

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Muzaffer DEMİR

**AKUT KORONER SENDROM OLGULARINDA
YAPIŞKAN TROMBOSİT SENDROMUNUN
ROLÜNÜN BELİRLENMESİ**

(Yandal Uzmanlık Tezi)

Uzm. Dr. Ali İrfan Emre TEKGÜNDÜZ

EDİRNE – 2009

TEŞEKKÜR

Hematoloji eğitimimin tüm safhalarında desteğini, yol göstericiliğini ve bilgisini esirgemeyen hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Muzaffer Demir'e çok teşekkür ederim. Beni hematolojiye yönelten ve eğitimimin her aşamasında desteklerini hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Özden Vural, Prof. Dr. Birsen Ülkü ve Prof. Dr. Teoman Soysal'a şükranlarımı sunarım. Tezimin laboratuvar aşamalarında verdiği destek için laborant Tural Uğurlu'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
HEMOSTAZ VE TROMBOZDA TROMBOSİTLER.....	3
AKUT KORONER SENDROM	4
TROMBOSİT AGREGASYONU VE SEKRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	5
TROMBOSİT HİPERREAKTİVİTESİ VE YAPIŞKAN TROMBOSİT SENDROMU	6
GEREÇ VE YÖNTEMLER	9
BULGULAR.....	19
TARTIŞMA	27
SONUÇLAR.....	33
ÖZET	34
SUMMARY	35
KAYNAKLAR.....	36
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

AD	: Anabilim Dalı
ADP	: Adenozin difosfat
AKS	: Akut koroner sendrom
AMI	: Acute Myocardial Infarction; Akut Myokard Enfarktüsü
ATP	: Adenozin trifosfat
CSX	: Cardiac Syndrome X; Kardiyak sendrom X
EKG	: Elektrokardiyografi
EPI	: Epinefrin
GP	: Glikoprotein
Htc	: Hematokrit
PPP	: Platelet poor plasma; Trombositten fakir plazma
PRP	: Platelet rich plasma; Trombositten zengin plazma
SPS	: Sticky platelet syndrome; Yapışkan Trombosit Sendromu
USAP	: Unstable Angina Pectoris; Kararsız Angina Pektoris

GİRİŞ VE AMAÇ

Arteriyel ve venöz tromboembolizm tüm dünyada en önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre bu ülkede her yıl 2 milyon insan arteriyel veya venöz tromboembolizm sonucu ölmekte ve yaklaşık aynı sayıda insanda ise, ölümcül olmayan tromboembolizm görülmektedir (1). Aynı ülkede kansere bağlı ölümler ise yılda 550.000 düzeyindedir. Söz konusu veriler tromboembolizmin gerek toplum sağlığı ve gerekse tedavi maliyeti açısından ülke ekonomisi üzerine getireceği yük nedeniyle çok ciddi bir sorun olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle söz konusu hastalıklar açısından yüksek riskli bireylerin saptanarak birincil korumaya yönelik tedbirlerin alınması ve hasta bireylerde tromboembolizm tekrarının önlenmesi açısından ikincil korumanın önemi açıktır.

Yapışkan Trombosit Sendromu (Sticky platelet syndrome-SPS) intrinsek trombosit hiperreaktivitesi sonucu, arteriyel ve venöz tromboza neden olan, tanı ve tedavisi kolay, sık rastlanan, otozomal dominant geçişli doğumsal bir trombofili nedenidir (2). Nedeni bilinmeyen tromboz olgularında, sıklığı tromboz lokalizasyonuna göre değişmek üzere, SPS'ye %14-50 düzeylerinde rastlandığı bildirilmektedir (2). Yirmi yılı aşkın bir süredir bilinmesine ve önde gelen trombofili nedenlerinden biri olmasına karşın, nedeni bilinmeyen tromboembolizm olgularının etyolojik araştırmasında SPS genellikle gözardı edilmektedir. Bu durumun tanı için detaylı ve zaman alıcı trombosit agregasyon testlerine ihtiyaç duyulması ve hekimlerin SPS'nin klinik önemi hakkında yeterince bilinçli olmamalarından kaynaklandığı öne sürülmektedir.

Çalışmamızın ilk aşamasında sağlıklı gönüllüler üzerinde, laboratuvarımızda SPS tanısı için temel oluşturacak, trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta kullanacağımız normal değerleri saptamayı planladık. İkinci aşamada ise, akut koroner sendrom (AKS) öyküsü olan ve koroner arterlerinde anjiyografik patoloji saptanmayan, koroner iskemi

açısından stabil ve AKS üzerinden en az 1 ay geçmiş hastalarda SPS sıklığını belirlemeyi amaçladık. Agregasyon testleri ile eşzamanlı olarak trombosit sekresyon yanıtını değerlendirmek yoluyla trombosit hiperreaktivitesi ile sekresyonu arasında ilişki olup olmadığını araştırdık.

Elde edilen veriler ışığında literatürde ilk kez SPS'nin Türk toplumunda izlenen AKS tablolarındaki rolünün ve toplumumuzda rastlanan diğer tromboz olgularında SPS taraması için gerekli olan kendi laboratuvarımızın normal agregasyon değerlerinin belirlenmesi hedeflendi. Toplumumuzda SPS sık rastlanan bir doğumsal trombofili nedeni olarak saptanırsa ailesinde tromboembolizm öyküsü olan sağlıklı bireylerde SPS taraması, sağlıklı bireylere primer koruma uygulanması, üreme çağındaki bireylere genetik danışmanlık verilmesi gündeme gelebilir. Yine söz konusu varsayımın doğrulanması halinde, açıklanamayan tüm AKS ve diğer arteriyel-venöz tromboembolizm tablolarında SPS taramasının yapılması açısından sağlık çalışanlarının dikkatinin çekilmesi gerekecektir.

GENEL BİLGİLER

HEMOSTAZ VE TROMBOZDA TROMBOSİTLER

Hemostazda çok önemli ve birbirinden farklı görevleri olan trombositler, bir yandan endotel hasarı olan bölgede adezyon ve agregasyon yoluyla primer hemostazda görev alırken, öte yandan pıhtılaşma faktörlerinin bağlanacağı fosfolipid yüzeyi sağlayarak pıhtının hasarlı bölgede lokalize olmasını sağlarlar. Damarsal endotel hasarı sonucu oluşan kanama primer ve sekonder hemostaz mekanizmalarının devreye girmesi ile durdurulur. Primer hemostazda hasarlı endotel bölgesi trombosit tıkaçı ile kapatılır. Daha sonra trombositlerin hücre membranının sağladığı fosfolipid yüzeyde pıhtılaşma sistemi proteinlerinin karmaşık etkileşimi sonucunda oluşan fibrin ile primer trombosit tıkaçı sağlamlaştırılır (sekonder hemostaz) (3).

Primer hemostaz, vazokonstrüksiyonu izleyen dört temel basamakta gerçekleşir: adezyon, agregasyon, kontraksiyon ve sekresyon. Normal koşullarda dolaşımda bulunan trombositlerin damarsal endotel ile teması yoktur. Damar duvarında hasar oluştuğunda, trombositler kollajen başta olmak üzere çeşitli subendotelial matriks bileşenleri ile temasa geçerler. Trombositlerin yüzeyinde bulunan glikoprotein (GP) Ib/IX/V kompleksi plazmada bulunan von Willebrand faktör için reseptör görevi görür. Trombositler von Willebrand faktör-GP Ib/IX/V etkileşimi sonucu subendotelial kollajen ile temasa geçerler ve böylece trombositlerin damar duvarına adezyonu gerçekleşir. Adezyon sonrası trombosit yüzeyinde bulunan, fibrinojen reseptörü olan GP IIb/IIIa ile fibrinojen etkileşimi sonucu trombosit agregasyonu gerçekleşir. Trombosit aktivasyonu sırasında ve sonrasında trombosit kontraksiyonu olur. Trombositlerin şekli değişir ve hücre membranında bulunan negatif yüklü

fosfolipidler hücrenin dış yüzeyine çıkar. Aktive olan trombositlerde sitoplazmik kalsiyum düzeyi artar ve hücre sitoplazmasında bulunan granüllerden salınım olur. Alfa granüllerde trombosit kökenli büyüme faktörü (platelet derived growth factor), fibronektin, dönüştürücü büyüme faktörü β (transforming growth factor β), trombosit faktör-4, fibrinojen, faktör V, faktör VIII ve von Willebrand faktör bulunurken, dens granüller adenosin difosfat (ADP), adenosin trifosfat (ATP), histamin, epinefrin (EPI), serotonin ve kalsiyum iyonları içerir. Trombosit granüllerinden salınan maddeler vazokonstriksiyona, daha fazla trombositin hasar bölgesinde toplanmasına, agregasyonuna ve aktifleşmesine neden olur. Sekresyon reaksiyonu sırasında ortama salınan ADP konsantrasyonu belirli bir eşik değeri aştığında, trombosit membranında geri dönüşümsüz bir değişiklik sonucu trombosit faktör-3 aktivitesi ortaya çıkar. Bir membran fosfolipidi olan trombosit faktör-3 pıhtılaşma protein komplekslerinin oluşumu için zemin görevi görür (3-6).

Arteriyel tromboz patogenezinin temelinde hasarlı endotelde bulunan aterosklerotik plağın rüptürü sonucu kanın subendotelyal kollajen ile temasının bulunduğu bilinmektedir. Yukarıda sıralanan ve trombositlerin temel rolü oynadığı süreçler sonucu, primer ve sekonder hemostaz mekanizmalarının devreye girmesi ile plak bölgesinde tam veya kısmi tıkanıklığa yol açan pıhtı oluşur.

Trombositler sadece ileri dönem aterosklerotik lezyon zemininde görülen tromboembolik komplikasyonların ana aktörü değildir. Yeni veriler trombositlerin proinflamatuvar mekanizmalar yoluyla ateroskleroz oluşumuna ve mevcut aterosklerotik plağın ilerlemesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (7). Bu açıdan bakıldığında intrensek trombosit hiperreaktivitesi taşıyan olguların erken saptanması aterosklerozun sadece sekonder prevansiyonuna değil, fakat aynı zamanda primer prevansiyonuna da olanak sağlayabilir (7).

AKUT KORONER SENDROM

Akut koroner sendrom kararsız angina pectoris (unstable angina pectoris; USAP), ST-elevasyonsuz miyokard enfarktüsü ve ST-elevasyonlu miyokard enfarktüsü olmak üzere üç tipe ayrılır ve arteriyel tromboza bağlı mortalitenin en önemli nedenidir. Akut miyokard enfarktüsü (AMI) genellikle proksimal epikard lümeninde %70 ve üzerinde ciddi koroner ateroskleroz zemininde gelişen akut tromboza bağlıdır. Ancak arteriyel tromboz gelişen akut koroner sendrom hastalarının bazılarında anjiyografi ile kanıtlanabilir arteriyel lezyon saptanamamaktadır. Normal koroner arterler varlığında gelişen AMI genellikle 40 yaşının üzerinde sigara içenlerde görülür ve sıklıkla minimal aterosklerotik lezyon zemininde gelişen akut tromboz ile ilişkilidir (8). Bu olgularda perikardit veya miyokardit, koroner arter spazmı,

kokain kullanımı, arterit, trombofili ve embolizm de ayırıcı tanıya girmektedir. Bazı olgular ise iskemik tipte göğüs ağrısı ve normal koroner arteriogram ile karakterize kardiyak sendrom X (CSX) ile karşımıza çıkmaktadır. CSX olgularında koroner küçük damar disfonksiyonu, anormal vazomotor tonus, artmış sol ventrikül diyastolik basıncı ve davranışsal sorunlar suçlanmaktadır (9,10).

Koroner anjiyografileri normal sınırlarda olan AMI hastalarında prognoz iyidir. Bu hastalarda tekrarlayan AMI yılda %3 ve mortalite yılda %2 düzeyindedir (7). Söz konusu hastaların AMI sonrası takip ve tedavilerini yönlendirecek klinik randomize çalışma olmadığından, bu hastalara koroner anjiyografileri patolojik olan AMI olgularına benzer şekilde yaklaşılmaktadır. Bu hastaların bazılarında doğumsal ve edinsel trombofili rol oynadığından etiyolojik nedenin saptanması hastaların uzun vadeli tedavi planlarını etkileyebilir.

TROMBOSİT AGREGASYONU VE SEKRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Günlük pratikte kanama eğiliminden şüphelenilen olgularda, trombosit sayısı, protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı gibi basit pıhtılaşma testleri normal bulunursa, araştırmanın bir safhasında trombosit işlevlerinin değerlendirilmesine ihtiyaç duyulur. Trombosit agregasyon testleri trombosit işlevini değerlendirmekte yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Tam kan veya trombositten zengin plazma (PRP) kullanılarak, farklı agonistlerle uyarılan trombositlerin agregasyon yanıtı değerlendirilir. PRP'nin kullanıldığı yöntemde hastadan alınan sitratlı venöz kan örneğinin 10 dakika süreyle düşük devirde santrifüjü ile PRP içeren süpernatant elde edilir. PRP plastik bir tüp içinde oda ısısında bekletilirken, geri kalan kan bu kez yüksek devirde santrifüj edilir ve trombositten fakir plazma (PPP) elde edilir. PRP içindeki trombosit sayısı otomatik kan sayım cihazı ile belirlendikten sonra, PRP örneği PPP ile seyreltilerek PRP içerdiği trombosit sayısı $250000/\text{mm}^3$ - $300000/\text{mm}^3$ olacak şekilde standardize edilir. PRP ve PPP içeren örnekler silikonize, ışık geçirgen cam küvetlere konarak agregasyon cihazında kendileri için belirlenmiş yuvalara yerleştirilir. PRP içeren tüp içine stir-bar adı verilen manyetik bir çubuk konur. Bu manyetik çubuk agregometri cihazının sağladığı manyetik ortamda ortalama 1000-1200 dakika devir hızda dönerek PRP içinde yer alan trombositlerin homojen dağılımını sağlar ve test öncesi agregat olmalarını önler. Cihazın gönderdiği ışık demeti tüpleri geçtikten sonra absorbe olmayan ışık her tüp için ayrı bir ışık dedektörü ile kaydedilir. Agregometre cihazı uyarılmayan PRP %0, PPP %100 ışık geçirgenliğini yansıtacak şekilde ayarlanır. PRP

içine uygun dozda ADP, kollajen, EPI, ristosetin, trombin ve araşidonik asit gibi agonistlerden biri eklendiğinde trombosit agregasyonu uyarılır. PRP içindeki trombositlerin agregasyonu sonucu ışık geçirgenliğinde meydana gelen değişiklikler, PPP'deki sabit ışık geçirgenliği referans alınarak cihaz tarafından zamana bağlı olarak kaydedilir. Elde edilen agregasyon eğrisinden maksimum agregasyon yanıtı yüzde agregasyon değeri olarak okunur (11).

