



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**PREDİYABETİK HASTALARDA ORAL GLUKOZ
YÜKLEMESİNİN TROMBOSİT İNDEKS DEĞERLERİ
İLE PLAZMA P-SELEKTİN VE
BETA-TROMBOGLOBÜLİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE
AKUT ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

UZM.ÖĞR.DR. NESİBE ESRA YAŞAR
DANIŞMAN: PROF.DR. DİLDAR KONUKOĞLU

İSTANBUL - 2018



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No:24475

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarının yürütülmesi ve klinik laboratuvar uygulamaları başta olmak üzere her zaman ve her konuda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen; profesyonelliği ve disiplini ile kendime örnek aldığım, öğrencisi olmaktan mutluluk ve sonsuz gurur duyduğum, danışmanlığı tez ile sınırlı olmayan, değerli hocam;

Prof. Dr. Dildar Konukoğlu'na

Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Hafize Uzun'a ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli tüm hocalarına,

Uzmanlık eğitimim süresince klinik laboratuvar ile ilgili bilgi ve tecrübelerinden büyük fayda sağladığım, desteklerini esirgemeyen hocalarım; Prof. Dr. İ. Murat Bolayırılı ve Prof. Dr. Mine Kuçur'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca uyum içinde çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar personeline,

Vaka toplamamda büyük emeği ve desteği olan Jermin Benlioğlu'na,

Tez parametrelerinin çalışılmasında büyük emeği olan Özlem Yalçın, Esmâ Bekdemir ve Selva Kaplanoğlu'na,

Çalışmaya katılan tüm gönüllülere,

Koşulsuz sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Hayatı benim için anlamlandıran çok sevdiğim eşim Fatih Yaşar ve oğlum Ufuk Yaşar'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER.....	vii
TABLOLAR	viii
KISALTMALAR.....	ix
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Prediyabet.....	3
2.1.1. Prediyabetin tanımı ve tanı kriterleri	3
2.1.2. Prediyabet epidemiyolojisi ve klinik önemi	4
2.1.3. Prediyabet patogenezi	5
2.2. Trombositler.....	6
2.2.1. Trombositlerin yapısal özellikleri.....	6
2.2.2. Trombosit aktivasyonu	8
2.2.3. Trombosit indeksleri	12
2.2.3.1. Ortalama trombosit hacmi	12
2.2.3.2. Trombosit dağılım genişliği	14
2.2.3.3. Plateletkrit.....	15
2.2.3.4. Trombosit indekslerinin ölçüm yöntemleri	15
2.2.4. P-selektin	17
2.2.5. Beta-tromboglobülin.....	20

2.3.	Trombosit fonksiyonları, Hiperglisemi, Diyabetes Mellitus.....	20
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	23
3.1.	Çalışma gruplarının oluşturulması	23
3.2.	Çalışmadan dışlanma kriterleri	24
3.3.	Örneklerin alınması ve çalışılan parametreler.....	24
3.4.	Kullanılan araç ve gereçler.....	25
3.5.	Yöntemler.....	26
3.5.1.	Trombosit indekslerinin belirlenmesi	26
3.5.2.	Plazma P-selektin düzeyinin tayini.....	27
3.5.2.1.	Yöntemin prensibi	27
3.5.2.2.	Kullanılan ayıraçlar	27
3.5.2.3.	Testin yapılışı	27
3.5.3.	Plazma β -TG düzeyinin tayini	28
3.5.3.1.	Yöntemin prensibi	29
3.5.3.2.	Kullanılan ayıraçlar	29
3.5.3.3.	Testin yapılışı	29
3.5.4.	Rutin test parametrelerinin analizi	30
3.6.	İstatistiksel yöntemler	31
4.	BULGULAR	32
4.1.	Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri	32
4.2.	Trombosit indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri	37
4.2.1.	Grupların bazal değerlerinin karşılaştırılması.....	37
4.2.2.	Grupların glukoz yükleme sonrası değerlerinin karşılaştırılması	38
4.2.3.	Grup içi bazal ve glukoz yükleme sonrası değerlerin karşılaştırılması	39

4.2.4. Korelasyon analizleri	43
5. TARTIŞMA.....	46
6. KAYNAKLAR	55



ŞEKİLLER

Şekil 1: Primer hemostatik tıkaç oluşumu	11
Şekil 2: İmpedans yöntemi ile hücre sayımı	16
Şekil 3: Trombosit histogramı	17
Şekil 4: P-selektin ve PSGL-1	18
Şekil 5: Arteryal damar duvarında enflamatuvar ve trombotik patofizyolojik yolları bağlayan P-selektinin rolü	19
Şekil 6: P-selektin standart eğrisi	28
Şekil 7: β -TG standart eğrisi	30
Şekil 8: Kontrol ve prediyabet grubunun bazal PCT değerlerinin cinsiyetler arasında karşılaştırılması	38
Şekil 9: Kontrol ve prediyabet grubunun yükleme sonrası 2.saat P-selektin düzeylerinin cinsiyetler arasında karşılaştırılması	39
Şekil 10: MPV ve PDW'nin bazal değerlerinin korelasyon grafiği	45
Şekil 11: PCT ve PDW'nin bazal değerlerinin korelasyon grafiği	45

TABLULAR

Tablo 1: Amerikan Diyabet Derneği diyabet ve prediyabet tanı kriterleri (2, 3)	3
Tablo 2: Trombosit granüllerinin içerikleri	8
Tablo 3: Diyabet hastalarında trombositlerle ilgili fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler	22
Tablo 4: Beckman Coulter Unicel DxH 800 tam kan sayımı cihazının trombosit sayısı ve indeksleri için 12 aylık günler arası %CV değerleri (Ortalama)	26
Tablo 5: Kontrol ve prediyabet gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)	32
Tablo 6: Kontrol ve prediyabet alt gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)	34
Tablo 7: Kontrol ve prediyabet gruplarının trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β-TG düzeylerinin bazal ve glukoz yükleme sonrası değerleri (Ort±SD)	41
Tablo 8: Kontrol, BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarının trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β-TG düzeylerinin bazal ve glukoz yükleme sonrası değerleri (Ort±SD)	42

KISALTMALAR

ADA: Amerikan Diyabet Derneği

ADP: Adenozin Difosfat

AGE: ‘‘Advanced Glycation End Products’’ İleri Glikozillenme Ürünleri

APG: Açlık Plazma Glukozu

ATP: Adenozin Trifosfat

BAG: Bozulmuş Açlık Glukozu

BGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı

CD40: Cluster of Differentiation 40

CD41: Cluster of Differentiation 41

CD42: Cluster of Differentiation 42

CD61: Cluster of Differentiation 61

CD62: Cluster of Differentiation 62

CD63: Cluster of Differentiation 63

COX-1: Siklooksijenaz-1

CRP: C-Reaktif Protein

CV: ‘‘Coefficient of Variation’’ Varyasyon Katsayısı

DAG: Diaçil Gliserol

DM: Diyabetes Mellitus

ECLIA: ‘‘Electrochemiluminescence immunoassay’’ Elektrokemilüminesans İmmün yöntem

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

ELISA: ‘‘Enzyme Linked İmmunosorbent Assay’’ Enzim-işaretli İmmün Yöntem

GLUT-1: Glucose Transporter-1

GLUT-3: Glucose Transporter-3

GMP 140: Granül Membran Protein 140

Gp: Glikoprotein

GTP: Guanozin Trifosfat

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance

HPLC: "High Performance Liquid Chromatography" Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

HRP: Horseradish Peroxidase

IP3: İnozitol Trifosfat

JAMs: Junctional Adezyon Molekülleri

LDL: "Low Density Lipoprotein" Düşük Dansiteli Lipoprotein

LECAM 3: "Leukocyte endothelial cell adhesion molecule-3" Lökosit Endotel Hücre Adezyon Molekül-3

LIMP-1: Lizozomal İntegral Membran Proteini

MPV: "Mean Platelet Volume" Ortalama Trombosit Hacmi

NO: Nitrik Oksit

OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi

PADGEM: Platelet Activation Dependent Granule-External Membrane Protein

PBP: "Platelet Basic Protein" Trombosit Bazik Protein

PCT: Plateletkrit

PDGF: "Platelet derived Growth Factor" Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PDW: "Platelet Distribution Width" Trombosit Dağılım Genişliği

PF-4: "Platelet Factor -4" Trombosit Faktör-4

PG: Plazma Glukoza

PGH₂: Prostaglandin H₂

P-LCR: "Platelet-Large Cell Ratio" Trombosit-Büyük Hücre Oranı

PSGL-1: P-selektin Glikoprotein Ligand 1

SERCA: Sarkoplazmik Endoplazmik Retikulum Ca²⁺-ATP az

SLAM: "Signaling lymphocytic activation molecule" Sinyalleme Lenfosit Aktivasyon Molekülü

TGF- β : ‘‘Transforming Growth Factor- β ’’ Transforme Edici Büyüme Faktörü- β

TMB: Tetrametilbenzidin

TURDEP: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi

TXA₂: Tromboksan A₂

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

vWF: von Willebrand Faktör

WHO: ‘‘World Health Organization’’ Dünya Sağlık Örgütü

β -TG : Beta-tromboglobülin



ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı, prediyabetik hastalarda plazma P-selektin ve beta-tromboglobülin (β -TG) düzeyleri ile trombosit indekslerinin ilişkisinin incelenmesi ve oral glukoz yüklemesi ile oluşturulan akut hiperglisemik stresin trombosit aktivasyon belirteçleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem: Amerikan Diyabet Derneği (ADA) kriterlerine göre; oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonuçları baz alınarak kontrol (n:31) ve prediyabet (n:103) grupları oluşturuldu. Oral glukoz yüklemesinden önce ve yüklemenin ikinci saatinde alınan kan örneklerinde ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW) ve plateletkrit (PCT) impedans yöntemi ile, P-selektin ve β -TG düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirildi.

Bulgular: Trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin bazal değerleri açısından kontrol ve prediyabet grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Prediyabet alt grupları ile kontrol grubu arasında da anlamlı farklılık gözlenmedi. Bazal plazma β -TG düzeyleri prediyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Glukoz yüklemesi sonrasında kontrol grubunda trombosit sayısı, PCT ve P-selektin (sırasıyla $p=0,048$, $p=0,014$, $p=0,04$); prediyabet grubunda ise trombosit sayısı, MPV, PCT ve P-selektin (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,014$, $p<0,001$, $p=0,001$) değerleri bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldı.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları prediyabetik dönemde trombosit büyüklüğü henüz etkilenmeden granül aktivasyonunun başladığını ve trombosit indekslerinin prediyabetik dönemde değişmediğini düşündürmektedir. Akut hiperglisemi ise hem sağlıklı hem prediyabetik kişilerde trombosit morfolojisi ve fonksiyonlarını etkilemektedir; bu etkilenme prediyabetik bireylerde daha belirgin olmaktadır.

SUMMARY

Purpose: The aim of our study was to investigate the relationship between plasma P-selectin, plasma beta-thromboglobulin (β -TG) levels and platelet indices in prediabetic patients and to examine the effect of acute hyperglycemic stress induced by oral glucose uptake on platelet activation markers.

Material and Methods: According to American Diabetes Association (ADA) criteria; the subjects were grouped as control (n: 31) and prediabetic (n: 103) based on oral glucose tolerance test (OGTT) results. The mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and plateletcrit (PCT) were determined by impedance method; P-selectin and β -TG levels were determined by ELISA method in blood samples taken before and 2 hours after oral glucose loading. $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results: Baseline platelet counts, platelet indices and plasma P-selectin levels were not significantly different between control and prediabetic groups. Baseline plasma β -TG levels were significantly higher in the prediabetic group than in the control group ($p < 0.001$). Platelet counts, PCT and P-selectin levels in the control group ($p = 0.048$, $p = 0.014$, $p = 0.04$, respectively); platelet counts, MPV, PCT and P-selectin levels in the prediabetic group ($p < 0.001$, $p = 0.014$, $p < 0.001$, $p = 0.001$, respectively) were significantly lower after glucose uptake than baseline values.

Conclusion: Our results suggest that granule activation has begun without affecting the platelet size in the prediabetic period and platelet indices have not changed in the prediabetic stage. Acute hyperglycemia affects platelet morphology and function in both healthy and prediabetic subjects; this effect is marked in prediabetic individuals.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prediyabet, kan glukoz seviyesinin normalden yüksek olmasına karşın diyabet tanısı için gerekli eşik değerin üstünde olmaması durumudur (1). Amerikan Diyabet Derneği (ADA), prediyabetik hastaları; bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT) olarak sınıflandırmıştır (2). BAG ve BGT izole olarak görülebileceği gibi, bir arada da görülebilmektedir (3). Son yıllarda HbA1c değerleri %5,7-6,4 olan bireyler ADA tarafından ‘**yüksek riskli**’ olarak değerlendirilmiş ve prediyabet sınıflamasına dahil edilmiştir (2).

Prediyabetik hastalar, sadece diyabet gelişimi açısından değil, aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar açısından da risk altında bulunurlar. Yapılan çalışmalarda hiperglisemi ve insülin direncinin çeşitli mekanizmalar ile ateroskleroz gelişiminde rol aldığı ve vasküler hasarın tip 2 diyabet tanısından çok önce başladığı gösterilmiştir (4).

Diğer taraftan trombositler aterogenez ve trombüs oluşumunda oldukça önemli rol oynamaktadır (5). Trombosit morfolojisi ve fonksiyonlarıyla ilgili değişiklikler diyabet, akut koroner sendrom, inme ve sepsis gibi enflamatuvar ve vasküler temelli hastalıklarda gösterilmiştir (6-10). Bu durumun yansıması olarak, prediyabetik hastalarda da trombositlerle ilgili değişiklikler görülmesi beklenebilir. Aynı zamanda oral glukoz tolerans testi (OGTT) veya karbonhidrattan zengin beslenme sonrası oluşan akut hipergliseminin de trombosit aktivasyonu üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir (11, 12). Trombosit indeksleri, trombosit morfolojisini değerlendirmede objektif parametrelerdir ve ek maliyet oluşturmadan otomatik tam kan sayımı sırasında değerlendirilebilirler. Büyük hacimli trombositlerin daha reaktif kan elemanları olup daha fazla miktarda sekretuvar granüllere sahip olduğu belirtilmiştir (13). Bu yüzden trombosit indekslerinden özellikle ortalama trombosit hacminin (MPV), trombosit aktivasyon belirteci olabileceği düşünülmüştür.

P-selektin, trombositlerin alfa (α) granülleri ve endotel hücrelerindeki Weibel-Pallade cisimlerinde bulunur. Trombosit aktivasyonu ile P-selektin hızlıca trombosit membranında eksprese edilir ve aynı zamanda dolaşıma salınır (14). Trombosit aktivasyon belirteçlerinden biri olan bu molekülün birçok trombotik olayda düzeylerinde artış olduğu bildirilmektedir (10, 15-17). Yapılan çalışmalarda insülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransına sahip bireylerde de P-selektin düzeylerinde artış

bildirilmiştir (4). Trombosit aktivasyonu ile beraber trombositlerin alfa granüllerinden dolaşıma salınan beta (β)-tromboglobülin (β -TG) trombosit aktivasyonunda rol oynayan diğer bir moleküldür. Bu molekül, aynı zamanda fibroblastlar için kemoatraktan özellik gösterir (18). Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda β -TG düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (19).

Çalışmamızın amacı, prediyabetik hastalarda plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri ile trombosit indekslerinin ilişkisinin incelenmesi ve oral glukoz yüklemesi ile oluşturulan akut hiperglisemik stresin trombosit aktivasyon belirteçleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.Prediyabet

2.1.1. Prediyabetin tanımı ve tanı kriterleri

Prediyabet, kan glukoz seviyesinin normalden yüksek olmasına karşın diyabet tanısı için gerekli eşik değerin üstünde olmaması durumudur (1). ADA, prediyabetik hastaları BAG ve BGT olarak sınıflandırmıştır. Açlık plazma glukozunun (APG) 100-125 mg/dL arasında olması BAG; 75 gr glukoz ile yapılan OGTT de glukoz yüklemesini izleyen 2.saat plazma glukozunun (PG) 140-199 mg/dL arasında olması BGT olarak tanımlanmaktadır (2). Dünya Sağlık örgütü (WHO) ve diğer bazı kuruluşlar ise BAG için plazma glukoz konsantrasyonu cut-off değerini 110-125 mg/dL olarak kabul etmektedir. BAG ve BGT izole olarak görülebileceği gibi, bir arada da görülebilmektedir. Kombine BAG+BGT durumunda APG 100-125 mg/dL arasında ve 2.saat PG da 140-199 mg/dL arasındadır (3). Son yıllarda, standart bir yöntem ile ölçülmüş HbA1c değerleri % 5,7-6,4 olan bireyler ADA tarafından ‘yüksek riskli’ olarak değerlendirilmiş ve prediyabet sınıflamasına dahil edilmiştir (2).

Diyabet ve prediyabet tanısı, açlık plazma glukozu, 75 gr glukoz ile yapılan OGTT ve HbA1c analizleri ile konulmaktadır. ADA tarafından belirlenen güncel diyabet ve prediyabet tanı kriterleri **tablo-1**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Amerikan Diyabet Derneği diyabet ve prediyabet tanı kriterleri (2, 3)
(PG:Plazma Glukoz; mg/dL)

	Aşikar DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG+BGT	DM riski yüksek
Açlık PG (mg/dL)	≥126	100-125	<100	100-125	
OGTT 2.saat PG	≥200	<140	140-199	140-199	
Rastgele PG	≥200 + DM semptomları				
HbA1c* (%)	≥ 6,5				5,7-6,4

*HbA1c analizi standart bir yöntemle yapılmalıdır

Kan glukoz düzeyi serum, plazma ve tam kan arasında farklılıklar göstereceğinden, aşağıdaki formüller kullanılarak değerler birbirine dönüştürülebilir.

$$\text{Plazma glukoz (mg/dL)} = 0,558 + (20,254 \times \text{tam kan glukoz (mg/dL)} / 18)$$

$$\text{Plazma glukoz (mg/dL)} = 0,102 + (19,295 \times \text{kapiller kan glukoz (mg/dL)} / 18)$$

$$\text{Plazma glukoz (mg/dL)} = -0,137 + (18,951 \times \text{serum glukoz (mg/dL)} / 18)$$

2.1.2. Prediyabet epidemiyolojisi ve klinik önemi

Dünyadaki diyabet prevalansı 2017 yılı itibari ile %8,8 iken BGT prevalansı %7,3 olarak belirlenmiştir (20). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada prediyabet prevalansı 1999–2002 arasında %27,4 iken 2007–2010 yıllarında %34,1'e ulaşmıştır (21). Türkiye'de yapılan kapsamlı bir çalışma olan 1997-1998 yıllarındaki 'Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi'nin (TURDEP-1) sonuçlarına göre tip 2 diyabet prevalansı %7,2, BGT prevalansı ise %6,7 olarak belirtilmiştir (22). 2010 yılında yapılan TURDEP-2 çalışmasında ise diyabet prevalansı %13,7, prediyabet prevalansı %30,8 (izole BAG; %14,7, izole BGT; %7,9, BAG+BGT; %8,2) olduğu görülmüştür (23). BAG ve BGT sıklığı etnik kökenler arasında farklılıklar göstermektedir. Hem BAG hem de BGT sıklığı yaş ile birlikte artmaktadır (1).

Uzun dönem izlenen prediyabetli hastaların yaklaşık %70'i yaşamlarının ileri dönemlerinde diyabet hastası olmaktadır. Popülasyonun özelliklerine ve prediyabet sınıflamasına göre değişmekle birlikte, prediyabetik hastaların diyabet gelişimi için yıllık insidans oranı %5-10 arasındadır (1). 1979'dan 2004 yılına kadar yapılan prospektif çalışmaların bulunduğu bir meta-analizde izole BGT için yıllık diyabet insidansı %4-6, izole BAG için %6-9 ve kombine BAG+BGT durumunda %10-15 olarak belirlenmiştir (24).

Prediyabetik kişiler yalnızca diyabet gelişimi değil, kardiyovasküler hastalıklar açısından da risk altındadırlar. Plazma glukoz düzeyi ile kardiyovasküler olayların ilişkisini araştıran 20 büyük çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde; açlık plazma glukozu ve OGTT ikinci saat glukoz değerleri BAG ve BGT düzeylerine yaklaştıkça kardiyovasküler hastalıklar için rölatif riskin arttığı saptanmıştır (25). Ayrıca prediyabetli hastalarda normal bireylere göre, hipertansiyon, dislipidemi ve obezite gibi metabolik sendrom komponentlerinin daha yaygın olduğu gösterilmiştir (26, 27).

