabetik grubun VKİ'leri kontrol grubundan daha yüksekti. Diyabetik grupta hipertansiyon ve hiperlipidemi daha sık gözlenmiştir. Bununla ilişkili olarak da antihipertansif ve statin kullanımı daha siktir. Sigara kullanımı kontrol gurubunda daha sık olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlılık seviyesine ulaşmamıştır.

Tablo 1: Çalışma gruplarının klinik özellikleri

	Kontrol (n=36)	Diyabet (n=43)	P değeri
Yaş (yıl)	51.0±6.7	52.6±6.1	0.282
Cinsiyet (Erkek %)	50.0	44.2	0.655
VKI (kg/m²)	28.9±4.5	30.9±4.4	0.011
Hipertansiyon (%)	19.4	67.4	<0.01
Hiperlipidemi (%)	11.1	60.5	<0.01
Sigara	27.8	11.6	0.088
İlaç kullanımı (%)			
İnsülin	-	62.8	-
Oral antidiyabetik	-	95.3	-
Antihipertansif	16.7	79.1	<0.01
Statin	2.9	44.2	<0.01

VKI:Vücut kitle indeksi

Tablo 2’ de çalışma gruplarının temel laboratuvar özellikleri gösterilmiştir. Diyabetik grupta platelet sayısı daha yüksekti. Lipit panellerinin karşılaştırılmasında ise diyabetik grubun trigliserit düzeyi daha yüksek, LDL düzeyi ise kontrol gurubundan daha düşük bulundu. Bu sonucun, diyabetik gruptaki hastaların yüksek oranda statin kullanmaları nedeniyle ortaya çıktığı düşünüldü.

Tablo 2: Çalışma gruplarının laboratuvar bulguları.

	Kontrol (n=36)	Diyabet (n=43)	P değeri
Hemoglobin	13.8±1.3	13.6±1.5	0.491
Beyaz küre sayısı	7.0±1.4	7.8±1.9	0.061
Platelet	230.0±54.5	263.8±59.4	<0.05
MPV	8.1±1.0	8.3±1.3	0.562
Glukoz	98±8	144±38	<0.01
Üre	29.8±9.3	29.6±5.9	0.903
Kreatin	0.76±0.14	0.72±0.14	0.146
LDL	133±39	109±37	<0.01
HDL	48±10	45±11	0.177
TG	126±54	182±103	<0.01
Total kolesterol	208±44	191±41	0.102
Mikroalbuminüri	-	34.3 ±97.6	-
HbA1c	5.8±0.3	7.5±1.1	<0.01
Hs-CRP	0.38±0.40	0.41±0.30	0.693

MPV: Ortalama platelet hacmi, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, HDL: Yüksek dansiteli lipo protein Hs-CRP: Yüksek duyarlıklı C reaktif protein, TG: Trigliserit

Diyabet ve kontrol grupları, egzersiz testi bulguları açısından karşılaştırılmıştır. Bulgular Tablo 3.3' te özetlenmiştir. Kontrol grubunun egzersiz fonksiyonel kapasitesi ve dinlenim evresinin 1. dakikasında hesaplanan heart rate recovery'si diyabetik gruba göre daha yüksekti. Diyabetik grubunun ise sistolik kan basınçları (istirahatte, efor sürecinde ve dinlenimde) ve istirahatteki kalp hızı kontrol grubuna göre daha yüksek ölçüldü.

Tablo 3: Çalışma gruplarının efor testi bulguları.

	Kontrol (n=36)	Diyabet (n=43)	P değeri
Efor kapasitesi (METs)	12.4±1.1	11.2±1.9	<0.01
İstirahat SKB	118±18	135±18	<0.01
İstirahat DKB	75±12	77±7	0.532
İstirahat KH	80±9	87±12	<0.05
Pik SKB	164±22	192±24	<0.01
Pik DKB	77±11	76±12	0.729
Pik KH	161±13	161±14	0.841
Dinlenim SKB	140±33	165±27	<0.01
Dinlenim DKB	73±12	72±12	0.787
Heart rate recovery	31±8	26±7	<0.05

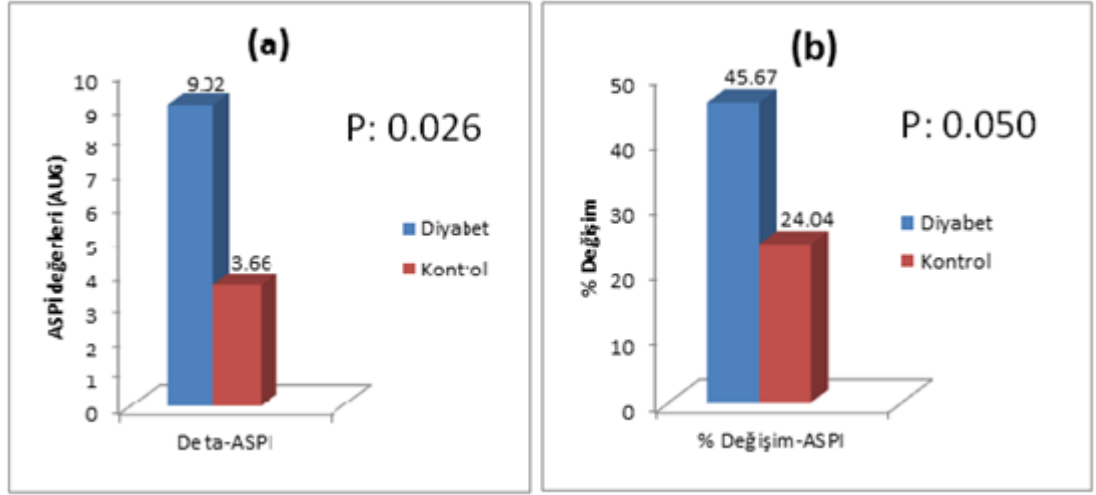
DKB:Diyastolik kan basıncı, KH: Kalp hızı, METs:Metabolik eşdeğer, SKB:Sistolik kan basıncı