Adenozin trifosfat salınım testi trombositlerin sekresyon fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan bir trombosit fonksiyon testidir. Günümüzde trombosit agregasyon cihazlarının çoğunda agregasyon ile eş zamanlı olarak sekresyon yanıtının değerlendirilmesine olanak sağlayan lümiagregometri özelliği bulunmaktadır. Trombosit agregasyonu ile ATP salınımının aynı anda değerlendirilebilmesi için hazırlanan PRP içine agonist ilavesinden önce ateşböceği lüsiferazı (firefly lusiferase) ve lüsiferin içeren ayıraç konulur. PRP içine agonist eklendiğinde trombositlerin dens granüllerinden salınan ATP ortamda bulunan lüsiferaz ile reaksiyona girer. Böylece ortamda bulunan lüsiferin lüsiferaz tarafından parçalanır. Bu kimyasal reaksiyon sonucunda ortama salınan belirli dalga boyundaki ışık demeti cihazın özgün ışık reseptörlerince kaydedilir. Lümiagregometri cihazı ortama salınan ışığın şiddetine göre ortamdaki ATP konsantrasyonunu nanomolar cinsinden hesaplayarak verir. Aynı zaman dilimi içinde belirli bir agonist ile oluşan trombosit agregasyonu ve ATP salınımı eğrileri cihaza bağlı bilgisayar ekranında görüntülenir. Elde edilen eğriler bilgisayarın hafızasına kaydedilebilir ve sonuçlar yazıcı aracılığı ile basılabilir (11).

TROMBOSİT HİPERREAKTİVİTESİ VE YAPIŞKAN TROMBOSİT SENDROMU

Yapışkan trombosit sendromu intrensek trombosit hiperreaktivitesi ile giden ve öncelikle arteryel tromboza neden olan, tedavisi kolay, sık rastlanan doğumsal bir patolojidir. İlk kez 1982 yılında gebeliğinin 7. ayında AMI geçiren bir kadında tanımlanmıştır (12). Koroner anjiyografisi normal olan olgunun, özgeçmişinde annesinin hamileliği esnasında AMI geçirdiği ve koroner arterleri normal olmasına karşın 18 yaşındaki erkek kardeşinde USAP atakları olduğu saptanmıştır. Normal koşullarda trombosit agregometri cihazı ile değerlendirilen trombosit fonksiyon testlerinde ortama eklenen ADP, EPI gibi agonistlerin konsantrasyonu azaltıldıkça maksimum trombosit agregasyonu düşer. Ancak söz konusu olgu, anne ve erkek kardeşin trombositlerinde ADP ve EPI'nin azaltılmış konsantrasyonlarında dahi %100 agregasyon olduğu ve bu hiperagregasyon yanıtının 81 mg/gün aspirin kullanımı

sonrası normale döndüğü gözlenmiştir. Hastalarda aspirin kesildiğinde yine aynı hiperagregasyon örneğinin geri döndüğü gözlemlenmiştir. Bu olgularda plazma trombosit faktör-4, β -tromboglobulin düzeylerinin normal olması trombositlerin aktif formda dolaşmadığını ve intrinsek hiperreaktivitelerinin bulunduğunu desteklemektedir (12).

Kararsız angina pectoris, diabetes mellitus, nefrotik sendrom, kistik fibroz, migren, mitral valv prolapsusu, preeklampsi, retinal arter trombozu ve akut tromboemboli hastaları üzerinde yapılan çalışmalarda agregasyon metodu ile hiperreaktif trombositlerin varlığı gösterilmiştir (12). Ancak tüm bu çalışmalarda hastaların plazmalarında trombosit faktör-4, β -tromboglobulin, tromboksan A₂ gibi trombosit aktivasyon belirteçlerinin arttığı görülmüştür. Bu nedenle söz konusu olgularda gözlenen trombosit hiperreaktivitesinin intrinsek bir özellik olmaktan çok primer trombotik süreç sonrasında gelişen trombosit aktivasyonuna sekonder olduğu düşünülmektedir (12).

Yapışkan trombosit sendromu tanısı arteriyel veya venöz tromboz öyküsü olan bir olguda, trombosit hiperreaktivitesinin agregasyon testleri ile gösterilmesine dayanır. Bu olgularda PRP içine eklenen ve konsantrasyonları gittikçe azaltılan ADP ve EPI ile normalin üzerinde trombosit agregasyonu izlenir. Tanı ölçütleri Tablo 1’de ve SPS araştırmaları için referans merkezlerden biri olan Dallas-ThromboCare laboratuvarının SPS tanısı için kullandığı normal agregasyon değerleri Tablo 2’de belirtilmiştir (2). Tanımlandığı zamandan bu yana SPS’nin 3 tipinin bulunduğu saptanmıştır. Tip I’de ADP ve EPI ile, Tip II’de sadece EPI, tip III’de ise sadece ADP ile hiperagregasyon örneği izlenir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hiperkoagülabilité sendromları arasında SPS’nin en sık veya aktive protein C direncinden sonra ikinci sırada bulunduğunu göstermektedir (13). Bulgular SPS’nin sık rastlanan hiperkoagülabilité nedenlerinden biri olduğunu, arteriyel ve venöz tromboz olgularında mutlaka araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Tanı için detaylı ve zaman alıcı pıhtılaşma testlerine ihtiyaç duyulması nedeniyle SPS arteriyel-venöz tromboemboli olgularının etiyolojik araştırılmasında sıklıkla ihmal edilmektedir.

Tablo 1. Yapışkan Trombosit Sendromu Tanı Kriterleri (2)

Tip I Yapışkan Trombosit Sendromu Hem ADP hem de EPI ile hiperagregasyon
Tip II Yapışkan Trombosit Sendromu Sadece EPI ile hiperagregasyon
Tip III Yapışkan Trombosit Sendromu Sadece ADP ile hiperagregasyon
Olası Yapışkan Trombosit Sendromu Bir agonistin tek bir konsantrasyonunda hiperagregasyon ve tromboz öyküsü Tekrarlanan test yine anormal ise kesin tanı konur
Kesin Yapışkan Trombosit Sendromu Tromboz öyküsü ve bir agonistin iki konsantrasyonunda hiperagregasyon veya Tromboz öyküsü ve her iki agonistin bir konsantrasyonunda hiperagregasyon veya Tromboz öyküsü, bir agonistin tek bir konsantrasyonunda izlenen hiperagregasyon ve tekrarlanan test aynı/benzer anormal sonucu vermesi

ADP: adenosin difosfat; EPI: epinefrin

Tablo 2. Dallas ThromboCare Laboratuvarının Normal Agregasyon Değerleri (2)

Agonist	Normal agregasyon* (% agregasyon)
EPI 11 µM	39-80
EPI 1.1 µM	15-27
EPI 0.55 µM	9-20
ADP 2.34 µM	7.5-55
ADP 1.17 µM	2-36
ADP 0.58 µM	0-12

ADP: adenosin difosfat; EPI: epinefrin

*Her agonist konsantrasyonu için belirlenen, normalin üst sınırını aşan değerler anormal kabul edilir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ÇALIŞMANIN YAPILDIĞI YER

Çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı (AD), Hematoloji Bilim Dalı, Hematoloji Laboratuvarı ve Kardiyoloji AD'nın ortak katılımı ile yürütüldü. Hasta grubunun belirlenmesi için Kardiyoloji AD'nın 2000-2005 yılları arasında yapılmış olan koroner anjiyografileri raporları incelendi. Hastalar telefon ile ulaşarak bilgilendirilerek çalışmaya alındı. Kan alımından başlayarak tüm testler Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. TÜTFEK-2006/014 protokol numaralı çalışmanın Helsinki deklarasyonu kararlarına, hasta hakları yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 16.02.2006 tarihli oturumunda oybirliği ile karar verildi. Çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 28.04.2006 tarih ve 50 sayılı toplantısında TÜBAP-737 proje numarası ile desteklendi. Hasta onam formu, TÜTF Etik Kurul ve TÜBAP komisyonu kararları Ek 1, Ek 2 ve Ek 3'de sunulmuştur

OLGU SEÇİM ÖLÇÜTLERİ

Çalışmaya AKS tanısı ile Kardiyoloji AD servisinde yatmış, AKS üzerinden en az 1 ay geçmiş, koroner iskemi açısından stabil, koroner anjiyografileri normal sınırlarda olan 23 hasta ve 49 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Tüm katılımcıların test tarihinden en az 14 gün önce trombosit fonksiyonlarını etkileyecek aspirin ve non-steroidal antienflamatuvar ilaçları kesildi, bu süre zarfında sigara içmemeleri istendi ve testler 8 saat açlık sonrası uygulandı. Tüm bireylerde test öncesi trombosit aktivasyonunu neden olabilecek durumlar engellemeye çalışıldı. Katılımcılar kan verme öncesinde laboratuvarıda oda ısısında, sakin bir ortamda

oturarak 30 dakika boyunca dinlendirildi. Test sabahı tüm katılımcılar ateş, taşikardi, taşipne gibi enflamasyon ve enfeksiyon bulguları yönünden değerlendirildi.

Kardiyoloji AD anjiyografi raporları incelendiğinde 2000-2005 yılları arasında, çalışmaya katılma ölçütlerini taşıyan 217 hasta saptandı. Yüz kırk dokuz hastanın telefon numaralarının kayıtlarda bulunmadığı, kaydedilen telefon numaraların hastaya ait olmadığı veya tekrarlayan aramalara yanıt vermedikleri saptandı. Geri kalan 68 hastaya telefon ile ulaşılarak çalışma ile ilgili bilgi ve çalışma yürütücülerinden birinin mobil telefon numarası verildi. Yirmi sekiz hasta geri bildirim yapmadı. Beş hasta Edirne dışında ikamet ettiği için, 4 hasta ise gönüllü olmadığı için çalışmaya katılamayacağını bildirdi. Otuz bir hasta çalışmaya katılmak istediklerini bildirdi ve test için randevu aldı. Sekiz hasta randevüsüne gelmedi. Sonuç olarak 23 hasta çalışmaya katıldı (Şekil 1). Kırk dört sağlıklı gönüllüye ve 23 hastaya eşzamanlı olarak trombosit agregasyon ve ATP salınım testi uygulandı.

ARAÇ VE GEREÇLER

Çalışmanın tüm aşamalarında kullanılan araç ve gereçlerin marka, firma ve ülke adları Tablo 3’de belirtilmiştir. Trombosit agregasyonu ve ATP salınımı lümiagregometri cihazı ile eşzamanlı ölçüldü.