2.1.3. Prediyabet patogenezi

Sağlıklı insanlarda kan şekeri sıkı bir şekilde düzenlenir. Açlık durumunda, kan glukozunun yaklaşık %90'ı karaciğerde gerçekleşen glikojenoliz ve glukoneojenez ile sağlanır. Postprandiyal dönemde ise plazma glukoz düzeylerindeki yükselişin sınırlandırılmasına yardımcı olmak için hepatik glukoz üretimi bastırılır. Kan glukoz düzeyindeki artışlar, pankreasın beta hücrelerinde insülin salınımını artırır. İnsülin, karaciğerde glukoneojenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Kas ve yağ dokusu da dahil olmak üzere periferik dokulara glukoz alımını, glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar.

İlerleyici beta hücre fonksiyon bozukluğu ve insülin direnci, tip 2 diyabet gelişmesinden ve ilerlemesinden sorumlu olan temel faktörlerdir. Glukozla uyarılan insülin salgılanması, BAG ve BGT'de bozulmuştur. Bununla birlikte, beta hücre fonksiyonundaki bozulma özellikleri, BAG ve BGT'si olan kişilerde oldukça farklıdır. BAG'lı bireylerde OGTT'de erken faz insülin sekresyonu azalmakla birlikte, geç faz insülin yanıtı normaldir. BGT'li bireylerde ise OGTT'de esas olarak geç faz insülin salgılanması bozulmuştur. İnsülin direnci olan durumlarda; hepatik glukoneojenez artmakta, periferik dokular tarafından glukoz alımı azalmakta ve tüm bunların sonucu olarak kan glukoz seviyeleri artmaktadır. Hem BAG hem de BGT'li bireylerde insülin direnci görülürken insülin direncinin görüldüğü yerler ile ilgili iki grup arasında farklılıklar vardır. BAG durumunda bireyler iskelet kasında normal insülin duyarlılığına sahip olmalarına rağmen, karaciğerde insülin direnci mevcuttur. BGT durumunda ise daha çok kas dokuda, kısmen de karaciğerde insülin direnci bulunmaktadır. Patofizyolojik mekanizmalardaki bu farklılıklar BAG'da karaciğer glukoz üretiminin aşırı derecede artmasına ve açlık kan glukoz düzeyinin yükselmesine neden olurken; BGT'de glukoz verilmesini takiben uzun süren hiperglisemi yanıtının ortaya çıkmasına neden olur (28).

Tip 2 diyabet gelişiminde, açlık ve yükleme sonrası glukoz homeostazı anormal hale gelir. İnsülin direncinin diyabet gelişmeden yıllar önce başladığı ve beta hücre fonksiyonundaki azalmanın prediyabetik evrede mevcut olduğu düşünülmektedir. Diyabet gelişiminin ilk aşaması, uzun telafi edici bir dönemdir. Bu dönemde artmış beta hücre kütleindeki ve insülin salgısındaki artış ile birlikte insülin direnci bulunmaktadır. İkinci aşama beta hücrelerinin insülin direncini telafi edemediği stabil adaptasyon

periyodudur. Bu periyot sıklıkla açlık ve yükleme sonrası glukoz düzeyleri normal aralıkta olduğunda başlar. Fakat zamanla açlık ve yükleme sonrası normal glukoz düzeyleri korunamaz. Bu nedenle birinci ve ikinci aşamanın çoğu prediyabetik evreye ulaşmadan önce gerçekleşir. Üçüncü evre olan stabil olmayan erken dekompanasyon döneminde beta hücreleri insülin direncini telafi edememektedir ve bu nedenle açlık ve/veya yükleme sonrası glukoz düzeyleri hızla artmaya başlar. Bu periyot prediyabetten aşikar diyabet gelişimine kadar uzanır (1).

2.2.Trombositler

2.2.1. Trombositlerin yapısal özellikleri

Trombositler, kemik iliğinde megakaryosit sitoplazmalarının fragmentasyonu ile oluşan, 2-3 µm çapında, diskoid şekilli çekirdeksiz hücrelerdir. Ortalama ömürleri yaklaşık 10 gündür. Sağlıklı bireylerde trombosit sayısı 150,000-400,000/mm³'tür. Trombositler, hemostaz ve trombozu düzenleyen çeşitli mediyatörler içerirler. Bu mediyatörler aynı zamanda kemotaksis, vazomotor fonksiyon, hücre büyümesi ve enflamasyon gibi birçok süreçte de rol alır. Tromboz için önemli bileşenler hem hücre membranı hem de sitoplazmada, özellikle de sitoplazmik granüllerde bulunur. Tipik bir çift katlı fosfolipid tabakadan oluşan trombosit membranında hemostaz, tromboz ve hücre-hücre veya hücre-subendotelyal matriks ilişkisi için gerekli çok sayıda reseptör bulunur. Bu reseptörler, trombositleri aktive eden çözünür ligandları veya diğer hücrelerde bulunan sabit ligandları bağlayarak trombositlerin birbiriyle ve diğer hücrelerle etkileşimini sağlar. Bu reseptörlerin hücresel lokalizasyonu ve aktivasyon durumu, trombosit aktivasyon durumuna göre değişir.

Trombosit membranında eksprese edilen adezyon molekülleri P-selektin, glikoprotein (Gp) Ib/IX/V kompleksi, Gp IIb/IIIa ve kollajendir. Trombosit membranında ayrıca G protein ilişkili reseptörler olan trombin, adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfat (ADP) ve prostanoit reseptörleri de bulunmaktadır. Trombosit membranı açık kanaliküler sistem ve yoğun tübüler sistem olmak üzere iki tipte membran kanalları içerir. Açık kanaliküler sistem, plazma membranının sitoplazma içine invajinasyonlarıdır. Bu invajinasyonlar, küçük hücreler olan trombositlere büyük bir yüzey alanı kazandırır. Yoğun tübüler sistem ise megakaryosit endoplazmik retikulumundan köken alan kanal sistemi olup trombosit aktivasyonuna katılan kalsiyum iyonlarını ve çeşitli enzimleri

depolar. Yoğun tübüler sistem, açık kanaliküler sistemin aksine plazma membranı ile ilişkili değildir.

Trombositler, α granüller, yoğun granüller ve lizozomlar olmak üzere 3 tip granül içerirler. α granüller, en büyük (~ 200-400 nm) ve en yaygın trombosit granülleridir. Trombosit başına yaklaşık 50-60 α granül vardır ve periferik kan yaymalarında trombosit sitoplazmasının granüler görünümünden sorumludurlar. α granüllerinin membranında, GpIb kompleksi, GpIIb/IIIa ve P-selektin gibi trombosit membranı üzerinde de eksprese edilen bazı proteinler bulunur. α granüller, hemostaz ve trombozda rol alan trombosit faktörlerinin çoğunu içerir. Bunlara trombospondin, P-selektin, trombosit faktör-4 (PF-4) ve β -TG gibi büyük polipeptitlerin yanı sıra pıhtılaşma ile ilgili çeşitli faktörler de dahildir (Faktör V, XI, XIII, fibrinojen, von Willebrand faktörü (vWF) ve yüksek molekül ağırlıklı kininogenler). Aynı zamanda fibronektin ve vitronektin gibi trombosit-endoel etkileşiminde yer alan çeşitli adezyon molekülleri içerirler. Buna ek olarak, α granüller enflamasyonda ve yara iyileşmesinde rol alan pek çok kemokin ve mitojenik büyüme faktörü (trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β)) bulundurlar. Trombosit aktivasyonu sırasında α granüllerin salgılanması oldukça karmaşık bir süreçtir. Aktivasyonu takiben granüller, açık kanaliküler sistem ile ve birbiriyle kaynaşır ve hücrede merkezi şekilde konumlanır. Granüllerin plazma membranına füzyonu ile birlikte granül içeriğinin salınımı gerçekleşir. P-selektin gibi bazı α granül bileşenleri trombosit membranına dahil olduktan sonra ana rollerini gerçekleştirirler. Diğer granül bileşenleri ise, granüllerden salınmalarını takiben işlevlerini yerine getirmektedir.

Yoğun granüller trombositlerin en küçük granülleridir (~ 150 nm). Yüksek kalsiyum ve fosfat içeriğinden dolayı elektron mikroskopunda yoğun cisimcikler olarak görülürler. Trombosit başına yaklaşık 3-8 yoğun granül vardır. Bu granüller yüksek konsantrasyondaki adenin nükleotidleri ve serotoninin yanı sıra küçük guanozin trifosfat (GTP) bağlayıcı proteinleri ve GpIb, GpIIb/IIIa ve P-selektin gibi adezyon moleküllerini de içerirler. Trombosit aktivasyonu sırasında, yoğun granül membran proteinleri trombosit plazma membranı ile birleşir ve granül içeriği hücre dışı ortama bırakılır. Salınan bileşenler trombositlerin agregasyonunu sağlar. Aynı zamanda serotonin gibi bazı bileşenler de lokal vazokonstriksiyona katkıda bulunur.

Lizozomlar, ~ 200-250 nm büyüklüğünde trombosit granülleridir. Bu granüllerde ekstraselüler matriks bileşenlerini de içeren birçok substrat için aktif hidrolitik enzimler bulunur. Bundan dolayı asidik pH'a sahiptirler. Lizozomlar, benzer elektron yoğunluğundan dolayı rutin elektron mikroskobu görüntülerinde alfa granüllerden ayırt edilemez. Ancak asit fosfataz veya aril sülfataz gibi lizozomlarda bulunan enzimlere yönelik sitokimyasal boyaların kullanımı ile elektron mikroskopisinde tanımlanabilirler. Lizozomların salınımı, diğer granüllerinin salınımına benzer mekanizmalarla gerçekleşebilir, ancak bunun için diğer granüllerin salınımına göre daha fazla uyarı gerekir. Trombosit lizozomlarının fonksiyonel rolü α ve yoğun granüllere göre daha az anlaşılırken, lizozom salınımının trombüs oluşumunun düzenlenmesine ve hücre dışı matrikste yeniden yapılanmaya katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Diğer granüllerde olduğu gibi, lizozom salınımı da granül içeriğindeki proteinlerin trombosit plazma membranına katılmasına neden olur; örneğin, lizozomal integral membran proteininin (LIMP-1 veya CD63) trombosit yüzeyindeki ekspresyonu trombosit aktivasyonunun güçlü bir belirteci olarak değerlendirilir (5). Trombosit granüllerinin içerikleri **tablo-2**'de gösterilmiştir

Tablo 2: Trombosit granüllerinin içerikleri

α granüller	P-selektin, β -TG, PF-4, Fibrinojen, fibronektin, vitronektin, TGF- β , PDGF, VEGF, vWF, Faktör V-XII-XIII, trombospondin
Yoğun granüller	ATP, ADP, serotonin, Ca^{2+} , GTP bağlayıcı proteinler, Epinefrin, histamin
Lizozomlar	Elastaz, kollajenaz, katepsin, aril sülfataz, asit fosfataz, N-asetilglukozaminidaz, β -galaktozidaz, β -glukronidaz

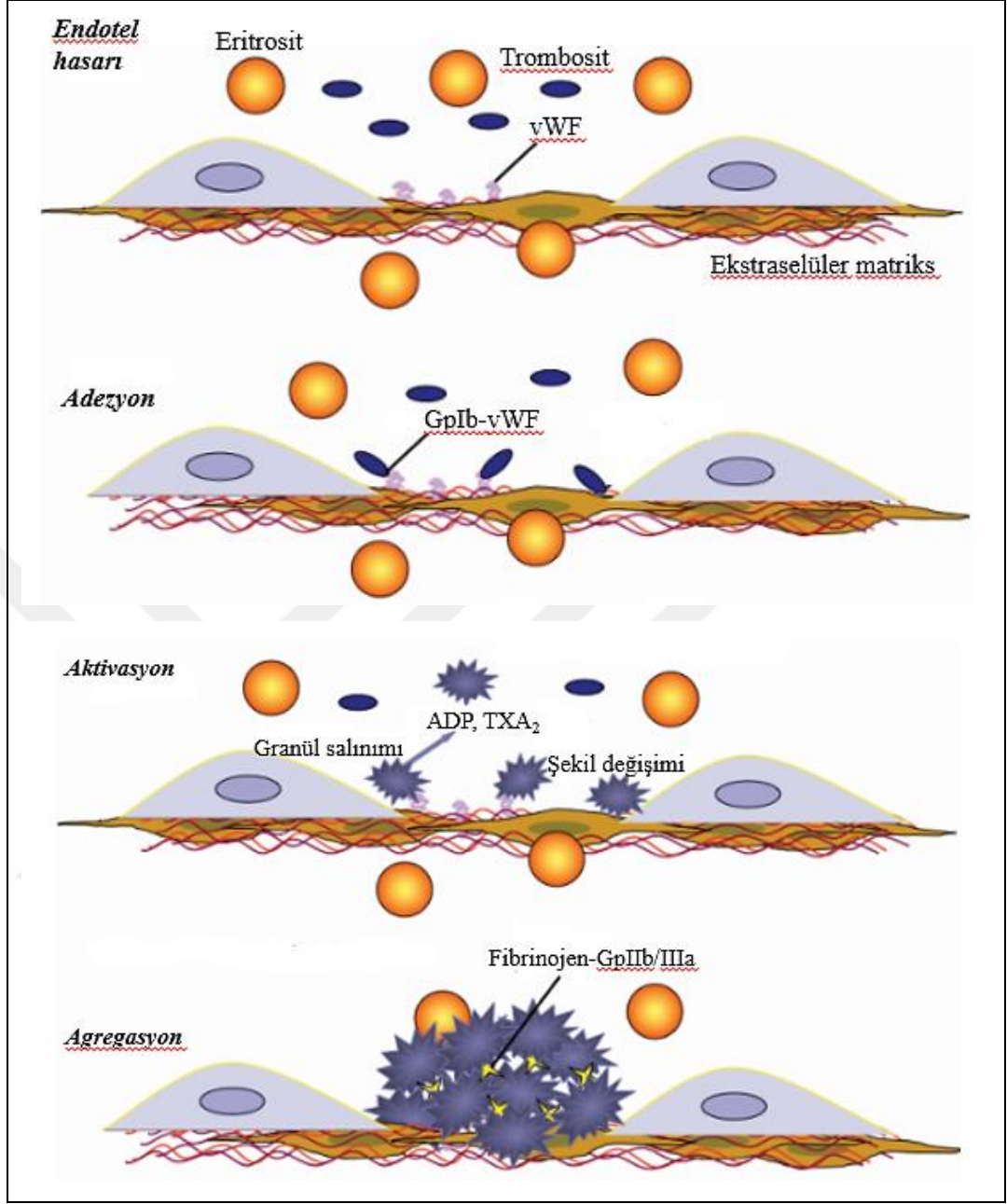
2.2.2. Trombosit aktivasyonu

Fizyolojik koşullar altında trombositler vasküler duvarlara yakın şekilde dolaşmaktadır. Bununla birlikte, endotel hücreleri ile etkileşime girmezler. Çeşitli

mekanizmalar normal koşullar altında trombositlerin endotel hücrelerine yapışmasını önler. Akan kan ile endotel hücre membranı arasındaki glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşan glikokaliks tabaka, hidrodinamik açıdan önemli bir koruyuculuğa sahiptir. Ayrıca endotelden salınan nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi mediyatörler de trombosit aktivasyonunu ve adezyonunu önlemektedir (5).

Endotel tabakasının sürekliliği bozulduğunda ve altta yatan subendotelial matriks ortaya çıktığında, bu hasarın kapatılması için bir dizi olay meydana gelir. Bu süreçte trombositler, adezyon (yapışma), sekresyon (salınım) ve agregasyon (kümeleşme) süreçleri ile birincil bir rol oynamaktadır. Endotel hasarı meydana geldikten sonra, çeşitli substratlar yaralanmaya yanıt olarak trombositlerin vasküler duvarlara yapışmasına aracılık edebilmektedir. Hasar gören bölgeye trombositlerin yapışmasında kilit başlangıç basamağı, trombositlerdeki GpIb/IX/V kompleksi ile subendotelialdaki vWF'nin etkileşimidir. vWF, trombosit reseptörleri ile subendotelial kollajen arasında köprü görevi görür. Ayrıca subendotelialda bulunan laminin, trombospondin, fibronektin ve vitronektin gibi trombositlere bağlanabilen ve aktive edebilen çeşitli substratlar da adezyonda rol oynamaktadır. Adezyonun ardından trombositler, ADP ve kollajen gibi agonistlerin trombosit yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanması ile aktive olur. ADP, tromboksan A₂ (TXA₂) ve trombin gibi G-protein ilişkili reseptörler fosfolipaz C'yi etkinleştirirler. Sonuçta iki ikinci haberci üretilir; diaçilgliserol (DAG) ve inozitol trisfosfat (IP₃). DAG, membrandan kalsiyum akışına aracılık ederken, IP₃ hücre içi depolardan kalsiyumu serbest bırakır. Trombosit içinde kalsiyum konsantrasyonunun artması trombositin yapısal ve fonksiyonel değişiklikleriyle sonuçlanır. Morfolojik olarak, trombosit bir diskten dikenli bir küreye dramatik biçimde değişir. Hücre membranı sitoplazmik projeksiyonlarla kıvrımlı hale gelirken trombosit içindeki granüller merkezileştirilir, içerikleri açık kanaliküler sistemin lümenine boşaltılır ve daha sonra hücre dışına salınırlar. Trombosit içi kalsiyum konsantrasyonundaki artış, aynı zamanda membrandaki fosfolipaz A₂ aktivitesini uyarır ve araşidonik asit serbestleştirilir. Araşidonik asit, siklooksijenaz enzimi (COX-1) ile bir ara ürün olan prostaglandin H₂ 'ye (PGH₂) dönüştürülür. PGH₂, tromboksan sentaz tarafından TXA₂ 'ye metabolize edilir. TXA₂ trombositlerin güçlü bir aktivatörüdür. Şekil değiştirme reaksiyonu ile sağlanan uzun membran projeksiyonları, trombositlerin agregasyon oluşturmak üzere birbirleriyle etkileşime girmesine izin verir. Trombosit agregasyonunda rol oynayan ana adezyon

molekölü bir membran proteini olan GpIIb/IIIa kompleksidir. Trombositlerin agonistlerle aktivasyonu, GpIIb/IIIa'nın yapısında konformasyonel değişiklikler yapar. Böylece GpIIb/IIIa, fibrinojeni bağlayabilir. Bağlanma sonrası fibrinojen, birçok trombositin büyük agregatlar oluşturmak üzere birbiri ile etkileşimini sağlar ve primer hemostatik tıkaç oluşur (**şekil-1**). GpIIb/IIIa trombositleri birbirine bağlamak ve trombüsü dengelemek için en yaygın olarak bilinen molekül olmakla birlikte bu konuda junctional adezyon molekülleri (JAMs), SLAM (sinyalleme lenfosit aktivasyon molekülü) aile proteinleri ve CD40 ligand gibi başka moleküller de araştırılmıştır. Bu moleküllerin trombosit agregasyonundaki rolleri henüz net olarak tanımlanmamıştır (5). Sekonder hemostatik tıkaç ve olgun pıhtının oluşması için ise, pıhtılaşma kaskadının aktivasyonu ile trombin ve polimerize fibrin oluşumu gereklidir.



Şekil 1: Primer hemostatik tıkaç oluşumu

((29) numaralı kaynaktan türkçeleştirilmiştir.)

2.2.3. Trombosit indeksleri

Trombosit indeksleri, trombosit histogramından hesaplanarak elde edilmektedir. Trombosit histogramına göre ortalama trombosit hacmi, MPV (mean platelet volüme; ortalama trombosit hacmi) ile ifade edilir. PDW (platelet distribution width; trombosit dağılım genişliği), trombositlerin büyüklük açısından çeşitliliğinin göstergesidir. P-LCR (platelet large cell ratio), 12 fL den büyük trombositlerin total trombosit sayısına oranıdır (%). PCT (plateletkrit) ise trombositlerin oluşturduğu hacmin, toplam kan hacmine oranıdır (%).

Trombosit indeksleri, trombosit morfolojisini değerlendirmede objektif parametrelerdir. Ek maliyet oluşturmadan otomatik tam kan sayımı sırasında değerlendirilebilirler. Trombosit indekslerinin belirlenmesi, birçok trombosit aktivasyon belirtecini tayinine göre çok daha kolay ve ucuz olmaktadır. Genç ve büyük hacimli trombositlerin daha reaktif kan elemanları olup daha fazla miktarda sekretuar granüllere sahip olduğu düşünülmektedir (13). İndekslerle belirlenen trombosit hacim parametrelerinin trombosit aktivasyonu ile ilişkili β -TG, P-selektin, GpIb-IIb/IIIa reseptör ekspresyonu gibi parametrelerle ilişkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (30-32). Bu yüzden, trombosit indeksleri, özellikle de MPV'nin trombosit reaktivitesini belirlemede kullanışlı olabileceği düşünülmektedir (33).