Tablo 4’ te diyabetik ve kontrol gruplarının egzersiz öncesi ve sonrası araşidonik asit aracılı platelet agregasyon (ASPI) düzeyleri görülmektedir. Bazal ASPI düzeyleri her iki grupta farklılık göstermemiştir (P: 0.781). Diyabetik ve kontrol gruplarının her ikisinde de egzersiz sonrası ASPI düzeyleri anlamlı olarak artmıştır.

Tablo 4: Diyabetik ve kontrol gruplarının bazal ve egzersiz sonrası ASPI düzeyleri.

	Pre-Egzersiz	Post-Egzersiz	Δ	%	P value
Kontrol-ASPI	22.11±12.71	25.77±15.05	3.66±5.87	24.04±46.59	<0.01
DM-ASPI	22.97±14.57	32.00±21.04	9.02±13.08	45.67±49.34	<0.01

Her iki grubun delta-ASPI ve yüzde değişim-ASPI değerleri karşılaştırıldığında ise diyabetik gruptaki artışın her iki parametrede de kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. Diyabetik grupta platelet agregasyon artışı kontrol grubuna göre anlamlı fazlaydı (Şekil 8).



Şekil 8: Aspirin tedavisi altındaki diyabet ve kontrol gruplarının, egzersizle artış gösteren platelet agregasyonlarının şematik olarak karşılaştırılması.

a) Delta ASPI düzeyleri, b) % Değişim oranları.

Diyabetik ve kontrol gruplarında egzersizle alakalı olarak artan platelet agregasyonlarının diğer parametrelerle ilişkilerini değerlendirmek için korelasyon ve regresyon analizleri yapıldı. Korelasyon analizinde, kontrol grubunda delta-ASPI düzeyi ile HbA1c düzeyi arasında negatif; Hs-CRP, MPV, trigiserit ve HDL aralarında ise pozitif korelasyon tespit edildi. Regresyon analizinde Hs-CRP (P:0.02) ve MPV'nin (P:0.027) bağımsız değişkenler olduğu görüldü. Diyabetik grupta ise delta-ASPI düzeyi ile Hs-CRP, VKİ ve yaşı ile pozitif korelasyon tespit edildi. Regresyon analizinde VKİ'nin (P:0.042) bağımsız değişken olduğu görüldü.

3.3. Tartışma

Plateletler akut koroner sendromların ve aterosklerotik vasküler hastalıkların trombotik komplikasyonlarının patogeneğinde santral rol oynarlar. Bu nedenle önemli bir kardiyovasküler morbitite ve mortalite nedeni olan diyabette platelet fonksiyonlarına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda diyabetiklerde artmış platelet aktivasyonu ve antiplatelet ajanlara azalmış yanıt gösterilmiştir [2-4, 92, 124]. Bu artmış olan platelet aktivasyonundan birden çok mekanizma sorumlu tutulmuştur. Bunlar hiperglisemi, insülin rezistansı, oksidatif stres, kronik inflamasyon ve shear stres olarak sıralanabilir [65].

Platelet aktivasyonuna ve buna sekonder akut kardiyovasküler olaylara neden olabilecek önemli bir neden de akut egzersizdir [5]. Egzersiz sempatik desanj yoluyla plazma katekolamin düzeyini yükselterek ve kan akımını ve basıncını arttırması ile de shear stresi arttırarak platelet aktivasyonuna neden olur [6]. Ayrıca Wallen ve ark. [7] egzersizde plateletlerin trombine olan duyarlılığının ve trombin üretiminin arttığını da göstermişlerdir. Fakat günümüzde egzersiz ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin Hu ve ark. [125] yaptıkları çalışmada, maksimal egzersiz yapan tip-1 diyabetlilerde flow sitometri ile platelet fonksiyonlarını değerlendirmişlerdir. Ancak diyabet ve kontrol grupları için egzersiz öncesi ve sonrası platelet reaktivasyonları arasında fark bulmamışlardır. Scheinowitz ve ark. [8] diyabetik hastalarda egzersiz öncesi ve sonrası VerifyNow ile platelet fonksiyonlarını değerlendirmişlerdir. Ancak, egzersiz öncesi ve sonrası platelet reaktivasyonu için herhangi bir farklılık saptamamışlardır. Tokumura ve ark. [9] efor anjinası olan hastalarda egzersiz ile platelet agregasyonunun arttığını göstermişlerdir. Wang ve ark. [10] sedanter bireylerde maksimal ve orta derece egzersizin etkilerinin