YÖNTEM

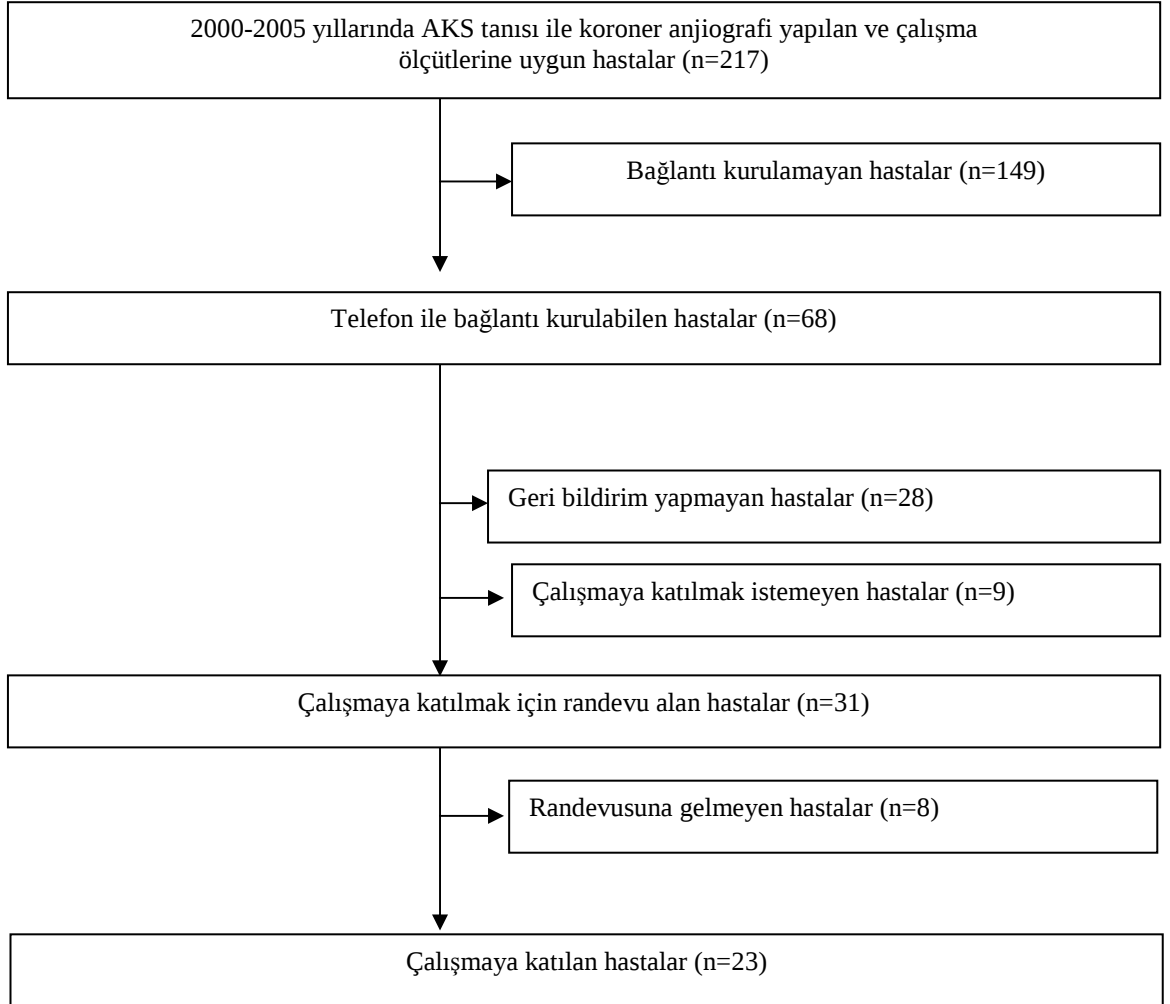
Test Öncesi Dönem

Tüm katılımcılara test öncesi çalışma ile ilgili detaylı bilgi verildi. Test gününden en az 14 gün önce aspirin ve non-steroidal antienflamatuarlar gibi trombosit fonksiyonunu bozan ilaçları kesildi ve bu süre zarfında sigara içmemeleri, test öncesi en az 8 saat aç kalmaları konusunda uyarıldı. Kararlaştırılan test gününde katılımcılara bilgilendirilmiş onam formu verildi ve yazılı onamları alındı. Çalışma başlangıcından 1 gün önce EPI, ADP ve ATP ayıraçlarını içeren flakonlar uygun şekilde çözüldü ve bir katılımcı için gereken miktarda ayıraç içeren örnekler ependorflara konularak -80°C’de saklandı.

Trombositten Zengin ve Fakir Plazma Eldesi

Yapışkan trombosit sendromu testi, Mammen (14) tarafından daha önce tarif edilen standart yöntemle yapıldı. Ancak trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta kullanılan farklı agonist konsantrasyonlarında oluşan agregasyon ile eşzamanlı ATP sekresyonunun değerlendirilebilmesi için basit bir modifikasyon yapıldı. ADP ve EPI’nin final

konsantrasyonlarında değişiklik oluşmayacak şekilde PRP örneklerine 50 µl ATP ayırıcı eklendi. Test için katılımcılara flebotomi yapılmasından 1 saat önce lümiagregometri cihazı çalıştırılarak test anında cihaz içi ısının 37°C olması sağlandı.



AKS: akut koroner sendrom

Şekil 1. Çalışma hasta grubu belirlenmesi

Tablo 3. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Araç ve gereçler	Marka	Firma	Ülke
Lümiagregometri cihazı	Chrono-Log®	Chrono-Log Corp.	ABD
Kan sayım cihazı	Abbott	Abbott	ABD
Santrifüj cihazı	Hettich Universal® 16 R	Hettich	Almanya
ATP ayırıcı (lüsiferin/lüsiferaz)	Chrono-Lume® Cat.#: 395	Chrono-Log Corp.	ABD
ADP ayırıcı	Chrono-Par® Cat.#: 384	Chrono-Log Corp.	ABD
Epinefrin ayırıcı	Chrono-Par® Cat.#: 393	Chrono-Log Corp.	ABD
Stir-bar	Chrono-Log® Cat.#: 311	Chrono-Log Corp.	ABD
Silikonize küvet	Chrono-Log® P/N 312	Chrono-Log Corp.	ABD
Mikropipet	Hamilton® (0.1-20 µl)	Hamilton Corp.	ABD
Pipet (10-100 µl)	Eppendorf® series 2000 (10-100 µl)	Brinkman Instruments, Inc.	Almanya
Pipet (100-1000 µl)	Eppendorf® series 2000 (100-1000 µl)	Brinkman Instruments, Inc.	Almanya

ABD: Amerika Birleşik Devletleri; **ADP:** adenozin trifosfat; **ADP:** adenozin difosfat

Katılımcılara sabah 09⁰⁰-10⁰⁰ saatleri arasında Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda otomatize kan sayım cihazında kan sayımı yapıldı. Tüm agregasyon ve sekresyon testleri sitratlı kan örneğinde yapıldı. Hematokrit (Htc) düzeyi normal olmayanlarda sitratlı kan örneğinde hangi oranda sitrat bulunması gerektiği Tablo 4'de belirtilen formül ile hesaplandı (15). Htc düzeyi normal sınırlarda olanlarda sitrat/kan oranı 1/9 olarak ayarlandı. Kan sayımı sonuçları elde edildikten sonra kelebek iğne ile diğer koldaki antekübital vene damar yolu açıldı. İki tüp tekniği ile kan alındı. Birinci tüp kan sayımı için (EDTA'lı) ikinci tüp ise agregasyon için alındı. Sitrat olarak %3.2'lik konsantrasyon kullanıldı. Venöz kan örneğinden ilk aşamada düşük devirde santrifüj ile PRP elde edildi. PRP'nin ayrılmasından sonra geri kalan kan örneğinin yüksek devirde santrifüjü ile PPP elde edildi. Agregasyon ve sekresyon testleri için PRP içerdiği trombosit sayısı 250000/mm³ olacak şekilde standardize edildi. Bu amaçla ilk aşamada PRP'nin trombosit içeriği otomatize kan sayım cihazı ile belirlendi. Ardından PRP Tablo 5'de belirtildiği şekilde PPP ile seyreltilerek 5 ml hacimli 250000/mm³

trombosit içeren standart PRP hazırlandı (15). PRP ve PPP oda ısısında ağzı kapalı plastik tüplerde bekletildi.

Tablo 4. Hematokrit değeri normal sınırlarda olmayanlarda agregasyon ve sekresyon testleri için kullanılacak kan örneğinde ideal sitrat/kan oranının belirlenmesi (15)

$1 \text{ ml antikoagülana eklenecek kan miktarı (ml)} = 5/(1-(\text{Htc}/100))$
--

Htc: Hematokrit

Epinefrin, adenozin difosfat ve adenozin trifosfat ayıraçlarının hazırlanması

Tüm ayıraçlar çalışma öncesinde buzdolabında, ürün monografındaki öneriler doğrultusunda uygun sıcaklıklarda bekletildi (EPI 2-8°C, ADP ve ATP < 0°C). Test günü ayıraçları içeren ependorflar oda ısısında erimeye bırakıldı. Her katılımcı için birer tane EPI ve ADP stok solüsyonu kullanıldı. PRP içine pipetlenmeden önce gerek EPI gerekse ADP stok solüsyonları iki basamakta fizyolojik tuzlu su ile seyreltilti. Böylece her katılımcıda sırasıyla EPI ve ADP'nin 3 farklı konsantrasyonunda toplam 6 farklı agonist konsantrasyonunda trombosit agregasyonu ve ATP salınımı eşzamanlı değerlendirildi. 450 µl PRP ve 50 µl lüsiferin/lüsiferaz içeren küvetlere her defasında EPI için 5.5 µl, ADP için 5 µl agonist pipetlendi. Stir-bar hızı 1200 dakika devir olarak ayarlandı. PRP içine pipetlendikten sonra küvet içinde EPI için 11 µM, 1.1 µM, 0.55 µM ve ADP için 2.34 µM, 1.17 µM, 0.58 µM final agonist konsantrasyonları elde edildi. Her bir agonist konsantrasyonunda agregasyon/sekresyon testi maksimum yanıtı ulaşılmasına göre 10-15 dakika sürdü. Flebotomiye izleyen 3 saat içinde test süreci tamamlandı.

Lüsiferin/lüsiferaz ayıraçının sınırlı olması nedeniyle ATP salınım testi uygulanmayan 5 sağlıklı gönüllüye aynı prensiplere uygun olarak altı farklı agonist konsantrasyonunda trombosit agregasyon testi yapıldı. Bu katılımcılarda stir-bar içeren PRP küvetine 450 µl PRP ve 50 µl lüsiferin/lüsiferaz yerine sadece 500 µl PRP kondu. Böylece PRP içeren küvetteki agonistlerin final konsantrasyonları diğer olgularda olduğu gibi EPI için 11 µM, 1.1 µM, 0.55 µM ve ADP için 2.34 µM, 1.17 µM, 0.58 µM oldu. Bunun dışında test süreci eşzamanlı agregasyon ve ATP salınımı değerlendirilen diğer olgulardan farksızdı.

Trombositten zengin plazma eldesine kadar geçen sürede uygulanan işlemlere bağlı olarak trombositlerin agregasyon ve salınım testleri sürecinde agonist eklenmeden önce aktive olma olasılıkları mevcuttur ve bu durum primer trombosit hipereaktivitesinin yanlış

değerlendirilmesi neden olabilir. Test sonuçlarını etkileme potansiyeli olan bu olasılığın değerlendirilmesi amacı ile gelişigüzel seçilen sağlıklı gruba ait 2 ve hasta gruba ait 8 olmak üzere toplam 10 katılımcıda spontan agregasyon ve salınım yanıtı değerlendirildi. Bu amaçla 10 katılımcıda stir-bar içeren PRP küvetine 450 µl PRP ve 50 µl lüsiferin/lüsiferaz ilave edildikten hemen sonra ortama herhangi bir agonist eklenmeksizin 10 dakika süreyle agregasyon ve salınım yanıtı değerlendirildi.

Testin tüm ayrıntıları uygulama rehberi bölümünde verilmiştir.

Tablo 5. Trombositten zengin plazma seyreltme tablosu (15)

PRP içindeki trombosit sayısı (mm³)	PRP (µl)*	PPP (µl)*
275000	900	100
300000	830	170
325000	770	230
350000	710	290
375000	670	330
400000	620	380
425000	590	410
450000	550	450
475000	530	470
500000	500	500
525000	480	520
550000	450	560
575000	430	570
600000	420	580
625000	400	600
650000	380	620
675000	370	630
700000	360	640

PPP: trombosit fakir plazma; PRP: trombosit zengin plazma

* 1 ml standart PRP eldesi için gerekli PRP ve PPP hacimleri verilmiştir

Yapışkan Trombosit Sendromu Uygulama Rehberi

1. Tüm katılımcılara test öncesi çalışma ile ilgili detaylı bilgi ver.
2. Gönüllü olan katılımcılara test randevüsü ve gerekli durumlarda çalışma yürütücüsüne ulaşabilecekleri mobil telefon numarasını ver.
3. Test gününden en az 14 gün önce aspirin ve non-steroidal antienflamatuarlar gibi trombosit fonksiyonunu bozan ilaçları kes ve katılımcıları bu süre zarfında sigara içmemeleri, test günü en az 8 saat açlık sonrasında hastaneye gelmeleri konusunda uyar.
4. Çalışma öncesinde liyofilize ADP, EPI ve ATP içeren flakonları buzdolabında, ürün monografındaki öneriler doğrultusunda, uygun sıcaklıklarda beklet (EPI 2-8°C, ADP ve ATP < 0°C).
5. Çalışma başlangıcından 1 gün önce EPI, ADP ve lüsiferaz ayıraçlarını içeren flakonları uygun şekilde çöz ve bir katılımcı için gereken miktarda ayıraç içeren örnekleri ependorflara koyarak uygun koşullarda sakla:
 - EPI flakonu 50 ml distile su ile çöz ve 1mM EPI içeren stok solüsyonu hazırla. Stok solüsyonu 20 µl hacimli örneklerle ayırarak ependorflara koy ve test gününe kadar -80°C sıcaklıkta derin dondurucuda sakla.
 - ADP flakonu 5 ml serum fizyolojik ile çöz ve 1 mM ADP içeren stok solüsyonu hazırla. Stok solüsyonu 20 µl hacimli örneklerle ayırarak ependorflara koy ve test gününe kadar -80°C sıcaklıkta derin dondurucuda sakla.
 - Lüsiferaz flakonu 1.25 ml distile su ile çöz ve 2 µM lüsiferin/lüsiferaz içeren stok solüsyonu hazırla. Stok solüsyonu 300 µl hacimli örneklerle ayırarak ependorflara koy ve test gününe kadar -80°C sıcaklıkta derin dondurucuda sakla.
6. Flebotomi işleminden 1 saat önce lümiagregometri cihazını çalıştır ve test anında cihaz içi sıcaklığın 37 °C olmasını sağla.
7. Test günü katılımcılara bilgilendirilmiş onam formunu ver. Onam formunu okumaları ve soruları için zaman ayır. Onam formunun imzalanmasından sonra test işlemlerini başlat.
8. Test günü sabah 09⁰⁰-10⁰⁰ saatleri arasında Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda kan sayımı için antekübital venden 2 ml venöz kan örneğini antikoagülan olarak EDTA içeren tüplere al. Kan sayımını otomatize kan sayım cihazında yap.
9. Htc düzeyi normal olmayanlarda agregasyon ve sekresyon testleri için gereken sitratlı kan örneğinde hangi oranda sitrat bulunması gerektiği Tablo 4'de belirtilen formül ile hesapla.
10. Htc düzeyi normal sınırlarda olanlarda sodyum sitrat/kan oranı 1/9 olarak ayarla.