2.2.3.1. Ortalama trombosit hacmi

MPV, ortalama trombosit hacmidir ve femtolitre ile ifade edilir. MPV'nin referans aralığı etilendiamintetraasetik asit (EDTA)'lı kan örneklerinde 7,2-11,7 fL olarak belirlenmekle birlikte, çalışmalar ve laboratuvarlar arasında değişiklikler olabilmektedir (34).

MPV değeri ile pek çok hastalığın ilişkisi araştırılmıştır. MPV'nin destrüktif trombositopeniler ile hipoproliferatif trombositopenilerin ayırıcı tanısında önemli bir yeri vardır. Destruktif trombositopenilerde MPV, trombosit döngüsünün hızlanması ve dolaşıma genç trombositlerin çıkmasına bağlı olarak, hipoproliferatif trombositopenilere göre daha yüksek olmaktadır (35, 36). Trombositopenik hastalarda trombosit sayısı ve büyüklüğü ile ilgili doğumsal hastalıkların değerlendirilmesi (37), trombositlerin fonksiyonel kapasitesinin belirlenmesi ve hematolojik hastalıklarda kanama diyatezi geçirme olasılığının tahmin edilmesinde (38) MPV önemli bir role sahiptir. Vasküler

hastalıklar ile MPV ilişkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Büyük trombositlerin daha reaktif olduğu ve MPV'nin, hiperkoagülyasyona yatkınlığın bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür. MPV'nin akut koroner sendromlar, diyabet, serebrovasküler hastalıklar gibi protrombotik süreçlerde yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (6-8). Ateroskleroz için risk faktörleri bulunan hastalarda risk faktörleri bulunmayanlara göre; akut koroner sendroma bağlı göğüs ağrısı olan hastalarda, kalp dışı göğüs ağrısı olanlara göre daha yüksek MPV değerleri bulunmuştur (39). Miyokard infarktüsünde MPV artmakla birlikte miyokard infarktüsünün zamanı ile MPV arasında bir korelasyon görülmemiştir; bu durum MPV'nin, akut faz belirteci olmaktan çok genel bir protrombotik durumu temsil ettiğini düşündürmektedir (40). Bu nedenle MPV'nin diagnostik bir belirteç olmaktan çok, miyokard infarktüsü ve perkütan girişimler sonrasında 6 aylık mortalite, restenoz, stent trombozu gibi süreçlerdeki prognostik önemi üzerinde durulmaktadır (41). MPV değeri yüksek hastaların akut koroner sendrom ve perkütan girişimler sonrasında daha kötü prognoz gösterdiği bildirilmiştir (42). Koroner arter hastalığı ile MPV ilişkisini inceleyen bir meta-analiz çalışmada, yüksek MPV'nin akut miyokard infarktüsü, infarktüs sonrası mortalite ve koroner anjioplasti sonrası restenoz gelişimi ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (41). Bazı çalışmalarda da akut koroner sendromlar için risk skorlama sistemleri ile MPV'nin birlikte kullanımının daha iyi prediktif değer sağlayacağı gösterilmiştir (43, 44). Kardiyoloji alanında gelecek araştırmalar için ilgi çekici konular; hastalarda bireysel MPV azaltılmasının kardiyovasküler sonuçta bir değişikliğe neden olup olmayacağı ve artmış MPV'li yüksek riskli bir alt gruba daha agresif tedavi sağlanması gerekip gerekmediğidir (39).

Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda MPV değerleri yüksek bulunmuş; MPV ile kan şekeri ve HbA1c seviyelerinin korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (45). Bir çalışmada, diyabetik hastalarda iyi glisemik kontrolün sağlanmasıyla birlikte, MPV'nin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (46).

Enflamatuvar hastalıklar ile MPV ilişkisi de incelenmiştir. Enflamatuvar hastalıklarda MPV değeri çalışmalar arasında farklılıklar olsa da, genelde düşük saptanmış ve CRP ve eritrosit sedimentasyon hızı ile negatif yönde ilişkili bulunmuştur (47). Romatoid artrit, ankilozan spondilit gibi bazı enflamatuvar hastalıkların aktivite indeksleri ile MPV negatif ilişkili bulunmuş ve MPV'nin hastalık aktivitesi ve

antienflamatuvar tedaviye yanıtı değerlendirmede kullanılabileceği düşünülmüştür (48, 49). MPV, enflamatuvar hastalıkların aktif dönemlerinde, remisyon dönemlerine göre düşük bulunmuştur (50, 51). Bu bulgular sonucunda, enflamasyonun şiddetinin, dolaşımdaki trombositlerin büyüklüğü için belirleyici olduğu düşünülmüştür. Bu durum, ağır enflamasyon durumunda, büyük ve reaktif trombositlerin enflamasyon bölgesinde tüketildiği ve dolaşımdaki MPV'in azaldığı şeklinde yorumlanmıştır (52).

2.2.3.2. Trombosit dağılım genişliği

PDW, histogramın tepe noktasının %100 olduğu göz önüne alındığında, %20 düzeyindeki dağılım genişliği olarak tanımlanır. Trombositlerin büyüklük açısından çeşitliliğini gösterir ve trombosit anizositozu varlığında artar. Fizyolojik koşullar altında, MPV ile PDW arasında doğrudan bir ilişki vardır; her ikisi de genellikle aynı yönde değişir. Çalışmalarda PDW referans aralıkları belirgin olarak değişkenlik gösterip %8,3 ile %56,6 arasında bildirilmiştir (53). PDW, trombositopeni veya trombositozu olan hastaların değerlendirilmesinde MPV ile birlikte kullanılır.

PDW de MPV gibi, destrüktif trombositopenilerde hipoproliferatif trombositopenilere göre daha yüksek olmaktadır. Trombosit sayısının 400.000'in üzerinde olduğu durumlarda PDW'nin yüksek olması miyeloproliferatif hastalıkları düşündürürken, normal veya düşük olması ise reaktif trombositoz olarak yorumlanır (39). MPV'ye benzer şekilde PDW'nin de diyabetik bireylerde sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (54).

Akut miyokard infarktüsü sonrası perkütan girişim geçiren hastalarla yapılan bir prospektif çalışmada, PDW'nin prognostik öneme sahip olduğu bulunmuştur (55). Akut koroner sendromlu hastaların retrospektif olarak değerlendirildiği bir çalışmada, PDW değeri >17 olan hastaların daha yüksek Gensini skoruna (aterosklerotik lezyonun yaygınlığını ve şiddetini gösteren bir skorlama sistemi) sahip olduğu bildirilmiştir (56). Koroner anjiyografi yapılan 1882 hastanın yer aldığı bir çalışmada ise, PDW'nin koroner arter hastalığı ve karotis intima media kalınlığının şiddeti ile ilişkili olmadığı fakat yaş, kilo ve bel çevresi gibi kardiyovasküler risk faktörleri ve diyabet prevalansı ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (57).

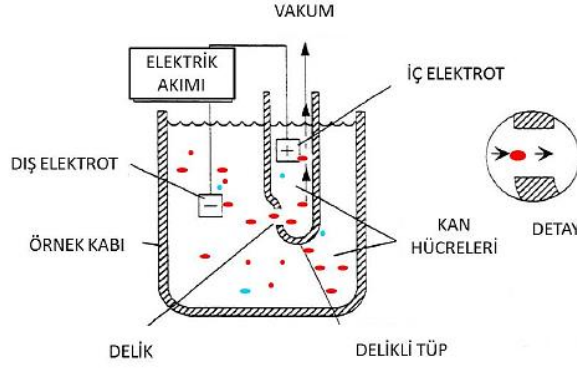
2.2.3.3. Plateletkrit

PCT, trombositlerin oluşturduğu hacmin toplam kan hacmine oranıdır. Trombosit sayısı ile ortalama trombosit hacminin çarpımının 100'e bölünmesi ile elde edilir (trombosit sayısı*MPV/100). PCT için referans aralık % 0,22-0,24'tür (53). Fakat diğer indekslerde olduğu gibi, çalışmalar arasında farklılıklar mevcuttur. PCT, MPV ve PDW'ye göre daha az çalışmada araştırılmıştır.

Destruktif trombositopenilerde, hipoproliferatif trombositopenilere göre MPV daha yüksek bulunurken, PCT daha düşük bulunmuştur. MPV'nin yüksek olması artmış megakaryopoetik aktivitenin göstergesidir. Bununla birlikte PCT'nin düşük bulunması ise periferdeki ağır trombosit yıkımından kaynaklanmaktadır (58). Gestasyonel diyabet tanısı konulan gebelerde trombosit indekslerinin incelendiği bir çalışmada PCT'nin diğer trombosit indekslerinden daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bunun sebebi, PCT'nin trombosit sayısı ve MPV'nin kombinasyonu ile belirlenmesi olabilir (59). Bir çalışmada (60), ST elevasyonsuz miyokard infarktüsü geçiren hastalarda, ilk başvuru PCT değerinin, kardiyovasküler mortaliteyi öngörmedeki rolü araştırılmıştır. Yüksek PCT'li hastalarda, uzun dönem majör kardiyak olay yaşama olasılığı ile kalp yetmezliği veya reinfarktüsle hastaneye yatma oranı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca yüksek PCT değerleri ile uzun dönem mortalite riski arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Bu bulgulara göre, PCT'nin uzun dönem kardiyovasküler mortalitenin güçlü ve bağımsız bir öngördürücüsü olduğu düşünülmüştür.

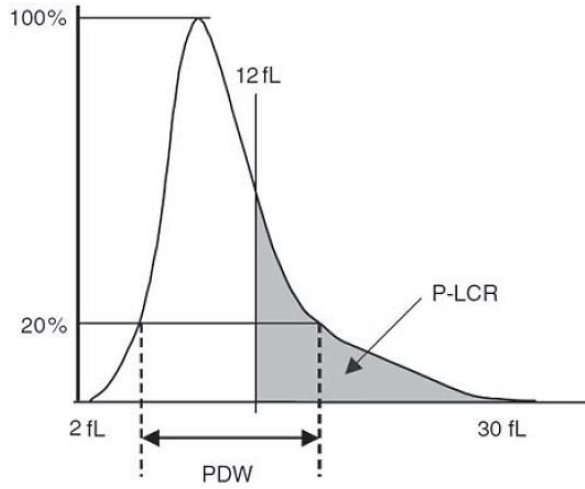
2.2.3.4. Trombosit indekslerinin ölçüm yöntemleri

Trombosit indeksleri, rutin kan sayımı çalışmalarından elde edilen bir grup parametredir. Tam kan sayımı cihazlarında trombosit sayısı sıklıkla impedans yöntemi ile elde edilir (**şekil-2**). İmpedans yönteminde hücre sayısı ve volümü düşük frekanslı elektriksel direkt akım yöntemi ile ölçülür. İki elektrot arasındaki delikten geçen hücrelerin yarattığı elektriksel rezistansın oluşturduğu voltaj değişikliklerinin ölçümü esasına dayanır. Osiloskopla ölçülen voltaj değişiklikleri, hücrelerin büyüklüğü ve sayıları hakkında bilgi verir. Bu bilgiler trombosit histogramlarında gösterilir.



Şekil 2: İmpedans yöntemi ile hücre sayımı

İmpedans ile trombositlerin sayımındaki zorlukların başında kısa sürede kümeleşmeleri (agregasyon) ve EDTA'lı ortamda gelişebilen psödotrombositopeni gelir. Bunların yanında mikrositler, şistositler ve lökosit fragmanları büyüklükleri yönünden trombositler ile karışabilir. Radyofrekans yönteminde, radyo dalgalarıyla hücrelerin çekirdek büyüklükleri ve sitoplazma granülleri hakkında bilgiler elde edilmektedir. Optik yöntemle trombosit sayımında, argon iyon lazerle her bir hücrenin etkileşimi ve ışık saçılımının açısına göre hücrenin büyüklüğü ve iç yapısı değerlendirilir. Özellikle trombosit sayısının düşük ve parçalanmış eritrosit sayısının yüksek olduğu durumlarda değerlidir. İmmünojenik sayım, trombositlerin yüzeyinde bulunan antijenlerin (CD41, CD61) floresan işaretli monoklonal antikorlarla boyanarak, flow sitometri yöntemi ile sayılmasıdır. Düşük trombosit sayılarında en güvenilir yöntemdir. Günümüzde kullanılan gelişmiş kan sayımı cihazları birden çok yöntemi birlikte kullanarak daha ayrıntılı sonuçlara ulaşabilmektedir.



Şekil 3: Trombosit histogramı

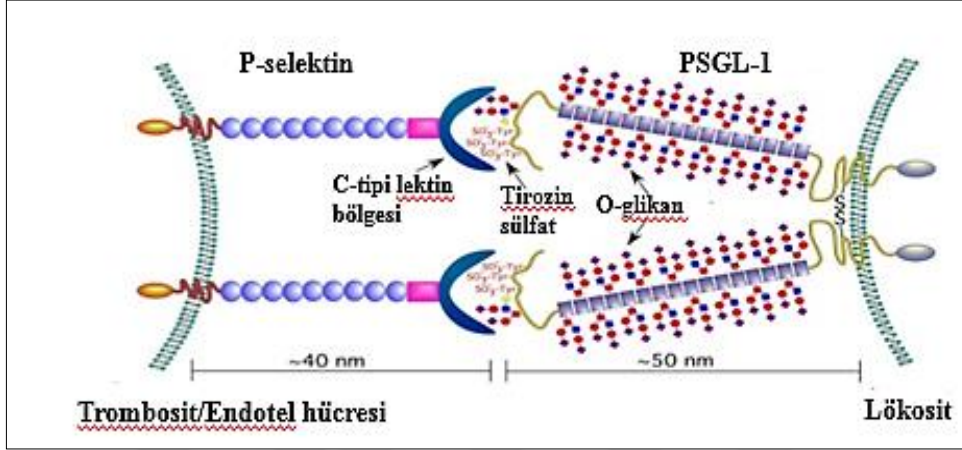
Şekil-3'te normal bir trombosit histogramı görülmektedir. Trombosit histogramı sola çarpık dağılım (log-normal dağılım) göstermektedir. Histogramın alt limiti 2, üst limiti 30 fL'dir. Normal bir kan sayımı histogramında trombositlerin büyüklüğü 2-20 fL arasındadır. 0-2 fL büyüklükteki partiküller genelde tozlar ve hava kabarcıklarıdır. 20 fL'nin üzerindeki partiküller ise dev trombositler olabileceği gibi; mikrositler, şistositler ve trombosit kümeleri de bu sayım alanına girebilmektedir.

2.2.4. P-selektin

Selektin süper ailesinin bir üyesi olan P-selektin, trombositlerin α granüllerinde ve endotel hücrelerinin Weibel-Palade cisimlerinde depolanan glikoprotein yapılı bir adezyon molekülüdür (14). GMP-140, LECAM-3, PADGEM proteini ve CD62P olarak da adlandırılır (61). Diğer selektinler gibi, bir kalsiyum bağımlı (c-tip) lektin bölgesi, bir epidermal büyüme faktörü benzeri bölge, bir dizi tekrarlayan tamamlayıcı-düzenleyici bölge, bir transmembran alan ve kısa bir sitoplazmik kuyruktan oluşur (62). Tekrarlayan düzenleyici bölgeler selektin tipleri ve canlı türleri arasında değişiklik göstermektedir. İnsan P-selektininde bu dizi 9 tekrardan oluşmaktadır (63).

Trombosit aktivasyonu ile P-selektin hızlıca α granüllerden trombosit membranına hareket eder ve trombosit-lökosit veya lökosit-endotelial hücre adezyonuna aracılık ederler. Aynı zamanda dolaşıma da salınır. Dolaşıma salınan formu, çözünebilir P-selektin (sP-selektin) olarak adlandırılır (64). Hücre yüzeyinde eksprese edilen P-selektin flow sitometrik yöntemlerle, sP-selektin ise enzim-bağımlı immünolojik yöntemlerle ölçülebilir. P-selektin, Sialyl-Lewis X karbonhidrat yapısındaki ligandı P-

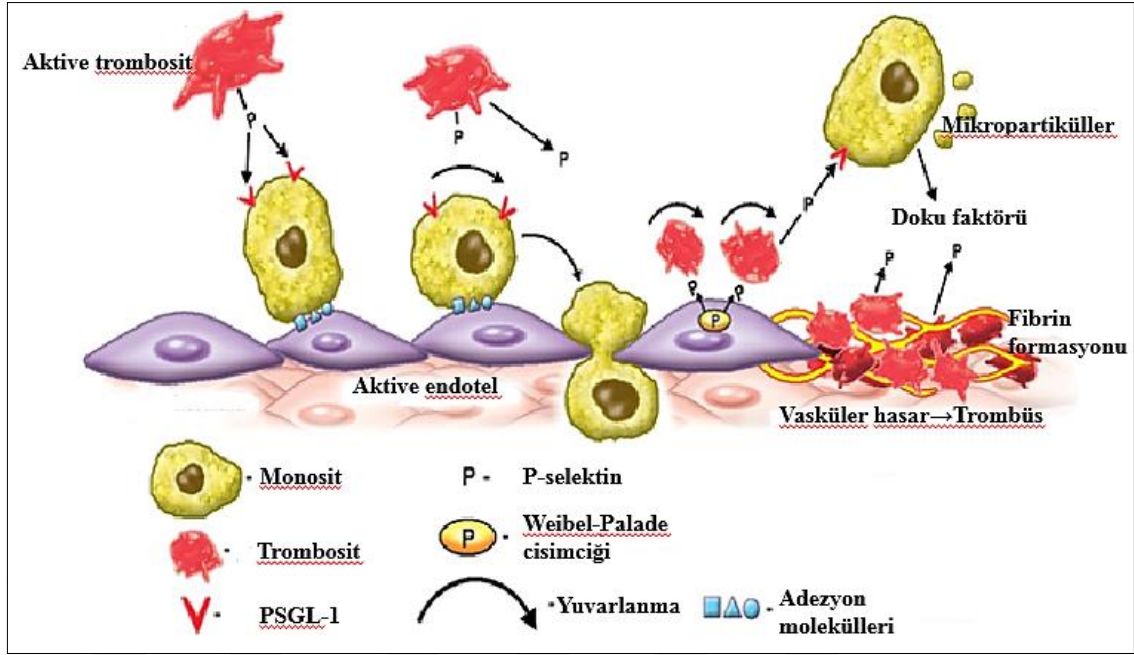
selektin glikoprotein ligand-1 (PSGL-1)'e bağlanarak etki gösterir. PSGL-1, lökosit ve endotel yüzeyinde bulunur. PSGL-1 mRNA, kemik iliği, beyin, yağ, kalp, böbrek ve karaciğer gibi çeşitli dokularda eksprese edilir (65). P-selektinin yapısı ve PSGL-1 ile ilişkisi **şekil-4**'te görülmektedir.



Şekil 4: P-selektin ve PSGL-1

((66) numaralı kaynaktan Türkçeleştirilmiştir)

Lökositlerin arteriyel damar duvarına tutunması, ateroskleroz gelişiminde önemli bir adımı temsil eder. Lökositlerin aterosklerotik sürece katılımı, dinamik bir kaskat olan tethering (yakalama), rolling (yuvarlanma), adezyon (yapışma) ve transmigrasyon (göç) aşamaları ile gerçekleşir (14). P-selektin ve lökosit yüzeyindeki PSGL-1 arasındaki etkileşim, enflamasyonda lökositlerin yuvarlanma hareketinin büyük bir bölümünden sorumludur (67). Yuvarlanan lökositler daha sonra vasküler hücre adezyon molekülü ve aktive edilmiş endotel hücrelerinde eksprese olan diğer adezyon moleküllerini aktive eder. Bu adezyon molekülleri lökositlerin endotele sıkıca yapışmasına ve ardından transmigrasyona yol açar. P-selektin, bu hücre-hücre etkileşimine aracılık etmenin yanı sıra, pozitif feed-back mekanizma ile endotelin daha da aktifleştirilmesinden sorumludur. P-selektinin lökositler üzerindeki PSGL-1'e bağlanması aynı zamanda prokoagülan mikropartiküller ve doku faktörünün salınmasını da artırır. Trombin içindeki aktif trombositler üzerinde eksprese edilen P-selektin, prokoagülan mikropartiküllerin üzerindeki PSGL-1'e bağlanarak bu partiküllerin trombüs içine alınmasını desteklemektedir. Genel olarak bu işlemler trombin oluşumunu, fibrin birikimini ve trombüsün stabilizasyonunu desteklemektedir (14). P-selektinin aterogenezdeki rolü **şekil-5**'te gösterilmiştir.