farklı olduğunu, maximal egzersizin platelet agregasyonunu arttırırken orta derece egzersizin agregasyonu azalttığını göstermişlerdir. Düzenli egzersiz yapan bireylerde ise dinlenimde ve akut egzersiz sonrasında azalmış platelet agregasyon yanıtı olduğu gözlemlenmiştir [126-127]. Çalışmalardaki bu farklılıkların egzersiz yoğunluğu veya süresindeki, çalışmaya alınan hastaların kondisyon durumlarındaki ve kullanılan platelet fonksiyon testlerindeki farklılıklar nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Özet olarak sedanter bireylerde ve aterosklerotik vasküler hastalığı olanlarda maximal egzersizin agregasyonu tetiklediğini, düzenli egzersizin ise agregasyon artışını inhibe ettiğini söyleyebiliriz.

Biz bu çalışmamızda aspirin kullanan diyabetik ve kontrol hastalarında maximal egzersizin platelet fonksiyonları üzerine olan etkisini araştırdık. Daha önceki benzer çalışmalarda Li ve ark. [6] 500 mg/gün aspirin kullanan 15 sağlıklı bireyin egzersiz öncesi ve sonrası platelet fonksiyonlarını flow sitometri yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Aspirinin egzersizle artan platelet agregasyonunu engelliyemediğini tespit etmişlerdir. Yine Pamukçu ve ark. [11] yapmış olduğu çalışmada 300 mg/gün aspirin kullanan 62 stabil koroner arter hastasını ve 20 kontrol hastasını PFA-100 yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Egzersiz sonrası koroner arter hasta grubunda anlamlı aspirin direnci geliştiğini göstermişlerdir. Literatürde aspirin kullanan diyabetik hastalarla ilgili böyle bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışma sonuçlarımıza göre multiplate agregometri ile ölçülen bazal platelet agregasyonlarının diyabetik ve kontrol grubunda farklılık göstermediğini tespit ettik. Bruce protokolü ile yapılan egzersiz testi sonrasında ise hem diyabetik hem de kontrol gruplarında platelet agregasyonunda artış olduğunu gösterdik. Bu artış diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde fazlaydı. Çalışmamızda

aspirinin egzersizle indüklenen platelet agregasyonuna karşı koruyucu olmadığı gösterildi. Egzersizin platelet aktivasyonunu siklooksijenaz harici yollar (katekolamin artışı, shear stres, trombin üretimi) üzerinden sağladığı düşünülürse bu beklenen bir sonuçtur.

Platelet aktivasyon artışının diğer parametreler ile ilişkisi araştırıldığında ise kontrol grubunda MPV ve Hs-CRP' nin, diyabetik grupta ise VKI' nin bağımsız değişkenler olduklarını tespit ettik.

MPV platelet hacmini yansıtan ve basit hemogram ile kolaylıkla tespit edilebilen önemli bir belirteçtir. Yüksek MPV ye sahip plateletler küçük plateletlere göre enzimatik ve metabolik olarak daha aktif ve protrombotik özelliklere sahiptirler [131]. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda yüksek MPV düzeyi, kardiyovasküler olaylar ve mortalite ile ilişkili bulunmuştur [128-129].

Kronik inflamasyon endotel disfonksiyonu ile birliktelik gösterir ve kollajene yanıtta görev yapan Fcγ-RIIA gibi proteinlerin sentezini artırarak platelet aktivasyonuna neden olur [86]. Ayrıca kronik inflamasyon durumlarında hızlı platelet turnoveri nedeniyle dolaşımda artan sayıda immatür plateletler izlenir. İmmatür plateletler daha aktiftirler ve aspirin ve klopidoğrel gibi antiplatelet tedavilere azalmış yanıt ile ilişkilidirler [87]. Biz çalışmamızda hastalarımızdan inflamasyon belirteci olarak Hs-CRP' yi ölçtük. CRP sistemik inflamasyonun bir belirteçidir ve yüksekliğinin sağlıklı ve bilinen kalp hastalıklı bireylerde kardiyovasküler olay gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir [130, 132].

Obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür. Obez hastalarda visceral yağ dokusu inflamatuvar aktivite için önemli bir kaynaktır. Visceral

yağ dokusu aktive T-lenfosit ve makrofaj içerir ve bu hücreler adipositlerden inflamatuvar sitokin salgılanmasına neden olurlar [133-134]. Buna ek olarak obez hastalarda artmış insülin direnci ve azalmış fiziksel kapasite görülür. Bütün bu nedenler obez hastalardaki platelet aktivasyonu ile ilintilidir.