11. Kan sayımı sonuçları elde edildikten sonra kelebek iğne ile diğer koldaki antekübital vene damar yolu aç. İlk 5 ml venöz kan örneği atıldıktan sonra Htc değeri normal sınırlarda olan katılımcılardan antikoagülan olarak 2 ml %3.2 sodyum sitrat içeren plastik enjektöre 18 ml kan aspire et. Htc değeri normal olmayan katılımcılar için flebotomi öncesi plastik enjektöre Tablo-4’de belirtilen formül uyarınca hesaplanan miktarda sodyum sitrat çek ve enjektör içi toplam hacim 20 ml olacak şekilde kan aspire et.

12. Sitratlı kan örneğini 10 dakika süreyle 100g ile santrifüj ederek elde edilen PRP’yi ayrı bir plastik bir tüpe koy.

13. PRP’nin uzaklaştırılması sonrası geri kalan kan örneğini 10 dakika süreyle 1500 g ile santrifüj ederek elde edilen PPP’yi ayrı bir plastik tüpe koy.

14. PRP’nin içerdiği trombosit sayısı kan sayımı cihazı ile ölç.

15. Agregasyon ve sekresyon testleri için PRP’yi içerdiği trombosit sayısı $250000/\text{mm}^3$ olacak şekilde standardize et. Bu amaçla PRP’yi Tablo 5’de belirtildiği şekilde PPP ile seyrelt.

16. PRP ve PPP oda ısısında ağzı kapalı plastik tüplerde beklet.

17. 1 mM konsantrasyonda 20 μl EPI ve 2 μM konsantrasyonda 300 μl lüsiferaz/lüsiferin içeren birer ependorfu derin dondurucudan çıkartarak oda sıcaklığında erimeye bırak.

18. 500 μl PPP’yi silikonize küvete pipetle ve küveti lümiagregometri cihazında kendisi için belirlenmiş yuvaya yerleştir.

19. PRP eklenecek tüm silikonize küvetlere birer tane stir-bar at.

20. İçine stir-bar atılmış olan bir silikonize küvete 450 μl PRP ve 50 μl lüsiferaz/lüsiferin reaktanını pipetle, küveti lümiagregometri cihazında kendisi için belirlenmiş yuvaya yerleştir. Karışımı 1 dakika boyunca enkübasyonda bırak.

21. Bir dakikalık inkübasyon tamamlandıktan sonra lümiagregometri cihazını agregasyon eğrisinin başlangıcı 0 noktasında, minimum agregasyon %0 ve maksimum agregasyon %100 olacak şekilde ayarla. Cihazı EPI/ATP ölçüm moduna getir.

22. İnkübasyon sonrası daha önce çözünmüş olan ve 1 mM konsantrasyonda 20 μl EPI stok solüsyonu içeren ependorftan 5.5 μl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki EPI’nin final konsantrasyonu 11 μM olacaktır.

23. EPI ve lüsiferaz/lüsiferin içeren stok solüsyonların geri kalanını testin bir sonrası aşamasına kadar buz torbası üzerinde ışık görmeyecek şekilde beklet. Test boyunca buz torbasını 30 dakika ara ile değiştir.

24. On dakikalık süreçte agregasyon ve sekresyon eğrileri maksimum amplitüdlerine ulaşmışsa testi 10. dakikanın bitiminde sonlandır. Agregasyon ve sekresyon eğrileri 10. dakikanın bitiminde halen yükselmeye devam ediyorsa testi 15. dakikanın bitiminde sonlandır.

25. Test bitiminde lümiagregometri cihazı maksimum trombosit agregasyonu (% agregasyon) ve ATP salınımını (nM cinsinden) otomatik olarak bildirir. Sonuçları bilgisayara kaydet.

26. EPI stok solüsyonununundan 10 µl örneği ayrı bir ependorfa pipetle ve üzerine 90 µl serum fizyolojik ekleyerek 100 µM EPI içeren yeni stok solüsyonunu oluştur.

27. 19-21. basamakları tekrarla.

28. 100 µM konsantrasyonda 100 µl EPI stok solüsyonu içeren ependorftan 5.5 µl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki EPI'nin final konsantrasyonu 1.1 µM olacaktır.

29. 23-25. basamakları tekrarla.

30. 100 µM konsantrasyonda EPI stok solüsyonununundan 50 µl örneği ayrı bir ependorfa pipetle ve üzerine 50 µl serum fizyolojik ekleyerek 50 µM EPI içeren yeni stok solüsyonunu oluştur.

31. 19-21. basamakları tekrarla.

32. 50 µM konsantrasyonda 100 µl EPI stok solüsyonu içeren ependorftan 5.5 µl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki EPI'nin final konsantrasyonu 0.55 µM olacaktır.

33. 23-25. basamakları tekrarla.

34. 1 mM konsantrasyonda 20 µl ADP stok konsantrasyonunu içeren bir ependorfu - 80°C'daki derin dondurucudan çıkart ve oda sıcaklığında erimesini bekle.

35. ADP stok solüsyonundan 10 µl örneği yeni bir ependorfa pipetle ve üzerine 32.7 ml serum salin ekle. Böylece yeni ADP stok konsantrasyonu 234 µM olacaktır.

36. 19-21. basamakları tekrarla. Ancak bu kez cihazı ADP/ATP moduna getir.

37. 234 µM konsantrasyonda 42.7 µl epinefrin stok solüsyonu içeren ependorftan 5 µl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki epinefrinin final konsantrasyonu 2.34 µM olacaktır.

38. ADP ve lüsiferaz/lüsiferin içeren stok solüsyonların geri kalanını testin bir sonrası aşamasına kadar buz torbası üzerinde ışık görmeyecek şekilde beklet. Test boyunca buz torbasını 30 dakika ara ile değiştir.

39. 24 ve 25. basamakları tekrarla.

40. 234 μM ADP stok solüsyonunundan 35 μl örneği ayrı bir ependorfa pipetle ve üzerine 35 μl fizyolojik salin ekleyerek 70 μl hacimde 117 μM ADP içeren yeni stok solüsyonunu oluştur.

41. 36. basamağı tekrarla

42. 117 μM konsantrasyonda 70 μl epinefrin stok solüsyonu içeren ependorftan 5 μl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki epinefrinin final konsantrasyonu 1.17 μM olacaktır.

43. 38 ve 39. basamakları tekrarla.

44. 117 μM ADP stok solüsyonunundan 50 μl örneği ayrı bir ependorfa pipetle ve üzerine 50 μl fizyolojik salin ekleyerek 100 μl hacimde 58 μM ADP içeren yeni stok solüsyonunu oluştur.

45. 36.basamağı tekrarla.

46. 58 μM konsantrasyonda 100 μl epinefrin stok solüsyonu içeren ependorftan 5 μl örneği PRP içeren agregasyon küvetine pipetle ve testi başlat. Agregasyon küvetindeki epinefrinin final konsantrasyonu 0.58 μM olacaktır.

47. 24 ve 25. basamakları tekrarla.

İstatistiksel Yöntemler

Tüm veriler bilgisayara kaydedildi. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA7,1 istatistik programı kullanıldı. Sağlıklı grupta izlenen agregasyon ve ATP salınımının 10-90. persantil değerleri normal sınırları belirlemekte kullanıldı. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman's korelasyon analizi ile değerlendirildi. Aynı agonistin farklı konsantrasyonlarında izlenen agregasyon ve salınım yanıtlarının medyan değerleri arasındaki ilişkinin belirlenmesinde Wilcoxon T testi kullanıldı. Kategorik değişkenler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. SPS tanısında agregasyon yanıtı temel alınarak sekresyon yanıtının özgüllüğü ve duyarlılığı değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya yaşları 14-59 arasında değişen 49 sağlıklı ve yaşları 36-65 arasında değişen 23 hasta olmak üzere toplam 72 birey katıldı. Sağlıklı grupta 26 kadın, 23 erkek yer alırken, hasta grubunda 9 kadın, 14 erkek yer aldı.

Tablo.6 Sağlıklı ve hasta katılımcıların demografik verileri

Değişkenler	Sağlıklı grup	Hasta grubu	P
Yaş (ortalama±SD) (yıl)	34.5±12.7	50±7	< 0.001
Yaş sınırları	14-59	36-65	-
Cinsiyet (K/E-%)*	26(%53)/23(%47)	9(%39)/14(%61)	0.273

K: Kadın; **E:** Erkek; SD standart deviasyon

Sağlıklı katılımcılarda farklı agonist konsantrasyonlarında izlenen maksimum trombosit agregasyonu ve ATP salınımı sonuçlarının 10-90. persantil arası değerleri normal sınırları belirlemekte kullanıldı. Sağlıklı katılımcılardan bu yöntemle elde edilen sonuçlar doğrultusunda belirlenen farklı agonist konsantrasyonlarındaki agregasyon ve salınım değerleri Tablo 7’de sunulmuştur. Hasta ve sağlıklı katılımcılar birlikte değerlendirildiğinde tüm agonist konsantrasyonlarında agonist konsantrasyonu azaldıkça izlenen maksimum trombosit agregasyonu ve ATP salınımı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşme saptandı (Tablo 8).

Tablo. 7 Laboratuvarımızın farklı agonist konsantrasyonlarında izlenen maksimum trombosit

agregasyonu ve ATP salınımının normal değerleri

Agonist	Agregasyon (%)	ATP salınımı (nM)
EPI 11 µM	21-94	0-1.91
EPI 1.1 µM	12-93	0-1.23
EPI 0.55 µM	6-85	0-0.95
ADP 2.34 µM	23-85	0-1.08
ADP 1.17 µM	6-61	0-0.43
ADP 0.58 µM	2-14	0

ADP: adenozin difosfat; **ATP:** adenozin trifosfat; **EPI:** epinefrin

Tablo. 8 Tüm katılımcılarda azalan agonist konsantrasyonları ile agregasyon/salınım yanıtı ilişkisi

Karşılaştırılan agonistler	Agregasyon ilişkisi (p)	ATP salınım ilişkisi (p)
EPI 11-1.1 µM	P<0.001	P<0.001
EPI 1.1-0.55 µM	P<0.001	P<0.001
ADP 2.34-1.17 µM	P<0.001	P<0.001
ADP 1.17-0.58 µM	P<0.001	P<0.001

ADP: adenozin difosfat; **ATP:** adenozin trifosfat; **EPI:** epinefrin

Hasta ve sağlıklı grup arasında cinsiyet açısından fark bulunmamasına karşın, hasta grubunda yer alan katılımcıların yaş ortalamasının sağlıklı katılımcılara göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). Ancak hasta ve sağlıklı katılımcılar birlikte değerlendirildiğinde tüm agonist konsantrasyonlarında yaş ile trombosit agregasyonu ve ATP salınımı arasında korelasyon bulunmadığı saptandı. Tüm katılımcılar değerlendirildiğinde 2.34 µM ADP konsantrasyonunda trombosit agregasyonu ve ATP salınımının medyan değerleri kadınlarda erkeklere kıyasla anlamlı olarak yüksek izlendi (agregasyon ve salınım yanıtları için p değerleri; 0.038 ve 0.017) (Tablo 9). Bunun dışında kalan diğer tüm agonist konsantrasyonlarında cinsiyet ile agregasyon ve sekresyon yanıtı arasında ilişki saptanmadı.

Hastaların koroner anjiyografi endikasyonları değerlendirildiğinde 22 (%96) olguda USAP ve bir (%4) olguda ST-elevasyonlu miyokard infarktüsü tanısı ile koroner anjiyografi

yapıldığı görüldü. USAP tanısı alan 3 (%14) olguda iskemik tipte elektrokardiyografi (EKG) bulguları, 8 (%36) olguda efor testi pozitifliği, 5 (%23) olguda ise miyokard perfüzyon sintigrafisi pozitifliği saptandı. USAP tanısı alan 6 (%27) olguda iskemik tipte EKG değişikliklerine rastlanmazken, bu hastalara koroner anjiyografi öncesi efor testi veya miyokard perfüzyon sintigrafisi uygulanmadığı görüldü. Hastaların kardiyovasküler risk faktörleri açısından değerlendirilmesi NCEP-ATP III klavuzu (16) temel alınarak yapılmış ve sonuçlar Tablo 10'da özetlenmiştir. Hiçbir hastada periferik arter hastalığı ve koroner arter hastalığı öyküsü yoktu. Hastaların 4'ünün (%17) ailesinde erken koroner kalp hastalığı öyküsü olduğu görüldü. Trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta kendi laboratuvarımızda elde ettiğimiz maksimum trombosit agregasyonunun normal değerlerini kullandığında hasta grubunda 7 (%30) olguda kesin SPS, 2 (%9) olguda şüpheli SPS saptandı. On dört (%61) olgu ise, SPS açısından normal bulundu. SPS pozitif olgular birlikte değerlendirildiğinde 3 (%43) olguda tip I SPS, 2 (%28.5) olguda tip II SPS ve 2 (%28.5) olguda tip III SPS saptandı. Hastalarda kardiyovasküler risk faktörü sayısının medyan değerleri ile SPS arasındaki ilişkisi değerlendirildiğinde normal agregasyon paterni gösteren 14 olguda kardiyovasküler risk faktörlerinin medyan değeri 2, kesin ve şüpheli SPS tanısı alan 9 hastada risk faktörlerinin medyan değeri 3 olarak saptandı. Ancak risk faktörlerinin sayısı açısından SPS negatif hastalar ile pozitif (kesin ve şüpheli pozitifler) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0.163$).

Hasta ve sağlıklıları ayrı ayrı ve birlikte değerlendirdiğimizde $0.58 \mu\text{M}$ ADP konsantrasyonu dışında kalan diğer tüm agonist konsantrasyonlarında maksimum trombosit agregasyonu ile ATP salınımının istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gösterdiği izlendi (Tablo 11).