Şekil 5: Arteriyel damar duvarında enflamatuvar ve trombotik patofizyolojik yolları bağlayan P-selektinin rolü

((14) numaralı kaynaktan Türkçeleştirilmiştir)

P-selektinin aterogenezde önemli rolü olduğunu destekleyen kanıtlar hücre kültürü ve hayvan çalışmaları ile elde edilmiştir. P-selektin, özellikle ateroskleroz plaklarının üstündeki endotelde eksprese edilmektedir (68). P-selektin eksikliği oluşturulan farelerin daha az yağlı çizgi geliştirdiği (69); anti P-selektin antikorlarının, monositlerin yuvarlanma hareketini ve endotele bağlanmasını inhibe ettiği bulunmuştur (70). Başka bir hayvan modelinde, anti P-selektin antikorlarının lökosit birikimini engellemenin yanı sıra, fibrin formasyonunun oluşumunu da engellediği gösterilmiştir (71). İn vitro bir çalışmada, okside LDL gibi aterojenik faktörlerin, P-selektin ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Bu bulgular, damar duvarında enflamatuvar ve trombotik patofizyolojik yolları birleştirmede P-selektinin merkezi rolünü vurgulamakta ve molekülü terapötik olarak da ilgi çekici bir hedef haline getirmektedir (14).

Trombosit membranındaki P-selektin ekspresyonu trombosit aktivasyonunun bir göstergesi ve anti-trombosit ilaçların farmakodinamik etkinliğinin bir ölçüsü olarak kabul edilirken, sP-selektin de trombosit reaktivitesinin ve kardiyovasküler riskin bir göstergesi olarak incelenmiştir (14). Birçok enflamatuvar ve trombotik olayda, bu molekülün ekspresyonunda ve çözünebilir formunun düzeylerinde artış izlenir (10, 16, 17). Yapılan çalışmalarda tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında artmış P-selektin ekspresyonu ve artmış

sP-selektin düzeyleri bulunmuştur (4, 15, 16). İnsülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransına sahip bireylerde de sP-selektin düzeylerinde artış gözlenmiştir (4).

2.2.5. Beta-tromboglobülin

β -TG, 81 amino asit kalıntısından oluşan tetramerik bir proteindir. Trombosit bazik proteininin (PBP) amino-terminal ucundan parçalanmasıyla oluşur. Trombositlerin α granül içeriğinin %10'unu oluşturur. ADP, kollajen, immün kompleksler ve trombin gibi agonistlerin etkisi ile α granüllerden salınır. Dolaşımdaki yarılanma ömrü yaklaşık 100 dakikadır (18). Yapılan çalışmalarda β -TG'nin fibroblastlar için kemotaktik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Fakat fizyolojik etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Son yapılan çalışmalarda ise β -TG'nin prokoagülan etkisinden söz edilmiştir. İn vitro çalışmalarda β -TG'nin, doku faktörüne bağlı ve doku faktöründen bağımsız olarak trombin oluşumunu arttırdığı, aynı zamanda faktör 10 ile etkileşerek enzimatik aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda β -TG'nin trombosit fonksiyon belirteci olduğu kabul edilmektedir (72).

Koroner arter hastalığı ve diyabet gibi çeşitli hastalıklarda β -TG düzeylerinde değişiklikler bildirilmiştir (73-75). β -TG böbrek yoluyla atıldığından dolayı, yüksek plazma düzeylerinin varlığında böbrek fonksiyonlarının dikkate alınması gerekir (18).

2.3. Trombosit fonksiyonları, Hiperglisemi, Diyabetes Mellitus

Diyabet hastalarında koagülasyon sistemi ile ilgili değişiklikler multifaktöriyeldir. Trombosit hiperreaktivitesi, endotel disfonksiyonu, endotel-trombosit ilişkisinde bozulma, koagülasyon faktörlerinin aktivitesinde değişiklikler ve bozulmuş fibrinoliz gibi mekanizmalar ile koagülasyon sistemi etkilenmektedir.

Trombositler aterogenez ve trombüs oluşumunda oldukça önemli rol oynar. Trombosit morfolojisi ve fonksiyonlarıyla ilgili değişiklikler diyabet, akut koroner sendrom, inme, sepsis gibi enflamatuvar ve vasküler temelli hastalıklarda gösterilmiştir (6-10). Bu durumun yansıması olarak, prediyabetik hastalarda da trombositlerle ilgili değişiklikler görülmesi beklenmektedir. Diyabetik hastalarda, trombosit yüzey antijenleri olan CD41, CD42, CD62 ve CD63 ekspresyonunun arttığı flow-sitometrik analizlerde gösterilmiştir (76). Ayrıca diyabetik kişilerde trombosit granüllerinde bulunan P-selektin, β -TG, PF-4, TXA₂ gibi mediyatörlerin düzeylerinde artış saptanmıştır (77).

Diyabet hastalarında, trombosit hiperreaktivitesine sebep olan pek çok faktör vardır. Bunlar hiperglisemi, hipertrigliseridemi, enflamasyon, oksidatif stres ve hiperinsülinemidir. Hiperglisemi, proteinlerin non-enzimatik glikasyonuna yol açar; bu glikasyon membran akışkanlığını azaltır ve trombositlerin aktive olma eğilimini artırır. Genellikle birlikte bulunan dislipidemi de membran akışkanlığının azalmasında rol oynar. Subendotelyal proteinlerin glikozilasyonu, endotelin ürettiği NO etkinliğini azaltabilir ve trombosit inhibisyonunun azalmasına katkıda bulunur. Hiperglisemi ayrıca protein kinaz C'nin aktivasyonunu sağlar (78). Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, kalsiyum regülasyonunun bozulması ve hücre içi kalsiyum artışının da trombosit reaktivitesini arttırdığı düşünülmektedir. Hiperglisemi ve hiperinsülinemide hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu arttıran olası mekanizmalar; Na^+/Ca^{2+} pompasının aktivitesinde artış, Ca^{2+} -ATP az aktivitesinde değişiklikler, insülin duyarlılığının azalması ile sarkoplazmik endoplazmik retikulum Ca^{2+} -ATPaz (SERCA) aktivitesinin azalması, oksidatif stres etkisi ile kalsiyum sinyalizasyonunun artması olabilir. Hipergliseminin diğer bir etkisi de trombosit glikoprotein Gp IIb/IIIa ve P-selektin ekspresyonunun glukozun ozmotik etkisi ile aktive edilmesidir (79).

Diyabette görülen enflamasyon ve oksidatif stres de trombosit fonksiyonlarını etkiler. Oksidatif stres, trombosit içi kalsiyum salınımını artırır; aynı zamanda endotel fonksiyonunu bozduğu için, NO ve prostasiklinin sentezini ve biyolojik aktivitesini azalır. Bu durum trombosit reaktivitesinde artışa yol açar. İnsülin, sağlıklı ve obez olmayan bireylerde trombosit yüzeyindeki insülin reseptörüne bağlanıp kollajen-trombosit ilişkisini inhibe ederek trombositlerin agregasyonunu azaltır (78). Trombosit üzerindeki insülin reseptörlerinin sayısındaki ve duyarlılığındaki azalmanın trombosit hiperaktivasyonuna neden olabileceği bildirilmiştir (80). Diyabetik kişilerdeki trombosit hacim artışının sebepleri ise hipergliseminin ozmotik etkisiyle trombositlerin şişmesi ve artmış trombosit döngüsü sebebiyle genç ve büyük trombositlerin dolaşıma çıkması olabilir (81). Diyabet hastalarında trombositlerle ilgili fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler **tablo-3**'te özetlenmiştir.

Tablo 3: Diyabet hastalarında trombositlerle ilgili fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler

Membran proteinlerinin glikasyonunda artma
Membran akışkanlığında azalma
Prostanoid üretme kapasitesinde artma
NO üretme kapasitesinde azalma
NO ve prostasiklin direnci
Reaktif oksijen türevlerinin üretiminde artma
Sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda artma
α granül içeriğinde ve salınımında artma
Trombosit hacminde artma
GpIb ve GpIIb/IIIa glikoprotein reseptörlerinin sayılarında artma
Adezyon ve aktivasyonda artma
Agonistlere artmış duyarlılık

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Çalışma gruplarının oluşturulması

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun (08.02.2017;83045809-604.01.02 sayılı yazı) onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışmaya alınan tüm olgulara, çalışma öncesinde çalışmayı anlatan bilgilendirme formu verildi ve imzalı onay belgesi alındı.

Çalışma gruplarımız; **Mart 2017-Mart 2018** tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Merkez Araştırma Laboratuvarına İç Hastalıkları biriminden OGTT yaptırmak için yönlendirilen kişiler arasından seçildi. Bireylerin anamnezi alınarak çalışmamızın dışlama kriterleri açısından değerlendirildi. Vücut kütle indeksi (VKİ) belirlenmesi için boy ve kilo ölçümleri kaydedildi. Açlık plazma glukoz değerleri ve 75 g oral glukoz yüklemesi sonuçlarına göre ADA kriterleri göz önüne alınarak 54'ü erkek 80'i kadın toplam 134 kişiyi kapsayan ve aşağıda tanımlanan çalışma grupları oluşturuldu.

Kontrol grubu (n:31)

- ✓ Açlık plazma glukoz düzeyi <100 mg/dL ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeyi <140 mg/dL olan 13'ü erkek 18'i kadın 31 hasta (Yaş ortalaması 43,4±9,5 yıl)

Prediyabet grubu (n:103):

Açlık ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeylerine göre ADA kriterleri baz alınarak BAG, BGT ve BAG+BGT olmak üzere üç alt grup halinde değerlendirilmiştir.

- ✓ **BAG grubu:** Açlık plazma glukozu düzeyleri 100-125 mg/dL arasında ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeyi <140 mg/dL olan 23'ü erkek 37'si kadın 60 hasta (Yaş ortalaması 43,4±13,2 yıl)
- ✓ **BGT grubu:** Açlık plazma glukoz düzeyleri <100 mg/dL ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeyi 140-199 mg/dL olan 6'sı erkek, 8'i kadın 14 hasta (Yaş ortalaması 44,6±12,5 yıl)

- ✓ **BAG+BGT grubu:** Açlık plazma glukozu düzeyleri 100-125 mg/dL arasında ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeyi 140-199 mg/dL olan 12'si erkek, 17'si kadın 29 hasta (BAG+BGT) (Yaş ortalaması 45,8±11,5 yıl)

3.2.Çalışmadan dışlanma kriterleri

Aşağıda belirtilen özelliklere sahip hastalar çalışmadan dışlanmıştır.

- Tip 1 ve tip 2 diyabet
- Ciddi iskemik hastalık (akut veya geçirilmiş miyokart enfarktüsü, geçirilmiş serebrovasküler olay, geçirilmiş koroner/periferal arter revaskülarizasyon operasyonu)
- Malignite
- Akut veya kronik enfeksiyöz hastalıklar ve sepsis
- Akut enflamatuvar hastalıklar ve kronik enflamatuvar hastalıkların akut alevlenme dönemleri
- Akut ve kronik böbrek yetmezliği
- Gebelik
- Trombositopeni (trombosit sayısı<100.000/mm³) ve trombositoz (trombosit sayısı>400.000/mm³)
- Ağır anemi (Hemoglobin <9 gr/dL)
- Antikoagülan, antiagregan, antihipertansif, antiinflamatuvar, oral kontraseptif ve statin grubu ilaç kullanan hastalar
- Günde >5 sigara kullanımı

3.3.Örneklerin alınması ve çalışılan parametreler

OGTT uygulaması 10-12 saatlik gece açlığı sonrasında sabah 08.00-10.00 arasında yapıldı. Bireylere 75 g glukoz eşdeğeri Galenik Dekstroz Monohidrat (82,5 g), 300 mL'lik suda eritilerek 1-2 dakika içinde içirildi. Test süresince bireylerin sigara içmesine ve fiziksel aktivitede bulunmasına ve su dışında yiyecek almasına izin verilmedi.

75 gr oral glukoz yüklemesinden önce (bazal; 0.saat) ve yüklemenin ikinci saatinde (2.saat) ön koldan jelli serum tüplerine (BD SST II, 5 mL, 367953) alınan

numuneler 3500 rpm'de 4 dakika santrifüj edilerek ayrılan serum örneklerinde glukoz analizi yapıldı (Cobas c702; Roche Diagnostics, Basel, İsviçre).

Trombosit indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinin ölçümleri için 75 gr oral glukoz yüklemesinden önce (bazal; 0.saat) ve yüklemenin ikinci saatinde (2.saat) ön koldan EDTA'lı tüplere (BD K₃ EDTA, 2 mL, 367836) venöz kan örnekleri alındı. Alınan tam kan örneklerinden 2 saat içinde trombosit indeksleri (MPV, PDW, PCT) belirlendi (Unicel DxH 800; Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, Amerika Birleşik Devletleri). Daha sonra numuneler 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve ayrılan plazma örnekleri, P-selektin ve β -TG çalışmasına kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Çalışmaya alınan bireylerin rutin test parametreleri (total-HDL-LDL kolesterol, trigliserid, insülin, üre, kreatinin, CRP, HbA1c) alınan kan örneklerinde analiz edildi. VKİ değerleri; $[\text{vücut ağırlığı (kg)} / (\text{metre cinsinden boy})^2]$ formülü kullanılarak hesaplandı. İnsülin direncini belirlemek amacı ile Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) değeri, $[\text{Açlık plazma glukoz (mg/dL)} \times \text{açlık insülin } (\mu\text{U/mL})] / 405$ formülü kullanılarak hesaplandı.

3.4.Kullanılan araç ve gereçler

- Santrifüj (Mipro)
- Derin dondurucu (SEG RF4540 A)
- Tam kan sayımı cihazı (Beckman Coulter, Unicell DxH 800)
- Hormon analiz cihazı (Roche Cobas c602)
- Biyokimya analiz cihazı (Roche Cobas c702)
- HbA1c analiz cihazı (Biorad Varyant 2 Turbo)
- Pipetler (Eppendorf 50, 100, 200 μ L)
- Eppendorf tüpleri (Labosel)
- Vortex (Jankle & Kunkel IKA VF2)
- Otomatik ELISA cihazı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4 ve Diagnostic Pasteur LP35)

- Otomatik ELISA yıkayıcı (Robonik Washwell Plate Elisa Washer)

3.5.Yöntemler

3.5.1. Trombosit indekslerinin belirlenmesi

Trombosit sayısı ve indeksleri (MPV, PDW, PCT) Beckman Coulter UniceL DxH 800 tam kan sayımı cihazında impedans yöntemi kullanılarak belirlendi. Numunelerde antikoagülan olarak EDTA kullanıldı ve ölçümler kan alındıktan sonraki ilk 2 saat içinde tamamlandı. Bu zaman zarfında numuneler oda ısısında bekletildi.

Tam kan sayımı cihazı tarafından;

- ✓ Hacmi 2-30 fL arasındaki hücrelerin sayımı ile trombosit histogramı elde edildi.
- ✓ MPV, trombosit histogramının ortalaması alınarak belirlendi.
- ✓ Trombosit histogramının dağılım genişliği hesaplanarak PDW elde edildi.
- ✓ Trombositlerin toplam kan hacmine oranının ifadesi olan PCT ise trombosit sayısı*MPV/100 formülü ile hesaplandı.

Beckman Coulter UniceL DxH 800 tam kan sayımı cihazının trombosit sayısı ve indeksleri için 12 aylık günler arası varyasyon katsayısı (%CV) değerlerinin ortalamaları **tablo-4**'te gösterilmiştir.

Tablo 4: Beckman Coulter UniceL DxH 800 tam kan sayımı cihazının trombosit sayısı ve indeksleri için 12 aylık günler arası %CV değerleri (Ortalama)

	Düzyey 1	Düzyey 2	Düzyey 3
Trombosit sayısı	1,98	1,84	3,72
MPV	0,96	0,74	0,90
PDW	0,73	0,49	0,55
PCT	2,48	2,05	4,2

3.5.2. Plazma P-selektin düzeyinin tayini

Plazma P-selektin düzeyinin tayininde 'Enzyme Linked İmmunabsorbent Assay' (ELISA) yöntemi kullanıldı. (Human P-Selectin PicoKine ELISA Kit, Boster Biological Technology, Katalog Numarası: EK0505; çalışma içi %CV: 6, çalışmalar arası %CV: 5,4)

3.5.2.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan P-selektin için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen Horseredish peroksidaz (HRP) işaretli antikorlar ile tetrametilbenzidin (TMB) substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan P-selektin miktarı ile orantılıdır.

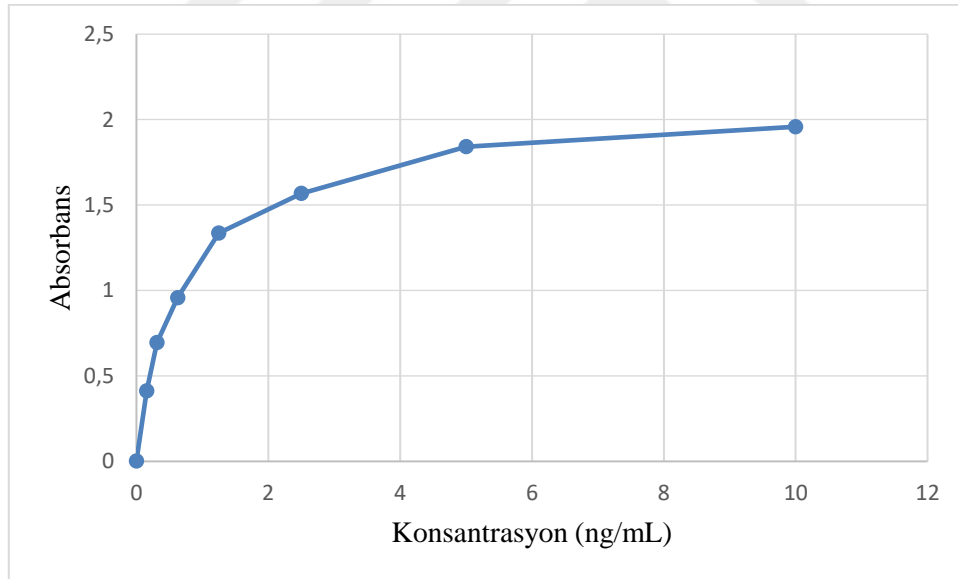
3.5.2.2. Kullanılan ayraçlar

- Anti P-selektin antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize P-selektin standardı
- Biyotinle işaretli anti P-selektin antikor
- Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

3.5.2.3. Testin yapılışı

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µL eklendi ve 37⁰C'de 90 dakika inkübe edildi.

4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µL biyotinle işaretili anti P-selektin antikoru eklenerek 37⁰C’de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µL avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi eklenerek 37⁰C’de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi
9. Karanlık ortamda 37⁰C’de 15 dakika inkübe edildi.
10. 100 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 6: P-selektin standart eğrisi

3.5.3. Plazma β-TG düzeyinin tayini

Plazma β-TG düzeyinin tayininde ELISA yöntemi kullanıldı. (Human β-TG ELISA Kit, Finetest, Katalog Numarası: EHO874; çalışma içi %CV: <8, çalışmalar arası %CV: <10)

3.5.3.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan β -TG için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan β -TG miktarı ile orantılıdır.

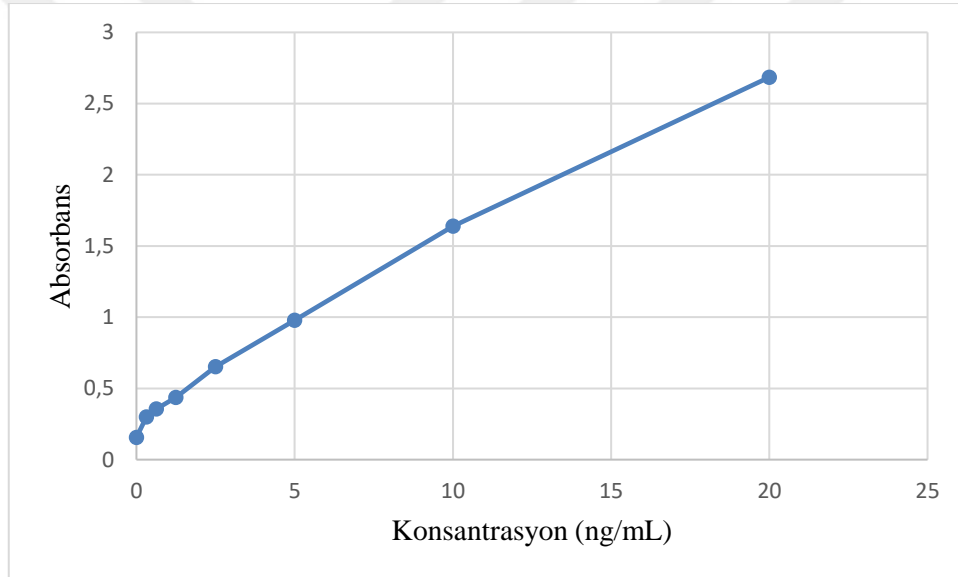
3.5.3.2. Kullanılan ayıraçlar

- Anti β -TG antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize β -TG standardı
- Biyotinle işaretli anti β -TG antikor
- HRP-streptavidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-streptavidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

3.5.3.3. Testin yapılışı

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak 2 kez yıkandı.
4. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 μ L eklendi ve 37⁰C'de 90 dakika inkübe edildi.
5. Plak içeriği dököldükten sonra her bir kuyucuğa 100 μ L biyotinle işaretli anti β -TG antikorunu eklenerek 37⁰C'de 60 dakika inkübe edildi.
6. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.