Bu bilgiler ışığında bakıldığında çalışmamızda MPV, Hs-CRP ve VKI'nın platelet agregasyon artışı ile ilişkili bulunması, bu parametrelerin kardiyovasküler risk belirteçleri olaması nedeniyle, diğer çalışmaları destekler nitelikte olmuştur.

Çalışmamızın diğer önemli bir sonucu ise platelet agregasyon artışının kan şekeri kontrolünden bağımsız olmasıydı. Çalışmamızda hastaların hem açlık kan şekeri hem de 3 aylık şeker kontrolünü yansıtan HbA1c değerleri ölçülmüştür. Daha önce yapılmış çalışmalarda kan şekeri kontrolünün bazal agregasyon değerleri üzerinde önemli etkisi olduğu gösterilmiştir [79-81]. Biz bu çalışmamızda aspirin inhibisyonu altında diyabetik ve kontrol gruplarının ASPI değerlerinin farklı olmadığını ve egzersizle artış gösteren platelet agregasyonunun, kan şekeri kontrolü ile ilişkili olmadığını gösterdik.

3.4. Çalışma Kısıtlılıkları

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıkları, hasta sayısının düşük olması ve çalışmaya alınan hastaların önceki fiziksel aktivite durumlarının bilinmemesidir. Daha önce yapılmış benzer çalışmalarda çoğunlukla impedans agregometri harici platelet fonksiyon testleri kullanılmıştır. Bu ise bizim sonuçlarımızı diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırmamızı zorlaştırmaktadır. Ayrıca, biz bu

Çalışmamızda platelet fonksiyonlarını deęerlendirirken agonist olarak arařidonik asiti kullandık. Plateletlerin birçok agonist tarafından aktive edilebildięi dūřunūldūęünde bu agonistlerin de kullanıldıęı çalışmalara ihtiyaç vardır.

3.5. Sonuç

Çalışmamız, aspirin kullanan diyabetik ve kontrol gruplarının istirahatte agregasyon değerlerinin farklı olmadığını, akut egzersizle birlikte ise her iki grupta da agregasyon değerlerinin arttığını gōstermiřtir. Bu artış diyabetik grupta kontrol gurubuna gōre anlamlı daha fazla olmuştur. Bu, aspirin kullanılsa bile egzersizin kardiyovaskūler olayları tetikleyebileceği sonucunu ortaya çıkarmıştır.

4. KAYNAKLAR

- [1] Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.
- [2] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramí' rez C, Sabate' M, Jimenez-Quevedo P, Herna' ndez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005; 54:2430–2435.
- [3] Angiolillo DJ, Bernardo E, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Costa MA, Palazuelos J, Herna' ndez-Antolin R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, et al. Impact of platelet reactivity on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:1541–1547.
- [4] Serebruany V, Pokov I, Kuliczowski W, Chesebro J, Badimon J. Baseline platelet activity and response after clopidogrel in 257 diabetics among 822 patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2008;100:76–82.
- [5] Mittleman MA, Maclure M, Tofler GH, Sherwood JB, Goldberg RJ, Muller JE. Triggering of acute myocardial infarction by heavy physical exertion: protection against triggering by regular exertion. Determinants of Myocardial Infarction Onset Study Investigators. *N Engl J Med* 1993;329:1677–83.
- [6] 123. Li N, Wallen N, Hjemdahl P. Evidence for prothrombotic effects of exercise and limited protection by aspirin. *Circulation* 1999;100:1374–9.
- [7] Wallen NH, Goodall AH, Li N, et al. Activation of haemostasis by exercise, mental stress and adrenaline: effects on platelet sensitivity to thrombin and thrombin generation. *Clin Sci* 1999;97:27–35.

- [8] Mickey Scheinowitz, Rajbabu Pakala, Itsik Ben-Dor, Gilles Lemesle, Rebecca Torguson, Augusto D. Pichard, Joseph Lindsay, Ron Waksman Platelet reactivity in diabetic patients subjected to acute exercise stress test Cardiovascular Revascularization Medicine 12 (2011) 20–24
- [9] Tokuue J, Hayashi J, Hata Y, et al. Enhanced platelet aggregability under high shear stress after treadmill exercise in patients with effort angina. Thromb Haemost 1996;75:833–837.
- [10] Wang JS, Jen CJ, Kung HC, et al. Different effects of strenuous exercise and moderate exercise on platelet function in men. Circulation 1994;90:2877–2885.
- [11] Pamukcu P, Oflaz H, Acar RD, Umman S, Koylan N, Umman B, Nisanci Y. The role of exercise on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease: Exercise induces aspirin resistant platelet activation. J Thromb and Thrombolysis 2005;20(1):17-22
- [12] Jurk K, Kehrel B. Platelets: Physiology and Biochemistry. Semin Thromp Hemost 2005; 31(4): 381-392
- [13] Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S. L., & Çevikbaş (Çeviri editörü), U. (2003). *Temel Patoloji*. (7th ed.). Nobel tıp kitapevi.
- [14] Hillman, R. S., Ault, K. A., Leporrier, M., Henry, M. R., & Sakacı (Çeviren), S. (2012). *Klinik uygulamada hematoloji*. (5th ed.). McGraw-Hill, Güneş Tıp Kitapevleri.
- [15] Offermanns S. Activation of platelet function through G protein-coupled receptors. Circ Res. 2006;99:1293–1304
- [16] Brass LF. Thrombin and platelet activation. Chest 2003; 124: 18S-25S.
- [17] Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. N Engl J Med 2007; 357: 2482–2494.