Tablo 9. $2.34 \mu\text{M}$ ADP konsantrasyonunda izlenen maksimum trombosit agregasyonu ve ATP salınımı ile cinsiyet ilişkisi

Cinsiyet	Kadın	Erkek	P
Agregasyon (%)	67	34	0.038
ATP salınımı (nM)	0.68	0.18	0.017

ATP: adenozin trifosfat

Tablo10. Hastaların kardiyovasküler risk faktörleri

Risk faktörleri*	Olgu sayısı (n)	Sıklık (%)
Sigara	11	48
Hipertansiyon	11	48
HDL kolesterolü	6	26
Ailede erken koroner kalp hastalığı öyküsü	4	17
Yaş	12	52
DM	1	4

*Risk faktörleri AKS sırasında saptanan özelliklerine göre belirlenmiştir. Son 1 ay içinde sigara içmiş olmak, kan basıncının ≥ 140 mm/Hg olması veya antihipertansif tedavi altında olmak, HDL kolesterolünün < 40 mg/dl olması, birinci derece erkek akrabalarında < 55 , bayan akrabalarında < 65 yaşında koroner kalp hastalığı öyküsü, erkeklerin ≥ 45 ve bayanların ≥ 55 yaşında olmaları risk faktörü olarak tanımlanmıştır. DM koroner kalp hastalığı eşdeğeri olarak tanımlanmaktadır.

***DM:** diabetes mellitus; **HDL:** high density lipoprotein-yüksek dansiteli lipoprotein

Tablo 11. Agregasyon ile salınım yanıtı arasındaki ilişki*

Agonist	Agregasyon (medyan-%)	ATP salınımı (medyan-nM)	Korelasyon katsayısı (r)	P
EPI 11 μ M	79	0.92	0.626	P<0.001
EPI 1.1 μ M	59	0.31	0.757	P<0.001
EPI 0.55 μ M	16	0	0.779	P<0.001
ADP 2.34 μ M	54	0.31	0.790	P<0.001
ADP 1.17 μ M	17	0	0.732	P<0.001
ADP 0.58 μ M	7	0	0.212	P=0.087

*Hasta ve sağlıklı katılımcılar birlikte değerlendirilmiştir. Agregasyon verileri toplam 72, ATP salınımı verileri 65 katılımcı üzerinden hesaplanmıştır. Agregasyon ve ATP salınımı karşılaştırması 65 katılımcı üzerinden yapılmıştır.

ADP: adenosin difosfat; **ATP:** adenosin trifosfat; **EPI:** epinefrin

Katılımcıların hiçbirinde spontan trombosit agregasyonu ve salınımı izlenmedi. Spontan trombosit aktivasyonu izlenmeyen 8 hastanın üçünde kesin, birinde ise şüpheli SPS saptandı. Tüm katılımcılarda maksimum spontan agregasyon $\leq 5\%$ ve salınım 0 nM olarak izlendi. Spontan agregasyon ve salınım yanıtının değerlendirildiği 10 katılımcının sonuçları Tablo 12’de sunulmuştur.

Tablo 12. Spontan trombosit reaktivitesi

Katılımcılar*	Agregasyon (%)	ATP Salınımı (nM)	Kesin SPS	Şüpheli SPS
1	4	0		
2	2	0		
3	0	0	(+)	(-)
4	2	0	(-)	(-)
5	3	0	(-)	(+)
6	3	0	(-)	(-)
7	4	0	(-)	(-)
8	3	0	(-)	(-)
9	5	0	(+)	(-)
10	4	0	(+)	(-)

1 ve 2 numaralı katılımcılar sağlıklı gruba dahil olduğundan bu katılımcılara SPS kriterleri uygulanmadı. 3-10 numaralı katılımcılar ise hasta grubuna aittir.

ATP: adenozin trifosfat; **SPS:** Sticky platelet syndrome-yapışkan trombosit sendromu

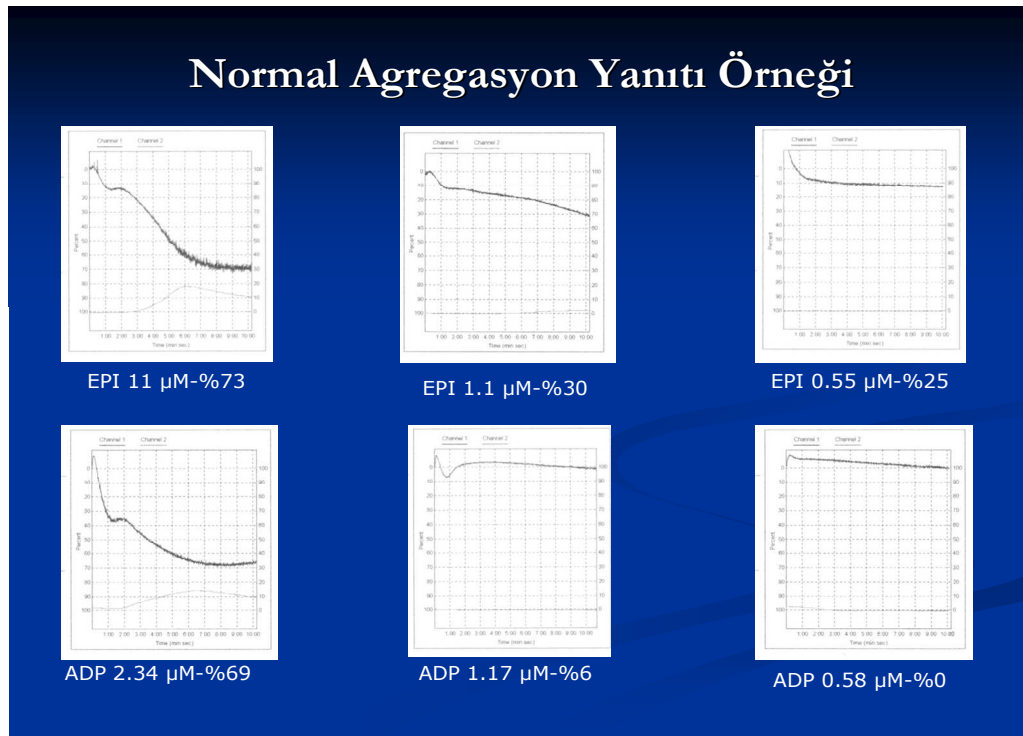
Yapışkan trombosit sendromu'nun laboratuvar tanı ölçütleri trombosit agregasyonunu esas almaktadır. ADP'nin 0.58 μ M konsantrasyonu dışında tüm agonist konsantrasyonlarında agregasyon ile salınım yanıtı arasında anlamlı ilişki saptanması nedeniyle trombosit hiperreaktivitesini tanımlamada salınım yanıtının rolü değerlendirildi. Bu amaçla agregasyon yerine laboratuvarımızın farklı agonist konsantrasyonlarında izlenen ATP salınımının normal değerleri kullanılarak analiz yapıldı. SPS'nin laboratuvar tanı ölçütlerinin mantığına uygun olarak epinefrin 11, 1.1 ve 0.55 μ M ile ADP 2.34, 1.17 ve 0.58 μ M konsantrasyonlarının tümünde normal sınırlarda ATP salınımı izlenen olgular normal olarak değerlendirildi. Altı farklı agonist konsantrasyonunun en az ikisinde normalin üzerinde ATP salınımı izlenenler trombosit hiperreaktivitesi pozitif ve sadece bir agonist konsantrasyonunda anormal salınım yanıtı olanlar ise şüpheli olarak kabul edildi. Böylece agregasyon yanıtları trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta altın standart olarak kabul edilerek, ATP salınım yanıtının duyarlılığı ve özgünlüğü değerlendirildi. (Tablo 13). ATP salınım yanıtının trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta %43 (3/7) duyarlı ve %93 (13/14) özgün olduğu görüldü. Normal agregasyon yanıtı gösteren ve kesin SPS tanısı alan iki hastanın agregasyon eğrileri Şekil 2 ve Şekil 3'de sunulmuştur. Hasta ve sağlıklı katılımcılara ait demografik veriler Tablo 6'da sunulmuştur. Hasta ve sağlıklı grubun agregasyon ve sekresyon değerleri sırası ile Tablo 14 ve Tablo 15'de belirtilmiştir.

Tablo 13. Trombosit hiperreaktivitesini tanımlamada adenosin trifosfat salınımının rolü

	Salınım (+)	ATP Salınımı (-)	ATP Salınımı (?)
Agregasyon (+)	3	2	2
Agregasyon (-)	0	13	1
Agregasyon (?)	0	2	0

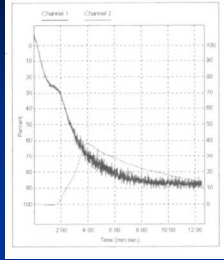
ATP: adenosin trifosfat

(+): kesin trombosit hipereaktivitesi; **(-):** normal; **(?):** şüpheli trombosit hiperreaktivitesi

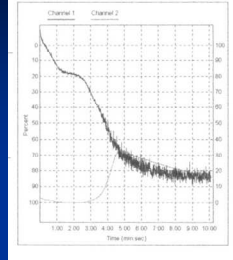


Şekil 2. Normal agregasyon yanıtı veren olgu

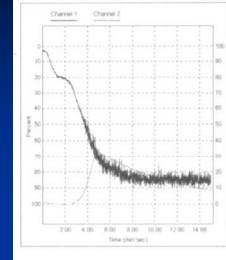
Anormal Agregasyon Yanıtı Örneği



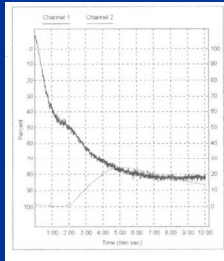
EPI 11 µM-%99



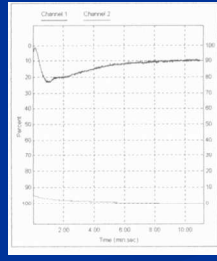
EPI 1.1 µM-%100



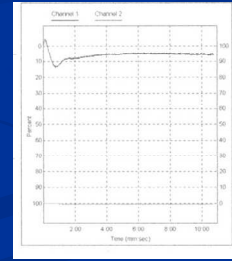
EPI 0.55 µM-%88



ADP 2.34 µM-%93



ADP 1.17 µM-%18



ADP 0.58 µM-%15

Şekil 3. Kesin SPS tanısı alan hasta*

Tablo 14. Hasta grubunda agregasyon/sekresyon verileri*

Kimlik	Cins	Yaş	Protokol	E11	E1.1	E0.55	A2.34	A1.17	A0.58	Spn	SPS
Ü.Ç	K	46	2006/21	18/0	9/0	6/0	15/0	6/0	4/0	-	N
B.T	E	40	2006/22	86/0.68	7/0	3/0	20/0.12	5/0	10/0	-	N
A.F	E	57	2006/23	91/1.14	9/0	7/0	34/0	1/0	0/0	-	N
G.Ö	K	45	2006/24	11/0	9/0	16/0	12/0	6/0	7/0	-	N
Ş.K	E	48	2006/25	49/0.37	11/0	8/0	12/0	9/0	10/0	-	N
N.E	K	44	2006/31	95/1.32	77/1.08	74/0.77	92/0.86	22/0.12	14/0	0	Ke
Ö.Ş	K	51	2006/32	24/0	10/0	7/0	58/0.37	10/0	1/0	2	N
İ.Y	E	59	2006/33	95/0.95	70/0.12	13/0	73/0.40	9/0	1/0	3	Ş
B.A	E	49	2006/34	93/1.23	87/0.62	14/0	22/0.18	6/0	4/0	3	N
F.P	K	52	2006/35	89/0.89	55/0	13/0	50/0.31	21/0	5/0	4	N
İ.Ö	E	51	2006/37	46/0	23/0	14/0	57/0.25	20/0	15/0	3	N
Ş.K	E	59	2006/38	98/2.06	78/0.74	12/0	94/0.77	44/0.12	14/0	-	Ke
A.Z	E	48	2006/39	84/1.54	71/1.20	14/0	83/0.71	43/0.25	18/0	-	Ş
M.Ç	K	65	2006/40	86/3.05	76/0.80	10/0	82/0.74	83/0.62	26/0	5	Ke
A.Ü	E	60	2006/43	90/3.45	94/1.20	91/0.80	81/0.98	90/0.86	6/0	4	Ke
H.T	E	49	2006/41	87/1.23	90/0.77	78/0.68	86/0.34	60/0.22	19/0	-	Ke
Ş.K	K	46	2006/42	90/1.75	81/1.63	12/0	19/0	8/0	4/0	-	N
F.K	E	50	2006/44	20/0	18/0	17/0	29/0	2/0	3/0	-	N
H.K	E	54	2006/45	14/0	5/0	12/0	22/0	12/0	6/0	-	N
M.K	K	41	2006/46	32/0	12/0	20/0	24/0	15/0	5/0	-	N
A.D	E	56	2006/47	95/2.22	83/0.71	86/0.46	86/0.46	25/0	10/0	-	Ke
N.Ç	K	53	2006/48	88/1.05	19/0	8/0	38/0.18	5/0	4/0	-	N
B.Y	E	36	2006/50	99/2.25	95/0.89	90/1.02	54/0.25	21/0	15/0	-	Ke

A2.34: 2.34 µM ADP; A1.17: 1.17 µM ADP; A0.58: 0.58 µM ADP

E11: 11 µM Epinefrin; E1.1: 1.1 µM Epinefrin; E0.55: 0.55 µM Epinefrin

E: Erkek; K: Kadın; Ke: Kesin; N: Normal; Spn: Spontan trombosit agregasyonu

SPS: Yapışkan trombosit sendromu; Ş: Şüpheli

*: Tüm agonist konsantrasyonlarında ilk değerler trombosit agregasyonu (%), parantez işaretini izleyen değerler ATP sekresyonu (nM) sonuçlarını yansıtmaktadır.