7. Her kuyucuğa 100 µL HRP-streptavidin kompleksi eklenerek 37⁰C’de 30 dakika inkübe edildi.
8. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
9. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi
10. Karanlık ortamda 37⁰C’de 30 dakika inkübe edildi.
11. 50 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbands ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturuldu.
13. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4).



Şekil 7: β-TG standart eğrisi

3.5.4. Rutin test parametrelerinin analizi

Bireylerin serum glukoz, insülin, total-HDL-LDL kolesterol, trigliserid, üre, kreatinin ve CRP düzeyleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Fikret Biyal Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında Roche Cobas c702 ve c602 kullanılarak tayin edildi.

Glukoz analizi için referans metod olan heksokinaz yöntemi kullanıldı (Roche Cobas, katalog no: 04404483). Çalışma grupları oluşturulurken ADA kriterleri kullanılacağından elde edilen serum glukoz değerleri, $[Plazma\ glukoz\ (mg/dL) = -0,137 + (18,951 \times serum\ glukoz\ (mg/dL) / 18)]$ formülü kullanılarak plazma glukoz değerlerine çevrildi.

İnsülin analizi Elektro kemilüminesans immünolojik test (ECLIA) yöntemi ile yapıldı (Roche Cobas, katalog no:12017547).

Total-HDL-LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri enzimatik-kolorimetrik yöntemle tayin edildi (Roche Cobas, sırasıyla katalog no: 05168538 04399803, 03038866, 20767107).

Üre düzeyleri enzimatik-kinetik yöntem kullanılarak belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 04460715). Kreatinin düzeyleri kinetik Jaffe yöntemi ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 04810716).

CRP analizi immünotürbidimetrik yöntem kullanılarak yapıldı (Roche Cobas, katalog no: 04956842).

HbA1c değerleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlendi (Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer, katalog no: 0021849, 0021850, 0021851).

3.6.İstatistiksel yöntemler

Tüm istatistiksel değerlendirmeler Statistical Package for the Social Sciences “SPSS” 20.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma sonuçları ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi. Testlerin normal dağılımı Kolmogrov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda eşleşmiş ve eşleşmemiş student t testi kullanıldı. Analysis of variance (ANOVA) testi çoklu grup karşılaştırması için kullanıldı. Korelasyon analizleri Pearson korelasyon analizi ile yapıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, iatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri

Kontrol ve prediyabet gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları ortalama ve standart sapma olarak **tablo-5**'te verilmiştir.

Tablo 5: Kontrol ve prediyabet gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)

	KONTROL	PREDİYABET	p değeri*
n (Kadın/Erkek)	31 (18/13)	103 (68/35)	ad
Yaş (yıl)	43,4±9,5	45,8±13,0	ad
VKİ (kg/m²)	26,3±6,6	30,7±9	<0,05
Açlık plazma glukozu (mg/ dL)	94,4±4,2	110,2±10,1	<0,001
OGTT 2.saat plazma glukozu (mg/ dL)	97±18,6	129,1±39	<0,001
İnsülin (µU/mL)	9,3±4,4	14,9±8,2	<0,001
HOMA-IR	2,07±1,01	3,96±2,17	<0,001
Total kolesterol (mg/dL)	171±54	201±44	<0,005
LDL (mg/dL)	108±45	132±36	<0,005
HDL (mg/dL)	51,6±16,1	52,6±20,8	ad
Trigliserid (mg/dL)	109±77	148,3±82	<0,05
Üre (mg/dL)	24,9±8,5	28±7,8	ad
Kreatinin (mg/dL)	0,68±0,15	0,72±0,14	ad
CRP (mg/dL)	2,9±3,8	2,9±3,0	ad
HbA1c (%)	5,4±0,43	5,8±0,47	<0,005

*: Prediyabet ve kontrol gruplarının karşılaştırması

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

ad: Anlamlı değil

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance VKİ: Vücut kütle indeksi

- Prediyabet ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları arasında anlamlı fark gözlenmedi.
- Prediyabet grubunun VKİ ortalamaları kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,012$).
- Prediyabet grubunun açlık plazma glukoz değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p< 0,001$). Benzer şekilde OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz değerleri de prediyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p< 0,001$).
- Açlık ve OGTT sonrası 2.saat plazma glukoz düzeyleri kıyaslandığında kontrol grubunda anlamlı farklılık gözlenmezken prediyabet grubunda 2.saat plazma glukoz değerleri açlık plazma glukoz değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p< 0,001$).
- Prediyabet grubunun insülin, HOMA-IR ve HbA1c değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,001$).
- Prediyabet grubunun total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunurken (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,003$, $p=0,017$) iki grubun HDL-kolesterol düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
- Üre, kreatinin ve CRP düzeyleri prediyabet ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi.
- Kadın ve erkek cinsiyet kıyaslandığında kontrol grubunda açlık plazma glukoz değerleri kadınlarda ($93,4\pm4,1$) erkeklere ($97,1\pm3,2$) göre anlamlı olarak düşük saptanırken ($p=0,025$), HDL değerleri erkeklerde ($39,4\pm10,8$) kadınlara ($56,1\pm15,5$) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,006$). Yaş ve diğer rutin laboratuvar parametrelerinde cinsiyetler arasında anlamlı fark gözlenmedi.
- Prediyabet grubunda yaş ve rutin laboratuvar parametreleri açısından cinsiyetler arasında anlamlı fark bulunmadı.

Kontrol ve prediyabet alt gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları ortalama ve standart sapma olarak tablo-6’da verilmiştir.

Tablo 6: Kontrol ve prediyabet alt gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)

	KONTROL	BAG	BGT	BAG+BGT
n (Kadın/Erkek)	31 (18/13)	60 (37/23)	14 (8/6)	29 (17/12)
Yaş (yıl)	43,4±9,5	43,4±13,2	44,6±12,5	47,8±11,5
VKİ (kg/m²)	26,3±6,6	28,8±7,3	30,2±8,4	35,1±11 ^{a4,b2}
Açlık plazma glukozu (mg/ dL)	94,4±4,2	110,1±7,7 ^{a4}	95,3±3,5 ^{b3}	119±7 ^{a4,b3,c3}
OGTT 2.saat plazma glukozu (mg/ dL)	97±18,6	101,4±18,8	154,3±22,3 ^{a4,b3}	176,4±19,8 ^{a4,b3,c2}
İnsülin (µU/mL)	9,3±4,4	13,3±7,8 ^{a3}	16,8±8,3 ^{a2}	17,3±8,3 ^{a4,b1}
HOMA-IR	2,07±1,01	3,44±1,96 ^{a4}	4,01±1,97 ^{a3}	5,07±2,37 ^{a4,b2}
Total kolesterol (mg/dL)	171±54	192,3±34,8 ^{a1}	234±39 ^{a3,b3}	207±40 ^{a2,c1}
LDL (mg/dL)	108±45	122±32	156±39 ^{a4,b2}	139±36 ^{a2,b1}
HDL (mg/dL)	51,6±16,1	53,9±24,6	56,6±13	49,3±9,2 ^{c1}
Trigliserid (mg/dL)	109±77	131±73	179±85 ^{a2,b1}	167±91 ^{a1}
Üre (mg/dL)	24,9±8,5	27,3±7,7	27,4±10,7	26,5±6
Kreatinin (mg/dL)	0,68±0,15	0,73±0,14	0,74±0,18	0,68±0,11
CRP (mg/dL)	2,9±3,8	2,8±3,2	2,5±1,7	3,5±3
HbA1c (%)	5,4±0,43	5,68±0,43 ^{a1}	5,68±0,48	6,07±0,42 ^{a4,b2,c1}

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma; a¹: p<0,05 a²: p<0,01 a³: p<0,005 a⁴: p<0,001

b: BAG grubu ile karşılaştırma; b¹: p<0,05 b²: p<0,005 b³: p<0,001

c: BGT grubu ile karşılaştırma; c¹: p<0,05 c²: p<0,005 c³: p<0,001

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance VKİ: Vücut kütle indeksi

Prediyabet alt grupları birbirleri ile ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

- BAG, BGT ve BAG+BGT ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları arasında anlamlı fark bulunmadı.
- VKİ ortalamaları açısından kontrol, BAG ve BGT grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken; BAG+BGT grubunun VKİ değerleri kontrol ve BAG grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,003$).
- Açlık plazma glukoz değerleri BAG ve BAG+BGT gruplarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (her ikisi için $p<0,001$). BGT ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. BAG grubunda açlık plazma glukoz düzeyi BGT grubuna göre; BAG+BGT grubunda hem BAG hem de BGT grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (tümü için $p<0,001$).
- 2.saat plazma glukoz değerleri açısından BAG ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. 2.saat plazma glukoz değerleri BGT grubunda kontrol ve BAG gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (her ikisi için $p<0,001$). BAG+BGT grubunda kontrol, BAG ve BGT gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,002$).
- Grupların 2.saat plazma glukoz değerleri açlık plazma glukoz değerleri ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda anlamlı farklılık saptanmadı. BAG grubunun 2.saat plazma glukoz değerleri açlık plazma glukoz değerlerinden anlamlı olarak düşük bulunurken ($p=0,001$), BGT ve BAG+BGT gruplarının 2.saat plazma glukoz değerleri açlık plazma glukoz değerlerinden anlamlı olarak yüksek saptandı (her ikisi için $p<0,001$).
- İnsülin düzeyleri BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,006$, $p<0,001$). Aynı zamanda BAG+BGT grubunda BAG grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,037$).
- HOMA-IR değerleri BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,003$, $p<0,001$). Aynı zamanda BAG+BGT grubunda BAG grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,001$).

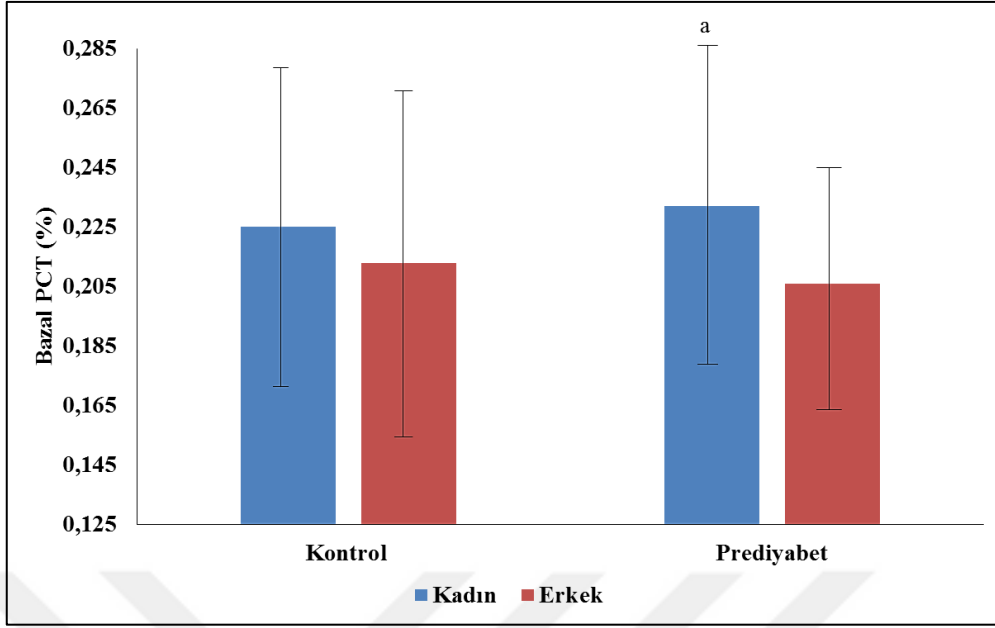
- Total kolesterol düzeyleri prediyabet alt gruplarının tümünde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (BAG, BGT ve BAG+BGT için sırasıyla $p=0,029$, $p<0,001$, $p=0,006$). Prediyabet alt grupları birbiriyle kıyaslandığında total kolesterol düzeyleri BGT grubunda BAG ve BAG+BGT gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,045$).
- LDL kolesterol düzeyleri kontrol ve BAG grupları arasında anlamlı farklılık göstermezken BGT ve BAG+BGT gruplarında hem kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,006$) hem de BAG grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,038$).
- HDL kolesterol düzeyleri kontrol, BAG ve BGT grupları arasında anlamlı farklılık göstermezken BAG+BGT grubunda BGT grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,047$).
- Trigliserid düzeyleri kontrol ve BAG grupları arasında anlamlı farklılık göstermezken BGT grubunda kontrol ve BAG gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,007$, $p=0,034$). BAG+BGT grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,01$).
- Üre, kreatinin ve CRP düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermedi.
- HbA1c değerleri BAG grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,028$). BAG+BGT grubunda da diğer üç gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu (Kontrol, BAG ve BGT gruplarına göre sırasıyla $p<0,001$, $p=0,002$, $p=0,024$).
- Prediyabet alt gruplarında kadın ve erkek cinsiyet kıyaslandığında yaş ve rutin laboratuvar parametrelerinde anlamlı fark gözlenmedi.

4.2. Trombosit indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri

Grupların bazal ve yükleme sonrası (2.saat) trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları **tablo-7** ve **tablo-8**'de görülmektedir.

4.2.1. Grupların bazal değerlerinin karşılaştırılması

- Trombosit sayısı ve indekslerinin bazal değerleri açısından kontrol ve prediyabet grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Prediyabet grubu alt gruplar halinde incelendiğinde de kontrol, BAG, BGT ve BAG+BGT grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmedi.
- Kontrol ve prediyabet grubunun bazal plazma P-selektin düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Benzer şekilde kontrol, BAG, BGT ve BAG+BGT grupları arasında da anlamlı farklılık bulunmadı.
- Bazal plazma β -TG düzeyi prediyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). β -TG düzeyi BAG, BGT ve BAG+BGT grupları arasında anlamlı farklılık göstermezken üç grupta da kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,019$, $p=0,02$).
- Kontrol grubunun bazal trombosit indeks değerleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinde cinsiyetler arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
- Prediyabet grubunun bazal PCT değerleri kadınlarda erkeklere göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,017$) (**Şekil-8**). Diğer indeks değerleri ile bazal plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinde ise cinsiyetler arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarında bazal trombosit indeks değerleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinde cinsiyetler arasında anlamlı farklılık saptanmadı.



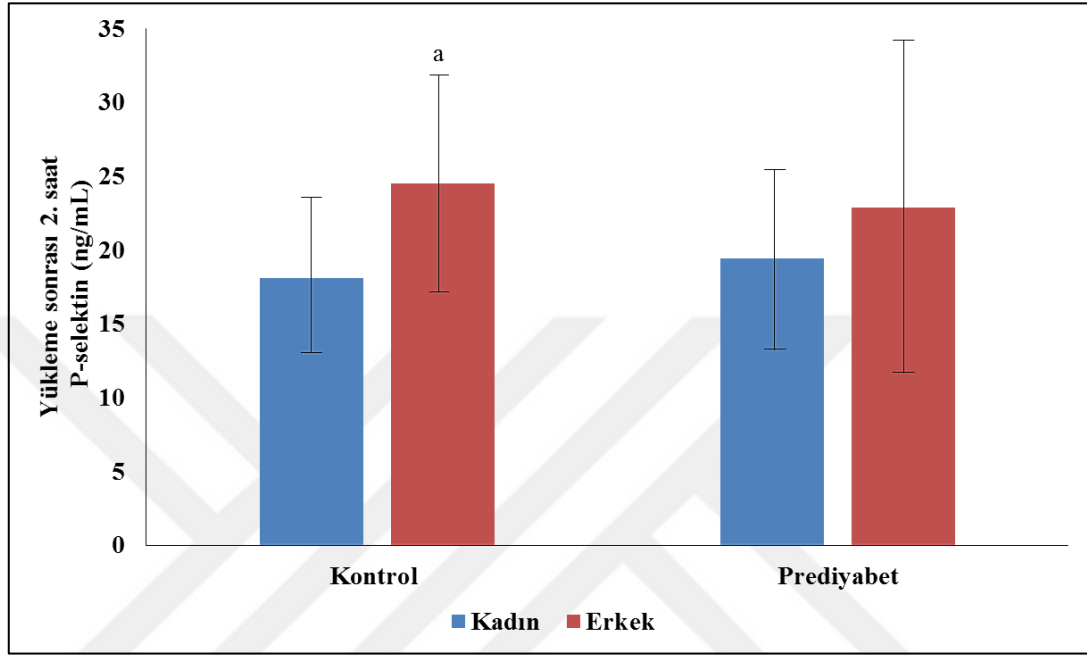
Şekil 8: Kontrol ve prediyabet grubunun bazal PCT değerlerinin cinsiyetler arasında karşılaştırılması

a: Grup içi cinsiyetler arası karşılaştırma; a: $p < 0,05$

4.2.2. Grupların glukoz yükleme sonrası değerlerinin karşılaştırılması

- Kontrol ve prediyabet grupları arasında oral glukoz yüklemesi sonrası 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. 2.saat plazma β -TG düzeyi prediyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,014$).
- BAG, BGT ve BAG+BGT grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmedi. 2.saat plazma β -TG düzeyleri BAG ve BGT gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken (sırasıyla $p=0,011$, $p=0,021$); BAG+BGT grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmedi.
- BAG, BGT ve BAG+BGT grupları birbiri ile kıyaslandığında 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı.
- Kontrol grubunda 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile β -TG düzeyleri kadın ve erkek cinsiyet arasında anlamlı farklılık göstermezken plazma P-selektin düzeyi erkeklerde kadınlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,01$) (Şekil-9).

- Prediyabet grubunda 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri kadın ve erkek cinsiyet arasında anlamlı farklılık göstermedi.
- Prediyabet alt gruplarında cinsiyetler arasında 2.saat trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmedi.



Şekil 9: Kontrol ve prediyabet grubunun yükleme sonrası 2.saat P-selektin düzeylerinin cinsiyetler arasında karşılaştırılması

a: Grup içi cinsiyetler arası karşılaştırma; a: $p < 0,05$

4.2.3. Grup içi bazal ve glukoz yüklemesi sonrası değerlerin karşılaştırılması

- Kontrol grubunda yüklemesi sonrasında trombosit sayısı, PCT ve P-selektin değerlerinin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (sırasıyla $p=0,048$, $p=0,014$, $p=0,04$). MPV, PDW ve β -TG değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı (**Tablo-7**).
- Prediyabet grubunda yüklemesi sonrasında trombosit sayısı, MPV, PCT ve P-selektin değerlerinin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (sırasıyla $p < 0,001$,

p=0,014, p<0,001, p=0,001). PDW ve β -TG'de ise anlamlı bir değişiklik bulunmadı (**Tablo-7**).

- BAG grubunda yükleme sonrasında trombosit sayısı, MPV, PCT ve P-selektin değerlerinin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı bulundu (sırasıyla p=0,03, p=0,012, p=0,002, p=0,026). PDW ve β -TG değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (**Tablo-8**).
- BGT grubunda yükleme sonrasında trombosit sayısı ve PCT değerlerinin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (sırasıyla p=0,003, p=0,007). MPV, PDW, P-selektin ve β -TG değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı (**Tablo-8**).
- BAG+BGT grubunda yükleme sonrasında trombosit sayısı, PCT ve P-selektin değerlerinin bazal değerlere göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (sırasıyla p=0,001, p<0,001, p=0,004). MPV, PDW ve β -TG değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (**Tablo-8**).
- Değişim oranları açısından kontrol ve prediyabetik gruplar karşılaştırıldığında; trombosit sayısındaki yükleme sonrası bazal değerlere göre azalma oranı kontrol grubunda %1,44 iken, prediyabetik grupta %3,18 idi (p=0,031). PCT açısından değerlendirildiğinde yükleme sonrası bazal değerlere göre azalma oranı prediyabetik grupta (%3,88) kontrol grubuna (%2,04) göre daha fazla olmakla birlikte, aralarındaki fark anlamlı değildi. P-selektin düzeylerindeki değişim oranları açısından prediyabet ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Değişim oranları prediyabetik alt gruplarda değerlendirildiğinde; BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarında trombosit sayısında azalma oranı sıra ile %2,2, 5 ve 4,2 ; PCT değerlerinde azalma oranı %3,2, 5,2 ve 4,6 bulundu. Trombosit sayısındaki azalma oranı BGT ve BAG+BGT gruplarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0,007 ve p=0,008). PCT'deki azalma oranı ise BAG+BGT grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti (p=0,031). Plazma P-selektin düzeyindeki azalma oranı en fazla BAG+BGT grubunda iken değişim oranları açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 7: Kontrol ve prediyabet gruplarının trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinin bazal ve glukoz yükleme sonrası değerleri (Ort \pm SD)

	KONTROL		PREDİYABET	
	Bazal	2.saat	Bazal	2.saat
Trombosit sayısı (10³/mm³)	250 \pm 71	246 \pm 72 ^{c1}	253 \pm 63	244 \pm 58 ^{c2}
MPV (fL)	9,03 \pm 0,84	8,99 \pm 0,85	8,96 \pm 0,84	8,9 \pm 0,9 ^{c1}
PDW (%)	16,9 \pm 0,5	16,8 \pm 0,5	16,7 \pm 0,5	16,7 \pm 0,5
PCT (%)	0,222 \pm 0,053	0,217 \pm 0,053 ^{c1}	0,224 \pm 0,050	0,215 \pm 0,046 ^{c2}
P-selektin (ng/mL)	23,4 \pm 7,7	19,9 \pm 6,5 ^{c1}	22,8 \pm 9,4	20,4 \pm 8,2 ^{c1}
β-TG (ng/mL)	8,58 \pm 2,13	8,7 \pm 2,97	11,05 \pm 4,47 ^a	10,3 \pm 3,2 ^b

a: Kontrol grubu bazal değerleri ile karşılaştırma; a: p<0,001

b: Kontrol grubu yükleme sonrası 2.saat değerleri ile karşılaştırma; b: p<0,05

c: Grup içi bazal değerler ile karşılaştırma; c¹: p<0,05 c²: p<0,001

Tablo 8: Kontrol, BAG, BGT ve BAG+BGT gruplarının trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinin bazal ve glukoz yükleme sonrası değerleri (Ort \pm SD)

	KONTROL		BAG		BGT		BAG+BGT	
	Bazal	2.saat	Bazal	2.saat	Bazal	2.saat	Bazal	2.saat
Trombosit sayısı (10³/mm³)	250 \pm 71	246 \pm 72 ^{c1}	247 \pm 66	241 \pm 63 ^{c1}	266 \pm 58	251 \pm 50 ^{c2}	258 \pm 58	246 \pm 52 ^{c2}
MPV (fL)	9,03 \pm 0,84	8,99 \pm 0,85	8,88 \pm 0,82	8,78 \pm 0,87 ^{c1}	9,26 \pm 0,89	9,24 \pm 0,91	8,98 \pm 0,87	8,95 \pm 0,93
PDW (%)	16,9 \pm 0,5	16,8 \pm 0,5	16,7 \pm 0,5	16,7 \pm 0,5	16,8 \pm 0,5	16,8 \pm 0,5	16,7 \pm 0,4	16,8 \pm 0,4
PCT (%)	0,222 \pm 0,053	0,217 \pm 0,053 ^{c1}	0,217 \pm 0,052	0,210 \pm 0,051 ^{c2}	0,245 \pm 0,051	0,230 \pm 0,04 ^{c1}	0,229 \pm 0,04	0,218 \pm 0,038 ^{c3}
P-selektin (ng/mL)	23,4 \pm 7,7	19,9 \pm 6,5 ^{c1}	23,1 \pm 9,9	20,9 \pm 9 ^{c1}	23,8 \pm 10,6	22,5 \pm 8	21,5 \pm 7,4	18,1 \pm 5,8 ^{c2}
β-TG (ng/mL)	8,58 \pm 2,13	8,7 \pm 2,97	11,3 \pm 5 ^{a2}	10,4 \pm 3,2 ^b	11 \pm 3,4 ^{a1}	11 \pm 3,5 ^b	10,3 \pm 3,5 ^{a1}	9,4 \pm 3,1

a: Kontrol grubu bazal değerleri ile karşılaştırma; a¹: p<0,05 a²: p<0,001

b: Kontrol grubu yükleme sonrası 2.saat değerleri ile karşılaştırma; b: p<0,05

c: Grup içi bazal değerler ile karşılaştırma; c¹: p<0,05 c²: p<0,005 c³: p<0,001

4.2.4. Korelasyon analizleri

Kontrol grubu ele alındığında;

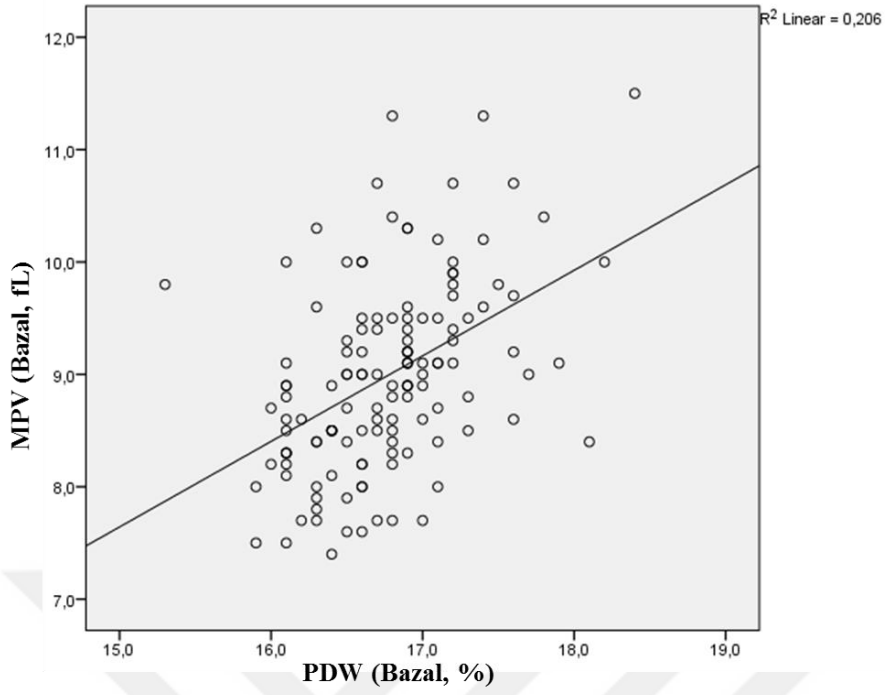
- Bazal trombosit sayısı ile MPV ve PDW arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulunurken (sırasıyla $r=-0,607$ $p<0,001$, $r=-0,542$ $p<0,001$) PCT ile pozitif yönde güçlü korelasyon saptandı ($r=0,951$ $p<0,001$). Bazal MPV ile PDW arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,576$ $p<0,001$). Bazal PDW ile PCT arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulundu ($r=-0,451$ $p<0,001$). Trombosit sayısı ve indeksleri ile P-selektin ve β -TG'nin bazal değerleri arasında bir ilişki saptanmadı.
- Bazal PCT ile insülin arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,413$ $p=0,036$).
- Bazal P-selektin ile β -TG ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı.
- Bazal β -TG ile P-selektin ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı. Bazal β -TG ile HOMA-IR arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,377$ $p=0,03$).

Prediyabet grubu ele alındığında;

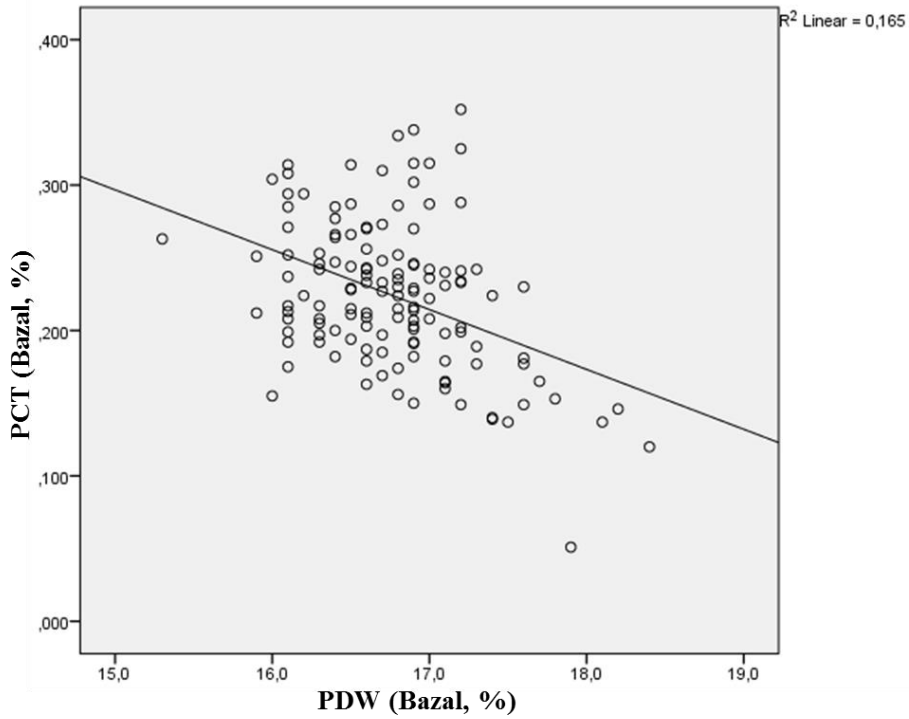
- Bazal trombosit sayısı ile MPV ve PDW arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulunurken (sırasıyla $r=-0,443$ $p<0,001$, $r=-0,493$ $p<0,001$) PCT ile pozitif yönde güçlü korelasyon saptandı ($r=0,923$ $p<0,001$). Bazal MPV ile PDW arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,454$ $p<0,001$). Bazal PDW ile PCT arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulundu ($r=-0,414$ $p<0,001$). Trombosit sayısı ve indeksleri ile P-selektin ve β -TG'nin bazal değerleri arasında bir ilişki saptanmadı.
- Bazal PCT ile HOMA-IR arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,204$ $p=0,044$).
- Bazal P-selektin ile β -TG ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı. P-selektin ile LDL arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,250$ $p=0,013$).
- Bazal β -TG ile P-selektin ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı.

Tüm gruplar ele alındığında;

- Bazal trombosit sayısı ile MPV ve PDW arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulunurken (sırasıyla $r=-0,486$ $p<0,001$, $r=-0,503$ $p<0,001$) PCT ile pozitif yönde güçlü korelasyon saptandı ($r=0,931$ $p<0,001$). Bazal MPV ile PDW arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,454$ $p<0,001$) (**Şekil-10**). Bazal PDW ile PCT arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulundu ($r=-0,406$ $p<0,001$) (**Şekil 11**). Trombosit sayısı ve indeksleri ile P-selektin ve β -TG'nin bazal değerleri arasında bir ilişki saptanmadı.
- Benzer şekilde 2.saat trombosit sayısı ile MPV ve PDW arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulunurken (sırasıyla $r=-0,481$ $p<0,001$, $r=-0,566$ $p<0,001$) PCT ile pozitif yönde güçlü korelasyon saptandı ($r=0,923$ $p<0,001$). 2.saat MPV ile PDW arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu ($r=0,571$ $p<0,001$). 2.saat PDW ile PCT arasında orta düzeyde negatif korelasyon bulundu ($r=-0,417$ $p<0,001$). Trombosit sayısı ve indeksleri ile P-selektin ve β -TG'nin yükleme sonrası değerleri arasında bir ilişki saptanmadı.
- Bazal PCT ile VKİ, insülin, HOMA-IR, CRP ve total kolesterol arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,199$ $p=0,023$, $r=0,203$ $p=0,02$, $r=0,178$ $p=0,042$, $r=0,245$ $p=0,015$, $r=0,197$ $p=0,024$). Yükleme sonrası 2.saat PCT ile VKİ arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,218$, $p=0,013$).
- Bazal P-selektin ile β -TG ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı. P-selektin ile LDL arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,211$ $p=0,016$).
- Bazal β -TG ile P-selektin ve trombosit indeksleri arasında korelasyon bulunmadı. β -TG ile HOMA-IR arasında zayıf pozitif korelasyon bulundu ($r=0,213$ $p=0,015$).
- Trombosit sayısı, MPV, PDW, PCT, P-selektin ve β -TG'nin bazal ve glukoz yükleme sonrası 2.saat değerleri arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,976$ $p<0,001$, $r=0,961$ $p<0,001$, $r=0,913$ $p<0,001$, $r=0,955$ $p<0,001$, $r=0,692$ $p<0,001$, $r=0,568$ $p<0,001$).



Şekil 10: MPV ve PDW'nin bazal değerlerinin korelasyon grafiği (r=0,454, p<0,001)



Şekil 11: PCT ve PDW'nin bazal değerlerinin korelasyon grafiği (r=-0,406, p<0,001)

5. TARTIŞMA

Hematoloji analizörlerindeki son yıllardaki teknolojik gelişmeler trombosit indekslerinin doğru bir biçimde ölçülmesine olanak sağlamıştır. Trombosit indekslerinin ucuz, kolay, kısa sürede ölçülmesi trombosit indekslerinin işaret edebileceği hastalıklar açısından araştırma alanı yaratmıştır. Çalışmalarda özellikle trombosit aktivasyonu ile ilişkili olarak MPV üzerinde yoğunlaşma olmuştur. Doğru ölçülmüş olan trombosit büyüklüğünün trombosit fonksiyonlarının iyi bir göstergesi olduğu kabul edilmiş ve MPV'si artmış büyük trombositlerin hemostatik olarak daha reaktif olduğu, daha fazla protrombotik faktör içerdiği ileri sürülmüştür (13). Diğer taraftan trombosit aktivasyonu ile α granüllerden salınan peptidlerden olan P-selektin lökositler için adezyon molekülü iken β -TG fibroblastlar için kemotaktik özelliğe sahip moleküllerdir (14, 72). Bu moleküllerin ateroskleroz gelişimi ve ilerlemesi açısından önemli rol oynadığı deneysel ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir (14, 68, 72). Tromboembolizm riski taşıyan hastalıklardan biri olan diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarında trombositlerin rolleri çok sayıda çalışmada ele alınmıştır (19, 82). Ancak prediyabetik hastalardaki trombosit indeksleri ve trombosit aktivasyonu hakkında sonuçlar hem çelişkili hem de yetersizdir. Bu tez çalışmasında prediyabetik hastalarda trombosit indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeyleri arasındaki ilişki ve akut hiperglisemik stresin trombosit aktivasyon parametrelerine etkisi araştırıldı.

Çalışmamızda OGTT sonuçlarına göre; açlık hiperglisemisi olan veya bozulmuş glukoz toleransı gösteren veya her ikisine sahip bireyler prediyabetik grup olarak değerlendirildi. Sonuçlarımız prediyabetik grubun bazal trombosit indekslerinin ve trombosit sayısının kontrol grubundan farklı olmadığını gösterdi. Prediyabet alt grupları olan BAG, BGT ve BAG+BGT'deki değerler de kontrol grubundan farklı değildi. Literatür araştırmamızda, prediyabetik hastalarda trombosit indeksleri ile ilgili çeşitli çalışmalarda aşağıdaki sonuçların elde edildiğini gördük.

Zaccardi ve ark. (83) 4691 çalışma içinden kriterlere göre kabul ettikleri 39 çalışmada trombosit indeksleri ile diyabet, BAG ve metabolik sendrom arasındaki ilişkiyi bir metaanalizle değerlendirmişlerdir. Tip2 DM'de MPV ve PDW değerlerinin artmış olduğu ve trombosit sayısında farklılık olmadığı sonucuna varmışlardır. Trombosit sayısında değişiklik olmamasını diyabetik hastalarda kemik iliğinde trombosit sayısı ve

hacmi arasındaki negatif düzenleyici etkinin kaybolması ile açıklamışlardır. Oysa aynı araştırmacılar BAG'da trombosit sayısı ve MPV'nin; metabolik sendromda ise sadece trombosit sayısının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kurt ve ark. BAG, BGT ve BAG+BGT olarak grupladıkları prediyabetik hastalarda MPV değerlerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Ayrıca bu çalışmada prediyabetik hastalar ADA ve WHO kriterlerine göre ayrı ayrı incelenmiş; her iki sınıflamada da prediyabetik kişilerde MPV değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bu bulgulara göre, açlık plazma glukozu 110 mg/dL'nin altında olan MPV'si yüksek bireylerde OGTT'nin daha erken periyotta planlanmasını ve DM gelişimi açısından takip edilmesini önermişlerdir. Ancak bu MPV değeri için herhangi bir cut-off değeri belirtmemişlerdir (84).

Lippi ve ark. (85) plazma HDL-kolesterol<40 mg/dL, açlık plazma glukoz düzeyi>110mg/dL ve trigliserid düzeyi>150mg/dL olan >35 yaş 3337 kişinin MPV değerlerinin (ortalama 8,6 fL; % 95 CI 7,5- 9,6), kontrol grubundan farklı olmadığını bulmuşlardır.

Zuberi ve ark. (86) 612 kişiden oluşan kesitsel çalışmalarında MPV'yi DM (9,34 fL) ve BAG (açlık plazma glukozu 110- 126 mg/dL; MPV: 8,98 fL) hastalarında, kontrol grubuna (8,63 fL) göre yüksek bulmuşlar; ancak trombosit sayıları açısından fark bulmamışlardır. Aynı zamanda DM hastaları için, BAG hastalarından daha yüksek MPV değerleri bildirmişlerdir.

Shimodaira ve ark'nın (87) 2014 yılında yayınlanan ve 1806 bireyden oluşan retrospektif çalışması MPV düzeyinin hem prediyabetiklerde hem de sağlıklı grupta açlık plazma glukoz değerleri ile pozitif yönde korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışmanın da en önemli kısıtlaması, çalışmanın retrospektif olması durumu yazarlar tarafından da ifade edilmiştir.

Ahmedzadeh ve ark. (88) metabolik sendromlu 3203 erkek hastada trombosit sayısının metabolik sendromu olmayan erkek bireylerden (n:7911) daha yüksek olduğunu, MPV değerleri açısından ise gruplar arasında fark olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bildirilen MPV değerleri metabolik sendromlu hastalar için; $9,60 \pm 1,80$ fL'dir. Bu çalışmada da neden ilişkisinin üzerinde durulmamış olması, sadece erkek bireyleri içermesi, alt grup analizlerinin yapılmamış olması ve kesitsel bir çalışma olması çalışmanın en önemli kısıtlamasını oluşturmaktadır. **Farah ve ark.'**nın (89) yaptığı çalışmada ise metabolik sendromlu hastalarda MPV ($9,56 \pm 0,62$ fL) değerlerinin

metabolik sendromu olmayanlara ($8,43\pm 0,61$ fL) göre anlamlı yüksek olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca metabolik sendromun 5 kriterini karşılayanlardaki MPV değerlerini, 3 kriteri taşıyanlara göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Herhangi bir enflamasyon belirteci ölçmedikleri halde, metabolik sendromda enflamasyon artışının MPV ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Diğer taraftan sağlıklı kişilerde trombosit indeksleri ile trombosit agregasyonu arasındaki ilişkiyi araştıran **Beyan ve ark.** (90) çalışmalarının sonucunda; trombosit agregasyonu ile trombosit indeksleri arasında bir korelasyon olmadığı ve indekslerin tek başına bir patolojik durumun indikatörü olamayacağını göstermiştir. Bu çalışmada MPV değeri $6,27\pm 1,04$ fL ($4,50-8,90$ fL) olarak verilmiştir. Benzer bir çalışma sonucu da **Doğru ve ark.** (91) tarafından verilmiştir.

De Luca ve ark. (92) MPV'nin trombosit reaktivitesi ile ilişkili olmadığını, ve diyabetik hastalarda kardiyovasküler riski gösteren bir indikatör olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışmada MPV düzeyleri üç farklı seviye ayrılmış ($<10,6$, $10,6-11,3$ ve $>11,4$) ve trombosit agregasyon sonuçları ile karşılaştırılmış; herhangi bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. **Tavil ve ark.** (93) ve **Halbmayer ve ark.** (94)'nın da çalışmaları MPV'nin kardiyovasküler olaylar için risk göstergesi olmadığına yönelik bulgular sunmaktadır. **Van der Planken ve ark.** (95) da tip 1 DM hastalarında trombosit protrombinaz aktivitesi (PPA) ve MPV arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Shah ve ark. (96), 1999-2004 yılları arasında yapılan 13.021 kişinin retrospektif bir analizin sonuçlarını yayınlamışlardır. Bu çalışmada MPV'nin diyabetik hastalarda ($8,20$; $7,62-8,82$ fL) diyabeti olmayanlara göre ($8,06$; $7,55-8,65$ fL) yüksek olduğu, ancak metabolik sendromlu kişilerde MPV artışının olmadığı bulunmuştur. Diyabetik grupta MPV ile glukoz ve MPV ile HbA1c düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Diyabetik olmayan grupta ise böyle bir korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca metabolik sendromlu kişilerden glukoz metabolizması bozuk olanlar ile olmayanlar arasında MPV farklığı bulmamışlardır. Bunu diyabet olmaksızın mevcut olan hipergliseminin tek başına trombosit aktivitesini etkilemede yetersiz olduğu şeklinde açıklamışlardır. Bu çalışmanın en önemli sonucu olarak MPV'nin HDL-kolesterol ve abdominal obezite ile ilişkili olduğu verilmiştir.

Genel olarak çalışmalara bakıldığında çalışmaların ortak sınırlamaları olduğu görülmektedir. Bunlar trombosit fonksiyonlarını en önemli etkileyici faktörlerden olan ilaç kullanımı veya tıbbi tedavilerin göz ardı edilmesi, MPV değerlerinin anlık bir kez

ölçülmüş olması, kan örneklerinin transport şekli, çalışmaya alınma süresi, kullanılan antikoagülan ve etnik özelliklerdir. Özellikle beklemiş kanlarda EDTA (>2saat) 'ya bağlı olarak trombositlerde şişme meydana gelmektedir (96). Ayrıca gözlemsel ve kesitsel çalışmalarda MPV ile diyabet arasında nedensel bir ilişkiden ziyade, MPV ile ölçülen altta yatan anormal glukometabolik durum, zayıf glisemik kontrol ve trombosit aktivitesi arasındaki bağlantıyı destekleyici bilgi elde edilmektedir. Ayrıca literatürlerde bildirilen MPV değerleri çoğu kez referans aralıklar içinde (6,9-10,8 fL) kalmıştır. 2-4 yıl arasında olan retrospektif çalışmalarda özellikle MPV veya PDW'ye ait analitik CV'ler verilmemiştir. Dolayısı ile referans aralıklar içindeki değerlerin prediyabetik dönemde yükselme ile açıklanması kafa karıştırıcıdır. Çalışmamızda trombosit indeksleri ölçüm periyodunda herhangi bir cihaz veya yöntem değişikliği olmamıştır. Kalite kontrol sonuçları olması gereken uygunlukta (%CV<5) ve stabil bir şekilde devam etmiştir. Çalışmamızda trombosit indekslerini etkileyecek preanalitik koşullar kontrol altına alınmış ve EDTA'lı olarak alınan kan örnekleri, oda ısısında transport edilmiş ve 2 saat içinde çalışılmıştır. Transportta trombosit indekslerine etkisi olabilecek pnömatik tüp sistemi kullanılmamıştır. Sonuç olarak trombosit indekslerinin ve özellikle de MPV'nin prediyabetik dönemde değişmediğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın diğer bir sonucu bazal trombosit aktivasyonunu gösteren β -TG düzeylerinin prediyabetiklerde kontrol grubuna göre yüksek olması ve P-selektin düzeyleri açısından gruplar arasında fark bulunmamasıdır. Prediyabetik hasta gruplarında trombosit aktivasyonuna ilişkin sonuçlar oldukça tartışmalı ve yetersizdir.

Koltai ve ark. (97) OGTT sonrası DM/BGT (n:16) ve normal (n:14) olarak grupladıkları hasta gruplarında P-selektin ve trombosit agregasyonunu incelemişler ve bazal değerler açısından fark bulamamışlardır. **Doğru ve ark.** (98) BAG (n:24) ve BGT (n:16)'den oluşan prediyabetik grubun bazal P-selektin düzeylerinin sağlıklı kontrollerden farklı olmadığını bildirmişlerdir. **Genç ve ark.** (99) P-selektin düzeylerini BGT'li hastalarda araştırmışlar ve kontrol grubuna göre fark bulamamışlardır. Hipertansiyon, obezite ve dislipidemi gibi risk faktörlerine sahip olmayan prediyabetiklerde P-selektin düzeylerinde değişiklik görülmediğini ileri sürmüşlerdir. **Samocha-Bonet ve ark.** (100) 6319 kişinin çalışmaya alındığı yayında flow sitometrik P-selektin ölçüm sonuçlarının obez ve obez olmayan hastalarda farklı olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca P-selektin ile VKİ arasında korelasyon saptamamışlardır. Buna karşın **De Pergola ve ark.** (101) obez ve aşırı kilolu bireylerde P-selektin düzeylerini

yüksek bulmuş fakat P-selektin düzeylerinin VKİ ve HOMA-IR ile korelasyon göstermediğini bildirmişlerdir.

Diyabet hastalarında yapılan çalışmalarda da çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. **Gawlowski ve ark.** (102) hem endojen hem de ekzojen kaynaklardan gelen ileri glikozillenme ürünlerinin (AGE) diyabetik hastalarda P-selektin düzeyini arttırdığını ileri sürmüşler ve trombinin hem sağlıklı grupta hem de diyabetik hastalarda AGE reseptör sayısında artışa yol açtığını bildirmişlerdir. **Yngen ve ark.** (103) ise ADP ile indüklenmiş P-selektin ekspresyonunu diyabetik hastalarda kontrol grubundan farklı bulmamışlardır. **Miao ve ark.** (104) tip 2 DM hastalarında trombosit aktivasyonunu kültür ortamında belirledikleri çalışmalarında trombosit hiperaktivasyonuna karşın trombositlerin anjiogenetik aktivitelerinin değişmediğini ileri sürmüşlerdir.

MPV'nin trombosit aktivasyonu ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmaların bir çoğunda trombosit aktivasyon belirteçlerinin ölçülmediği görülmektedir. Sonuçlarımız MPV düzeyinin prediyabetik dönemde artış göstermemesine karşın trombosit aktivasyon belirteçlerinden biri olan plazma β -TG düzeylerinin prediyabetik dönemde arttığını göstermektedir. Plazma β -TG düzeyi böbrek yetmezliğinde yüksek bulunacağından dolayı, çalışmamızda böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalar dışlanmıştır. Bu bulgular prediyabetik dönemde MPV'nin yükselmemiş olmasının, trombositlerin aktive olmadığı yönünde bir kanı oluşturmanın hatalı olduğunu düşündürmektedir. β -TG düzeyindeki artış, prediyabetik dönemde trombosit büyüklüğü henüz etkilenmeden granül aktivasyonunun başladığını göstermesi açısından önemli bir bulgudur.

Çalışmamızın ikinci kısmı akut hiperglisemik strese verilen trombosit indeks ve fonksiyon yanıtlarının incelenmesidir. Hem kontrol hem de prediyabetik gruplarda oral glukoz yüklemesinden sonra 2. saat trombosit sayısında, PCT ve P-selektin düzeylerinde azalma bulundu. Burada ilginç olarak PCT ve trombosit sayısındaki azalma oranı prediyabetik grupta kontrol grubuna göre daha fazlaydı. Prediyabet grubunda kontrol grubundan farklı olarak MPV düzeyleri de glukoz yüklemesinden sonra 2. saatte azalmıştı. Prediyabetik alt gruplarda ise MPV azalmasını sadece BAG grubunda, P-selektin azalmasını ise hem BAG hemde BAG+BGT grubunda saptadık. Trombosit sayısı ve PCT değerlerini her üç alt prediyabetik grupta da yükleme sonrası bazal değerlere göre düşmüş bulduk. Trombosit sayısı ve PCT'deki azalma oranını en fazla BGT grubunda saptadık.

Postprandiyal hipergliseminin diyabetik hastalarda kardiyovasküler olayların gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüş ve postprandiyal hiperglisemi ile artmış oksidatif stres, endotel disfonksiyonu ve trombosit aktivasyonunun ilişkili olduğuna yönelik kanıtlar sunulmuştur. **Spectre ve ark.** (105) postprandiyal trombosit aktivasyonunda glukozdan daha çok insülinin sorumlu olduğunu ileri sürmüş ve tip 2 diyabetik hastalarda karbohidrattan zengin beslenme sonrasında trombosit aktivasyonunun arttığını ve kontrol grubunda böyle bir artışın olmadığını bildirmişlerdir. **Perkin ve ark.** (106) ise somatostatin analogu ile pankreatik klamp tekniği ve glukoz klamp tekniğini birleştirdikleri obez ve aşırı kilolu hastaları içeren çalışmalarında hiperglisemik-hiperinsülinemik dönemde zararlı vasküler biyolojik etkiden, hiperinsülinemiden çok akut hipergliseminin sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. **Çoban ve ark.** (107), BGT hastalarında (n:48, MPV: $9,06 \pm 1,50$ fL) yaptıkları çalışmada MPV'nin kontrol grubuna (n:48, MPV: $8,28 \pm 0,80$ fL) göre yüksek olduğunu, trombosit sayısında değişiklik olmadığını ve MPV'nin OGTT sonrası 2.saat glukoz değerleri ile korele olduğunu bulmuşlar ve MPV'nin trombosit aktivasyonunun erken göstergesi olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1080 japon bireyin katıldığı **Shimodaira ve ark.**'larının (87) çalışmasının sonuçları; glukoz toleransı normal olan gruptaki bazal MPV değerlerinin hem bazal hemde 2. saat glukoz değerleri ile korelasyon gösterdiğini, BAG grubunda MPV'nin 2.saat glukoz ile korele olduğunu, BGT grubunda ise korelasyon olmadığı yönünde idi. Araştırmacılar postprandiyal hipergliseminin artmış kardiyovasküler risk ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Oldukça heterojen özellikler taşıyan gruplara ait çalışmada MPV değeri bildirilmemiş olup multipl regresyon analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Ayrıca çalışmanın retrospektif olması ve izlem sırasında kardiyovasküler olay gelişip gelişmediğinin belirtilmemiş olması çalışmanın en önemli kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Benzer şekilde **Sharma ve ark.** (108) tip 2 DM, BAG ve kontrol olarak sınıflandırdıkları 930 hastada trombosit sayıları ve glisemik düzeyler arasında ters yönlü bir ilişki bulmuşlardır. Trombosit sayısını, diyabetik grupta, BAG ve kontrol gruplarına göre düşük bildirmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları trombosit morfolojisinin artan glisemi düzeyleri ile değiştiğini göstermiştir. Kontrol grubu dahil tüm gruplarda akut hipergliseminin trombosit sayılarında azalmaya yol açtığını bulduk. Diğer taraftan trombosit sayısı ve MPV'den elde edilen PCT değeri trombosit kalitesi ve kantitesi hakkında daha kesin sonuç vermektedir (109). PCT değerlerinin kontrol grubu dahil tüm gruplarda glukoz

yüklemesi sonrası azalması da, akut hiperglisemik strese yanıt olarak trombosit sayısını düşük bulmamızı destekler yöndedir. Hiperglisemisinin trombositler üzerine olan etkisi oldukça kompleks mekanizmalara dayanır. Hipergliseminin ozmotik şişmeye yol açarak MPV değerlerini yükselttiğini ileri süren çalışmalarda trombosit sayısında artış bulunması diyabetik hastalarda MPV ile trombosit sayısı arasındaki zıt yönlü ilişkinin bozulduğu veya korunamadığı belirtilmiştir. Çünkü trombosit sayısında artışa normal yanıt MPV’de azalmadır (83). Çalışmamızın diğer bir bulgusu olan trombosit sayısı ile MPV arasındaki negatif korelasyon ve PCT ile pozitif korelasyon, indeksler arasındaki tutarlılığı göstermesi açısından önemlidir. Çalışmamızda trombosit sayısındaki ve PCT değerlerindeki azalmanın sebebi, akut hipergliseminin trombosit lizisine yol açması olabilir. Trombosit sayısındaki ve PCT’deki azalma oranının en fazla BGT grubunda elde edilmiş olması, bu grup prediyabetik hastalarda trombositlerin hipergliseminin oluşturduğu ozmotik etkiye daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir.

Diğer taraftan P-selektin düzeylerini yükleme sonrasında BGT grubu dışındaki kontrol grubu dahil tüm gruplarda bazal değerlere göre düşük bulurken β -TG düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik bulmadık. Plazma P-selektin düzeyindeki azalma oranı en fazla BAG+BGT grubunda idi.

Kotzailias ve ark. (110) sağlıklı 12 bireyde hiperglisemik klamp uygulamasından sonra 300 mg/dL kan glukoz düzeyinin sürdürüldüğü ilk 6 saat içinde trombosit aktivasyonunun olmadığını, P-selektin ve MPV değerlerinin değişmediğini saptamışlar ve bunu hipergliseminin oluşturduğu proagregatör etkinin insülin tarafından inhibe edilmesine bağlamışlardır. **Perkin ve ark.** (106) somatostatin analogu ile pankreatik klamp tekniği ve glukoz klamp tekniğini birleştirdikleri obez ve aşırı kilolu hastaları içeren çalışmalarında, hasta ve kontrol grupları arasında bazal P-selektin değerleri açısından fark olmamasına karşın; 60.dakikada P-selektin düzeylerinin öinsülinemi+hiperglisemi durumunda arttığını, hiperinsülinemi+hiperglisemi ve hiperinsülinemi+öglisemi durumunda ise azaldığını göstermişlerdir. Bu etkiyi insülinin fizyolojik yüksek düzeylerinin nitrik oksit aracılı mekanizmalarla hipergliseminin etkilerini baskıladığı şeklinde açıklamışlardır. Hiperglisemiye yanıt olarak hiperinsülineminin, hipergliseminin zararlı etkilerini önlediğini ileri süren bu çalışmanın sonuçları bu açıdan oldukça ilginçtir. Benzer bir çalışma modelinin sonuçları **Joy ve ark.** (111) tarafından yayınlanmıştır. Sağlıklı kişilerde akut hipoglisemi ve hipergliseminin proenflamatuvar ve protrombotik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, hipoglisemi ve

hiperglisemiye verilen yanıtların benzer olduğu, hiperinsülineminin hipergliseminin oluşturduğu proaterotrombotik etkileri önlediği bildirilmiştir. **Yngen ve ark.** (103) ise ADP ile indüklenen bazal P-selektin ekspresyonunu diyabetik hastalarda kontrol grubundan farklı bulmamışlardır. Yemek sonrası, tip 2 DM'li hastalarda indüklenmiş P-selektin ekspresyonunun bazal değerlere göre artışının trombosit reaktivitesindeki artış ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Buna göre trombosit aktivasyonundaki artışın diyabet başlamadan çok önce olduğunu ve erken diyabetik vasküler lezyonlarla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Randomize kontrollü bir çalışmada ise 4 saatlik akut kısa dönemli hipergliseminin (plazma glukoz düzeyi 250 mg/dL) diyabetik hastalarda P-selektin düzeylerinde anlamlı değişikliğe yol açmadığı, ancak vWF düzeyinde artışa yol açtığı saptanmıştır (112).

BAG ve BGT birbirinden farklı mekanizmalara sahiptir. BAG, açlık hiperglisemisi ile karakterize olup hepatik insülin direnci ve erken faz insülin sekresyonunda azalma ile gerçekleşir. BGT ise periferik insülin direnci ve hem erken hem de geç fazda insülin sekresyonunda bozulma ile karakterizedir (113). Trombosit fonksiyonları, trombositler üzerindeki reseptörlerine bağlanan insülin tarafından kontrol edilir. İnsülin sağlıklı kişilerde trombosit üzerindeki reseptörlere bağlanarak trombosit aktivasyonunu önler. Tip 2 diyabetik hastalarda trombosit yüzeyindeki reseptörlerin azalışı insülinin bu etkiyi gösterememesine yol açar (114). Çalışmamızda glukoz yüklemesi trombosit aktivasyonuna yol açmış ve granül içeriklerinin boşalmasına bağlı olarak hacim azalmış olabilir. Ayrıca dolaşıma geçen P-selektinin reseptörlere bağlanması nedeni ile P-selektin plazma düzeylerinde azalma meydana gelmiş ve aktive trombosit-lökosit agregatları ve aktive trombosit-monosit agregatları oluşumuna bağlı olarak trombosit sayısında azalma meydana gelmiş olabilir. **Davison ve ark.** (115) diyabetli hastalarda glukoz metabolizması ile ilişkili olmayan aktive edilmiş monosit, nötrofil ve trombosit düzeylerinin arttığını göstermiştir. Trombosit lökosit agregat formasyonunun kardiyovasküler komplikasyonlar geliştikçe arttığı, bu nedenle tip 2 diyabette lökosit aktivasyonu ve trombosit lökosit agregatlarının izlenmesinin, trombotik komplikasyon gelişme riskini göstereceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca çalışmamızda glukoz yüklemesi sonrası trombosit sayısındaki azalma prediyabet grubunda kontrol grubuna göre daha fazla oranda olmuştur. Bu durumun bir sebebi de prediyabetik hastaların trombositlerinde glukozun hücre içine alımının ve kullanımının bozulması olabilir. Trombositlerde glukozun hücre içine girişi için GLUT-1 ve GLUT-3 gereklidir.

GLUT-1 ve GLUT-3 knock-out farelerle yapılan bir çalışmada, trombosit içine glukoz alımının inhibe edilmesinin trombositlerde Ca^{2+} metabolizma bozukluğuna ve trombosit ölümüne yol açacağı ve trombositlerin klirensi arttıracığı bildirilmiştir (116).

Çalışmamızda trombosit sayısı ve indeksleri ile plazma P-selektin ve β -TG düzeylerinin cinsiyetler arasındaki farklılığı da incelendi. Bazal PCT değerleri kontrol grubunda kadın ve erkek cinsiyet arasında farklılık göstermezken; prediyabet grubunda kadınlarda erkeklere göre anlamlı olarak yüksek bulundu. 2.saat P-selektin düzeyleri kontrol grubunda erkeklerde kadınlara göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, prediyabetik grupta cinsiyetler arasında böyle bir fark gözlenmedi. Bu bulgular, prediyabetik dönemde özellikle kadın hastalarda trombosit aktivasyonunun belirgin hale geldiğini düşündürebilir.

Gruplarımızda trombosit indeksleri ile diğer aktivasyon belirteçleri arasında korelasyon bulunmaması veya çok zayıf korelasyonlar indekslerin ve aktivasyon belirteçlerinin birbirinden bağımsız olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları; hasta sayısının az olması, hasta gruplarından özellikle prediyabet alt gruplarının homojen dağılmamış olması ve ölçümlerin bir kez yapılmış olması olabilir. Çalışma gruplarına diyabetik grubun da eklenmesi daha geniş bir perspektifte değerlendirme yapılmasını sağlayabilir. Ayrıca prediyabetik olarak değerlendirdiğimiz hastaların çoğunda, bir veya birkaç metabolik sendrom komponenti bulunmaktadır. Bu durum, bulgularımızın glisemik kontrol ile ilgili olduğu kadar, metabolik sendrom ile ilişkili de olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın sonuçları prediyabetik dönemde trombosit büyüklüğü henüz etkilenmeden granül aktivasyonunun başladığını ve trombosit indekslerinin prediyabetik dönemde değişmediğini düşündürmektedir. Akut hiperglisemi ise hem sağlıklı hem prediyabetik kişilerde trombosit morfolojisi ve fonksiyonlarını glisemi düzeyleriyle ilişkili olarak etkilemektedir; bu etkilenme prediyabetik bireylerde daha belirgin olmaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. Tabak AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimaki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet* (London, England). 2012;379(9833):2279-90.
2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes care*. 2018;41(Suppl 1):S13-s27.
3. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem klavuzu. 2018;16;20.
4. Gokulakrishnan K, Deepa R, Mohan V, Gross MD. Soluble P-selectin and CD40L levels in subjects with prediabetes, diabetes mellitus, and metabolic syndrome--the Chennai Urban Rural Epidemiology Study. *Metabolism: clinical and experimental*. 2006;55(2):237-42.
5. Rumbaut RE, Thiagarajan P. Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease. Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences
Copyright (c) 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences.; 2010.
6. Biradar S, Kashinakunti S, R M. Platelet volume indices in acute coronary syndrome - a case control study. *International Journal of Advances in Medicine*. 2016;349-52.
7. Hekimsoy Z, Payzin B, Örnek T, Kandoğan G. Mean platelet volume in Type 2 diabetic patients. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2004;18(3):173-6.
8. Wan JL, Ma ZW. The Value of Mean Platelet Volume for Prognosis of Patients with Acute Cerebral Infarction. *Clinical laboratory*. 2017;63(11):1801-7.
9. Catal F, Tayman C, Tonbul A, Akca H, Kara S, Tatli MM, et al. Mean platelet volume (MPV) may simply predict the severity of sepsis in preterm infants. *Clinical laboratory*. 2014;60(7):1193-200.
10. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2001;103(4):491-5.
11. Sudic D, Razmara M, Forslund M, Ji Q, Hjemdahl P, Li N. High glucose levels enhance platelet activation: involvement of multiple mechanisms. *Br J Haematol*. 2006;133(3):315-22.
12. Rao AK, Chouhan V, Chen X, Sun L, Boden G. Activation of the tissue factor pathway of blood coagulation during prolonged hyperglycemia in young healthy men. *Diabetes*. 1999;48(5):1156-61.
13. Martin JF, Trowbridge EA, Salmon G, Plumb J. The biological significance of platelet volume: its relationship to bleeding time, platelet thromboxane B2 production and megakaryocyte nuclear DNA concentration. *Thrombosis research*. 1983;32(5):443-60.
14. Alfonso F, Angiolillo DJ. Targeting p-selectin during coronary interventions: the elusive link between inflammation and platelets to prevent myocardial damage. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(20):2056-9.
15. Jilma B, Fasching P, Ruthner C, Rumplmayr A, Ruzicka S, Kapiotis S, et al. Elevated circulating P-selectin in insulin dependent diabetes mellitus. *Thrombosis and haemostasis*. 1996;76(3):328-32.
16. McDonagh PF, Hokama JY, Gale SC, Logan JJ, Davis-Gorman G, Goldman S, et al. Chronic expression of platelet adhesion proteins is associated with severe ischemic heart disease in type 2 diabetic patients: Chronic platelet activation in diabetic heart patients. *J Diabetes Complications*. 2003;17(5):269-78.

17. Fernandes LFB, Fregnani J, Strunz CMC, de Andrade Ramos Nogueira A, Longatto-Filho A. Role of P-selectin in thromboembolic events in patients with cancer. *Molecular and clinical oncology*. 2018;8(1):188-96.
18. Gurney D, Lip GY, Blann AD. A reliable plasma marker of platelet activation: does it exist? *American journal of hematology*. 2002;70(2):139-44.
19. Carr ME. Diabetes mellitus: a hypercoagulable state. *Journal of diabetes and its complications*. 2001;15(1):44-54.
20. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 8th edition, 2017. <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
21. Bullard KM, Saydah SH, Imperatore G, Cowie CC, Gregg EW, Geiss LS, et al. Secular changes in U.S. Prediabetes prevalence defined by hemoglobin A1c and fasting plasma glucose: National Health and Nutrition Examination Surveys, 1999-2010. *Diabetes Care*. 2013;36(8):2286-93.
22. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25(9):1551-6.
23. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology*. 2013;28(2):169-80.
24. Gerstein HC, Santaguida P, Raina P, Morrison KM, Balion C, Hunt D, et al. Annual incidence and relative risk of diabetes in people with various categories of dysglycemia: a systematic overview and meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007;78(3):305-12.
25. Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care*. 1999;22(2):233-40.
26. Iraj B, Salami R, Feizi A, Amini M. The profile of hypertension and dyslipidemia in prediabetic subjects; results of the Isfahan Diabetes Prevention program: A large population-based study. *Advanced biomedical research*. 2015;4:27.
27. Qian Y, Lin Y, Zhang T, Bai J, Chen F, Zhang Y, et al. The characteristics of impaired fasting glucose associated with obesity and dyslipidaemia in a Chinese population. *BMC public health*. 2010;10:139.
28. Bergman M. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2013;43(3):504-13.
29. <http://www.eclinpath.com/hemostasis/physiology/primary-hemostasis/> Son erişim tarihi: 21.03.2018.
30. Breimo ES, Osterud B. Studies of biological functions in blood cells from individuals with large platelets. *Platelets*. 2003;14(7-8):413-9.
31. Butkiewicz AM, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V, Bychowski J. Beta-thromboglobulin and platelets in unstable angina. *Kardiologia polska*. 2003;58(6):449-55.
32. Khaspekova SG, Zyuryaev IT, Yakushkin VV, Sirotkina OV, Zaytseva NO, Ruda MY, et al. Relationships of glycoproteins IIb-IIIa and Ib content with mean platelet volume and their genetic polymorphisms. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2014;25(2):128-34.
33. Park Y, Schoene N, Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets*. 2002;13(5-6):301-6.

34. Demirin H, Ozhan H, Ucgun T, Celer A, Bulur S, Cil H, et al. Normal range of mean platelet volume in healthy subjects: Insight from a large epidemiologic study. *Thrombosis research*. 2011;128(4):358-60.
35. Chandra H, Chandra S, Rawat A, Verma SK. Role of mean platelet volume as discriminating guide for bone marrow disease in patients with thrombocytopenia. *International journal of laboratory hematology*. 2010;32(5):498-505.
36. Bowles KM, Cooke LJ, Richards EM, Baglin TP. Platelet size has diagnostic predictive value in patients with thrombocytopenia. *Clinical and laboratory haematology*. 2005;27(6):370-3.
37. Noris P, Klersy C, Zecca M, Arcaini L, Pecci A, Melazzini F, et al. Platelet size distinguishes between inherited macrothrombocytopenias and immune thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2009;7(12):2131-6.
38. Eldor A, Avitzour M, Or R, Hanna R, Penchas S. Prediction of haemorrhagic diathesis in thrombocytopenia by mean platelet volume. *British medical journal (Clinical research ed)*. 1982;285(6339):397-400.
39. Leader A, Pereg D, Lishner M. Are platelet volume indices of clinical use? A multidisciplinary review. *Ann Med*. 2012;44(8):805-16.
40. Endler G, Klimesch A, Sunder-Plassmann H, Schillinger M, Exner M, Mannhalter C, et al. Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *Br J Haematol*. 2002;117(2):399-404.
41. Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2010;8(1):148-56.
42. Huczek Z, Kochman J, Filipiak KJ, Horszczaruk GJ, Grabowski M, Piatkowski R, et al. Mean platelet volume on admission predicts impaired reperfusion and long-term mortality in acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(2):284-90.
43. Wan ZF, Zhou D, Xue JH, Wu Y, Wang H, Zhao Y, et al. Combination of mean platelet volume and the GRACE risk score better predicts future cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Platelets*. 2014;25(6):447-51.
44. Niu X, Yang C, Zhang Y, Zhang H, Yao Y. Mean platelet volume on admission improves risk prediction in patients with acute coronary syndromes. *Angiology*. 2015;66(5):456-63.
45. Coban E, Bostan F, Ozdogan M. The mean platelet volume in subjects with impaired fasting glucose. *Platelets*. 2006;17(1):67-9.
46. Demirtunc R, Duman D, Basar M, Bilgi M, Teomete M, Garip T. The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2009;23(2):89-94.
47. Schmoeller D, Picarelli MM, Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE, Staub HL. Mean Platelet Volume and Immature Platelet Fraction in Autoimmune Disorders. *Frontiers in medicine*. 2017;4:146.
48. Gasparyan AY, Sandoo A, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitas GD. Mean platelet volume in patients with rheumatoid arthritis: the effect of anti-TNF-alpha therapy. *Rheumatology international*. 2010;30(8):1125-9.
49. Kisacik B, Tufan A, Kalyoncu U, Karadag O, Akdogan A, Ozturk MA, et al. Mean platelet volume (MPV) as an inflammatory marker in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 2008;75(3):291-4.

50. Yuksel O, Helvaci K, Basar O, Koklu S, Caner S, Helvaci N, et al. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets*. 2009;20(4):277-81.
51. Makay B, Turkyilmaz Z, Unsal E. Mean platelet volume in children with familial Mediterranean fever. *Clinical rheumatology*. 2009;28(8):975-8.
52. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mikhailidis DP, Kitis GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Current pharmaceutical design*. 2011;17(1):47-58.
53. Budak YU, Polat M, Huysal K. The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochemia medica*. 2016;26(2):178-93.
54. Demirtas L, Degirmenci H, Akbas EM, Ozcicek A, Timuroglu A, Gurel A, et al. Association of hematological indices with diabetes, impaired glucose regulation and microvascular complications of diabetes. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015;8(7):11420-7.
55. Rechcinski T, Jasinska A, Forys J, Krzeminska-Pakula M, Wierzbowska-Drabik K, Plewka M, et al. Prognostic value of platelet indices after acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Cardiology journal*. 2013;20(5):491-8.
56. Bekler A, Ozkan MT, Tenekecioglu E, Gazi E, Yener AU, Temiz A, et al. Increased Platelet Distribution Width Is Associated With Severity of Coronary Artery Disease in Patients With Acute Coronary Syndrome. *Angiology*. 2015;66(7):638-43.
57. De Luca G, Venegoni L, Iorio S, Secco GG, Cassetti E, Verdoia M, et al. Platelet distribution width and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study. *Platelets*. 2010;21(7):508-14.
58. Tang YT, He P, Li YZ, Chen HZ, Chang XL, Xie QD, et al. Diagnostic value of platelet indices and bone marrow megakaryocytic parameters in immune thrombocytopenic purpura. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2017;28(1):83-90.
59. Sahbaz A, Cicekler H, Aynioglu O, Isik H, Ozmen U. Comparison of the predictive value of plateletcrit with various other blood parameters in gestational diabetes development. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*. 2016;36(5):589-93.
60. Gul M, Uyarel H, Akgul O, Akkaya E, Surgit O, Cakmak HA, et al. Long-term prognostic significance of admission plateletcrit values in patients with non-ST elevation myocardial infarction. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2016;27(6):696-701.
61. Barker JN, Nickoloff BJ, editors. *Leukocyte-endothelium interactions in cutaneous inflammatory processes*. Springer seminars in immunopathology; 1992: Springer.
62. Dunlop LC, Skinner MP, Bendall LJ, Favalaro EJ, Castaldi PA, Gorman JJ, et al. Characterization of GMP-140 (P-selectin) as a circulating plasma protein. *The Journal of experimental medicine*. 1992;175(4):1147-50.
63. Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. *The Journal of clinical investigation*. 1993;91(2):379-87.
64. Henry M, Davidson L, Cohen Z, McDonagh PF, Nolan PE, Ritter LS. Whole blood aggregation, coagulation, and markers of platelet activation in diet-induced diabetic C57BL/6J mice. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009;84(1):11-8.
65. Lee WJ, Chait A, Kim F. P-selectin glycoprotein ligand-1: a cellular link between perivascular adipose inflammation and endothelial dysfunction. *Diabetes*. 2012;61(12):3070-1.

66. <https://alchetron.com/P-selectin>. Son erişim tarihi: 12.02.2018.
67. Noda K, Nakao S, Ishida S, Ishibashi T. Leukocyte adhesion molecules in diabetic retinopathy. *Journal of ophthalmology*. 2012;2012:279037.
68. Nageh MF, Sandberg ET, Marotti KR, Lin AH, Melchior EP, Bullard DC, et al. Deficiency of inflammatory cell adhesion molecules protects against atherosclerosis in mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1997;17(8):1517-20.
69. Johnson RC, Chapman SM, Dong ZM, Ordovas JM, Mayadas TN, Herz J, et al. Absence of P-selectin delays fatty streak formation in mice. *The Journal of clinical investigation*. 1997;99(5):1037-43.
70. Ramos CL, Huo Y, Jung U, Ghosh S, Manka DR, Sarembock IJ, et al. Direct demonstration of P-selectin- and VCAM-1-dependent mononuclear cell rolling in early atherosclerotic lesions of apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation research*. 1999;84(11):1237-44.
71. Palabrica T, Lobb R, Furie BC, Aronovitz M, Benjamin C, Hsu YM, et al. Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature*. 1992;359(6398):848-51.
72. Egan K, van Geffen JP, Ma H, Kevane B, Lennon A, Allen S, et al. Effect of platelet-derived beta-thromboglobulins on coagulation. *Thrombosis research*. 2017;154:7-15.
73. Yokote A, Hashimoto K, Bikei R, Nakamoto H. Elevated Release of Beta-thromboglobulin and Platelet Factor 4 in Cerebral Infarction Patients with Branch Atheromatous Disease: A Preliminary Report. *Neurologia medico-chirurgica*. 2015;55(10):809-12.
74. Hughes A, McVerry BA, Wilkinson L, Goldstone AH, Lewis D, Bloom A. Diabetes, a hypercoagulable state? Hemostatic variables in newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Acta haematologica*. 1983;69(4):254-9.
75. Plicner D, Zietkiewicz M, Mazur P, Stapor R, Sadowski J, Undas A. Beta-thromboglobulin as a marker of perioperative myocardial infarction in patients undergoing coronary artery bypass grafting following aspirin discontinuation. *Platelets*. 2014;25(8):603-7.
76. Eibl N, Krugluger W, Streit G, Schratlbauer K, Hopmeier P, Schernthaner G. Improved metabolic control decreases platelet activation markers in patients with type-2 diabetes. *European journal of clinical investigation*. 2004;34(3):205-9.
77. Blann AD, Lip GY. Endothelial integrity, soluble adhesion molecules and platelet markers in type 1 diabetes mellitus. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 1998;15(8):634-42.
78. Kodiatta TA, Manikyam UK, Rao SB, Jagadish TM, Reddy M, Lingaiah HK, et al. Mean platelet volume in Type 2 diabetes mellitus. *J Lab Physicians*. 2012;4(1):5-9.
79. Rollini F, Franchi F, Muniz-Lozano A, Angiolillo DJ. Platelet function profiles in patients with diabetes mellitus. *Journal of cardiovascular translational research*. 2013;6(3):329-45.
80. Suslova TE, Sitozhevskii AV, Ogurkova ON, Kravchenko ES, Kologrivova IV, Anfinogenova Y, et al. Platelet hemostasis in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: cGMP- and NO-dependent mechanisms in the insulin-mediated platelet aggregation. *Front Physiol*. 2014;5:501.
81. Kadic D, Hasic S, Spahic E. Mean platelet volume predicts the glycemic control deterioration in diabetes mellitus type 2 patients. *Med Glas (Zenica)*. 2016;13(1):1-7.
82. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Nolan R, Pittenger GL. Platelet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2001;24(8):1476-85.

83. Zaccardi F, Rocca B, Pitocco D, Tanese L, Rizzi A, Ghirlanda G. Platelet mean volume, distribution width, and count in type 2 diabetes, impaired fasting glucose, and metabolic syndrome: a meta-analysis. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2015;31(4):402-10.
84. Kurt H, Demirkiran D, Sari Y, Toprak O, Kara H, Caner B. The increment of mean platelet volume in early stages of prediabetes and type 2 diabetes mellitus. *Biomedical Research*. 2017;28(4):1633-7.
85. Lippi G, Salvagno GL, Targher G, Guidi GC. Relationship between mean platelet volume and biochemical components of the metabolic syndrome. *Clinical drug investigation*. 2007;27(10):731-2; author reply 2-3.
86. Zuberi BF, Akhtar N, Afsar S. Comparison of mean platelet volume in patients with diabetes mellitus, impaired fasting glucose and non-diabetic subjects. *Singapore medical journal*. 2008;49(2):114-6.
87. Shimodaira M, Niwa T, Nakajima K, Kobayashi M, Hanyu N, Nakayama T. Correlation between mean platelet volume and blood glucose levels after oral glucose loading in normoglycemic and prediabetic Japanese subjects. *Journal of diabetes investigation*. 2014;5(1):66-71.
88. Ahmadzadeh J, Mansorian B, Attari MM, Mohebbi I, Naz-Avar R, Moghadam K, et al. The association between hematological parameters and metabolic syndrome in Iranian men: A single center large-scale study. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2018;12(1):17-21.
89. Farah R, Khamisy-Farah R. Significance of MPV, RDW with the Presence and Severity of Metabolic Syndrome. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2015;123(9):567-70.
90. Beyan C, Kaptan K, Ifran A. Platelet count, mean platelet volume, platelet distribution width, and plateletcrit do not correlate with optical platelet aggregation responses in healthy volunteers. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2006;22(3):161-4.
91. Dogru T, Genc H, Tasci I, Sonmez A, Erdem G, Ural AU, et al. Platelet aggregation is not enhanced in patients with prediabetes. *Upsala journal of medical sciences*. 2007;112(3):338-46.
92. De Luca G, Verdoia M, Casseti E, Schaffer A, Di Giovine G, Bertoni A, et al. Mean platelet volume is not associated with platelet reactivity and the extent of coronary artery disease in diabetic patients. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2013;24(6):619-24.
93. Tavil Y, Sen N, Yazici HU, Hizal F, Abaci A, Cengel A. Mean platelet volume in patients with metabolic syndrome and its relationship with coronary artery disease. *Thrombosis research*. 2007;120(2):245-50.
94. Halbmayr WM, Haushofer A, Radek J, Schon R, Deutsch M, Fischer M. Platelet size, fibrinogen and lipoprotein(a) in coronary heart disease. *Coronary artery disease*. 1995;6(5):397-402.
95. van der Planken MG, Vertessen FJ, Vertommen J, Engelen W, Berneman ZN, De Leeuw I. Platelet prothrombinase activity, a final pathway platelet procoagulant activity, is overexpressed in type 1 diabetes: no relationship with mean platelet volume or background retinopathy. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2000;6(2):65-8.
96. Shah B, Sha D, Xie D, Mohler ER, 3rd, Berger JS. The relationship between diabetes, metabolic syndrome, and platelet activity as measured by mean platelet volume: the National Health And Nutrition Examination Survey, 1999-2004. *Diabetes care*. 2012;35(5):1074-8.

97. Koltai K, Feher G, Kesmarky G, Keszthelyi Z, Czopf L, Toth K. The effect of blood glucose levels on hemorheological parameters, platelet activation and aggregation in oral glucose tolerance tests. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2006;35(4):517-25.
98. Dogru T, Tasci I, Sonmez A, Genc H, Gok M, Yilmaz MI, et al. The plasma levels of soluble P-selectin in subjects with prediabetes. *International journal of clinical practice*. 2006;60(9):1048-52.
99. Genc H, Dogru T, Tapan S, Tasci I, Bozoglu E, Gok M, et al. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin and von Willebrand factor levels in subjects with prediabetes: the impact of metabolic syndrome. *Clinical biochemistry*. 2012;45(1-2):92-5.
100. Samocha-Bonet D, Justo D, Rogowski O, Saar N, Abu-Abeid S, Shenkerman G, et al. Platelet counts and platelet activation markers in obese subjects. *Mediators of inflammation*. 2008;2008:834153.
101. De Pergola G, Pannacciulli N, Coviello M, Scarangella A, Di Roma P, Caringella M, et al. sP-selectin plasma levels in obesity: association with insulin resistance and related metabolic and prothrombotic factors. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2008;18(3):227-32.
102. Gawlowski T, Stratmann B, Ruetter R, Buenting CE, Menart B, Weiss J, et al. Advanced glycation end products strongly activate platelets. *European journal of nutrition*. 2009;48(8):475-81.
103. Yngen M, Ostenson CG, Hjemdahl P, Wallen NH. Meal-induced platelet activation in Type 2 diabetes mellitus: effects of treatment with repaglinide and glibenclamide. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2006;23(2):134-40.
104. Miao X, Zhang W, Huang Z, Li N. Unaltered Angiogenesis-Regulating Activities of Platelets in Mild Type 2 Diabetes Mellitus despite a Marked Platelet Hyperreactivity. *PLoS one*. 2016;11(9):e0162405.
105. Spectre G, Ostenson CG, Li N, Hjemdahl P. Postprandial platelet activation is related to postprandial plasma insulin rather than glucose in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2012;61(9):2380-4.
106. Perkins JM, Joy NG, Tate DB, Davis SN. Acute effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on vascular inflammatory biomarkers and endothelial function in overweight and obese humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2015;309(2):E168-76.
107. Coban E, Kucuktag S, Basyigit S. Platelet activation in subjects with impaired glucose tolerance. *Platelets*. 2007;18(8):591-4.
108. Sharma M, Narang S, Nema S. Study of altered platelet morphology with changes in glycaemic status. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 2016;4(3):757-61.
109. Akpınar I, Sayin M, Gursoy Y, Karabag T, Kucuk E, Buyukuysal M, et al. Plateletcrit. *Herz*. 2014;39(1):142-8.
110. Kotzailias N, Graninger M, Knechtelsdorfer M, Jilma B. Acute effects of hyperglycaemia on plasma concentration of soluble P-selectin and von Willebrand Factor in healthy volunteers—a prospective randomised double blind controlled study. *Thrombosis research*. 2009;123(3):452-9.
111. Joy NG, Perkins JM, Mikeldadze M, Younk L, Tate DB, Davis SN. Comparative effects of acute hypoglycemia and hyperglycemia on pro-atherothrombotic biomarkers and endothelial function in non-diabetic humans. *Journal of diabetes and its complications*. 2016;30(7):1275-81.

112. Gresele P, Guglielmini G, De Angelis M, Ciferri S, Ciofetta M, Falcinelli E, et al. Acute, short-term hyperglycemia enhances shear stress-induced platelet activation in patients with type II diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(6):1013-20.
113. Rhee SY, Woo J-T. The prediabetic period: review of clinical aspects. *Diabetes & metabolism journal*. 2011;35(2):107-16.
114. Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, Gorter G, van Haefen TW, Heemskerk JW, et al. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(2):417-22.
115. Davison GM, Nkambule BB, Mkandla Z, Hon GM, Kengne AP, Erasmus RT, et al. Platelet, monocyte and neutrophil activation and glucose tolerance in South African Mixed Ancestry individuals. *Scientific reports*. 2017;7:40329.
116. Fidler TP, Campbell RA, Funari T, Dunne N, Balderas Angeles E, Middleton EA, et al. Deletion of GLUT1 and GLUT3 Reveals Multiple Roles for Glucose Metabolism in Platelet and Megakaryocyte Function. *Cell reports*. 2017;21(6):1705.