- [18] Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 403–412.
- [19] Bennett, JS, Vilaire, G. Exposure of platelet fibrinogen receptors by ADP and epinephrine. *J Clin Invest* 1979; 64:1393.
- [20] Wagner, CL, Mascelli, MA, Neblock, DS, et al. Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood* 1996; 88:907.
- [21] Siess W. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol Rev* 1989; 69(1): 58.
- [22] Murugappan, S., & Kunapuli, S. P. (2006, 05 01). *The role of ADP receptors in platelet function*. *Front Biosci*. 2006;11:1977-86.
- [23] Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y₁₂ receptor in platelet activation. *J Clin Invest* 2004; 113: 340-5.
- [24] Perry V. Halushka, Dale E. Mais, Philip R. Mayeux, and Thomas A. Morinelli. Thromboxane, prostoglandin and leukotriene receptors. *Annu. Rev. Pharm. Tax.* 1989. 10:213-39
- [25] Brass, L. F., Shaller, C. C., and Belmonte, E. J. Inositol 1,4,5-triphosphate-induced granule secretion in platelets. Evidence that the activation of phospholipase C mediated by platelet thromboxane receptors involves a guanine nucleotide binding protein-dependent mechanism distinct from that of thrombin. *J. Clin. Invest.* 1987;79:1269–1275
- [26] Shenker, A., Goldsmith, P., Unson, C. G., and Spiegel, A. M. The G protein coupled to the thromboxane A₂ receptor in human platelets is a member of the novel Gq family. *J. Biol. Chem.* 1991;266:9309–9313.

- [27] Hirata, T., Ushikubi, F., Kakizuka, A., Okuma, M., and Narumiya, S. Two thromboxane A₂ receptor isoforms in human platelets. Opposite coupling to adenylyl cyclase with different sensitivity to Arg60 to Leu mutation. *J. Clin. Invest.* 1996;97: 949–956.
- [28] Knezevic, I., Borg, C., and Le Breton, G. C. Identification of G_q as one of the G-proteins which copurify with human platelet thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptors. *J. Biol. Chem.* 1993;268:26011–26017.
- [29] Wenzel UO, Fouqueray B, Grandaliano G, et al. Trombin regulates expression of monocyte chemoattractant protein-1 in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1995;77: 503-509.
- [30] DeMichele MA, Moon DG, Fenton JW, 2nd, Minnear FL. Thrombin's enzymatic activity increases permeability of endothelial cell monolayers. *J Appl Physiol* 1990;69: 1599-1606.
- [31] Kranzhofer R, Clinton Sk, Ishii K, Coughlin SR, Fenton JW, 2nd, Libby P. Thrombin potently stimulates cytokine production in human vascular smooth muscle cells but not in mononuclear phagocytes. *Circ Res* 1996;79:286-294
- [32] McNamara CA, Sarembock IJ, Gimple LW, Fenton JW, 2nd, , Coughlin SR, Owens GK. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated reseptor. *J Clin Invest* 1993; 91:94-98.
- [33] Haralabopoulos GC, Grant DS, Kleinman HK, Maragoudakis ME. Thrombin promotes endothelial cell alignment in Matrigel in vitro and angiogenesis in vivo. *Am J Physiol* 1997; 273: C239-C245.
- [34] Griffin CT, Srinivasan Y, Zheng YW, Huang W, Coughlin SR. A role for thrombin receptor signaling in endothelial cells during embryonic development. *Science* 2001; 293: 1666-1670.

- [35] Lawrence F. Brass. Thrombin and Platelet Activation. Chest 2003; 124(3_suppl):18S-25S.
- [36] Watson SP, Gibbins J. Collagen receptorsignalling in platelets: extending the role of the ITAM. Immunol Today. 1998;19:260-264.
- [37] Daniel JL, Dangelmaier C, Smith JB. Evidence for a role for tyrosine phosphorylation of phospholipase C gamma 2 in collagen-induced platelet cytosolic calcium mobilization. Biochem J. 1994;302:617-622.
- [38] Lecut, C., & Jandrot-Perrus, M. (2005). Glycoprotein vi : a platelet collagen receptor. *Hématologie*, 11(1), 29-39.
- [39] Quinn , M., & Fitzgerald, D. (2005). *Platelet function assessment, diagnosis and treatment*. New Jersey: Humana Press.
- [40] Goto, S., Handa, S., Takahashi, E., Abe, S., Handa, M., & Ikeda, Y. (1996). Synergistic effect of epinephrine and shearing on platelet activation. *ThrombosisResearch*, 84(5), 351-359.
- [41] Michelson AD, Frelinger AL, Furman MI. Resistance to antiplatelet drugs. Eur Heart J 2006;8 Suppl G:G53–8.
- [42] Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the naturel history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. J Am Col Cardiol 2003;41:961-65.
- [43] Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. Circulation 2004;109:3171–5.

- [44] Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:27–33.
- [45] Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet* 2006 Feb 18; 367(9510):606-17.
- [46] White MM. Platelet aggregation. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007:495–508
- [47] Harrison P , Keeling D . Clinical tests of platelet function . In: Michelson AD , ed. *Platelets* , 2nd edn. San Diego : Elsevier Academic Press , 2007 : 445 – 74.
- [48] Michelson A. Methods for the Measurement of Platelet Function. *Am J Cardiol* 2009; 103[suppl]:20A–26A
- [49] Kundu SK, Heilmann E, Sio R, Garcia C, Ostgaard R. Characterisation of an in vitro platelet function analyser, PFA-100 .*Clin Appl Thromb Hemost* 1996; 2: 241-49.
- [50] Francis JL. The platelet function analyzer (PFA)-100. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007: 519–534
- [51] Michelson AD. Flow cytometric analysis of platelet surface glycoproteins: phenotypically distinct subpopulations of platelets in children with chronic myeloid leukemia. *J Lab Clin Med* 1987;110:346–54.
- [52] Jennings LK, Ashmun RA, Wang WC, et al. Analysis of human platelet glycoproteins IIb-IIIa and Glanzmann's thrombasthenia in whole blood by flow cytometry. *Blood* 1986;68:173-9.
- [53] Seegmiller A, Sarome R. Laboratory Evaluation of platelet function. *Hematol Oncol Clin N Am* 21 (2007) 731-742

- [54] Shattil SJ, Hoxie JA, Cunningham M, Brass LF. Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex during platelet activation. *J Biol Chem* 1985;260:11107–11114
- [55] McEver RP. P-Selectin/PSGL-1 and other interactions between platelets, leukocytes, and endothelium. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007:231–249.
- [56] Obergfell A, Judd BA, del Pozo MA, et al. The molecular adapter SLP-76 relays signals from platelet integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ to the actin cytoskeleton. *J Biol Chem* 2001; 276: 5916-5923.
- [57] Cattaneo M. The platelet P2 receptors. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007:201–220.
- [58] Bouchard BA, Butenas S, Mann KG, Tracy PB. Interactions between platelets and the coagulation system. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007:377– 402.
- [59] Savage B, Ruggeri ZM. Platelet thrombus formation in flowing blood. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007:359 –376.
- [60] Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. (2013). Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu-2013. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği*
- [61] J. E. Shaw, R. A. Sicree, and P. Z. Zimmet, “Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030,” *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 87, no. 1, pp. 4–14, 2010.

- [62] M. Laakso and S. Lehto, "Epidemiology of risk factors for cardiovascular disease in diabetes and impaired glucose tolerance," *Atherosclerosis*, vol. 137, pp. S65–S73, 1998.
- [63] W. B. Kannel, R. B. D'Agostino, P. W. F. Wilson, A. J. Belanger, and D. R. Gagnon, "Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease: the Framingham experience," *American Heart Journal*, vol. 120, no. 3, pp. 672–676, 1990.
- [64] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339:229–34.
- [65] Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost* 2004; 2:1282–91.
- [66] Martina V, Bruno GA, Trucco F, Zumpano E, Tagliabue M, Di Bisceglie Pescarmona G. Platelet cNOS activity is reduced in patients with IDDM and NIDDM. *Thromb Haemost* 1998; 79: 520–2.
- [67] De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, et al. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol* 2000;130:963–974.
- [68] D'Angelo A, Micossi P, Mannucci PM, Garimberti B, Franchi F, Pozza G. Increased production of platelet thromboxane B₂ in noninsulin-dependent diabetes: relationship to vascular complications. *Eur J Clin Invest* 1984;14:83–6.
- [69] Davi G, Catalano I, Averna M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, Patrono C. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990;322:1769–74.
- [70] Davi G, Rini GB, Averna M, Novo S, Di Fede G, Pinto A, Notarbartolo A, Strano A. Thromboxane B₂ formation and platelet sensitivity to prostacyclin in insulin-dependent and insulin-independent diabetics. *Thromb Res* 1982;26:359–70.

- [71] Modesti PA, Fortini A, Gensini GF, Vanni D, Prisco D, Abbate R. Human prostacyclin platelet receptors in diabetes mellitus. *Thromb Res* 1991; 63: 541–8.
- [72] C. Falcon, G. Pfliegler, H. Deckmyn, and J. Vermynen, “The platelet insulin receptor: detection, partial characterization, and search for a function,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1988;157:1190–1196.
- [73] I. A. Ferreira, K. L. Eybrechts, A. I. M. Mocking, C. Kroner, and J. W. N. Akkerman, “IRS-1 Mediates Inhibition of Ca²⁺ Mobilization by Insulin via the Inhibitory G-protein Gi,” *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279:3254–3264.
- [74] Massucco P, Mularoni E, Emanuelli G: Insulin directly reduces platelet sensitivity to aggregating agents: studies in vitro and in vivo. *Diabetes*. 1988;37:780–786.
- [75] Akai T, Naka K, Okuda K, Takemura T, Fujii S: Decreased sensitivity of platelets to prostacyclin in patients with diabetes mellitus. *Horm Metab Res*. 1983;15:523–526.
- [76] Udvardy M, Pfliegler G, Rak K: Platelet insulin receptor determination in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Experientia* 41:422–423, 1985
- [77] I. A. Ferreira, A. I.M.Mocking,M. A.H. Feijge et al., “Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 26, no. 2, pp. 417–422, 2006.
- [78] P. J. Lefebvre, “Glucose metabolism and the postprandial state,” *European Journal of Clinical Investigation*, vol. 29, supplement 2, pp. 1–6, 1999.
- [79] R. Assert, G. Scherk, A. Bumbure, V. Pirags, H. Schatz, and A. F. H. Pfeiffer, “Regulation of protein kinase C by short term hyperglycaemia in human platelets in vivo and in vitro,” *Diabetologia*, vol. 44, no. 2, pp. 188–195, 2001.

- [80] C. Watala, M. Boncer, J. Golan' ski, W. Koziółkiewicz, Z. Trojanowski, and B. Walkowiak, "Platelet membrane lipid fluidity and intraplatelet calcium mobilization in type 2 diabetes mellitus, " *European Journal of Haematology*, vol. 61, no. 5, pp. 319–326, 1998.
- [81] D. Tschoepe, "The activated megakaryocyte—platelet-system in vascular disease: focus on diabetes," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, vol. 21, no. 2, pp. 152–160, 1995.
- [82] G. Ferretti, R. A. Rabini, T. Bacchetti et al., "Glycated low density lipoproteins modify platelet properties: a compositional and functional study," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 87, no. 5, pp. 2180–2184, 2002.
- [83] Kakouros N, Rade JJ, Kourliouros A, Resar1 JR. Platelet Function in Patients with Diabetes Mellitus: From a Theoretical to a Practical Perspective. *International Journal of Endocrinology*, 2011
- [84] Ha, H., & Lee, H. (2001). Oxidative stress in diabetic nephropathy: basic and clinical information. *Curr Diab Rep.*, 1(3), 282-7.
- [85] Patrono C, FitzGerald GA. Isoprostanes: potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2309–15.
- [86] K. Belostocki, L. Pricop, P. B. Redecha et al., "Infliximab treatment shifts the balance between stimulatory and inhibitory Fc γ receptor type II isoforms on neutrophils in patients with rheumatoid arthritis," *Arthritis and Rheumatism*, vol. 58, no. 2, pp. 384–388, 2008.
- [87] S. Guthikonda, C. L. Alviar, M. Vaduganathan et al., "Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 52, no. 9, pp. 743–749, 2008.

- [88] Roth GJ, Calverley DC. Aspirin, platelets and thrombosis: theory and practice. *Blood* 1994; 83: 885–98.
- [89] Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1710–13.
- [90] Schonbeck U, Sukhova GK, Graber P, Coulter S, Libby P. Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1999; 155: 1281–91.
- [91] Rocca B, Secchiero P, Ciabattini G, et al. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 7634–39.
- [92] McNicol A, Israels SJ. Platelets and anti-platelet therapy. *J Pharmacol Sci* 2003; 93: 381
- [93] Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt JW. Two year followup of aspirin responders and aspirin non-responders. A pilot study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res* 1993;71:397–403.
- [94] Eikelboom JW, Hirsh J, White JJ, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke or cardiovascular death in patients at risk of high for cardiovascular event. *Circulation* 2002; 105:1650-55.
- [95] Bhatt D, Topol EJ. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. *Nature Rev* 2003; 2: 15–28.
- [96] Carney RM, Freedland KE, Eisen SA, Rich MW, Skala JA, Jaffe AS. Adherence to a prophylactic medication regimen in patients with symptomatic versus asymptomatic ischemic heart disease. *BehavMed* 1998; 24: 35–39.

- [97] Schwartz KA, Schwartz DE, Ghosheh K, Reeves MJ, Barber K, Defranco A. Compliance as a critical consideration in patients who appear to be resistant to aspirin after healing of myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005; 95: 973–75.
- [98] Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects—the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126 (3 suppl): 234S–64S
- [99] Anti-thrombotic Trialists Collaboration. Collaborative metaanalysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high-risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71–86.
- [100] Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, et al. Analysis of risk of bleeding complications after different doses of aspirin in 192,036 patients enrolled in 31 randomized controlled trials. *Am J Cardiol* 2005; 95: 1218–22.
- [101] Hart RG, Leonard AD, Talbert RL, et al. Aspirin dosage and thromboxane synthesis in patients with vascular disease. *Pharmacotherapy* 2003; 23: 579–84.
- [102] Tohgi H, Konno S, Tamura K, Kimura B, Kawano K. Effects of low-to-high doses of aspirin on platelet aggregability and metabolites of thromboxane A₂ and prostacyclin. *Stroke* 1992; 23: 1400–03.
- [103] Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyser PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13:277-81.
- [104] Williams FM. Clinical significance of esterases in man. *Clin Pharmacokinet* 1985; 10: 392–403.

- [105] Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J, Acuna C, Guerrero JA, Vicente V. Biological assessment of aspirin efficacy on healthy individuals. Heterogenous response or aspirin failure? *Stroke* 2005; 36: 276–80.
- [106] Anand BS, Sanduja SK, Lichtenberger LM. Effect of omeprazole on the bioavailability of aspirin: a randomized controlled study on healthy volunteers. *Gastroenterology* 1999; 116: A371.
- [107] Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, et al. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001; 345: 1809–17.
- [108] Poulsen TS, Mickley H. Is the antiplatelet effect of aspirin affected by systemic inflammation? *Ann Hematol* 2004; 83: 728.
- [109] Patrono C, Falco A, Davi G. Isoprostane formation and inhibition in atherothrombosis. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 198–203.
- [110] Cippollone F, Ciabattini G, Patrignani P, et al. Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation* 2000; 102: 1007–13.
- [111] Morrow JD, Frei B, Longmire AW, et al. Increase in circulating products of lipid-peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995; 332: 1198–203.
- [112] Friend M, Vucenick I, Miller M. Research pointers: platelet responsiveness to aspirin in patients with hyperlipidaemia. *BMJ* 2003; 326: 82–83.
- [113] Hung J, Lam JY, Lacoste L, Letchacovski G. Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation* 1995; 92: 2432–36.

- [114] Weber AA, Liesener S, Schanz A, Hohlfeld T, Schror K. Habitual smoking causes an abnormality in platelet thromboxane A2 metabolism and results in an altered susceptibility to aspirin effects. *Platelets* 2000; 11: 177–82.
- [115] Cambria-Kiely JA, Gandhi PJ. Possible mechanisms of aspirin resistance. *J Thromb Thrombolysis* 2002; 13: 49–56.
- [116] Zimmermann N, Wenk A, Kim U, et al. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2003; 108: 542–47.
- [117] Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 1994; 25: 2331–36.
- [118] Pulcinelli FM, Pignatelli P, Celestini A, Riondino S, Gazzaniga PP, Violi F. Inhibition of platelet aggregation by aspirin progressively decreases in long-term treated patients. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 979–84.
- [119] Santopinto J, Gurfinkel EP, Torres V, et al. Prior aspirin users with acute non-ST-elevation coronary syndromes are at increased risk of cardiac events and benefit from enoxaparin. *Am Heart J* 2001; 141: 566–72. Halushka M, Walker LP, Haushaka PV.
- [120] Halushka M, Walker LP, Haushaka PV. Genetic variation in cyclooxygenase 1. Affects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 122–30
- [121] Cipollone F, Toniato E, Martinotti S, et al. Identification of New Elements of Plaque Stability (INES) Study Group. A polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene as an inherited protective factor against myocardial infarction or stroke. *JAMA* 2004; 29: 2221–28.

- [122] O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, et al. Genetic and environmental contributions to platelet aggregation: The Framingham Heart Study. *Circulation* 2001; 103: 3051–56.
- [123] ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias Authors/Task Force Members: Zeljko Reiner* (ESC Chairperson) (Croatia) Alberico L. Catapano* (EAS Chairperson)* (Italy), Guy De Backer (Belgium), Ian Graham (Ireland), Marja-Riitta Taskinen (Finland), Olov Wiklund (Sweden), Stefan Agewall (Norway), Eduardo Alegria (Spain), M. John Chapman (France), Paul Durrington (UK), Serap Erdine (Turkey), Julian Halcox (UK), Richard Hobbs (UK), John Kjekshus (Norway), Pasquale Perrone Filardi (Italy), Gabriele Riccardi (Italy), Robert F. Storey (UK), David Wood (UK). *European Heart Journal* (2011) 32, 1769–1818
- [124] Angiolillo DJ, Bernardo E, Ramirez C, Costa MA, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, et al. Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:298–304.
- [125] Hu H, Johansson BL, Hjemdahl P, Li N. Exercise-induced platelet and leucocyte activation is not enhanced in well-controlled Type 1 diabetes, despite increased activity at rest. *Diabetologia* 2004;47:853-859.
- [126] Wang JS, Jen CJ, Chen H. Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1668–74.
- [127] Wang JS, Jen CJ, Chen H. Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in women. *J Appl Physiol* 1997;83:2080-5
- [128] Cameron HA, Phillips R, Ibbotson RM, Carson PH. Platelet size in myocardial infarction. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983;287:449-451

- [129] Martin JF, Bath PM, Burr ML. Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet* 1991;338:1409-1411
- [130] Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000; 342: 836–843.
- [131] Chu SG, Becker RC, Berger PB, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Invest* 1969;48:1073-1082
- [132] Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein as a predictor of all-cause mortality: implications for research and patient care. *Clin Chem* 2008 February;54(2):234-7.
- [133] Kintscher U, Hartge M, Hess K, et al. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28:1304–1310.
- [134] Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796–1808.