Tablo 15. Sağlıklılarda agregasyon/sekresyon verileri*

Kimlik	Cins	Yaş	Protokol	E11	E1.1	E0.55	A2.34	A1.17	A0.58	Spn
M.U	E	25	2006/3	42/0.92	42/0	40/0	38/0.65	34/0.40	8/0	-
T.Y	E	31	2006/4	29/0	40/0.15	21/0	23/0	6/0	2/0	-
O.U	E	32	2006/5	58/0.55	24/0	20/0	55/0.37	5/0	0/0	-
B.Ö	K	29	2006/6	79/1.17	80/0.95	70/0.95	74/0.68	14/0	12/0	-
T.A	K	30	2006/7	62/0.62	52/0.55	66/0.74	69/0.49	18/0	2/0	-
N.E	K	28	2006/8	66/0.98	65/1.11	64/0.58	58/0.68	11/0	5/0	-
M.Ö	E	26	2006/10	54/0	20/0	6/0	58/0.25	50/0.22	21/0	-
E.U	K	26	2006/9	74/0.92	73/0.55	42/0.40	58/1.17	61/1.26	7/0	-
A.A	K	18	2006/11	87/0.95	70/0.74	71/0.83	29/0	18/0	5/0	-
F.A	K	21	2006/12	46/0.25	52/0.18	2/0	11/0	10/0	2/0	-
E.A	E	26	2006/13	94/0	99/0.40	99/0.55	71/0.68	7/0	6/0	-
S.Ç	K	48	2006/1	44/1.48	45/1.42	46/1.26	47/0.83	46/1.17	42/0	-
H.Ö	K	49	2006/2	40/2.18	42/2.46	38/1.72	44/1.54	47/1.88	38/0	-
B.S	E	44	2006/20	77/1.08	62/0.22	6/0	32/0.25	11/0	11/0	-
R.U	E	40	2006/14	96/0.68	96/0.49	38/0	30/0	13/0	6/0	-
R.C	K	54	2006/15	37/0	32/0	30/0	74/0	31/0	14/0	-
H.İ	K	47	2006/16	89/0.86	80/0.65	75/0.15	98/0.92	82/0.40	9/0	-
H.İ	E	52	2006/17	79/1.26	86/0	89/0.55	99/2.71	72/0.43	8/0	-
M.H	E	47	2006/18	98/0.43	90/0.89	12/0	86/1.08	17/0	13/0	-
M.K	K	52	2006/19	18/0	10/0	18/0	41/0.77	11/0	4/0	-
A.M	E	55	2006/26	65/0.68	10/0	6/0	23/0	13/0	0/0	-
A.A	E	59	2006/27	78/0.65	30/0	9/0	21/0	12/0	9/0	-
A.D	E	54	2006/28	63/1.60	62/0.55	6/0	0/0	2/0	0/0	-
A.K	E	52	2006/29	65/0.74	18/0	6/0	26/0	6/0	2/0	-
N.B	E	54	2006/30	74/1.60	80/1.02	70/0.34	40/0	21/0	12/0	4
M.V	E	55	2006/36	78/0.86	71/0.31	15/0	27/0.18	6/0	10/0	2
S.A	E	32	2006/49	26/0	18/0	10/0	10/0	8/0	2/0	-
B.E	E	24	2006/51	100/0.74	100/0.43	42/0	36/0	11/0	13/0	-
K.K	K	22	2006/53	78/1.91	96/0.98	23/0	86/0.77	23/0	5/0	-
S.E	E	29	2006/54	18/0	16/0	18/0	29/0.15	13/0	7/0	-
İ.U	K	14	2006/55	91/2.15	88/1.78	85/1.66	82/1.72	78/1.90	74/1.26	-
Z.U	K	44	2006/56	99/2.06	91/1.60	91/1.45	86/1.88	17/0	4/0	-
İ.K	K	21	2006/57	84/1.26	77/0.80	8/0	75/1.02	7/0	3/0	-
D.M	K	22	2006/58	70/2.18	70/1.05	69/0.49	68/1.26	44/0.25	12/0	-
Ş.A	E	24	2006/52	23/0	25/0	21/0	32/0.22	18/0	6/0	-
Ü.H	K	22	2006/60	22/0	12/0	9/0	51/0	30/0	8/0	-
S.A	K	29	2006/61	89/0.61	11/0	7/0	88/0.61	16/0	4/0	-
E.Ç	K	26	2006/62	92/1.11	86/0.71	8/0	76/0.80	16/0	1/0	-
N.Ç	K	33	2006/59	98/0.98	78/0.58	14/0	67/0.62	19/0	6/0	-
Y.K	K	43	2006/63	84/1.35	25/0	14/0	53/0.34	22/0	5/0	-
K.S	E	30	2006/64	21/0	12/0	11/0	30/0	10/0	5/0	-

Tablo 15. (Devamı) Sağlıklılarda agregasyon/sekresyon verileri*

F.Y	K	26	2006/65	89/1.35	95/1.23	87/1.05	85/1.45	21/0	11/0	-
A.K	E	45	2006/66	94/2.62	84/1.97	94/0.46	91/0.71	81/0.49	57/0	-
S.T	K	30	2006/67	21/0	13/0	9/0	47/0	32/0	11/0	-
V.H	K	19	2006/68	87/-	16/-	13/-	75/-	26/-	9/-	-
A.S	K	24	2006/69	84/-	86/-	9/-	81/-	76/-	10/-	-
R.K	E	33	2006/70	16/-	13/-	10/-	25/-	16/-	9/-	-
O.B	E	21	2006/71	80/-	35/-	25/-	57/-	34/-	15/-	-
Ç.G	K	22	2006/72	84/-	93/-	81/-	77/-	44/-	20/-	-

A2.34: 2.34 µM ADP; A1.17: 1.17 µM ADP; A0.58: 0.58 µM ADP

E11: 11 µM Epinefrin; E1.1: 1.1 µM Epinefrin; E0.55: 0.55 µM Epinefrin

E: Erkek; K: Kadın; Spn: Spontan trombosit agregasyonu (%)

*: Tüm agonist konsantrasyonlarında ilk değerler trombosit agregasyonu (%), parantez işaretini izleyen değerler ATP sekresyonu (nM) sonuçlarını yansıtmaktadır. Son 5 sağlıklı katılımcıda sadece trombosit agregasyonu değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA

Hastalar sağlıklı grupta yer alan katılımcılara kıyasla daha yaşlı olmasına karşın yaş ile tüm agonist konsantrasyonlarında izlenen trombosit agregasyonu ve ATP salınımının ilişkisiz olduğu saptandı. Hasta ve sağlıklı katılımcılar birlikte değerlendirildiğinde kadınlarda sadece 2.34 μ M ADP konsantrasyonunda agregasyon ve salınım yanıtlarının erkeklerden daha yüksek olduğu izlendi. Ancak cinsiyet açısından hasta ve sağlıklı katılımcılar arasında fark bulunmadı. Öte yandan SPS tanı kriterleri içinde yer alan ve trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta kullanılan agregasyon normalleri yaş ve cinsiyetten bağımsız tanımlanmıştır. Bu nedenle gruplar arasındaki izlenen yaş farkının kendi laboratuvarımızın normallerini belirlemekte engel oluşturmayacağı düşünüldü. Katılımcılar birlikte değerlendirildiğinde tüm agonist konsantrasyonlarında agonist konsantrasyonu azaltıldıkça agregasyon ve salınım yanıtlarının anlamlı şekilde düşmesi testlerin uygun şekilde yapıldığının göstergesiydi ve beklentilerimiz doğrultusunda gerçekleşti.

Çalışmamızda ortaya çıkan önemli bir bulgu SPS çalışmaları için referans merkezlerin başında gelen ThromboCare laboratuvarı verileri ile karşılaştırıldığında kendi laboratuvar normallerimizin tüm agonist konsantrasyonları için daha yüksek olmasıdır (Tablo 2 ve 7). Bunun çok çeşitli nedenleri olabilir. Öncelikle tüm biyolojik değişkenlerde olduğu gibi trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta kullanılan agregasyon yanıtı toplumlar arasında farklılık gösterebilir. Bir diğer olasılık Amerika Birleşik Devletleri toplumuna kıyasla toplumumuzda trombosit hiperreaktivitesi olan ve tromboz öyküsü bulunmayan sağlıklı kişilerin oranının daha yüksek olabilmesidir. SPS tanısı trombosit hiperreaktivitesi yanında tromboz öyküsüne dayandığından SPS taramaları tromboz kliniği olan hastalarda yapılmaktadır. Bildiğimiz kadarı ile literatürde sağlıklı bireylerde trombosit hiperreaktivitesi

sıklığı üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Trombosit agregasyon testlerinin standardizasyonu güçtür. Test sonuçları flebotomi tekniğinden başlayarak antikoagülan konsantrasyonu, ortam sıcaklığı, pH, PRP'nin ve PPP'nin trombosit içeriği, stir-bar dönüş hızı, hemoliz, lipemi, enflamasyon, fibrinojen ve CRP düzeyleri, agregasyon cihazının kalibrasyonu gibi çok çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (15). Referans laboratuvarlarında dahi, her olguda agregasyon sonuçlarını etkileyecek tüm parametrelerin kontrolü çoğu zaman mümkün değildir. Doğru ve güvenilir sonuçlara ulaşılması için testlerin mümkün olduğunca fazla bireyde, farklı laborantlar tarafından, farklı agregasyon cihazlarının kullanılması ile tekrarlanabilirliğin denetlenmesi gereklidir (12). Çalışmamızda sağlıklı grup içinde yer alan 49 bireyde agregasyon ve 45 bireyde ise agregasyon ile eşzamanlı salınım yanıtı değerlendirilmiştir. Flebotomiden başlayarak PRP ve PPP eldesine kadar geçen tüm süreçler aynı laborant (TUu) tarafından yapılmış ve bundan sonraki tüm aşamalar tek bir araştırmacı tarafından (ET) tamamlanmıştır. Tüm test aşamaları her bir katılımcı için flebotomiye takiben üç saat içinde tamamlanmıştır. İmkanlar ölçüsünde test sonuçlarını etkileyebilecek parametreler kontrol altına alınmaya çalışılmıştır. Ancak normal değerleri belirlemekte kullandığımız sağlıklı katılımcı sayımız düşüktür ve kit miktarının sınırlı olması nedeniyle katılımcılarda tekrarlanabilirlik denetlenememiştir. SPS tanısı için kullanılacak normal değerler tüm laboratuvarlar tarafından kendi toplumlarına mensup sağlıklı bireylerden elde edilen veriler doğrultusunda belirlenmektedir. SPS tanı kriterleri belirlenmiş olmakla birlikte trombosit hiperreaktivitesinin normal sınırları laboratuvarlar arasında farklılık göstermektedir (2,10). Bu nedenle sayılan tüm bu kısıtlamalara karşın toplumumuzda SPS araştırmaları yapabilmek için kendi toplumumuzun laboratuvar normallerini kullanmamızın önemi açıktır.

Akut koroner sendrom öyküsü olan 23 hastanın yedisinde (%30) kesin ve ikisinde (%9) şüpheli SPS saptadık. Tek bir agonist konsantrasyonunda anormal agregasyon yanıtı alan iki hastada tanının kesinleştirilmesi amacı ile SPS testlerinin tekrarlanması planlandı. Ancak sözkonusu iki hasta tekrar testleri için yapılan çağrıya olumlu yanıt vermedi. Şüpheli SPS tanısı alan hastaların birinde 11 μ M epinefrin, diğerinde ise 0.58 μ M ADP konsantrasyonunda anormal agregasyon yanıtı izlendi. Bildiğimiz kadarı ile özgün olarak koroner anjiyografileri normal AKS olgularında trombosit hiperreaktivitesini araştıran tek çalışma Rubenfire ve ark. (10) tarafından 1986 yılında yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında 41 olguda SPS tanı kriterleri için kullanılan agonist konsantrasyonlarında trombosit hiperreaktivitesi değerlendirilmiş ve hastaların %85'inde en az bir agonist konsantrasyonunda, %29'unda ise tüm agonist konsantrasyonlarında anormal agregasyon yanıtı izlenmiştir. Çalışma tip III SPS'nin tanımlanması ve SPS tanı kriterlerinin

belirlenmesinden önce yapıldığından hastalarda SPS sıklığı belirtilmemiştir. Ancak mevcut bilgilerimiz doğrultusunda sözkonusu hasta grubunda kesin SPS sıklığının %29-%85 arasında bir değere sahip olduğunu söyleyebiliriz (10). Açıklanamayan venöz ve arteryel tromboz öyküsü olan 153 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada koroner tromboz olgularında SPS sıklığı %18.7 olarak bulunmuştur (2). SPS sıklığı üzerinde araştırma yapılan trombofili popülasyonunun etnik kökenine ve tromboz lokalizasyonuna göre farklılıklar göstermektedir. Thomas (17) hiperkoagülabilité sendromlarını konu ettiği derlemesinde, SPS sıklığını %14 olarak verirken, aynı derlemede bahsi geçen bir başka çalışmada 195 trombofili hastasında SPS sıklığını %28, aktive protein C direncini %15 bulunmuş ve SPS'nin ilgili hasta popülasyonunda en sık rastlanan trombofili nedeni olduğunu vurgulamıştır. Bick (2) SPS sıklığını periferik arter trombozunda %12, derin ven trombozunda %14.1, serebrovasküler trombozda %26.3 ve retinal vasküler trombozda %50 olarak saptamıştır. Ruiz-Arguelles ve ark. (18) tarafından Meksika kökenli 48 primer trombofili hastası üzerinde yapılan bir çalışmada SPS sıklığı %48 olarak bildirilmiştir. Bick ve ark. (19) 2004 yılı boyunca ilk tromboz atağı ile başvuran, tekrarlayan düşük hastalarının dahil edilmediği 599 hastayı değerlendirdiği çalışmasında %20.5 olguda SPS saptamış ve hasta grubunda SPS sıklığının Faktör V Leiden mutasyonu sıklığına oranla iki kat daha yüksek izlendiğini bildirmiştir. Hasta grubumuzda saptanan SPS sıklığını değerlendirirken trombosit hiperreaktivitesini tanımlamak için kullandığımız normal agregasyon değerlerimizin referans merkezler ile kıyaslandığında belirgin olarak yüksek olduğunu dikkate almak gerekir. Yukarıda belirtildiği gibi sağlıklı kontrol grubunun sayısı arttırıldığında agregasyon normallerimizde değişiklikler olabilir. Laboratuvarımızın maksimum agregasyon normallerinin üst sınırında düşme olması halinde AKS olgularımızda SPS sıklığının artması kaçınılmazdır. Ancak mevcut durumda şüpheli SPS tanısı alan iki hastamız da dikkate alındığında koroner anjiyografileri normal AKS olgularımızda SPS sıklığının yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

Genel bilgiler bölümünde belirtildiği gibi trombosit hiperreaktivitesi sekonder trombosit aktivasyonuna yol açan çok farklı klinik durumlarda ortaya çıkabilir. Bu olgularda trombositlerin intrensek hiperreaktivitesinden ziyade altta yatan patolojik süreç ile ilişkili olarak trombositlerin sekonder aktivasyonu sözkonusudur. Çalışmamıza katılan AKS olgularımızın tümünde AKS sonrası geçen süre 6 ayın üzerinde olduğundan hasta grubunda AKS'a bağlı sekonder trombosit aktivasyonu olasılığı bulunmamaktadır. Benzer şekilde başta ortam sıcaklığı olmak üzere PRP'nin elde edilmesine kadar geçen süreçte çok çeşitli etmenler agregasyon testleri öncesinde trombositlerin sekonder aktivasyonuna yol açabilir (15). Bu durum hastalarda agonist ilavesi sonrasında izlenen yüksek agregasyon değerlerinin

yanlılıkla primer trombosit hiperreaktivitesi ile ilişkilendirilmesi sonucunu doğurur. PRP içindeki trombositlerin halihazırda aktif halde dolaşması durumunda ortama agonist eklenmesine gerek kalmaksızın spontan olarak yüksek agregasyon ve salınım yanıtları beklenirdi. Bu olasılığı değerlendirmek amacı ile toplam 10 katılımcıda agonist eklenmeksizin spontan agregasyon ve salınım yanıtı değerlendirildi. Katılımcıların hiçbirinde spontan trombosit agregasyonu ve salınımı izlenmemesi test süreçlerine bağlı olarak oluşan sekonder trombosit aktivasyonu olasılığını dışlamaktadır. Öte yandan spontan trombosit aktivasyonunun değerlendirildiği 8 hastanın üçünde kesin, birinde ise şüpheli SPS saptanmıştır. Kesin ve şüpheli SPS tanısı alan hastalar birlikte değerlendirildiğinde olguların %44'ünde (4/9) spontan trombosit reaktivitesi değerlendirilmiş ve hiçbir olguda spontan reaktiviteye rastlanmamıştır. Bu bulgu SPS sonuçlarımızın güvenilirliğini ve SPS tanısı alan AKS olgularımızda primer trombosit reaktivitesi bulunduğu savını desteklemektedir. Yapışkan trombosit sendromu tromboz öyküsü olan olgularda trombosit hiperreaktivitesinin trombosit agregasyon testleri ile gösterilmesine dayanmaktadır. Üç yüz elli dokuz sağlıklı bireyde trombosit hiperreaktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada EPI, kollajen, kollajen ilişkili peptid, ristosetin ve ADP gibi agonistlerin submaksimal konsantrasyonlarında trombosit agregasyonu değerlendirilmiştir. Maksimum trombosit agregasyonu >%60 olanların hiperreaktif olarak kabul edildiği çalışmada, bir agonist ile hiperreaktivite izlenen bireylerin diğer agonistler ile de hiperreaktivite gösterme eğiliminde olduğunun belirlenmesi hiperreaktif fenotipin agonistlerden bağımsız global bir fenomen olabileceğini düşündürmüştür (20). SPS patogenezinin anlaşılmasına katkı sağlayabileceği düşüncesi ile çalışmamızda 44 sağlıklı, 23 hasta birey olmak üzere toplam 67 katılımcıda SPS tanımında belirtilen agonist konsantrasyonlarında trombosit agregasyonu ve ATP salınımı eşzamanlı olarak değerlendirildi. 0.58 µM ADP konsantrasyonu dışında diğer tüm agonist konsantrasyonlarında agregasyon ile ATP salınımı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanması, trombosit hiperreaktivitesinin agregasyon dışında kalan trombosit fonksiyonlarını da ilgilendiren global bir fenomen olduğu savını desteklemektedir. 0.58 µM ADP dışında kalan diğer tüm agonist konsantrasyonlarında (5/6-%83) agregasyon ile ATP salınımı arasında gözlenen ilişkinin 0.58 µM ADP ile izlenmemesi, 0.58 µM ADP konsantrasyonunda 66/67 (%99) katılımcıda ATP salınımının olmaması (0 nM) ile ilişkili olabilir. Bu açıdan bakıldığında SPS'nin agregasyon testleri temelinde tanımlanmasında kullanılan agonist konsantrasyonları aynı amaçla ATP salınımının değerlendirilmesi için uygun olmayabilir. Sayılan olası kısıtlamalara ve kesin yargıda bulunmak için hasta sayısının yetersiz olmasına karşın ATP salınım yanıtının trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta

%43 duyarlı ve %93 özgün olduğu görüldü. Bildiğimiz kadarı ile SPS olgularında ATP salınım yanıtının değerlendirildiği, elde ettiğimiz verileri karşılaştırmamıza olanak sağlayacak başka bir çalışma yoktur. SPS'nin patofizyolojisi belirsizdir. Trombositlerin membran glikoproteinlerinde oluşan bir defektin hiperreaktif fenotipten sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (13). Trombositlerin yüzeyinde yer alan GPIIb/IIIa reseptörü yüksek oranda polimorfizm gösterir ve bazı çalışmalarda GPIIIa PL^{A2} allelinin miyokard enfarktüsü ve koroner revaskülarizasyon işlemleri sonrası restenoz ile ilişkisi olduğu saptanmıştır (21). Bu nedenle 9 SPS hastasında GPIIIa polimorfizmi değerlendirilmiş ve GPIIIa PL^{A2} polimorfizmi ile SPS arasında ilişki izlenmemiştir (21). Ancak hasta sayısının az olması nedeniyle söz konusu hipotez ile ilgili kesin yargıda bulunmak mümkün değildir. SPS'nin global bir trombosit hiperreaktivitesi fenomeni olma olasılığı göz önüne alındığında, SPS olgularında ATP salınımı gibi agregasyon dışı trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesi sendromun patofizyolojisinin açığa çıkartılmasına yardımcı olabilir.

Yapışkan trombosit sendromu saptanan olgularda SPS arteriyel veya venöz trombozun tek sorumlusu değildir. Diğer doğumsal ve edinsel trombofili nedenlerinde olduğu gibi olgu bazında değerlendirildiğinde, tromboz süreci birden fazla trombofili nedeninin eşzamanlı etkileşimi sonucu ortaya çıkabilir. Yüz doksan beş hiperkoagülabilité hastasının değerlendirdiği ve SPS sıklığının %28 olarak bildirildiği bir çalışmada SPS olgularının yaklaşık üçte birinde ek bir trombofili nedeni saptanmıştır (12). Benzer hasta grubu içeren Rubenfire ve ark.'nın (10) araştırmasında olduğu gibi çalışmamızda da hasta grubunda SPS dışında kalan diğer trombofili nedenlerine yönelik inceleme yapılmadığından, kesin SPS saptanan hastalarda SPS AKS'nin tek sorumlusu olmayabilir. Ancak bu olgularda SPS'nin AKS gelişimine katkıda bulunduğu açıktır. Açıklanamayan venöz tromboz olgularının yaklaşık %14'ünden ve arteriyel tromboz olgularının %12 (periferik arter trombozu) ile %33'ünden (geçici iskemik atak) SPS'nin sorumlu olduğu düşünüldüğünde, başka bir neden ile açıklanamayan her türlü tromboz varlığında SPS'nin araştırılmasının gereği ortaya çıkar (22).

Hasta grubumuz içinde yer alan 6 olguda EKG'de koroner iskemi bulguları izlenmedi ve USAP tanısının klinik değerlendirmeye dayandığı görüldü. Ancak koroner anjiyografi öncesinde efor testi, miyokard perfüzyon sintigrafisi gibi ek incelemeler yapılmadığı ve stabil olmayan koroner sendromlarda EKG'nin duyarlılığının %60'ı geçmediği (23) dikkate alındığında bu hastalarda koroner iskeminin nesnel kanıtlarının varlığı ile ilgili olarak kesin yargıda bulunmak mümkün değildir. Söz konusu 6 (%26) hasta dışında kalan 17 olgu değerlendirildiğinde, 1 (%4) hastada normal koroner arterler zemininde ST-elevasyonlu

myokard enfarktüsü, 16 (%70) hastada ise nesnel kanıtlı koroner iskemi saptandı. Angina pectoris nedeniyle koroner anjiyografi yapılan hastaların %10-30'unda koroner arterler normal saptanmaktadır (24). Bu grupta yer alan hastalar heterojen özellik gösterir. Efor ilişkili angina pectoris, pozitif efor testi ve normal koroner anjiyografi ile karakterize olan CSX olgularında uzun süreli prognozun iyi olduğu bildirilmektedir (25). Son zamanlarda CSX patogenezinde ön planda endotel disfonksiyonu ve enflamasyonun rolü üzerinde durulmaktadır (24). Tipik angina pectoris nedeniyle yapılan koroner anjiyografileri normal hastalarda bir enflamasyon belirteci olan C-reaktif protein düzeyleri ile iskemik semptomlar ve EKG'de iskemi bulguları arasında ilişki olduğu saptanmıştır (26). Bu bulgular ve trombositlerin başta endotel hücreleri ve monositler ile etkileşime girerek enflamasyon ve ateroskleroz süreçlerinde oynadıkları aktif rol birlikte değerlendirildiğinde, sözkonusu hasta grubunda izlenen iskemik semptomlardan trombosit hiperreaktivitesi sorumlu olabilir (27).

Hasta sayımızın düşük olmasına ve laboratuvarımızda SPS'yi tanımlamak üzere belirlediğimiz normal agregasyon değerlerimizin üst sınırlarının referans merkezler ile kıyaslandığında görece yüksek olmasına karşın AKS olgularımızın %30'unda kesin SPS saptandı. Bu yüksek oran toplumumuzda görülen ve açıklanamayan diğer trombotik tablolarda da SPS'nin önemli rol oynayabileceği konusunda ipucu vermektedir. SPS otozomal baskın geçiş gösteren kalıtsal bir trombofili nedenidir ve hastaların büyük çoğunluğunun aspirin gibi ucuz, erişimi kolay bir ilaçla tedavisi mümkündür. Her türlü açıklanamayan tromboz olgusunda SPS'ye yönelik incelemelerin yapılması ve SPS saptanan hastaların aspirin ile sekonder profilaksisi hayati önem taşımaktadır. Ayrıca SPS hastalarının akrabalarında trombosit hiperreaktivitesinin araştırılması ve uygun bireylerde primer profilaksi yapılması akılcı görünmektedir. Ancak trombosit hiperreaktivitesi gösteren sağlıklı bireylerde primer aspirin profilaksi ile ilgili veri yoktur.

SONUÇLAR

1. Laboratuvarımızda SPS tanısının temel kriteri olan trombosit hiperreaktivitesinin normal değerleri belirlendi.
2. Laboratuvarımızın trombosit hiperreaktivitesini tanımlamak üzere belirlediği normal agregasyon yanıtlarının üst sınırlarının referans merkezlere kıyasla yüksek olduğu izlendi.
3. Hasta ve sağlıklı katılımcılar birlikte değerlendirildiğinde tüm agonist konsantrasyonlarında agonistin final konsantrasyonu azaldıkça agregasyon ve salınım yanıtlarında anlamlı düşme saptandı.
4. On katılımcıda spontan trombosit aktivasyonu değerlendirildi ve hiçbir katılımcıda spontan agregasyon ve ATP salınımı izlenmedi.
5. 0.58 μ M ADP konsantrasyonu dışında kalan tüm agonist konsantrasyonlarında maksimum trombosit agregasyonu ile ATP salınım yanıtı arasında istatistiksel ilişki olduğu görüldü.
6. Akut koroner sendrom tanılı 23 hastamızda %30 kesin SPS, %9 şüpheli SPS izlendi.
7. Yapışkan trombosit sendromu pozitif olgular birlikte değerlendirildiğinde 3 (%43) olguda tip I SPS, 2 (%28.5) olguda tip II SPS ve 2 (%28.5) olguda tip III SPS saptandı.
8. Agregasyon testleri ile eşzamanlı saptanan ATP salınım yanıtının trombosit hiperreaktivitesini tanımlamakta %43 (3/7) duyarlı ve %93 (13/14) özgün olduğu görüldü.

ÖZET

Tromboembolizm gelişmiş ülkelerde önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Tanımlanmış hiperkoagülabilitesi olan hastaların yarısından fazlasında doğumsal veya edinsel koagülasyon veya trombosit bozukluğu bulunur. Yapışkan trombosit sendromu adenosin difosfat ve/veya epinefrine karşı in vivo trombosit hiperreaktivitesi ile karakterize doğumsal bir trombosit bozukluğudur. Yapışkan trombosit sendromu birçok arteriyel ve venöz trombozdan sorumlu olan, sık rastlanan, tanı ve tedavisi kolay bir trombosit bozukluğudur.

Çalışmamızın ilk basamağında yapışkan trombosit sendromu'nun tanımlanmasında kullanılan farklı konsantrasyonlarda adenosin difosfat ve epinefrin uyarısı sonrası kendi laboratuvarımızın normal agregasyon ve sekresyon değerlerini saptadık. Daha sonra akut koroner sendrom öyküsü olan ve anjiyografik olarak koroner arterleri hastalarda yapışkan trombosit sendromu'nun rolünü bulmaya çalıştık. Trombositlerin agregasyon ve sekresyon reaksiyonları lümiagregometri yöntemi kullanılarak eş zamanlı kaydedildi. Çalışmamıza 49 sağlıklı kontrol ve akut koroner sendrom tanılı 23 hasta dahil edildi. 7 (%30) hastada yapışkan trombosit sendromu saptandı. Biri hariç tüm agonist konsantrasyonlarında agregasyon ve sekresyon yanıtları arasında anlamlı korelasyon izledik.

Bulgularımız agregasyon ve sekresyon bağlamında trombosit hiperreaktivitesinin global bir fenomen olduğunu ve seçilmiş hasta grubumuzda yapışkan trombosit sendromu'nun sık rastlanan bir bozukluk olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Yapışkan trombosit sendromu, akut koroner sendrom, sekresyon, trombosit, hiperreaktivite.

DEFINING THE ROLE OF STICKY PLATELET SYNDROME IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

SUMMARY

Thromboembolism is the leading cause of morbidity and mortality in developed countries. More than half of patients with defined hypercoagulability have a hereditary or acquired coagulation or platelet disorder that caused thrombosis. The sticky platelet syndrome is a hereditary platelet defect characterized with increased in vivo platelet hyperreactivity to adenosine diphosphate and/or epinephrine . Sticky platelet syndrome is a common, easy to diagnose and easy to treat platelet defect that is responsible for many arterial and venous thrombotic events.

At first step of our study we found normal aggregation and secretion ranges of our own laboratory after stimulation with different concentrations of adenosine diphosphate and epinephrine which was used to define sticky platelet syndrome . Thereafter we tried to find out the role of sticky platelet syndrome among patients with a history of acute coronary syndrome and angiographically normal coronary arteries. Aggregation and secretion reactions of platelets were recorded at the same time using lumiaggregometric method. Our study included 49 healthy controls and 23 patients with acute coronary syndrome. 7 (30%) patients were found to have sticky platelet syndrome. We observed significant correlation between aggregation and secretion responses on all but one agonist concentrations.

Our findings indicate that platelet hyperreactivity could be a global phenomenon in terms of aggregation and secretion, and sticky platelet syndrome is a common defect in our selected patient population.

Key words: Sticky platelet syndrome, acute coronary syndrome, secretion, platelet, hyperreactivity.

KAYNAKLAR

1. Bick RL. Introduction to thrombosis: Proficient and cost-effective approaches to thrombosis. *Hematol Oncol Clin N Am* 2003;17:1-8.
2. Bick RL. Sticky platelet syndrome : a common cause of unexplained arterial and venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 1998; 4(2): 77-81.
3. McMicheal M. Primary hemostasis. *J Vet Emerg Crit Care* 2005; 15(1): 1-8.
4. Cardigan R, Turner C, Harrison P. Current methods of assessing platelet function: relevance of transfusion medicine. *Vox Sang* 2005;88:153-63.
5. Shapiro AD. Platelet function disorders. *Haemophilia* 2000;6:120-7.
6. Bick RL, Murano G. Physiology of hemostasis. In: Bick RL (Eds). *Disorders of thrombosis and hemostasis: clinical and laboratory practice*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p.1-30.
7. Nieswandt B, Aktas B, Moers A, Sachs UJH. Platelets in atherothrombosis: lessons from mouse models. *J Thromb Haemost* 2005;3:1725-36.
8. Clemmensen P, Grande P. Acute myocardial infarction and normal coronary arteries. In: Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Cardiology*. 1st ed. London: Mosby International Limited; 2001. ch 2,19.3-19.4.
9. Kaski JC. Pathophysiology and management of patients with chest pain and normal coronary arteriograms (cardiac syndrome X). *Circulation* 2004;109:568-72.
10. Rubenfire M, Blevins RD, Barnhart M, Housholder S, Selik N and Mammen EF. Platelet hyperaggregability in patients with chest pain and angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 1986;57:657-60.
11. Storey RF, Heptinstall S. Laboratory investigation of platelet function. *Clin Lab Haem* 1999;21:317-29.

12. Frenkel EP, Mammen EF. Sticky platelet syndrome and thrombocytemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2003;17:63-83.
13. Mammen EF. Sticky platelet syndrome. *Semin Throm Hemost* 1999;25:361-5.
14. Bick RL. Platelet-function defects. In: Bick RL (Eds). *Disorders of thrombosis and hemostasis: clinical and laboratory practice*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p.59-90.
15. White M MC, Jennings LK. *Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures*. California: Academic Press; 1999.
16. National cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III). Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III) final report. *Circulation* 2002;106(25):3143-421.
17. Thomas RH. Hypercoagulability syndromes. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2433-39.
18. Ruiz-Arguelles JG, Lopez-Martinez B, Valdes-Tapia P, Gomez-Rangel JD, Reyes-Nunez V, Garces-Eisele J. Primary thrombophilia in Mexico. V. A comprehensive prospective study indicates that most cases are multifactorial. *Am J Hematol* 2005; 78(1): 21-6.
19. Bick RL, Fareed J. Sticky Platelet Syndrome: The Clinical Spectrum of Thrombosis. *Blood* 2005; 106: (abstract#4138).
20. Yee DL, Sun CW, Bergeron AL, Dong F and Bray PF. Aggregometry detects platelet hypereactivity in healthy individuals. *Blood* 2005;106:2723-29.
21. Kubisz P, Ivanková J, Holly P, Stasko J, Musial J. The glycoprotein IIIa PL^{A1/A2} polymorphism-a defect responsible for the sticky platelet syndrome? *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12(1): 117-9.
22. Bick RL. Hereditary and acquired thrombophilic disorders. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12(2): 125-35.
23. Verheugt FWA. Early phase of acute myocardial infarction. In: Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Cardiology*. 1st ed. London: Mosby International Limited; 2001. ch 2,14.1-14.10.
24. Arroyo-Espliguero R, Kaski JC. Microvascular dysfunction in cardiac syndrome X: the role of inflammation. *JMAC* 2006;174 (13):1833-34.
25. Kaski JC, Rosano GMC, Collins P, Nihoyannopoulos P, Maseri A, Poole-Wilson PA. Cardiac syndrome X: Clinical characteristics and left ventricular function. Long-term follow-up study. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:807-14.
26. Cosín-Sales J, Pizzi C, Brown S, Kaski JC. C-reactive protein, clinical presentation, and ischemic activity in patients with chest pain and normal coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1468-74.

27. Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005;115:3378-84.

EKLER

Ek 1

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Size katılımınızı önerdiğimiz ‘Tromboemboli Olgularında Yapışkan Trombosit Sendromu’nun Rolü’ adlı çalışma bilimsel bir araştırmadır. Araştırmanın amacı atar ve toplardamarlarında tıkanıklık gelişmiş olan hastaların trombosit olarak adlandırılan kan pulcuklarında kalıtsal bir bozukluk olup olmadığının değerlendirilmesidir. Araştırma sırasında size her hangi bir yeni ilaç ve kan örneğinin alınması dışında işlem uygulanmayacaktır. Araştırma hakkında detaylı bilgi almak ve araştırma esnasında oluşabilecek tüm sorunlar için 0532 434 76 56 numaralı telefondan Dr. Emre Tekgündüz ile bağlantı kurabilirsiniz.

Sizin araştırma ile ilgili her hangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Kan alma esnasında nadiren damar giriş yerinde morarma ve damar duvarı iltihabı gelişebilir. Ancak katılacağınız araştırma için gereken kan alma işlemi rutin izlemeniz için gereken kan alma işlemleri ile aynı riske sahiptir. Araştırma için iki hafta süre ile başta aspirin olmak üzere kan pulcuklarının fonksiyonlarını bozan ilaçların kesilmesi gerekmektedir. Sizin özelliklerinize sahip hastalarda söz konusu ilaçların iki hafta süre ile kesilmesinin riskli olacağına dair veri bulunmamaktadır. Çalışma için gerekli ilaçların kesildiği iki haftalık süre ve kan alma günü ile birlikte çalışmanın 15 gün içinde tamamlanması planlanmaktadır. Kan alma işlemi tamamlandıktan sonra sizi takip etmekte olan hekiminizin önerileri doğrultusunda kullanmakta olduğunuz almanıza engel yoktur.

Bu araştırma ile damar tıkanıklıklarınızın trombositleriniz kalıtsal bozukluğuna bağlı olduğu saptanırsa hastalığınızın uzun vadeli tedavisi ile ilgili bazı değişiklikler gündeme gelebilir. Söz konusu tıpsal tedaviler ile ileri dönemde oluşabilecek ve bazen hayatı tehdit edici komplikasyonlara neden olabilecek yeni damar tıkanıklıklarının önlenmesi mümkün olabilecektir. Sizde varlığını araştırmayı planladığımız hastalığın kalıtsal özelliği bulunmaktadır. Bu nedenle sizde hastalık saptanması halinde başta çocuklarınız olmak üzere yakın akrabalarınızda da söz konusu hastalık bulunabilir. Araştırmadan elde edeceğimiz bilgiler ile tamamen sağlıklı görünen ancak trombosit fonksiyonlarında bozukluk nedeni ile atar ve toplardamarlarında tıkanıklık gelişme riski bulunan yakınlarınıza erken dönemde tedavi uygulanması, bu yolla yakınlarınızda damar tıkanıklığı gelişme riskinin azaltılması mümkün olabilir.

Bu bilimsel araştırmaya katılmanız için size her hangi bir ücret ödenmeyecektir. Ayrıca araştırma kapsamında yapılacak hiçbir test için sizden ve sosyal güvenlik kurumunuzdan ücret talep edilmeyecektir. Bu araştırmanın Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmesi planlanmaktadır. Araştırma sırasında sizi ilgilendiren her hangi bir gelişme olduğunda bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırmaya katılmanız tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin bundan sonra ki tedaviniz için her hangi bir olumsuzluğa yol açmayacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da kan alma öncesi iki hafta içinde test sonuçlarını etkileyecek ilaç kullanmanız nedeniyle araştırmadan çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler isminiz gizli kalmak koşulu ile bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır, araştırma tıbbi dergilerde yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanıdı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Telefonu:
Tarih ve İmza:

Araştırma sorumlusunun,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Telefonu:
Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Ek 2



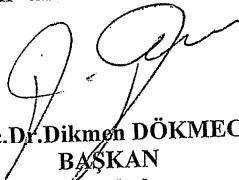
T.C.
- TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

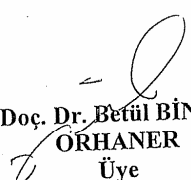
Oturum Sayısı:

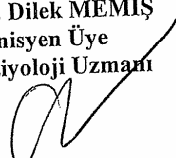
Karar Tarihi:

2-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 16.02.2006 tarihinde **“Tromboemboli Olgularında Yapışkan Trombosit Sendromu’nun Rolü”** adlı TÜTFEK-2006/014 protokol no.lu Araş.Gör.Dr.Emre TEKGÜNDÜZ’ün tez çalışmasını incelemek üzere toplandı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalında yapılacağı, Doç.Dr.A.Muzaffer DEMİR’in yürütücüsü olduğu Araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler ile gönüllü bilgilendirme metni dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve TÜBAP tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

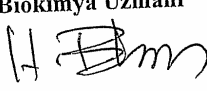

Doç.Dr.Dikmen DÖKMECİ
BAŞKAN
Farmakolog

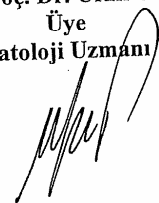

Doç. Dr. Betül BİNER
ORHANER
Üye
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Uzmanı

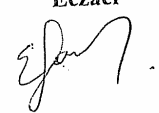

Doç. Dr. Dilek MEMİŞ
Klinisyen Üye
Anesteziyoloji Uzmanı


Doç.Dr.Betül UĞUR ALTUN
Klinisyen Üye
İç Hastalıkları Uzmanı


Yrd.Doç.Dr.Ümit Nusret
BAŞARAN
Klinisyen Üye
Çocuk Cerrahisi Uzmanı


Yrd.DoçDr.Hakan ERBAŞ
Üye
Biokimya Uzmanı


Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA
Üye
Patoloji Uzmanı


Emine SAKMAN
Eczacı

Posta Adresi:
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52

Ek 3



T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

SAYI : B.30.2.TRK.0.70.73.0/ 1390-678
KONU :

EDİRNE

18 MAYIS 2006

Sayın Doç.Dr. Muzaffer DEMİR
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
EDİRNE

"Akut Koroner Sendrom Olgularında Yapışkan Trombosit Sendromu'nun Rolü" başlıklı ve Uzm.Dr. Ali İrfan Emre TEKGÜNDÜZ'ün tıpta uzmanlık projesinin, 10 (on) ay süre ve 9.917 YTL ile desteklenmesine, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 28.04.2006 tarih ve 50 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 12. maddesi uyarınca düzenlenen ve ekte sunulan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU
Rektör Yardımcısı ve
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi