



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



ÜRİDİN ve NÜKLEOTİDLERİNİN HEMOSTAZ PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Merve ARI

(YÜKSEKLİSANS TEZİ)

BURSA-2019





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**ÜRİDİN ve NÜKLEOTİDLERİNİN HEMOSTAZ
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Merve ARI

(YÜKSEKLİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Dr. Öğr. Üyesi Engin SAĞDİLEK

BURSA-2019

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Üridin ve Nükleotidlerinin Hemostaz Parametreleri Üzerine Etkileri**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Merve ARI

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Merve ARI** tarafından hazırlanan “**Üridin ve Nükleotidlerinin Hemostaz Parametreleri Üzerine Etkileri**” konulu Yüksek Lisans tezi 06/08/2019 günü, 11.00-12.00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Tez Danışmanı Dr. Öğr. Üyesi Engin SAĞDİLEK

Üye Prof. Dr. Mehmet CANSEV

Üye Dr. Öğr. Üyesi Evren KILINÇ

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

Adı Soyadı: Merve ARI

Anabilim Dalı: FİZYOLOJİ

Tez Konusu: Üridin ve Nükleotidlerinin Hemostaz Parametreleri Üzerine Etkileri

ÖZELLİKLER

	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI:

Dr. Öğr. Üyesi Engin SAĞDİLEK

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Nükleotidler	2
2.1.1. Pirimidin Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı	3
2.1.2. Pirimidin Bileşiklerinin Sentezi	4
2.1.3. Pirimidin Bileşiklerinin Parçalanması	6
2.1.4. Nükleotidlerin Hücrel Reseptörleri	7
2.1.5. Üridin ve Nükleotidleriyle İlgili Çalışmalar	11
2.2. Hemostaz	12
2.3. Trombositler	17
2.3.1. Trombosit Fonksiyonları	18
2.3.2. Trombositler, Nükleotidler ve Pürinerjik Reseptörler	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Gönüllüler	24
3.2. Kan Örneklerinin Alınması	24
3.3. Sitratlı Tüpler	25
3.4. Üridin, UTP, UDP ve UMP'nin Hazırlanması	25
3.5. Agregometre Deneyleri	26
3.6. Agregasyon Grafiklerinde Değerlendirilen Parametreler	27
3.7. Tromboelastogram Deneyleri	28
3.8. Tromboelastogram Grafiklerinde Değerlendirilen Parametreler	29
3.9. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
4.1. Tromboelastogram Sonuçları	31
4.2. Agregometre Sonuçları	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	41
6. KAYNAKLAR	45
7. SİMGELER ve KISALTMALAR	53
8. TEŞEKKÜR	54
9. ÖZGEÇMİŞ	55

TÜRKÇE ÖZET

Bir pirimidin nükleozidi olan üridin, vücutta serbest halde bulunabildiği gibi nükleotidlerin fosfatlı hallerinde de bulunabilir. Nükleotid şekerlerin ve nükleik asitlerin yapısına girer, glikojen biyosentezi, protein ve lipid glikolizasyonu gibi birçok fizyolojik fonksiyonda yer alır. Üridin nükleotidleri pürinerjik reseptörler üzerinden hücrel etkilerini gösterirler.

Hemostaz, dolaşım sistemi içinde bulunması gereken kanın, herhangi bir hasar durumunda bu sistem dışına çıkmasını engellemek, kanamayı durdurmak amacıyla işlev gören fizyolojik bir sistemdir. Kan kaybını önleyerek hayat kurtarıcı olabildiği gibi, patofizyolojik şartlarda normal akışın olması gereken damar yatağında anormal hemostazın oluşması ile hayatı tehdit eden sonuçlara da yol açabilmektedir.

Hemostazın hücrel bileşeni olan trombositler üzerinde pürinerjik reseptörlerin bazı alt tipleri tanımlanmıştır. Özellikle adenin ve nükleotidlerinin trombositler üzerindeki etkilerine dair ayrıntılı çalışmalar bulunsa da üridin ve nükleotidlerine dair bu çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada üridin ve nükleotidlerinin hemostaz parametreleri üzerine etkileri optik agregometre ile hücrel düzeyde, tromboelastogram ile sistem düzeyinde araştırılmıştır.

Agregometre deneylerinde üridinin 10, 100 ve 1000 μM son konsantrasyonları, UMP, UDP ve UTP'nin 1, 10, 50, 100, 500 ve 1000 μM son konsantrasyonları çalışıldı. Trombositten zengin plazma üzerine üridin veya nükleotidi eklenerek 3 dakika inkübe edildi. Ardından ADP, kollajen veya epinefrin ile agregasyon uyarılarak elde edilen agregasyon eğrileri kontrol grubuna göre karşılaştırıldı.

Tromboelastogram deneylerinde üridin ve nükleotidlerinin 1000 μM son konsantrasyonları çalışıldı. Tromboelastogram parametreleri kontrol grubuna göre değerlendirildi.

Agregometrede üridinin düşük konsantrasyonda kollajen ile uyarılan agregasyonu aktive ettiği, UDP ve özellikle UTP'nin konsantrasyona bağlı olarak ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu inhibe ettiği bulunmuştur. UDP ve UTP, epinefrin ile uyarılan agregasyonlarda düşük konsantrasyonlarda aktivasyon, yüksek konsantrasyonlarda inhibisyon yönünde sonuçlar vermiştir.

Tromboelastogramda üridin ve UMP'nin etkisi gözlenmezken, UDP'nin hiperkoagulan, UTP'nin hipokoagulan etkisi gözlenmiştir.

UMP'nin etkisiz olması, UDP ve özellikle UTP'nin konsantrasyon artışla birlikte etkilerinin gözlenmesi, trombositler üzerindeki inhibitör etkilerinin fosfat gruplarıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. UTP'nin inhibitör etkisi tromboelastogram ile de gözlenmiştir. Tromboelastogramdaki UDP'nin aktivasyon yönündeki etkileri, UTP'ye göre zıt ve ilk defa ortaya konan bulgulardır.

Anahtar Sözcükler: Üridin, hemostaz, trombosit, agregometre, tromboelastogram.

SUMMARY

Effects of Uridine and Nucleotides on Hemostasis Parameters

Uridine, a pyrimidine nucleoside, may be present in the body in free form or in phosphorylated forms of nucleotides. Uridine enters the structure of nucleotide sugars and the structure of nucleic acids. It is involved in many physiological functions such as glycogen biosynthesis, protein and lipid glycolization. The uridine nucleotides exert their cellular effects through purinergic receptors.

Hemostasis is a physiological system that functions to prevent the blood that should be present in the circulatory system from going out of the system and to stop the bleeding in case of any damage. It can be life-saving by preventing blood loss, and can lead to life-threatening consequences with abnormal hemostasis in the vascular bed.

Several subtypes of purinergic receptors have been identified on platelets. Although there are detailed studies on the effects of adenine and nucleotides on platelets, these studies on uridine and nucleotides are limited. In this study, the effects of uridine and nucleotides on hemostasis parameters were investigated at cellular level by optical aggregometer, and at system level by thromboelastogram.

In the aggregometer experiments, the final concentrations of uridine 10, 100 and 1000 μM and final concentrations of 1, 10, 50, 100, 500 and 1000 μM of UMP, UDP and UTP were studied. Uridine or nucleotide was added to the platelet-rich plasma and incubated for 3 minutes. Then, aggregation curves obtained by stimulating aggregation with ADP, collagen or epinephrine were compared according to the control group. In thromboelastogram experiments, final concentrations of 1000 μM of uridine and nucleotides were studied. Thromboelastogram parameters were evaluated according to the control group.

In the aggregometer, uridine was found to activate low concentration collagen-induced aggregation, UDP and especially UTP inhibited ADP and collagen-induced aggregation, depending on the concentration. UDP and UTP showed low concentrations of activation and high concentrations of inhibition in epinephrine-induced aggregations. While thromboelastogram showed no effect of uridine and UMP, hypercoagulant effect of UDP and hypocoagulant effect of UTP were observed.

The ineffectiveness of UMP, the observation of the effects of UDP and especially UTP with increasing concentration suggest that inhibitory effects on platelets are related to phosphate groups. The inhibitory effect of UTP was also observed by thromboelastogram. The effects of UDP on activation in thromboelastogram are opposite and first-time findings compared to UTP.

Keywords: Uridine, hemostasis, platelets, aggregometer, thromboelastogram.

GİRİŞ

Üridin, kanda ve dokularda serbest halde bulunur. Dokularda mono- (UMP), di- (UDP) ve tri-fosfatlı (UTP) formlarda bulunabilir veya nükleotid şekerlerin (UDP-glukoz ve UDP-galaktoz), nükleik asitlerin (RNA) yapısına katılabilir (Cansev, 2006; Lecca ve Ceruti, 2008). Üridin; glikojen biyosentezi, protein ve lipid glikolizasyonu ve pirimidinerjik transmisyon gibi birçok farklı fizyolojik fonksiyonda rol oynar (Cansev, 2007; Lecca ve Ceruti, 2008). RNA'dan serbestleşerek gıdalarla vücuda alınabildiği bilinen bir bilgidir fakat hücrelere nasıl alındığı henüz tam olarak bilinmemektedir. İn vitro çalışmalarda pirimidin nükleozidlerinin taşınmasının ve dokulara alınmasının hormonlarla (insülin, glukagon vb.) kontrol edilebileceği ve pirimidinlerin dokularda nükleotid ve nükleik asitlerin yapısına katılabileceği belirtilmiştir.

Hemostaz, kanamayı durdurmak üzere pıhtı oluşumu ve lizisin, patolojik pıhtılaşma (tromboz) oluşturmadan kontrollü bir şekilde aktivasyonudur. Bir diğer ifade ile kan damarlarındaki tüm sıvıların korunmasını sağlayan dolaşım sistemi özelliğidir. Trombositler, hemostazda rol alan en önemli kan hücresi grubudur. Normal durumda trombojenik değildirler. Herhangi bir uyarı ile aktifleşmeleri halinde hemostazda etkin rol alırlar. Aktiflenmiş trombositlerden çok sayıda aktif madde salıverilir. Koagülasyon faktörleri için reseptörler ve doku faktörleri sunarlar (Guyton ve Hall, 2007).

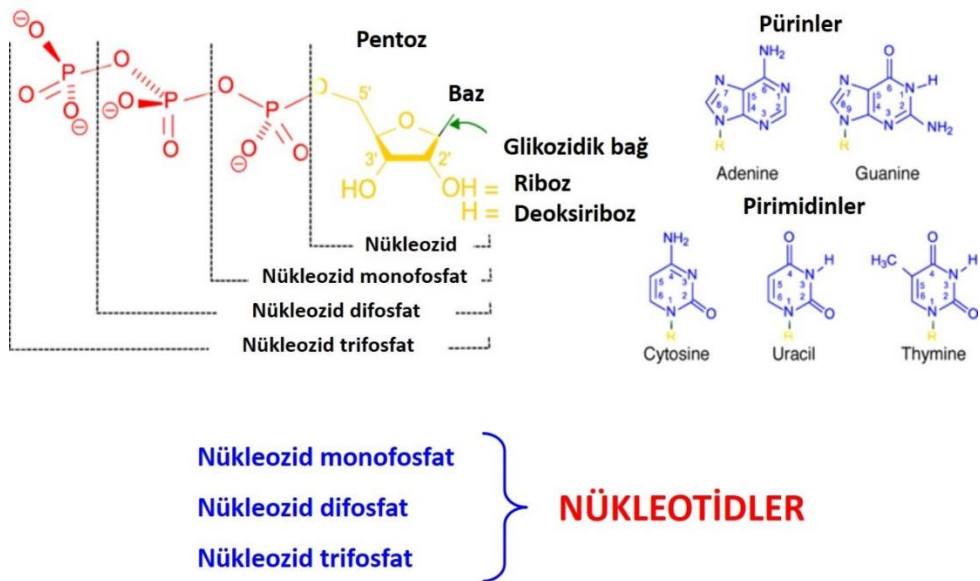
Çalışmamızın amacı üridin ve nükleotidlerinin tek başlarına hemostaz parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesidir. Özellikle hücre bazında trombositler üzerindeki etkileri ve hemostazın tamamen değerlendirildiği tromboelastogram üzerinden üridin ve nükleotidlerinin hemostaz üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nükleotidler

Nükleotidler yaşam için gerekli fonksiyonları olan, düşük moleküler ağırlıklı, azot içeren bileşiklerdir. DNA (Deoksiribo nükleik asit) ve RNA'nın (Ribo nükleik asit) yapısına katılarak genetik bilginin aktarılması ve saklanmasında önemli rolleri vardır. Bunun yanısıra hücrede kimyasal enerjinin taşınmasında görev alırlar. Bazı koenzimlerin yapısında bulunurlar. Metabolik yollarda metabolik ara ürün olarak bulunurlar. Hücrelerarası haberleşmeyi sağlayan sinyal molekülü olarak görev yaparlar.

Nükleotidler, fosfat grubunun nükleozidlere eklenmesiyle oluşur. Nükleozidler ise pürin ya da pirimidin bazlarından biriyle birlikte 5 karbonlu bir şeker içerir. Adenin ve Guanin pürin bazları olarak adlandırılırken; Sitozin, Timin ve Urasil pirimidin bazları olarak adlandırılır. Timin DNA'nın yapısına, Urasil RNA'nın yapısına katılır ve 5 karbonlu şekerin yapısı nükleik asidin yapısını belirler. Deoksiriboz şeker varlığında DNA'dan, riboz şeker varlığında RNA'dan bahsedilir (Nelson ve Cox, 2013) (Şekil 1).

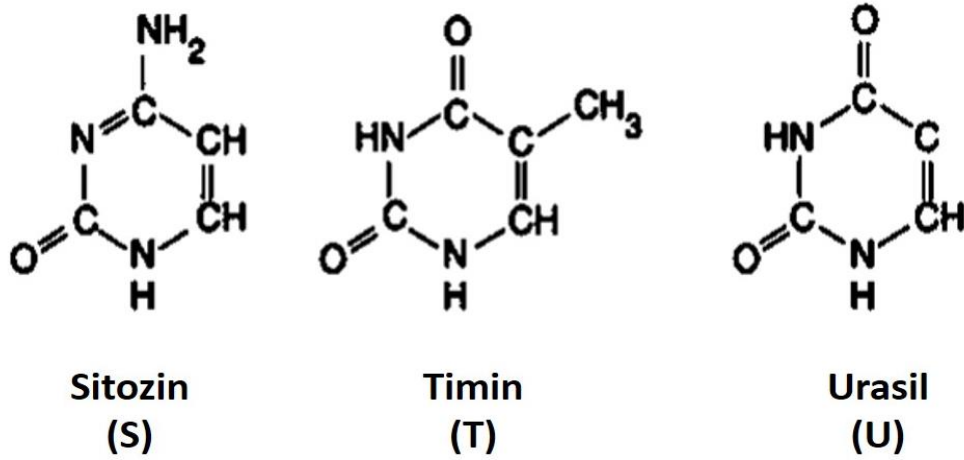


Şekil 1: Nükleotidlerin yapısı (Wikipedi'den uyarlanmıştır).

2.1.1. Pirimidin Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı

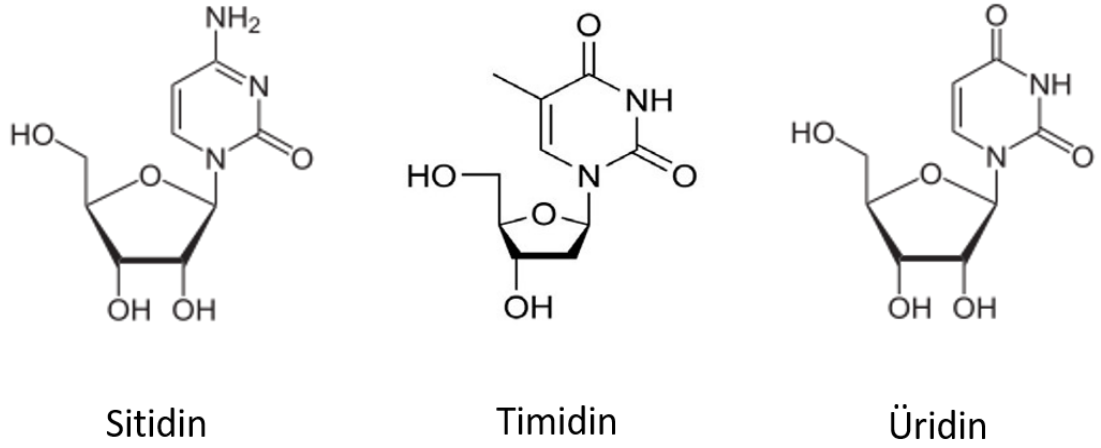
Pirimidin bileşikleri, kimyasal yönüyle benzen ve piridine benzeyen, heterosiklik organik aromatik bileşiklerdir. Altı üyeli kimyasal halkanın 1 ve 3 numaralı pozisyonlarında birer adet azot atomu taşırlar. Pirimidinler nükleotid, nükleozid ve baz formlarında bulunurlar.

Pirimidin bazları temel olarak nükleik asitler olan DNA ve RNA'nın yapısına katılırlar. Sitozin DNA ve RNA'nın yapısında bulunur, timin sadece DNA'nın, urasil ise sadece RNA'nın yapısında bulunur. Pirimidin bazlarının kimyasal yapıları şekil 2'de verilmiştir.



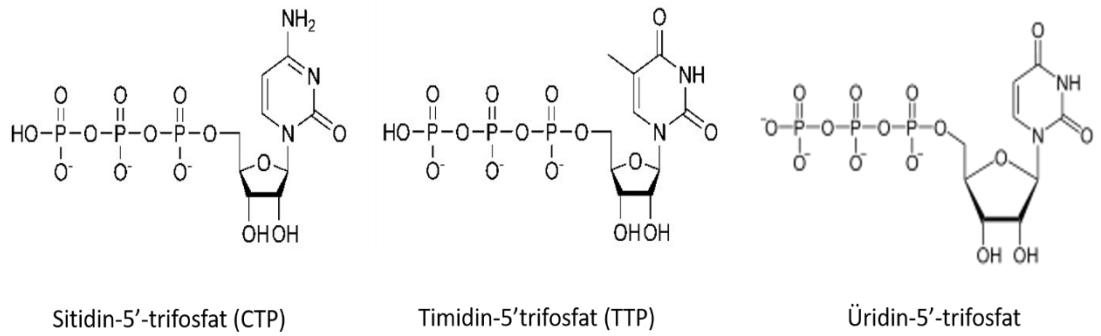
Şekil 2: Pirimidin bazlarının kimyasal yapıları (Vikipedi'den uyarlanmıştır).

Pirimidin nükleozidleri, pirimidin bazlarına riboz veya 2-deoksiriboz formunda bir şeker molekülünün eklenmesiyle oluşur. Bu reaksiyonda pirimidin bazının 1 numaralı azotu ile şeker molekülünün 1 numaralı karbonu birleşir. Pirimidin nükleozidi baz isminin sonuna '-idin' takısının getirilmesi ile ifade edilir (üridin). Bazlara riboz eklendiğinde oluşan nükleozid herhangi bir takı almazken, 2-deoksiriboz eklendiğinde ismin önüne 'd-' takısı getirilir (dTTP; deoksitimidin-5'-trifosfat). Pirimidin nükleozidlerinin kimyasal yapıları şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3: Pirimidin nükleozidlerinin kimyasal yapıları (Wikipediden uyarlanmıştır).

Pirimidin nükleotidlerinin oluşumu, nükleozidlerin 5'-hidroksil grubuna fosfat gruplarının eklenmesiyle gerçekleşir. Nükleotidin ismi eklenen fosfat gruplarının sayısı ile belirlenir. Bir, iki ya da üç fosfat grubu eklendiğinde nükleozid ismine sırasıyla 'mono-', 'di-' ya da 'tri-' ekleri getirilerek oluşturulur. Pirimidin nükleozidlerine üç fosfat grubu eklendiğinde oluşan nükleotidler Şekil 4'te gösterilmiştir (Joule ve Smith, 1972).



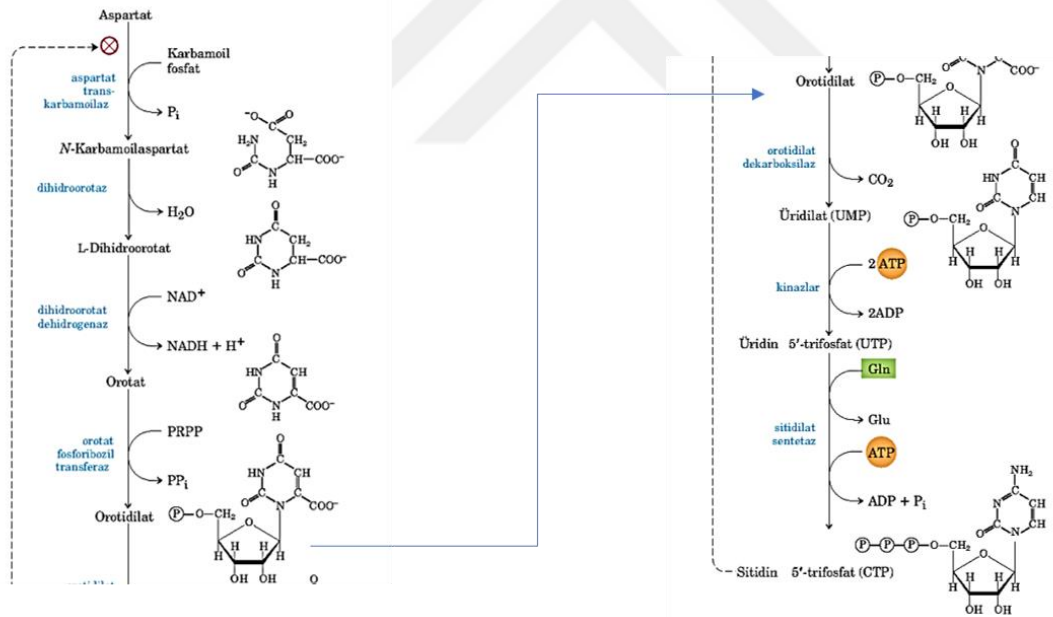
Şekil 4: Pirimidin nükleotidlerinin üç fosfat grubu içeren kimyasal yapıları (Wikipedi'den uyarlanmıştır).

2.1.2. Pirimidin Bileşiklerinin Sentezi

Pirimidin bileşikleri vücutta de novo yolak ve kurtarma yolağı adlı mekanizmalar aracılığıyla sentezlenir (Barnes, 1995). Pirimidin nükleotid sentezinin de novo yolağı, böbrek ve birçok dokuda kurtarma yolağına göre daha önemli bir sentez şekli olup büyüme ve gelişme boyunca oldukça aktiftir (Traut ve Jones, 1996). Kurtarma yolağı ise pirimidinlerin beyinde başlıca sentez şeklidir.

Pirimidin sentezinin de novo yolağında ilk önce karbamoil fosfattan üridin-5'-monofosfat (UMP) sentezlenir. Daha sonra UMP'ye fosfat grupları aktarılarak sırasıyla üridin difosfat (UDP) ve üridin-5'-trifosfat (UTP) elde edilir.

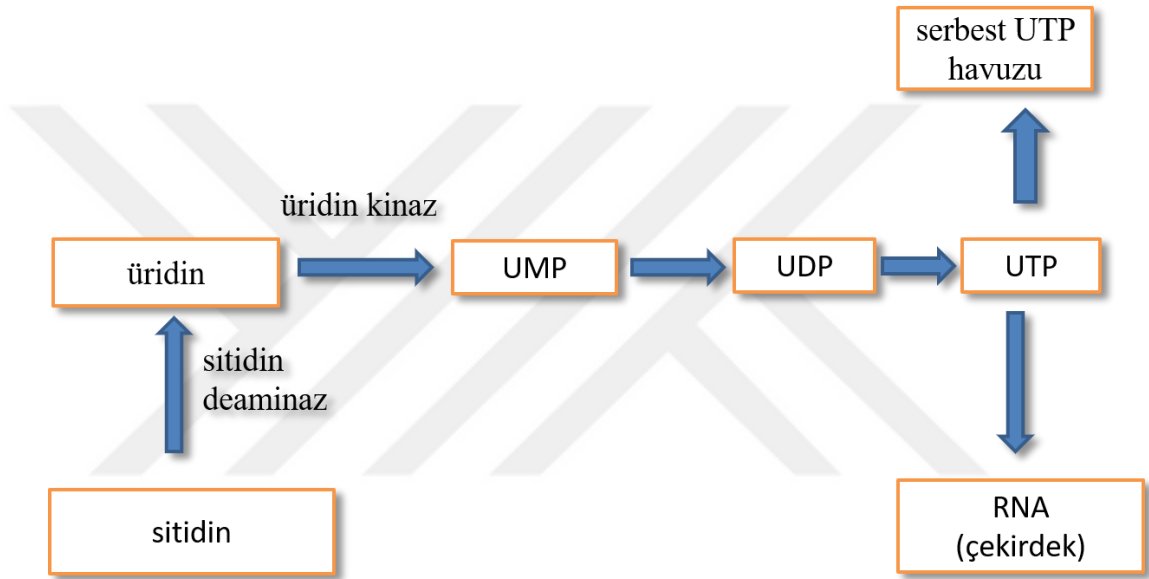
Pirimidin sentez yolağı için aspartat önemli bir aminoasittir. Glutamin ise beş farklı basamaktaki en önemli aminoasit kaynağıdır. Yaygın pirimidin ribonükleotidleri sitozin ve urasil içeren sitidin-5'-monofosfat (CMP; sitidilat) ve üridin-5'-monofosfat (UMP; üridilat)'tır. Pirimidin halkası orotat olarak sentezlenir, orotat riboz fosfata bağlanır ve nükleik asit sentezi için gereken nükleotidlere çevrilir. Bu işlem için gereken karbamoil fosfat aynı zamanda üre yıkımının da ara ürünüdür. Orotat oluştuktan sonra yine fosforibozil pirofosfat (PRPP) tarafından sağlanan riboz 5-fosfat yan zincirinin orotata bağlanmasıyla orotidilat oluşur. Orotidilat dekarboksillenmeyle üridilata, üridilat ise fosforillenmeyle UTP'ye dönüşür. Sitidilat sentetaz katalizörlüğünde UTP'den CTP (sitidin-5'-trifosfat) elde edilir (Gibellini ve Smith, 2010; Nelson ve Cox, 2013) (Şekil 5).



Şekil 5: Pirimidin bileşiklerinin de novo sentez yolağı (Nelson ve Cox, 2013 kaynağından uyarlanmıştır).

DNA'nın yapısına katıldıklarından timin nükleotidleri deoksi formunda sentezlenir. Bu da ilk olarak UDP ya da CDP'den (sitidin difosfat), dUMP'nin (deoksi üridin-5'-monofosfat) sentezlenmesini gerektirir. Sonra dUMP timidilat sentaz enziminin katkısıyla dTMP'ye (deoksi timidin-5'-monofosfat) dönüştürülür

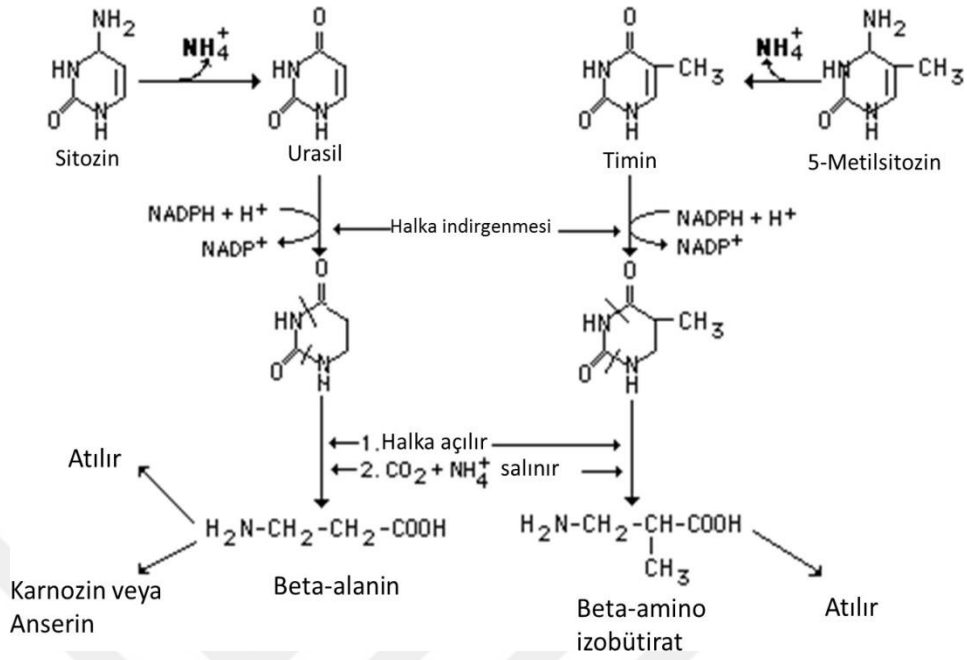
Pirimidin sentezinin kurtarma yolu ise pirimidin nükleozidlerinin kandan dokulara alınması ve nükleotidlerin bu nükleozidlerden sentezlenmesidir. Sentezlenen nükleotidler, nükleotid havuzuna aktarılır (Wurtman ve ark., 2000) (Şekil 6).



Şekil 6: Pirimidin nükleotidlerin kurtarma yolu (Wurtman ve ark., 2000 kaynağından uyarlanmıştır).

2.1.3. Pirimidin Bileşiklerinin Parçalanması

Pirimidin nükleotidlerinin bazlara parçalanması deaminasyon, defosforilasyon ve glikozidik bağ kırılması ile gerçekleşir. Pirimidin nükleotidleri 5'-nükleotidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonla, fosfat gruplarından ayrılarak nükleozidlerine parçalanır. Nükleozidlerin riboz-1-fosfat ve serbest bazlara parçalanması da pirimidin nükleozid fosforilaz enzimi ile gerçekleştirilir. Pirimidinlerin parçalanmasının son ürünü olarak UMP ve CMP'nin parçalanmasından β -alanin, dTMP'nin parçalanmasından ise β -aminoizobutirat oluşur. β -alanin ve β -aminoizobütirat vücuttan atılır. Bunun yanısıra β -alanin beyin ve kaslarda bulunan dipeptid karnozin ve anserinin yapılarına da katılabilir (Şekil 7) (Nelson ve Cox, 2013).



Şekil 7: Pirimidin bileşiklerinin parçalanması (<https://library.med.utah.edu/NetBiochem/pupyr/pupy11.gif> kaynağından uyarlanmıştır).

2.1.4. Nükleotidlerin Hücresel Reseptörleri

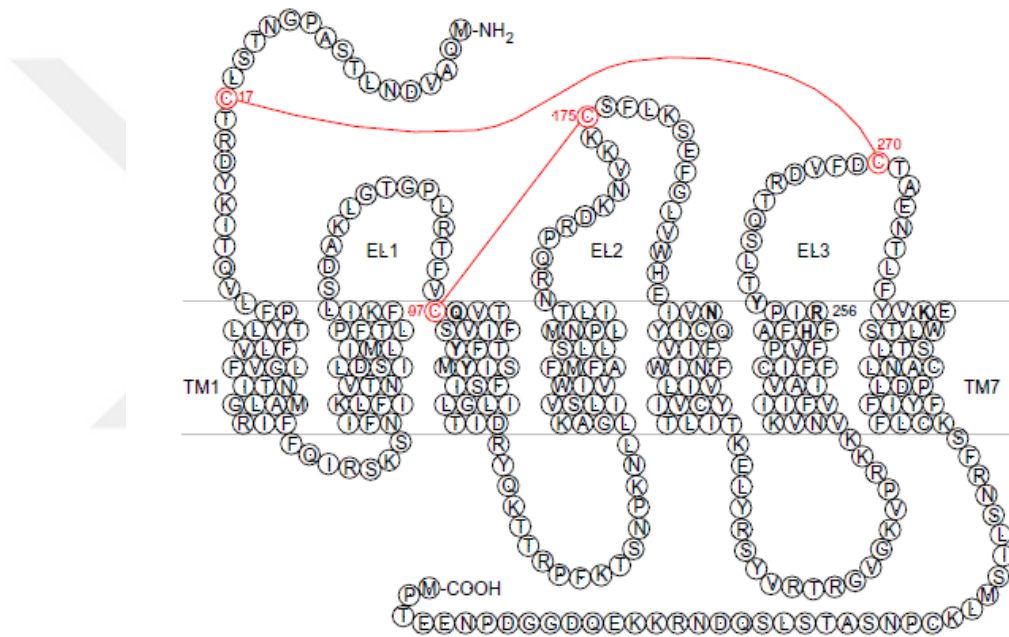
Pürin ve pirimidin nükleotidleri vücutta çok geniş bir dağılım gösterirler. Kolinerjik olmayan sinir uçlarından veya strese cevaben birçok hücreden salınırlar. Serbest bırakılan nükleotidler daha sonra hücre membranı üzerindeki reseptörleri ile hücresel etkilerini oluştururlar. Pürin ve pirimidin nükleotidlerinin reseptörlerine “Pürinerjik reseptörler” denir. Pürinerjik reseptör terimi yalnızca pürin nükleotidlerinin reseptörü gibi düşünülse de, pirimidin nükleotidlerinin reseptörlerini de içerir. ‘Pürinerjik’ terimi ilk defa 1972’de Burnstock tarafından tanımlanmıştır (Nishimura ve ark., 2017).

Şimdiye kadar tanımlanmış olan pek çok pürinerjik reseptör, moleküler yapıları, farmakolojik özellikleri ve sinyal iletim mekanizmalarına bağlı olarak birkaç alt tipe bölünmüştür. İki ana pürinerjik reseptör ailesi vardır: P1 ve P2 reseptörleri. P1 reseptörleri adenosin için, P2 reseptörleri ATP ve ADP için tanımlanmıştır.

P1 reseptörlerinin A1, A2a, A2b ve A3 olmak üzere dört alt tipi vardır. Hepsi G protein bağlantılı reseptör ailesindedir ve hücre içi ikincil habercileri cAMP (siklik adenosin monofosfat)’dir. Adenosin ile uyarılırlar.

P2 reseptörlerinin başlıca iki tipi vardır. P2X reseptörleri ligand kapılı iyon kanalları olup (iyotropik reseptörler), genellikle non-selektif katyon kanallarıdır. Sodyum, potasyum, kalsiyum iyon geçirgenliğini arttıran kanallardır. Farklı 7 alt tipi (P2X1-7) tanımlanmıştır. ATP ile uyarılırlar (Ulugöl ve Dökmeci, 1990).

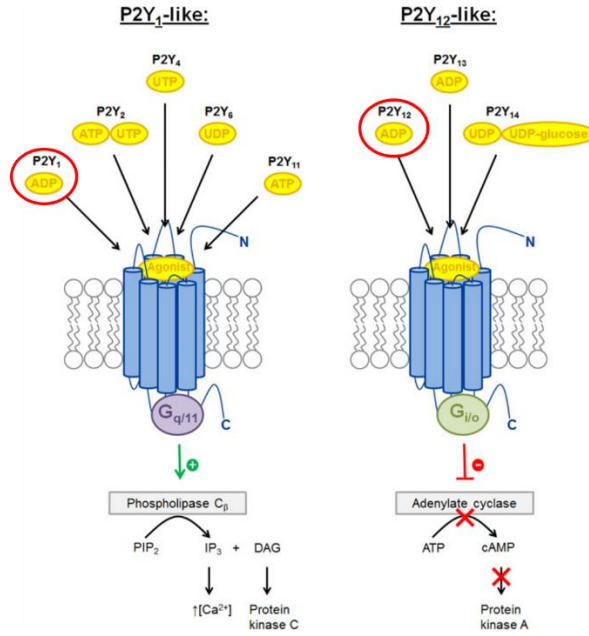
P2Y reseptörleri G proteinine bağlantılıdır ve 7 hidrofobik transmembran bölge, 3 ekstraselüler halka ve 3 intraselüler halkadan oluşmaktadır. P2Y reseptörlerine bir örnek olarak P2Y12 reseptörünün yapısı şekil 8’de verilmiştir (Kügelgen, 2006).



Şekil 8: P2Y12 reseptörünün yapısı. (Kügelgen, 2006)

Bugüne kadar insanlarda sekiz farklı P2Y (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13 ve P2Y14) reseptörü tanımlanmıştır. P2Y reseptörleri hücre fonksiyonunu modüle eden yolları kullanmaları bakımından iki gruba ayrılmışlardır. P2Y1-benzeri reseptörler uyarıldıklarında Gq proteinleri üzerinden PLC’yi (fosfolipaz C) aktive eder. Hücre içi DAG (diçilgliserol), IP3 (inositol trisfosfat) ve ardından kalsiyum artışı meydana gelir. P2Y12-benzeri reseptörler uyarıldıklarında Gi proteinleri üzerinden AC (adenilat siklaz) inhibe olur. cAMP ve protein kinaz C inhibisyonuyla hücre modülasyonunda görev alırlar (Albert ve ark., 1997; Arslan ve ark., 2000; Jacobson ve ark., 2006). Ek olarak, birkaç P2Y

reseptörleri homo veya heterodimerler veya oligomerler oluşturarak, çeşitli hücrel fonksiyonları indüklemek için sinyal yollarını büyütür veya modifiye eder. Ayrıca, bazı nükleotidler bir reseptörü aktive ederken diğerini antagonize edebilir (Erb ve Weisman, 2012).



Şekil 10: P2Y1 ve P2Y12 benzeri reseptör ve yolları (Rafehi ve Müller, 2018 kaynağından uyarlanmıştır.)

P2Y reseptörlerinin 8 adet alt reseptöründen olan P2Y1, P2Y11, P2Y12 ve P2Y13 reseptörleri adenin nükleotidlerine duyarlıyken, üridin nükleotidlerini tanımazlar. P2Y2 ve P2Y4 reseptörleri ise hem UTP hem de ATP tarafından aktive edilebilir. Üridin nükleotidleri UTP, UDP ve UDP-glukoz hem periferik hem merkezi sinir sisteminde bulunan P2Y2, P2Y4, P2Y6 ve P2Y14 reseptör alt tiplerini aktive edebilir (Abbracchio ve ark., 2006). Üridin nükleotidleri için yeni bir reseptör olan GPR17 beyin, kalp ve böbrekte yaygın olarak bulunur ve UDP, UDP-glukoz ve UDP-galaktoz tarafından aktive edilir (Ciana, 2006).

P2Y Reseptörleri	Ligand	G Protein
P2Y ₁ R	ADP	G _q
P2Y ₂ R	UTP = ATP	G _q , G _{12/13}
P2Y ₄ R	UTP = ATP	G _q
P2Y ₆ R	UDP	G _q , G _{12/13}
P2Y ₁₁ R	ATP	G _q , G _s
P2Y ₁₂ R	ADP	G _i
P2Y ₁₃ R	ADP	G _i
P2Y ₁₄ R	UDP-glucose	G _i
GPR17	UDP, UDP-glukoz UDP-galaktoz	

Şekil 9: Reseptörler ve duyarlı oldukları nükleotidler (Nishimura ve ark., 2017 kaynağından uyarlanmıştır).

Pürinerjik sinyalizasyon, omurgalılarda, nörotransmisyon, kardiyovasküler fonksiyon, postnatal gelişim ve yaşlanma dahil çok çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli rol oynar (Burnstock 2006; Burnstock ve Dale 2015; Erlinge ve Burnstock 2008). P2Y reseptör uyarımının hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması ve büyümesinde görev aldığı, bunlara ek olarak hücreler arası sinyal iletimi ve uzun süreli potansiyalizasyonda da rol aldığı bilinmektedir (Cansev, 2007). P2Y reseptörleri birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Akciğer hastalıkları (özellikle kistik fibrozis), vasküler hastalıklar, inflamatuvar ve immün hastalıklar ve kanserin progresyonunda birçok rolleri bulunmaktadır.

2.1.5. Üridin ve Nükleotidleriyle İlgili Çalışmalar

Üridin, insanlarda dolaşımdaki major pirimidindir (Gibellini ve Smith, 2010). Plazma konsantrasyonları yaklaşık 4-5 µM'dir (Geiger ve Yamasaki, 1956). Sıçanlarda sitidinin kandaki seviyeleri üridinden yaklaşık 3 kat daha yüksek olmasına rağmen, üridin kan beyin bariyerinden daha etkin bir şekilde geçer (Traut, 1994).

Üridin, nükleik asit oluşumunda yer alan 5 nükleozidden biridir. RNA'nın önemli bir bileşenidir. Merkezi sinir sistemi fonksiyonlarında da önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (Dobolyi ve ark., 2011). Üridin, UTP veya UMP formunda bulunur. Yetişkinlerde UMP formunda karaciğerde sentezlenip kana salınır. Birçok bitki çeşidinde ve anne sütünde bulunur (Wurtman ve ark., 2010).

Dobolyi ve ark. (2011) üridinin, sinaps oluşumunu artırarak Alzheimer'in semptomlarını yavaşlatmaya yardımcı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Wurtman (2014), üridinin beyinde sinaptik iletimi olumlu yönde etkilediğini, DHA ve kolin ile birlikte kullanıldığında sinerjik etki oluşturarak beyinde oluşan sinaps sayısını arttırdığını göstermiştir. Öcalan ve ark., (2019) yaptığı çalışmada üridinin REM uyku yoksunluğunda bozulan bellek üzerine olumlu yönde etki ettiğini göstermişlerdir.

Bipolar bozukluğu olan depresif ergenlerin tedavisinde üridin tedavisi depresif belirtilerin önlenmesinde yardımcı olmuştur. Üridin ve Omega-3 yağ asitleri, sıçanlarda antidepresan benzeri etkilere sahiptir. Birlikte uygulandıklarında tedavide etkin olması için her bir ajandan daha az uygulanmasının yeterli olduğu gösterilmiştir (Carlezon ve ark., 2005; Kondo ve ark., 2011).

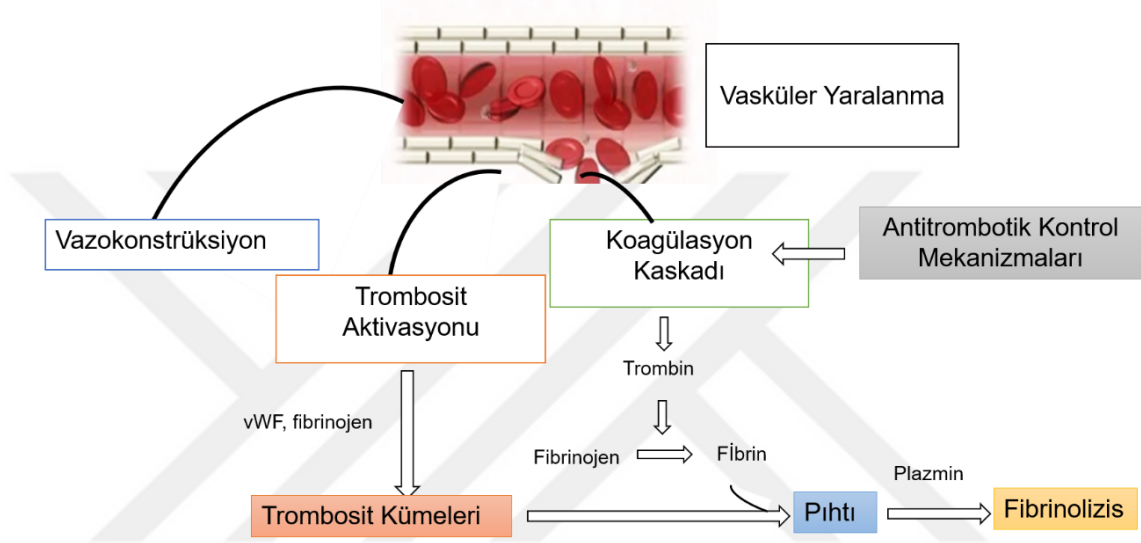
Biglarnia ve ark., (2009) karaciğer büyümesi ve hepatosit proliferasyonunun üridin takviyesi ile tamamen iyileştiğini göstermiştir. Üridin takviyesinin ayrıca, pro-inflamatuvar sitokinleri azalttığı ve sıçanlarda iltihabi durumları ve akciğer fibroz belirtilerini hafiflettiği ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar üridinin güçlü bir anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Cicko ve ark., 2015).

Üridin ve üridin-5'-monofosfat, ventriküler aritmi şiddetini önemli ölçüde azaltmıştır. Her iki ilaç da fibrilasyon insidansını ve süresini azaltırken üridin-5'-monofosfat, belirgin olarak antifibrilatör etkinliği göstermiştir (Bulon ve ark., 2014). Miyokard enfarktüsü sırasında insanlarda UTP seviyeleri artar. UTP, büyük olasılıkla insanda P2Y2 reseptörlerinin aktivasyonu ile kardiyak inotropik bir faktördür. Ayrıca, IP3'e bağlı bir yolla P2Y6 reseptörlerine bağlanan UDP'nin inotropik etkileri de gösterilmiştir. Bu nedenle, hücre dışı pirimidinler (UTP ve UDP), kalp hastalığı tedavisinde rol oynayan önemli inotropik faktörler olabilir (Wihlborg ve ark., 2006)

Kistik fibroz, akciğerlere ve sindirim sistemine zarar veren sodyum absorpsiyonuna, solunum sorunlarına yol açabilen genetik bir hastalıktır. Üridin 5'-trifosfatın, kistik fibrozlu hastalarda hava yolu ve mukusu neredeyse normal seviyelere kadar temizlediği gösterilmiştir (Bennett ve ark., 1996). Üridin, akciğer salgısını artırır, bu da mukusun atılmasını kolaylaştırır. Üridin trifosfat, farelerde sodyum kanal blokerlerinin eklenmesiyle birlikte kistik fibroz belirtilerini rahatlatılabilir (Ghosal ve ark., 2000).

2.2. Hemostaz

Fizyolojik bir savunma mekanizması olan hemostaz; kan kaybının önlenmesi anlamına gelir. Kanamanın durması, kanın damar içinde tutulması bu mekanizmayla sağlanır. Ayrıca aşırı pıhtı oluşumunu engelleme ve kanın akışkanlığını yeniden kazandırma gibi fonksiyonları da vardır (Roberts ve ark., 2004; Schenone ve ark., 2004). Denge bozulduğunda istenmeyen pıhtılaşma ya da aşırı kanama durumları ortaya çıkabilir (Kayaalp, 1998).



Şekil 11: Hemostazın major komponentleri

Damar endotelinin zedelenmesinden sonra saniyeler içinde hemostaz süreci başlar. Normal hemostaz süreci; vasküler endotelial yanıt, trombosit tıkaçının oluşumu ve koagülasyon olmak üzere 3 aşamadan oluşur (Lanzkowsky, 2000).

Primer hemostaz; vasküler yanıt ve trombosit tıkaçının oluşumu olarak adlandırılırken, sekonder hemostaz koagülasyon sistemi olarak tanımlanır. Vasküler hasarda subendotelial kollajen fibrilleri açığa çıkar ve trombositlerin endotele yapışması (adezyon) için bir alan oluşturur. vWF (von willebrand faktör) ise; subendotelial kollajen fibrilleri ile aktive olmuş trombosit membranında yer alan GPIb (glikoprotein Ib reseptörleri) arasında bir köprü oluşturur ve trombositlerin hasarlı endotele yapışmasını sağlar.

Trombositlerin agregasyonu, vasküler zedelenmenin meydana geldiği yerde bulunan trombin, kollajen, epinefrin ve eritrositlerle diğer trombositlerden salınan ADP aracılığıyla gerçekleşir. Primer trombosit agregasyonu geri dönüşümlüdür. Trombositlerden salınan ADP, serotonin ve TXA2 aracılığıyla sekonder agregasyon

oluşur ve geri dönüşümsüz (irreversibl) hale getirilir. Trombositlerden salınan ADP trombositlerde şekil değişikliği meydana getirerek GPIIb/IIIa reseptörleri ile fibrinojenin bağlanmasına yol açar. Fibrinojenin trombositlerin arasına girmesiyle trombositlerin agregasyonu meydana gelir. (Casella ve ark., 1999; Marilyn ve Johnson, 1996; Müftüoğlu, 1994).

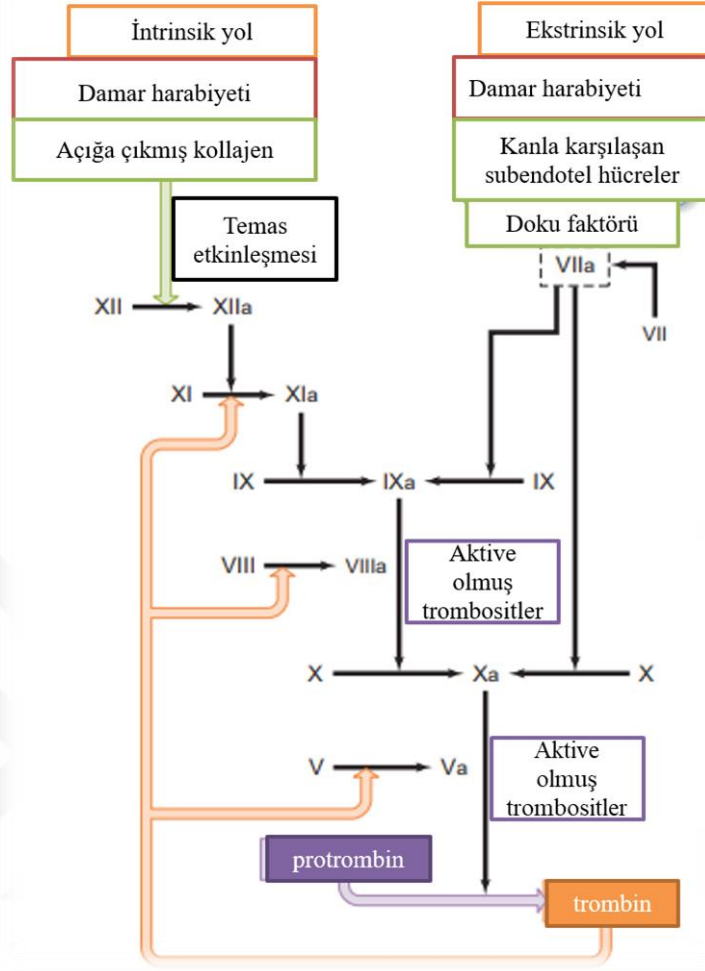
Pıhtılaşma mekanizmasında etkili olan faktörlere pıhtılaşma faktörleri adı verilmektedir, bunlarla ilgili özellikleri Tablo 1’de görüldüğü gibi özetlemek mümkündür. Bu faktörler çoğunlukla proteolitik enzimlerin inaktif formları şeklinde bulunur. Aktive edildiklerinde enzimatik etkileri ile pıhtılaşma mekanizmasında bir dizi seri reaksiyona yol açarlar.



Tablo 1. Koagülasyon faktörleri ve işlevleri (Gezer, 2012)

Adı	İşlevi
I (fibrinojen)	Fibrin adı verilen pıhtıyı oluşturur
II (protrombin)	Edimsel formu (IIa) ve I, V, VII, VIII, XI, XIII Protein C ve trombositleri aktive eder
Doku faktörü (DF)	VIIa'nın kofaktörüdür
Kalsiyum	Koagülasyon faktörlerinin fosfolipidlere bağlanmasını sağlar
V	Faktör X'un kofaktörüdür ve protrombinaz kompleksini oluşturur
VII	Faktör IX ve X'u aktive eder
VIII (antihemofilik faktör-A)	Faktör IX'un kofaktörüdür ve tenaz kompleksini oluşturur
IX (antihemofilik faktör-B)	Faktör X'u aktive eder, faktör VIII'le tenaz kompleksini oluşturur
X	Faktör II'yi aktive eder ve faktör V ile protrombinaz kompleksini oluşturur
XI	Faktör IX'u aktive eder
XII (Hageman faktörü)	Faktör XI, VII ve prekallikrein'i aktive eder
XIII	Fibrini stabilize eden faktör
von Willebrand Faktör	Faktör VIII'e ve subendoteldeki kollajene bağlanır, trombositlerin adezyonunu sağlar
Prekallikrein (Fletcher faktörü)	Faktör XII ve prekallikrein'i aktive eder, yüksek moleküler ağırlıklı kininojeni böler
Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (Fitzgerald faktörü)	Faktör XII, XI ve prekallikreinin karşılıklı aktivasyonunu destekler
Fibronektin	Hücre adezyonuna aracılık eder
Antitrombin III	IIa, Xa ve bazı diğer proteazları inhibe eder
Heparin kofaktör II	IIa'yı inhibe eder heparin ve dermatan sülfatın kofaktörüdür
Protein C	Va ve VIIIa'yı inaktive eder
Protein S	Aktive protein C'nin kofaktörüdür
Plazminojen	tPA ve ürokinaz aracılığı ile plazmine dönüşerek fibrini ve diğer bazı proteinleri parçalar
Alfa-2 antiplazmin	Plazmini nötralize eder
Doku plazminojen aktivatörü (tPA)	Plazminojeni aktive eder
Ürokinaz	Plazminojeni aktive eder
Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAİ-1)	Endotelial PAİ olup tPA ve ürokinazı etkisiz hale getirir
Plazminojen aktivatör inhibitörü-2 (PAİ-2)	Plasental PAİ olup tPA ve ürokinazı etkisiz hale getirir

Koagülasyon sistemi, birbirini aktive eden pıhtılaşma faktörlerinin ardışık reaksiyonlar zinciridir ve ekstrinsik ve intrinsik olmak üzere 2 yoldan başlatılır (şekil 12). İntrinsik yol Hageman Faktör (faktör XII) aktivasyonu ile, ekstrinsik yol ise doku faktörü (DF) ile başlatılır. Her iki yol da faktör X'u (FX) aktive ederek ortak yoldan kalıcı pıhtı oluşumunu sağlar. Koagülasyon sisteminin pek çok noktada birbirine geçmiş olan yapısı daha iyi kontrol edilebilmesini sağlar (Robers ve ark., 2004; Szanto ve ark., 2012; Wu, 1992).



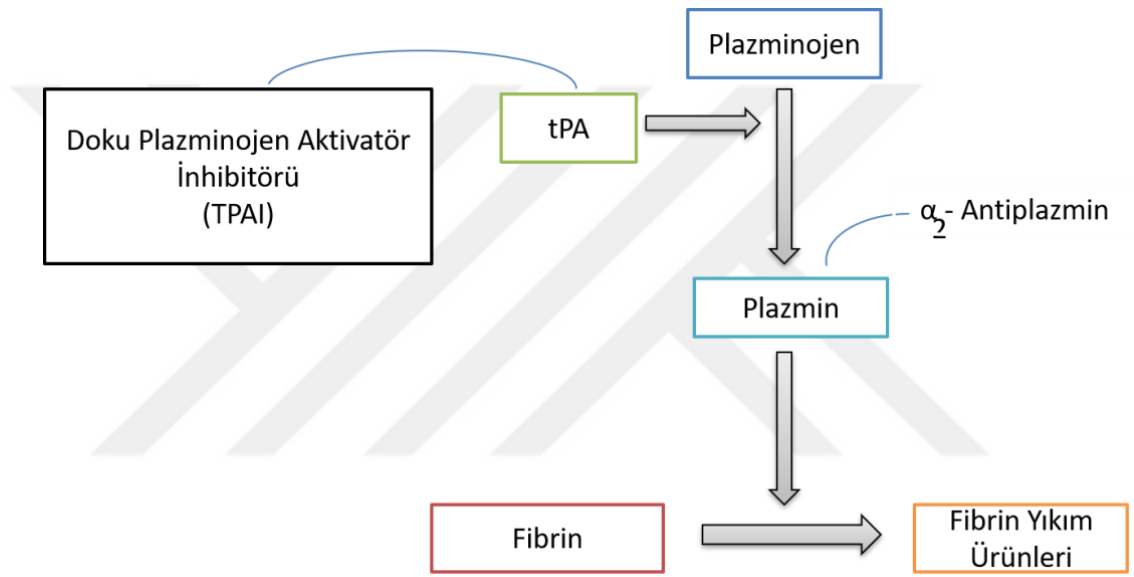
Şekil 12: İntirinsik ve ekstrinsik yol (Vander, 2014 kaynağından uyarlanmıştır.)

Endotel hasarı veya inflamasyon ile açığa çıkan DF veya kollajenin aktiflediği FXII ile koagülasyon sistemi aktive olur. DF, FVIIa ile etkileşime girerek FIX ve FX'u aktive eder. FXa da protrombinden trombin oluşturur. Koagülasyonun yayılarak ilerlemesi trombinin tekrar tekrar FXI, FIX, FV ve FVIII'i aktive etmesiyle gerçekleşir. Sistemde tekrar tekrar aktive olan ve çoğalan koagülasyon faktörleri çok fazla miktarda trombin oluşturur. Trombin plazma proteinlerinden fibrinojeni fibrine dönüştürür ve FXIII'ü aktifleştirerek fibrin lifleri ağı ile istenen kalıcı pıhtıyı oluşturur. Trombin trombositlerin agregasyonunu ve aktivasyonunu da uyarır (Colman ve ark., 2001; Linden 2013)

Bugün için koagülasyon mekanizmasının, hücre bütünlüğü bozulduğunda kanla temas eden doku faktörünün FVII'yi aktive ederek başladığı (ekstrinsik yol)

görüşü hakimdir. Bu ilk koagülasyon aktivasyonu endotelden salınan DFYİ (doku faktör yolu inhibitörü) aracılığı ile bloke edilir.

Doku hasarıyla koagülasyon sistemi aktive olduğu gibi fibrinolitik sistem de aktive olur. Plazminojenden oluşan plazmin ile fibrini bir arada tutan fibrin ağının parçalanmasına fibrinoliz denir. Plazminojen, temas yolağı olan FXII, FXI, kinin, kallikrein ve endotelden üretilen doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) tarafından aktive edilerek plazmine dönüştürülür. En etkili olan tPA'dır ve aynı zamanda fibrinolizin pıhtının oluşum yerinin ötesine geçmesini önler (Chan ve Paredes, 2013; Diethorn ve Weld, 1989) (Şekil 13).



Şekil 13: Doku plazminojen aktivatör inhibitörünün ve α_2 -antiplazminin etki mekanizması (tPA, doku plazminojen aktivatörü).

Kanda prokoagülanlardan daha fazla miktarda endojen antikoagülanlar mevcuttur. Koagülasyonu inhibe eden bu endojen antikoagülan maddeler; protein C, protein S, antitrombin III (AT-III) ve DFYİ (Tissue factor pathway inhibitör, doku faktör yolu inhibitörüdür) (Clemetson ve Kenneth, 2012).

Sağlam endotel yüzeyi koagülasyon sisteminin baskılanmasında oldukça önemli role sahiptir. Pıhtı oluşumunu durdurur ve endotel hasarı tamir edilmişse fibrinolizis ile fibrinin yıkılmasını sağlar. Sağlam endotele pıhtı temas ettiğinde endotel yüzeyine çıkan heparan benzeri molekül AT-III'ü aktive eder. Koagülasyon sırasında oluşan serin proteazların inhibitörü olan AT-III; karaciğerde salgılanan ve vücut sıvılarında yaygın olarak bulunan antikoagülan bir maddedir (Hathcock, 2004). AT-III tüm aktif faktörleri; FXII, FXI, FIX, FX, trombin ve DF-VII kompleksini

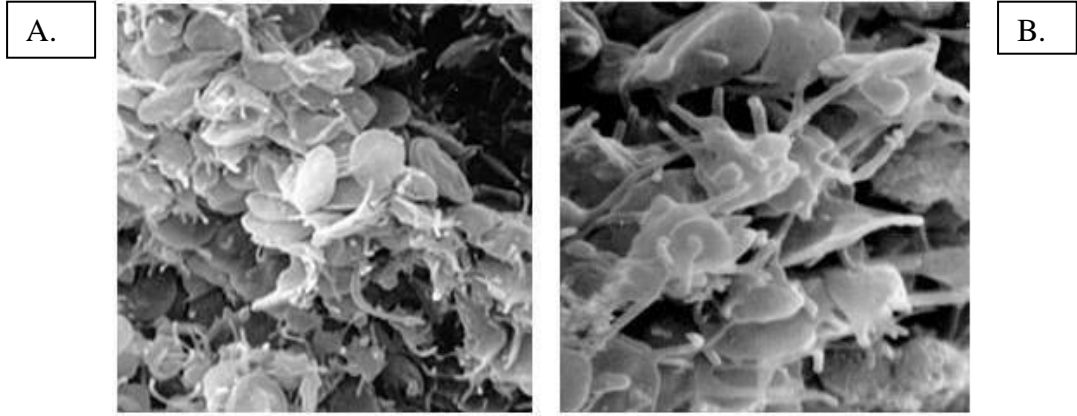
inaktive eder. Trombin ise endotel yüzeyinde bulunan trombomodülüne bağlanarak protein C ve protein S'yi aktive eder. Aktive olan protein C de FV ve FVIII gibi yardımcı faktörleri inaktive eder. Tüm aktif ve yardımcı faktörlerin inaktive edilmesi ile koagülasyon kaskadı durdurulmuş olur (Adams ve ark., 2007; Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

2.3. Trombositler

Trombositler 2-5 µm çapında, bi-konveks yapıda olup kemik iliğinin en büyük hücreleri olan megakaryositlerden meydana gelirler. Periferik kandaki en küçük hücrelerdir ve çekirdekleri yoktur. Trombositler, ilk kez Zimmerman tarafından 1860 yılında tanımlanmıştır. Kanın pıhtılaşmasındaki rolü Zimmerman ve Hayem tarafından 1878 yılında ortaya konmuştur. Önceleri cansız hücre parçaları olarak düşünülmüşlerse de Bizzazereo tarafından 1882 yılında aktif hücreler oldukları ortaya çıkarılmıştır. Kandaki normal konsantrasyonları mm³'te 150 bin- 450 bin arasındadır (White ve Gerrard, 1976). Dolaşımdaki ortalama ömürleri ortalama 10 gündür. Yaşam sürelerinin sonunda dalak tarafından parçalanarak dolaşımdan uzaklaştırılır (Gresele ve ark., 2002). Trombositler, hemostazda önemli rol oynar. Vasküler sistemin bütünlüğünün sağlanmasında ve korunmasında pıhtılaşma faktörleri ve damar endoteliyle birlikte görev alır (Ulutin, 1991).

Trombositler, 15–20 nm kalınlıkta, elektron mikroskobu ile görülebilen, glikoprotein, glikolipid, plazma proteinleri ve mukopolisakkarit içeren 'glikokalix' adı verilen bir yapıyla sarıdır. Bu yapı membran yüzeyinin negatif yüklerle yüklenmesini sağlayarak sinyal iletimine aracılık eder. Adezyon ve agregasyonda da görev alır (Coller, 1984).

Trombosit yapısındaki asimetrik bir düzen oluşturan fosfolipidlerin %57'si plazma membranında bulunur. Fosfotidilinositol ve sfingomiyelin gibi negatif yüklü fosfolipidler membranın iç kısmında yer alırken; fosfotidilkolin ve etonamin membranın dış kısmında yer almaktadır (Sener ve ark., 2005). Trombosit aktivasyonu sırasında negatif yüklü fosfolipidlerden olan fosfotidilserin (PS) membran yüzeyine çıkar ve sitoiskelet veya sitoplazmik elemanlarla etkileşerek asimetri sağlanır (Venema ve ark., 1995). Aktive trombositlerin yapısı şekil 14'te verilmiştir.



Şekil 14: Aktive trombositlerin yapısı (Gawaz, 2001). A. Dinlenim halindeki trombosit, B. Aktive trombosit.

Trombositlerin yüzeyinde reseptör görevi gören çok sayıda glikoprotein bulunur. Birçok trombosit reseptörü, iki veya daha fazla glikoprotein bir araya gelmesiyle oluşur (Colman, 2004). Bazı önemli trombosit membranı glikoproteinleri (GP) tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Bazı önemli trombosit membranı glikoproteinleri (GP) (Colman, 2004)

GP	LİGAND	İŞLEV
GPIa/IIa	Kollajen	Trombosit-kollajen yapışması
GPIb/IX	von Willebrand Faktör	Trombosit-subendotelial mikrofibril yapışması; trombini de bağlar
GPIc, IIa	Fibronektin	Trombositin yayılması, fibroblastın damar duvarına bağlanması
GPIIb/IIIa	Fibrinojen	Trombosit-trombosit agregasyonu
GPIV	Trombospondin	Trombosit agregasyonu, kollajen fibrillerini de bağlar

2.3.1. Trombosit Fonksiyonları

Trombositlerin hemostazda kendilerine özgü fonksiyonları vardır. Bu fonksiyonlar adezyon, sekresyon, agregasyondur (Ulutin, 1986).

Zedelenen damar yüzeyine (subendotele) trombosit adezyonu için spesifik trombosit reseptörü (GPIb-V-IX) ve von Willebrand faktör (vWF) gereklidir. Membranda bulunan adezyon reseptörleri (kollajen, fibronektin, laminin) bu adezyonun stabilize edilmesinde görev alır. Trombositler damar zedelenmesinden sonra travma bölgesinde ve daha derindeki kollajen liflerde birikir ve vWF endotelden salınır. Büyük bir kısmı plazmaya salgılanırken az bir kısmı subendotel yüzeyindeki kollajen fibrillerine bağlanır. Dolaşımdaki trombositlerle damar yüzeyine yapışmış olarak bulunan trombositlerin etkileşmesi, trombosit

membranındaki GPIIb/IIIa kompleksiyle gerçekleşir. Adezyon, trombosit membranındaki glikoproteinler aracılığıyla düzenlenirken trombositlerin subendotel boyunca yayılması ile de sonlanır (Gawaz, 2001).

Trombositlerde bulunan depo maddelerinin adezyon ve şekil değişikliği sırasında salgılanması olayına sekresyon adı verilir. Salınım veya degranülasyon olarak da adlandırılır. Sekresyon iki şekilde gerçekleşir. Birincisi granül içeriklerinin ekstraselüler aralığa verilmesi, diğeri plazma membranından ekzositozla granüllerden salınmasıdır. Granüllerdeki yoğun cisimcikler ekstraselüler aralığa nükleotidler ve serotonin dışında yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} da salar. Bu da fibrinojenin GPIIb/IIIa'ya bağlanmasını ve Ca^{+2} a bağımlı diğer koagülasyon mekanizmalarının aktifleşmesini tetikler. Serotonin salınması vazokonstriksiyon etkisiyle trombus etrafındaki kan akımını azaltarak trombusun oluşumunu kolaylaştırır. Aktive olan trombositlerin lizozomlarından salınan hidrolaz enzimleri subendotel yapının kaybına neden olur ve aterosklerozda damar duvarının bozulmasında rol oynar (Wintrobe, 1992 ve Holt, 1985). Trombosit içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasıyla miyozin hafif zincir kinaz aktive olur; miyozin hafif zincirlerinin fosforile olmasıyla trombositlerde şekil değişikliği meydana gelir, granüller merkezde toplanarak, psödopodik uzantılar oluşur ve sekresyon gerçekleşir. Hücre membranı fosfolipitlerinden araşidonik asitten (AA), güçlü bir uyarıcı ajan olan TXA_2 sentezi gerçekleşir. Eş zamanlı olarak membran fosfolipitlerinden PAF (platelet activating factor) sentezi de olur. TXA_2 ve PAF sekresyonuyla trombositler daha da aktive olur.

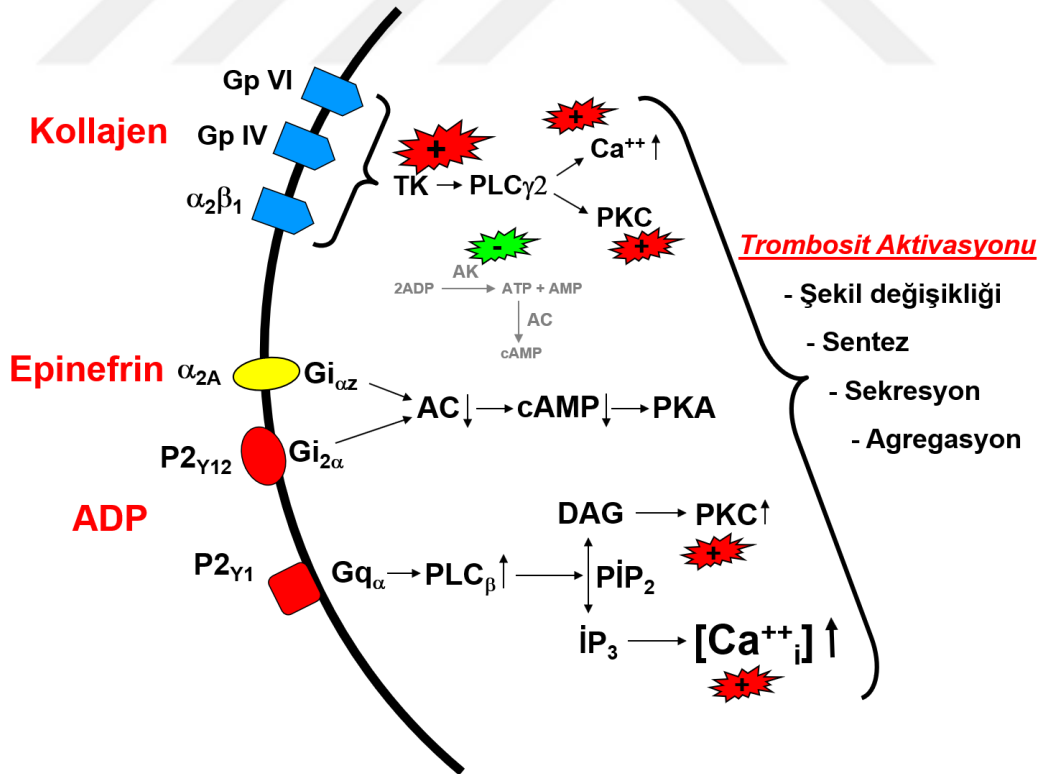
Aktivasyonda; ADP, trombin, kollajen, fibrinojen, araşidonik asit, TXA_2 , adrenalin, serotonin, plazmin vb. agonistlerin etkisi ile trombositlerde aktivasyon adı verilen fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler meydana gelir (Smith ve ark., 1983). Trombositleri aktive eden agonistler plazma ya da çevredeki dokularda oluşur veya kendilerinden salınır (otokrin). Genel olarak tüm agonistler trombosit yüzeyinde bulunan spesifik reseptörüne bağlanıp sinyal transdüksiyonuyla sinyal faktörlerinin oluşumunu sağlar (ikinci mesajcı). İkinci mesajcılarının oluşumunda üç enzim kompleksi önemli rol oynar. Bunlar fosfolipaz C, fosfolipaz A_2 ile adenilat siklazdır. Bu kompleks de serbest intrasellüler Ca^{+2} 'un regülasyonunda görevlidir. Dolayısıyla

Ca^{+2} iyon konsantrasyonu ile trombosit uyarılması arasında önemli bir korelasyon vardır (Offermanns, 2000).

Uyarıcı ajanların trombositlerdeki reseptörleri, G protein bağlantılı reseptörlere ve G proteinlerinin farklı alt tipleri uyarılır. Trombositlerin iyonotropik reseptörleri olan ajanlar da genellikle kalsiyum kanalları aktivasyonu ile hücre içine kalsiyum girişini sağlar.

Uyarıcı ajanın G protein bağlayan reseptörüne bağlanması trombosit membranının iç yüzeyinde bulunan adenilat siklazı (AC) inhibe ederek adenosin monofosfat (cAMP) konsantrasyonunu düşürür ve trombositler aktive olur. Bu sinyal proteinlerinin en önemlilerinden biri VASP adı verilen 'vazodilatasyon ile uyarılan fosfoprotein'dir. VASP aktif iken fibrinojen reseptörlerinin trombosit membranında ekspresyonuna aracılık eder.

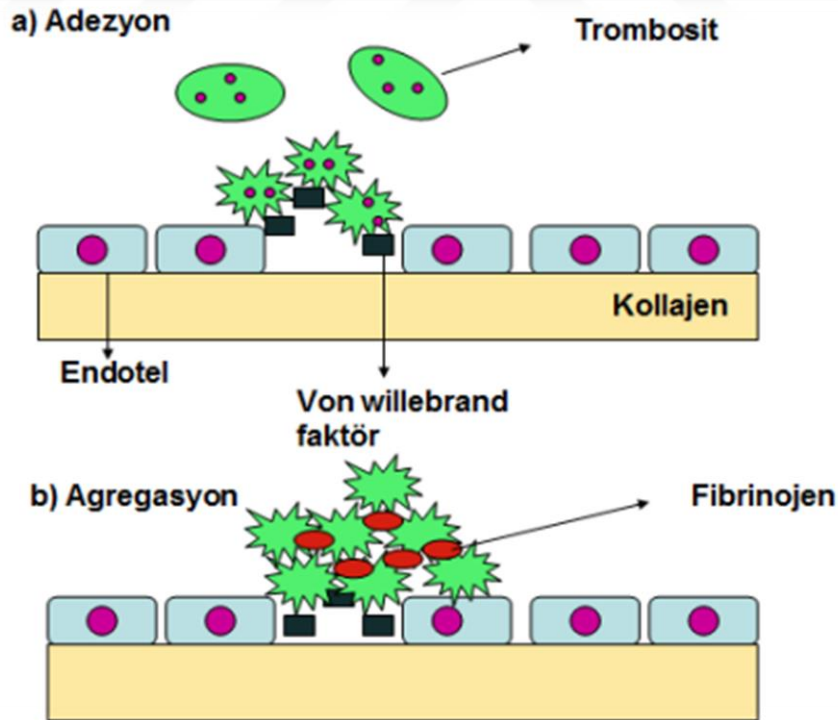
Trombosit membranında bulunan kollajen reseptörleri GPIV, GPVI, GPIIb/IIIa ($\alpha_2\beta_1$)'dir. Bu reseptörler tirozin kinazları aktive ederek sinyallerini iletir. Aktive olan tirozin kinazlar hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasına ve PKC'nin aktive olmasına yol açar (Şekil 15).



Şekil 15: Trombositin, kollajen, epinefrin ve adenosindifosfat üzerinden aktivasyonu (Dr. Engin SAĞDİLEK'in doktora tezinden alıntıdır.) (+, ↑: Aktivasyon / -, ↓: İnhibisyon)

Trombosit aktivasyonu ile birlikte hücre membranında bulunan FV ve FIX reseptörleri de aktive olur. Tenaz kompleksinin oluşumunu, granül sekresyonuyla açığa çıkan veya plazmada bulunan FIX'ü bağlayıp aktif hale getiren FIX reseptörü sağlar. Tenaz kompleksi; FIX, FVIII ve kalsiyumdan oluşur ve FX'ü aktif hale getirir. FV, Tenaz kompleksinin aktive ettiği FX ve kalsiyumla birlikte protrombinaz kompleksini oluşturur. Bu kompleksde protrombini trombine çevirir. Oluşan trombin, fibrini meydana getirirken, güçlü bir trombosit uyarıcı ajan olarak da görev yapar. Bu karmaşık aktivasyon mekanizmalarının sonucunda trombosit agregasyonu meydana gelir, koagülasyon süreci başlar ve hemostatik tıkaç (pıhtı) oluşur (Hoffman ve ark., 2005).

Agregasyon primer ve sekonder olmak üzere iki aşamalı gerçekleşir. Primer agregasyonda şekil değişikliğine uğrayan trombositler psödotoplar çıkararak küçük kümeler oluştururlar. Sekonder agregasyon ise yoğun cisimciklerin ve granül içeriklerin enerjiye bağımlı salınımı ve sekresyonunu içerir (Virmani, 2001) (Şekil 16).



Şekil 16: Adezyon ve agregasyon (Laffan 2012 kaynağından uyarlanmıştır).

2.3.2. Trombositler, Nükleotidler ve Pürinerjik Reseptörler

Trombositlerde, alfa ve yoğun granüller olmak üzere başlıca iki tip granül bulunmaktadır. Yoğun granüllerde ADP ve ATP başta olmak üzere serotonin, histamin, polifosfat ve pirofosfat grupları ve Ca, Mg, K gibi iyonlar bulunmaktadır (Colman ve ark., 2004; Youssefian ve ark., 1997).

1970'li yıllardaki yayınlarda trombosit yoğun granüllerinde ADP ve ATP'nin yanısıra UTP ve UDP olduğu da gösterilmiştir (Prada ve Pletscher, 1970; Traut, 1994). Ama son yıllardaki birçok yayında ve textbook'da yoğun granüllerde UTP veya UDP bulunduğu dair bilgi bulunmamaktadır.

Trombositler üzerinde A2a adenozin reseptörleri bulunmaktadır. AC'ı aktive ederek cAMP ve PKC üzerinden trombositleri inhibe etmektedir. Dipiridamol gibi ilaçlar adenozin A2a reseptörleri üzerinden etki ederek antitrombotik ilaç olarak kullanılmaktadır.

Trombositler üzerinde bulunan diğer pürinerjik reseptör P2X1 reseptörüdür. ATP ile uyarılarak trombositleri aktive etmektedir. İntrasellüler Ca artışına sebep olmaktadır.

Trombositler üzerinde P2Y1 ve P2Y12 olmak üzere iki farklı P2Y reseptörü bulunmaktadır. P2Y1 reseptörü Gq üzerinden PLC'yi aktive ederek trombosit aktivasyonuna neden olurken, P2Y12 reseptörü Gi üzerinden AC inhibisyonu ile trombosit aktivasyonuna neden olmaktadır. Trombosit agregasyonunun tam olarak gerçekleşmesinde P2Y12 reseptörünün uyarılması çok önemlidir. Geri dönüşsüz ve tam bir agregasyon için P2Y12 reseptörünün uyarılması gerektiği gösterilmiştir.

P2Y12 reseptör antagonistleri güçlü antitrombotikler olarak kullanılmaktadır. Tienopiridin türevi olan tiklopidin, clopidogrel ve prasugrel bu grubun ilk üyeleridir. Oral olarak alınan bu ilaçların aktive olabilmeleri için karaciğerde metabolize olmaları gerekmektedir. Geri dönüşsüz olarak P2Y12 reseptörlerini bloke ederler. Ticagrelor, cangrelor ve elinogrel, nontienopiridin türevleri olup, karaciğerde aktive olmaları gerekmeyen, geridönüşümlü P2Y12 reseptör antagonistlerdir (Suzuki ve ark., 2011).

Trombositler üzerindeki pürinerjik P2Y12 reseptörlerinin ADP ile uyarıldığı, ATP'nin bu reseptörleri antagonize ettiği, hatta UTP, GTP ve CTP'nin de P2Y12 reseptörlerini antagonize ettiği gösterilmiştir. Hatta UTP'nin sülfürlü analoglarının

bu reseptörleri çok daha küçük konsantrasyonlarda bile inhibe ettiği gösterilmiştir. Yeni bir antitrombotik ilaç grubu gibi düşünülen UTP analogları üzerinde çalışmalar sürmektedir (Aslam ve ark., 2013; Gündüz ve ark., 2017).

Bizim bu çalışmadaki amacımız, üridin ve 3 farklı nükleotidinin trombositler üzerindeki etkilerini optik agregometre ile hücre düzeyinde ortaya koymaktır. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, hemostazın tamamen değerlendirilebildiği tromboelastogram ile tam kanda, sistem düzeyinde üridin ve nükleotidlerinin etkilerini araştırmaktır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 23 Ocak 2018 tarihli ve 2018-2/24 sayılı onayı alınarak, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'nde yer alan, "İnsanlar Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarla İlgili Etik İlkeler" dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız, sağlıklı gönüllülerden alınan kan örnekleri üzerinde yapılan ex vivo deneysel bir çalışmadır. Deneyler, 2018 Kasım-2019 Mart ayları arasında Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. Gönüllüler

Deneyler, 19–44 yaşları arasında, sağlıklı bireylerden alınan kan örnekleri üzerinde yapıldı. Gönüllüler, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim elemanı, öğrencisi, personeli ve yakınları olup, araştırma hakkında bilgilendirildikten sonra yazılı onayları alınarak çalışmaya dahil edildi. Kişisel anamnezinde ve aile öyküsünde herhangi bir kanamalı durum veya hastalığa sahip olanlar, son 10 gün içinde trombositleri etkilediği bilinen herhangi bir ilaç (aspirin, antibiyotik, antidepresan, antihistaminik, non-steroid antiinflamatuvar ilaç vb.) alanlar, son 2 gün içinde alkol kullanmış olanlar, aktif sigara kullananlar ve akut enfeksiyon geçirenler çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. Kan Örneklerinin Alınması

Gönüllülerin kan örnekleri, en az 8 saatlik açlığı takiben, sabah 09.00–10.30 arası, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı İmmünoloji Laboratuvarında, kan almada görevli teknikerler tarafından, daha önce hazırlamış olduğumuz vacutainerlı sitratlı tüplere alındı. Haftada 3 gün, 1 veya en fazla 2 denekten alınan kan örneği üzerinde çalışıldı. Kan alma işleminden önce deneğin sakin ve dinlenmiş olmasına dikkat edildi. Kan antecubital venden, 21 G iğne kullanılarak, üst kola hafif venostaz uygulanarak alındı. Agregometre deneyleri

için her denekten 3 tüp (24 ml) kan alındı. TEG deneylerinde ise 1 tüp (8 ml) kanla çalışıldı.

3.3. Sitrathlı Tüpler

Molekül ağırlığı 294,10 g/mol olan (MERCK KGaA Darmstadt, Germany) tri-Sodium citrate dihydrate'tan 500 ml, 0,106 M'lık stok çözelti hazırlandı. İnsülin enjektörü ile 0,9 ml alınarak 9 ml'lik vacutainerlı tüplere kondu. Gönüllülerden kan alındığında (sitrath/kan: 1/9) 0,0106 M sitrathla antikoagüle edilmiş tam kan örnekleri elde edildi.

3.4. Üridin, UTP, UDP ve UMP'nin Hazırlanması

Üridin ve nükleotidleri Sigma'dan alındı (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, ABD).

Üridinin insanlardaki normal plazma konsantrasyonu 4-5 μM 'dır (Geiger ve Yamasaki, 1956). Deneylerimizde üridinin trombositler ve hemostaz üzerindeki etkilerini test edebilmek için, normal kan konsantrasyonunun 2, 20 ve 200 katı denendi. Kandaki veya trombositten zengin plazmadaki son konsantrasyonu 10, 100 ve 1000 μM olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı (Tablo 3).

UTP, UDP ve UMP normalde plazmada bulunmaz. Bazı hücreler içinde var olmalarına rağmen plazmada serbest olarak kalmazlar (Wurtman ve ark., 2010). Bu özellik dikkate alınıp üridin'den farklı olarak UTP, UDP ve UMP için kan veya trombositten zengin plazma son konsantrasyonları 1, 10, 50, 100, 500 ve 1000 μM olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı (Tablo 3).

Tablo 3. Üridin, UTP, UDP ve UMP için hazırlanan stok çözelti konsantrasyonları ve trombositten zengin plazma veya kan içinde bulunan (1/50) son konsantrasyonları.

Stok konsantrasyon (mM)	0,05	0,5	2,5	5	25	50	
		10		100		1000	Üridin
Son konsantrasyon (1/50) (μM)	1	10	50	100	500	1000	UTP
	1	10	50	100	500	1000	UDP
	1	10	50	100	500	1000	UMP

3.5. Agregometre Deneyleri

Agregasyon ölçümleri Platelet Aggregation Profiler® PAP-4CD (BIO/DATA CORPORATION, USA) optik agregometre cihazında yapıldı. Trombositleri uyarmak amacıyla ADP, kollajen ve epinefrin (BIO/DATA CORPORATION, USA) kullanıldı. Uyarıcı ajanların test son konsantrasyonları ADP için 4 µM, kollajen için 2 µg/ml, epinefrin için 30 µM olacak şekilde uygulandı.

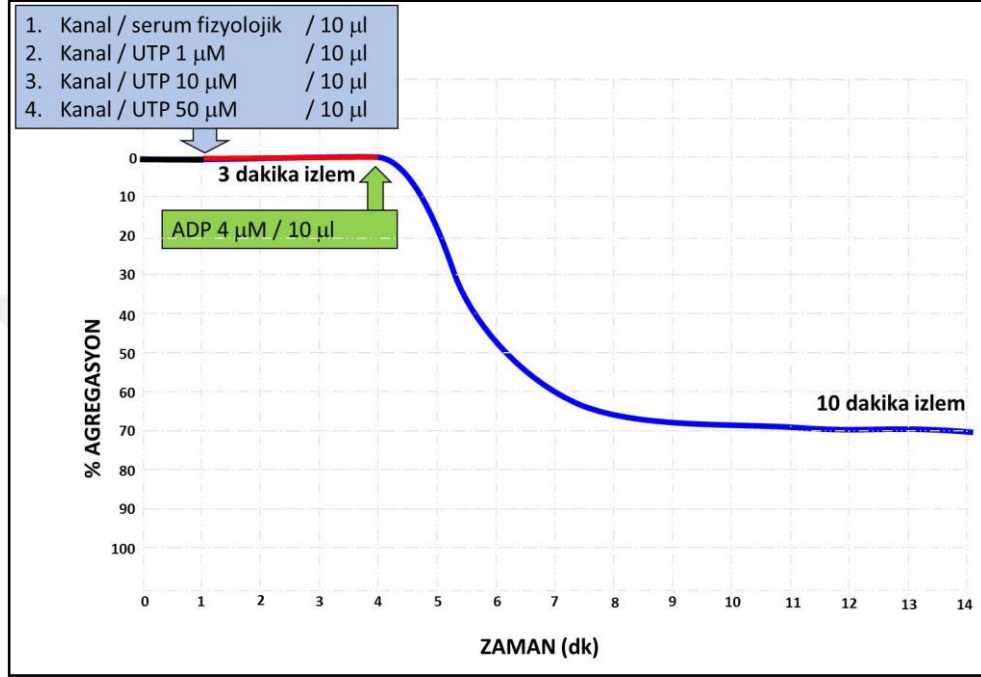
Agregometre deneyleri için gönüllüden alınan 3 tüp kan 50 ml'lik büyük bir tüpe boşaltıldıktan sonra tüp 3 kez alt üst edildi. Karışmış kan 2 santrifuj tüpüne paylaştırılıp, 15 dk süre ile 200 g'de santrifüj edildi. Her tüpte üstte kalan trombosit zengin plazma (TZP) kısımları pipetle çekilerek tek bir tüpte toplandı. TZP'si alınan kan örnekleri, 15 dk 2000 g'de ikinci kez santrifüj edilerek trombosit fakir plazma (TFP) elde edildi. TFP, agregometre kalibrasyonunda kullanılmak üzere ayrı bir tüp içine alındı.

Sırasıyla önce üridin, sonra UTP, sonra UDP ve en son olarak da UMP deneyleri yapıldı. Laboratuvarımızdaki agregometre 4 kanallı olduğu için, birinci kanalda kontrol olmak üzere üridin veya nükleotidlerinin üç farklı konsantrasyonu aynı anda çalışılabilir (örnek test: 1. kanal: Kontrol, 2. kanal: Üridin 10 µM, 3. kanal Üridin 100 µM, 4. kanal: Üridin 1000 µM). Değerlendirme, her testte uygulanan konsantrasyonların kontrole göre yüzde farkı üzerinden yapıldı.

Önce TFP ile agregometrenin 4 kanalının ışık geçirgenliği %100 olarak ayarlandı. Ardından, cihaz tarafından ışık geçirgenliği %0 olarak kabul edilen agregometre tüpleri içindeki TZP, 4 kanala yerleştirildi. Her tüpte 490'ar µl TZP bulunmaktaydı.

Cihaz ölçüm moduna geçirilerek test başlatıldı ve agregasyonun 1 dk boyunca %0 seviyesinde devam ettiği gözlemlendi. 1. dakikada 1. kanala 10 µl serum fizyolojik; 2. kanala 10 µl son konsantrasyonu 10 µM olan üridin; 3. kanala 10 µl son konsantrasyonu 100 µM olan üridin; 4. kanala 10 µl son konsantrasyonu 1000 µM olan üridin eklendi [stok konsantrasyon 1/50 dilüe edilerek (10 µl / 10 + 490 µl) son konsantrasyona ulaşılmış oldu]. 3 dk boyunca serum fizyolojik ve üridinin farklı konsantrasyonlarının TZP ile karışması ve bir etki oluşturup oluşturmadığı gözlemlendi. Ardından, agregasyonun izlenmeye başlamasının 4. dakikasında uyarıcı ajan (örneğin ADP) 4 kanala sırasıyla 10'ar µl, yukarıda belirtilen son konsantrasyonda

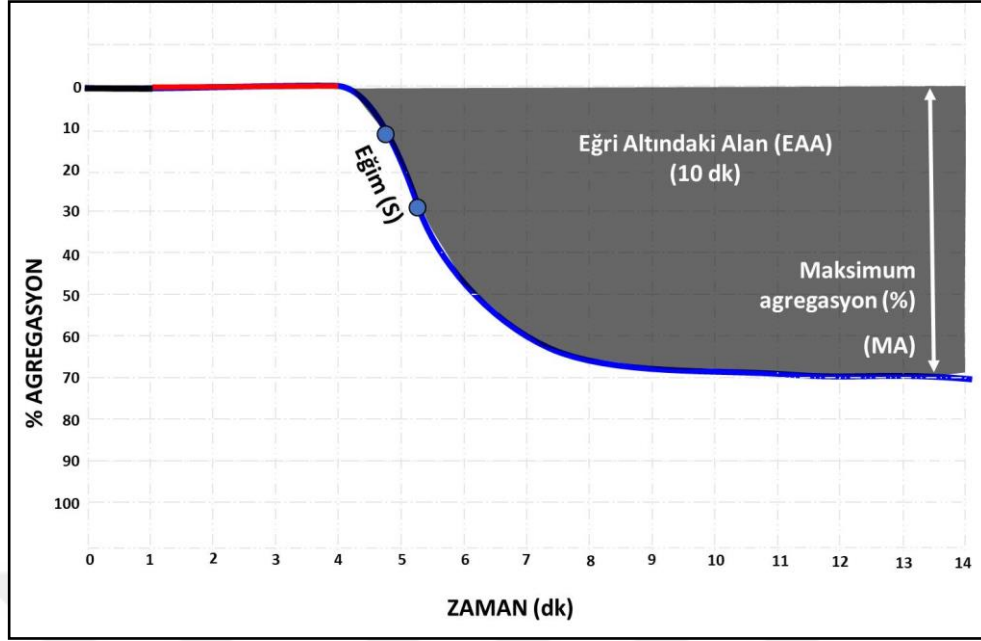
olacak şekilde eklendi. Uyarıcı ajanın eklenmesinden sonra agregasyon eğrileri 10 dk daha takip edilerek test sonlandırıldı (Şekil 17). Aynı test diğer iki uyarıcı ajanla da tekrar edildi. Üridin deneyleri bittikten sonra, aynı testler UTP, UDP ve UMP için, bu sefer 6 farklı konsantrasyonda yapıldı.



Şekil 17: UTP'nin 3 farklı konsantrasyonu için ADP ile gerçekleştirilen agregasyon testinin şematik gösterimi.

3.6. Agregasyon Grafiklerinde Değerlendirilen Parametreler

Ortaya çıkan agregasyon grafiklerinde, cihazın özel bilgisayar programı ile agregasyon eğrilerinin eğimleri, agregasyon eğrisinin ulaştığı maksimum % değeri ve 10 dk boyunca agregasyon eğrisinin altında kalan alan hesaplandı (Şekil 18).



Şekil 18: Agregasyon grafiklerinde değerlendirilen parametreler.

3.7. Tromboelastogram Deneyleri

Tromboelastogram ölçümleri TEG®5000 Thrombelastograph® (HAEMONETICS CORPORATION, MA, USA) cihazında yapıldı. Düz kap kullanıldı. Cihaz iki kanallı olduğu için, agregometredekine benzer şekilde aynı anda deney ve kontrol grubu çalışıldı.

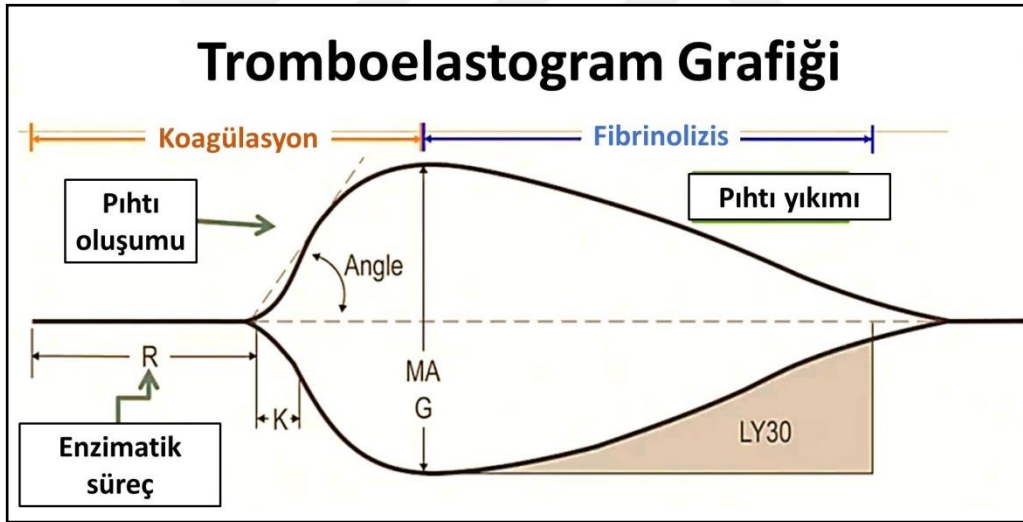
Agregometre deneylerinde UTP ve UDP'nin maksimum etkilerinin gözlemlendiği 1000 µM son konsantrasyonlar esas alınarak, tüm tromboelastogram deneylerinde üridin ve nükleotidleri için 1000 µM son konsantrasyonlar kontrole göre değerlendirildi.

Gönüllüden alınan, sitratla antikoagüle edilmiş bir tüp (9 ml) kandan, iki ayrı deney tüpüne 1,5'er ml ayrıldı. Birinin içine 30 µl serum fizyolojik eklenirken, diğerine 30 µl üridin veya nükleotidleri eklendi [stok konsantrasyon 1/50 dilüe edilerek (30 µl / 1,5 ml) son konsantrasyona ulaşılmış oldu]. Tüplerin ağızları kapatılarak yatay kan karıştırıcıda 5 dakika karışmaları sağlandı. Bu sırada, tromboelastogram cihazının iki kanalı standart çalışma pozisyonuna getirilerek, her iki kanala yerleştirilen kaplara 20'şer µl kalsiyum çözeltisi (0,2 M CaCl₂) eklendi (sitratın antikoagülan etkisini geri döndürmek amacıyla).

Beş dakika serum fizyolojik veya üridin veya nükleotidleriyle muamele edilen kandan 1 ml alınarak kaolin tüpüne kondu (pıhtılaşma sürecini hızlandırmak amacıyla tromboelastogram deneylerinde kullanılan yöntem). Standart olarak 5 kez alt üst edilen tüpten 340 µl kan alınarak, tromboelastogram cihazında içinde kalsiyum bulunan kabın içine konarak deney başlatıldı. Aynı işlemler ikinci kanal içinde yapılarak ard arda deney ve kontrol grubu tromboelastogram testleri başlatılmış oldu. Tüm parametreler, tromboelastogram cihazına bağlı bilgisayar programında gözlenene kadar test takip edildi.

3.8. Tromboelastogram Grafiklerinde Değerlendirilen Parametreler

Ortaya çıkan tromboelastogram grafiklerinde, cihazın özel bilgisayar programı ile değerlendirilen parametreler Şekil 19’da gösterilmiştir. Tüm parametrelerin kontrole göre nasıl değiştiği değerlendirilmiştir.



Şekil 19: Tromboelastogram grafiğinin şematik gösterimi ve değerlendirilen parametreler.

R zamanı (dk): Test başlangıcından fibrinin ilk oluşma zamanına kadar olan dönemdir. Reaksiyon zamanı olarak da adlandırılır ve ölçüme başlandığı andan iki eğri arasındaki mesafenin 2 mm'ye ulaşmasına kadar geçen süreyi göstermektedir.

K zamanı (dk): Pıhtı oluşumunun başlangıç zamanından tromboelastogram grafiğinin amplitüdünün 20 mm'ye ulaşmaya kadar geçen süredir. K değeri pıhtı oluşum dinamiklerini gösterir.

Alfa açısı (Angle)(derece): R zamanından K zamanına geçerken oluşan eğim ile yatay eksen arasında olan açıdır. Pıhtının maksimum güce ulaşma hızını gösterir. Fibrin artış hızını ve çapraz bağlarla sağlamlaşmasını yansıtır.

Maksimum amplitüd (MA)(mm): Pıhtının maksimum genliğini veya maksimum elastikiyetini yansıtır. Daha çok trombosit sayısı, trombosit fonksiyonları ve fibrinojen seviyesi ile ilgilidir.

G değeri (dyn/s): MA üzerinden hesaplanan bir parametredir ve pıhtının gücüyle ilgilidir.

LY30 (%): MA'dan 30 dk sonraki amplitüd değerinin MA'ya göre % değişimidir. Fibrinolitik sistemle ilgili bilgi verir.

Coagulation Index (CI): R zamanı, K zamanı, alfa açısı ve MA değerlerinin lineer indeksleri alınarak hesaplanan bir değerdir.

Amplitüd (A) (mm): 60. dakikadaki amplitüd değeridir.

3.9. İstatistiksel Analiz

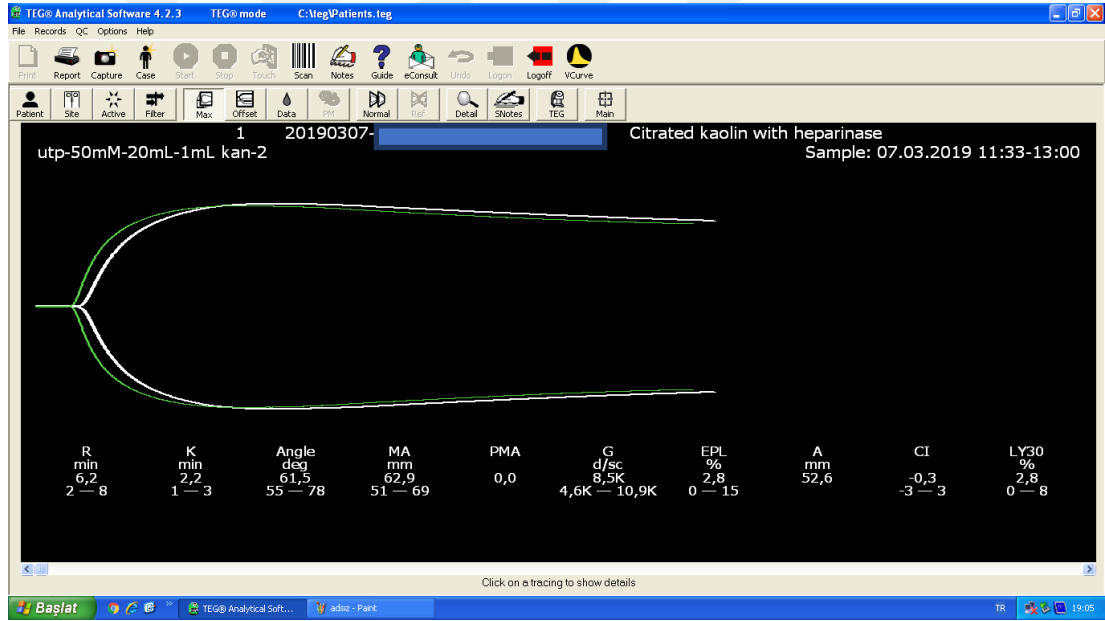
Verilerin istatistiksel analizi SPSS23.0 istatistik paket programında yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (minimum-maksimum) değerler şeklinde gösterildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren veriler için bağımlı iki grup karşılaştırmalarında (tromboelastogram değerlendirmeleri) eşleştirilmiş t-testi kullanıldı. Agregometrede kontrole göre üridin ve nükleotidlerinin yüzde değişimlerinin karşılaştırması için tek örneklem t-testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Tromboelastogram Sonuçları

Tromboelastogram deneyleri için 8 farklı kişiden (6 erkek, 2 kadın) toplamda 13 kez kan alındı. Bir seferde alınan kan ile ard arda iki farklı deney grubu çalışıldı. Gönüllülerin yaş ortalaması $35,3 \pm 8,3$ (19-44) yılıdır.

UTP 1000 μM son konsantrasyonunun (aşağıdaki beyaz trase) ve kontrol grubunun (aşağıdaki yeşil trase) tromboelastogramda elde edilen grafikleri aşağıdaki örnekte gösterilmiştir (Resim 1).



Resim 1. Örnek bir tromboelastogram grafiği. Beyaz trase deney grubu (UTP-1000 μM), yeşil trase kontrol grubu. Grafiğin altındaki veriler deney grubuna aittir.

Tromboelastogramda deney gruplarının (Üridin/UTP/UDP/UMP – 1000 μM) eşleştirilmiş kontrol grupları ile karşılaştırmaları aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 4. Üridinin 1000 µM son konsantrasyonda tromboelastogram parametreleri üzerine etkisi.

(n=7)	Üridin (1000 µM)	Kontrol	p
R	6,67 ± 1,29 (5,20-8,50)	6,86 ± 1,11 (5,60-8,50)	p>0,05
K	2,29 ± 1,13 (1,60-3,20)	2,17 ± 0,57 (1,80-2,60)	p>0,05
Angle	58,91 ± 7,27 (46,50-66,90)	59,71 ± 2,86 (54,90-64,20)	p>0,05
MA	57,27 ± 6,55 (50,90-69,00)	57,86 ± 4,28 (52,90-66,60)	p>0,05
G	8,35 ± 2,10 (5,20-11,10)	8,40 ± 1,41 (5,60-10,00)	p>0,05
A	45,30 ± 9,74 (33,50-62,10)	43,41 ± 8,82 (31,20-58,20)	p>0,05
CI	- 1,90 ± 2,01 (-4,60-1,10)	-1,52 ± 0,97 (-3,10--0,50)	p>0,05
LY30	4,70 ± 2,94 (0,80-9,60)	5,40 ± 3,69 (1,30-10,80)	p>0,05

Tablo 5. UTP'nin 1000 µM son konsantrasyonda tromboelastogram parametreleri üzerine etkisi.

(n=6)	UTP (1000 µM)	Kontrol	p
R	6,85 ± 0,82 (6,10-8,30)	6,10 ± 0,92 (5,00-7,20)	p>0,05
K	2,32 ± 0,55 (1,70-3,20)	2,05 ± 0,57 (1,40-2,80)	p=0,029
Angle	58,92 ± 5,91 (51,00-66,50)	61,95 ± 6,89 (53,20-69,40)	p=0,011
MA	60,97 ± 6,51 (53,10-68,40)	61,12 ± 5,68 (55,60-69,10)	p>0,05
G	8,13 ± 2,19 (5,70-10,80)	8,10 ± 2,05 (6,20-11,20)	p>0,05
A	53,78 ± 6,82 (47,00-63,60)	53,38 ± 7,26 (46,80-63,90)	p>0,05
CI	-1,23 ± 1,63 (-2,90-0,90)	-0,35 ± 1,93 (-2,70-2,10)	p=0,004
LY30	1,73 ± 1,35 (0,80-4,00)	1,50 ± 1,21 (0,20-3,70)	p>0,05

Tablo 6. UDP'nin 1000 µM son konsantrasyonda tromboelastogram parametreleri üzerine etkisi.

(n=6)	UDP (1000 µM)	Kontrol	p
R	6,12 ± 0,83 (5,00-7,20)	5,92 ± 0,50 (5,30-6,50)	p>0,05
K	1,98 ± 0,25 (1,70-2,40)	1,88 ± 0,31 (1,50-2,30)	p>0,05
Angle	62,58 ± 2,95 (57,60-66,80)	64,00 ± 3,83 (58,90-68,40)	p>0,05
MA	65,18 ± 2,50 (62,40-69,40)	63,35 ± 2,97 (60,30-67,20)	p=0,034
G	9,43 ± 1,12 (8,30-11,40)	8,73 ± 1,16 (7,60-10,30)	p=0,043
A	57,78 ± 5,28 (50,10-64,20)	54,03 ± 5,40 (49,10-61,20)	p=0,044
CI	0,18 ± 0,89 (-1,10-1,10)	0,27 ± 0,97 (-0,90-1,60)	p>0,05
LY30	1,05 ± 1,27 (0,10-3,40)	1,70 ± 1,28 (0,30-3,70)	p>0,05

Tablo 7. UMP'nin 1000 µM son konsantrasyonda tromboelastogram parametreleri üzerine etkisi.

(n=6)	UMP (1000 µM)	Kontrol	p
R	6,35 ± 1,01 (5,10-7,50)	6,70 ± 1,04 (5,60-8,20)	p>0,05
K	1,92 ± 0,18 (1,70-2,20)	2,10 ± 0,61 (1,70-3,30)	p>0,05
Angle	63,70 ± 2,34 (59,70-65,40)	61,40 ± 6,40 (49,20-66,30)	p>0,05
MA	63,78 ± 3,20 (59,40-67,70)	62,13 ± 4,12 (57,80-68,80)	p>0,05
G	8,88 ± 1,24 (7,30-10,50)	8,33 ± 1,53 (6,80-11,00)	p>0,05
A	55,65 ± 4,39 (52,20-62,80)	54,67 ± 5,48 (50,30-63,50)	p>0,05
CI	-0,05 ± 0,98 (-1,20-1,10)	-0,67 ± 1,68 (-3,20-0,80)	p>0,05
LY30	1,85 ± 1,34 (0,40-3,70)	2,07 ± 1,93 (0,00-4,90)	p>0,05

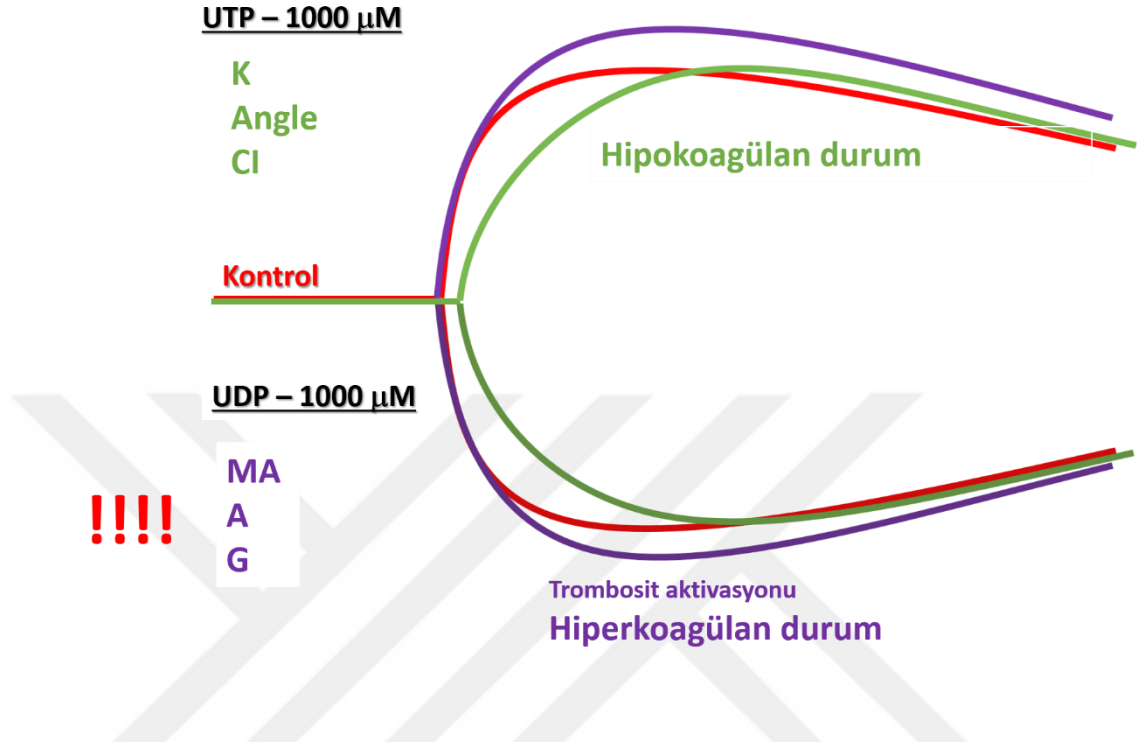
Öncelikle hem deney hem de kontrol grubunda normal tromboelastogram sınırları dışına çıkan herhangi bir parametre bulunmamaktadır.

İstatistiksel değerlendirmelere göre üridin ve UMP'nin 1000 µM son konsantrasyonları hiçbir tromboelastogram parametresine etki etmemektedir.

UTP 1000 µM son konsantrasyonda K zamanını anlamlı olarak uzatmakta, alfa açısını anlamlı olarak azaltmakta ve CI değerini anlamlı olarak düşürmektedir.

UDP ise 1000 µM son konsantrasyonda MA, A ve G değerlerini anlamlı olarak arttırmaktadır.

Sonuç olarak UTP'nin kontrol grubuna göre daha hipokoagülan bir durum oluşturduğu, UDP'nin ise kontrol grubuna göre daha çok trombositleri aktive ettiği söylenebilir (Şekil 20).

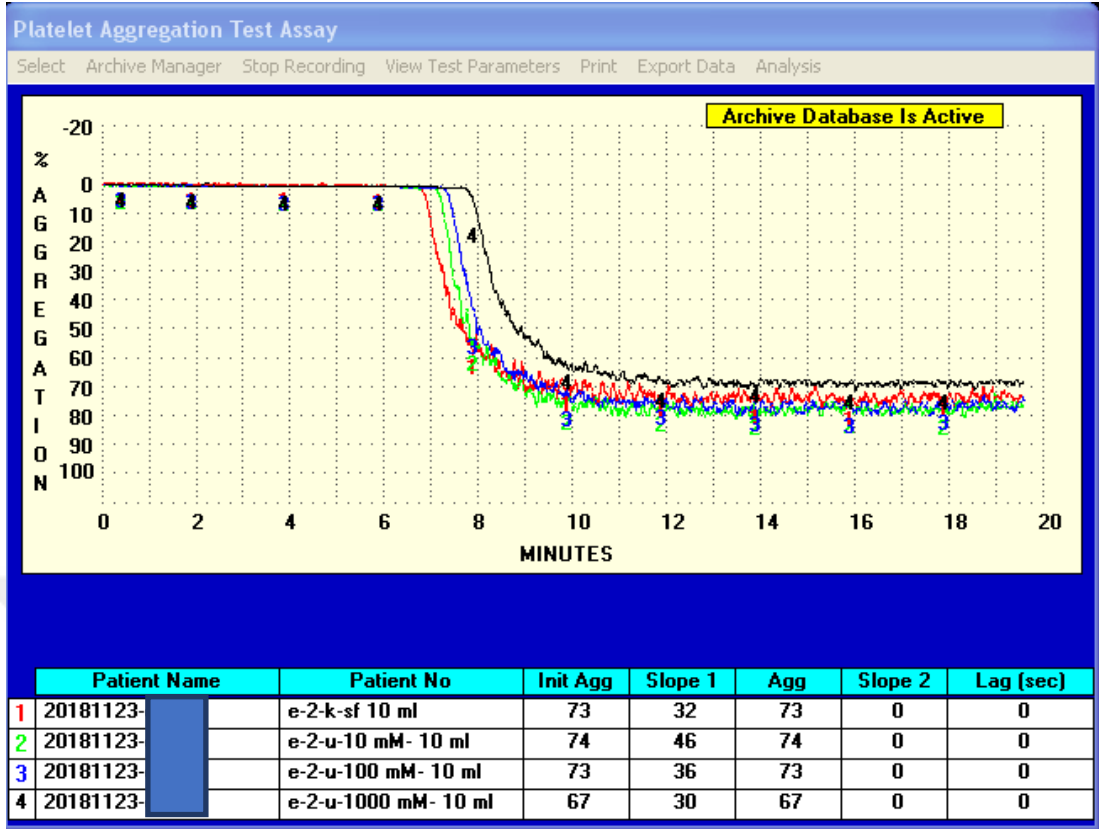


Şekil 20: UTP ve UDP'nin 1000 µM son konsantrasyonlarının tromboelastogram parametreleri üzerine etkilerinin şematik gösterimi.

4.2. Agregometre Sonuçları

Agregometre deneyleri için 33 farklı kişiden (18 erkek, 15 kadın) toplamda 54 kez kan alındı. 4 kişiden alınan kan ile yapılan deneyler, trombosit agregasyonunun normal değerler vermemesi nedeniyle iptal edildi. Bir seferde alınan kandan elde edilen TZP ile (maksimum 6-8 ml) en fazla 3 veya 4 test yapıldı. Gönüllülerin yaş ortalaması $31,6 \pm 7,4$ (19-44) yıldı.

Üridinin 10, 100 ve 1000 µM son konsantrasyonları (sırasıyla yeşil, mavi ve siyah traseler) ve serum fizyolojik verilerek elde edilen kontrol örneklerinin kollajen ile uyarılan agregasyon grafiğinin örneği aşağıda gösterilmiştir (Resim 2).



Resim 2. Üridinin 10, 100 ve 1000 μM son konsantrasyonları ve kontrol örneklerinin kollajen ile verdikleri agregasyon grafiği. (Kırmızı trase: 1. kanal – kontrol. Yeşil trase: 2. kanal – Üridin 10 μM . Mavi trase: 3. kanal – Üridin 100 μM . Siyah trase: 4. kanal – Üridin 1000 μM .)

Agregometrede deney gruplarının (Üridin 10-100-1000 μM , UTP/UDP/UMP 1-10-50-100-500-1000 μM) aynı testteki kontrol grubuna % değişimlerinin karşılaştırmaları aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 8. Üridinin 3 farklı son konsantrasyonunun ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılan trombosit agregasyonu üzerine etkileri.

n=8	Kontrol [sf (10 µl)]	Üridin (10 µl)			p		
		10 µM	100 µM	1000 µM	k x 10	k x 100	k x 1000
ADP-MA	60,0 ± 7,3 (51,8-74,0)	63,1 ± 6,8 (58,8-76,8)	61,0 ± 5,8 (55,4-74,0)	62,6 ± 8,2 (55,4-80,4)			
Kontrole göre % fark (ort)		3,9	1,7	5,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05
ADP-EAA	539,0 ± 69,5 (464-661)	559,6 ± 60,7 (490-675)	544,0 ± 47,9 (506-655)	555,5 ± 68,8 (503-702)			
Kontrole göre % fark (ort)		5,2	1,8	4,9	p>0,05	p>0,05	p>0,05
ADP-S	23,3 ± 4,9 (18-34)	24,4 ± 3,8 (19-31)	23,5 ± 3,4 (19-30)	23,6 ± 4,2 (19-31)			
Kontrole göre % fark (ort)		2,6	2,2	2,4	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Kollajen-MA	59,1 ± 8,2 (49,0-75,2)	61,2 ± 8,7 (50,6-79,2)	61,0 ± 9,2 (47,2-78,0)	58,9 ± 7,0 (46,0-68,8)			
Kontrole göre % fark (ort)		3,6	3,2	0,1	0,022	p>0,05	p>0,05
Kollajen-EAA	539,1 ± 66,5 (459-672)	562,7 ± 78,1 (459-717)	563,0 ± 74,4 (455-706)	542,3 ± 57,9 (435-628)			
Kontrole göre % fark (ort)		4,2	4,4	0,8	0,012	0,04	p>0,05
Kollajen-S	29,1 ± 7,1 (20-41)	31,4 ± 8,1 (20-43)	30,1 ± 7,0 (19-41)	28,9 ± 6,6 (18-40)			
Kontrole göre % fark (ort)		7,6	3,7	-0,6	0,03	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-MA	64,7 ± 7,5 (59,0-77,4)	67,5 ± 7,8 (60,5-79,2)	65,3 ± 8,2 (56,8-77,4)	67,4 ± 11,2 (57,0-82,2)			
Kontrole göre % fark (ort)		4,5	1,0	3,8	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-EAA	512,8 ± 55,6 (435-609)	532,8 ± 38,8 (478-594)	513,0 ± 57,3 (422-597)	543,0 ± 87,4 (452-656)			
Kontrole göre % fark (ort)		4,2	0,0	5,7	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-S	18,7 ± 4,9 (12-23)	18,8 ± 2,0 (16-21)	19,3 ± 3,0 (15-23)	20,5 ± 2,7 (16-23)			
Kontrole göre % fark (ort)		5,4	6,9	16,8	p>0,05	p>0,05	p>0,05

(Yeşil dolgulu hücreler anlamlı olarak kontrolden daha yüksek olduğunu göstermektedir.)

Tablo 9. UTP'nin 6 farklı son konsantrasyonunun ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılan trombosit agregasyonu üzerine etkileri.

n=8	Kontrol [sf (10 µl)]	UTP (10 µl)						p						
		1 µM	10 µM	50 µM	100 µM	500 µM	1000 µM	k x 1	k x 10	k x 50	k x 100	k x 500	k x 1000	
ADP-MA	58,3 ± 15,1 (28,6-79,2)	62,8 ± 11,7 (43,2-79,2)	60,3 ± 14,8 (34,4-81,0)	48,7 ± 16,2 (23,4-74,6)	40,6 ± 20,3 (12,8-71,0)	11,9 ± 4,7 (3,0-19,8)	7,2 ± 3,4 (1,2-12,2)							
Kontrolde göre % fark (ort)		9,2	3,9	-11,3	-33,4	-79,6	-87,9	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,001	0,000	0,000	
ADP-EAA	513,7 ± 147,7 (145-706)	557,8 ± 101,1 (393-702)	534,0 ± 131,9 (281-703)	411,8 ± 167,9 (116-659)	311,4 ± 215,8 (8-603)	32,5 ± 27,5 (2-84)	13,7 ± 15,4 (0-48)							
Kontrolde göre % fark (ort)		7,5	1,9	-16,8	-44,6	-93,7	-97,6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,001	0,000	0,000	
ADP-S	28,9 ± 9,0 (11-55)	26,9 ± 7,1 (12-34)	26,4 ± 6,2 (16-34)	24,1 ± 7,5 (17-40)	22,1 ± 6,1 (9-31)	15,1 ± 4,9 (8-22)	10,5 ± 4,2 (2-16)							
Kontrolde göre % fark (ort)		2,0	2,0	-13,8	-23,1	-50,1	-64,8	p>0,05	p>0,05	0,019	0,000	0,000	0,000	
Kollajen-MA	50,9 ± 16,6 (23,8-83,0)	53,0 ± 14,0 (36,8-76,8)	48,3 ± 13,0 (34,4-71,0)	42,0 ± 20,2 (19,2-74,0)	40,0 ± 24,3 (4,2-73,0)	18,4 ± 18,9 (0,0-48,0)	11,3 ± 12,7 (0,0-36,0)							
Kontrolde göre % fark (ort)		2,5	1,1	-18,8	-20,0	-67,3	-82,2	p>0,05	p>0,05	0,017	p>0,05	0,001	0,000	
Kollajen-EAA	475,1 ± 159,0 (201-776)	495,0 ± 131,9 (347-749)	437,0 ± 124,2 (253-634)	385,2 ± 205,8 (118-673)	356,2 ± 226,4 (14-660)	150,3 ± 157,8 (0-365)	74,6 ± 95,0 (0-261)							
Kontrolde göre % fark (ort)		1,9	-1,1	-23,3	-22,5	-70,6	-87,8	p>0,05	p>0,05	0,013	p>0,05	0,001	0,000	
Kollajen-S	21,9 ± 7,6 (11-40)	23,2 ± 6,4 (15-34)	20,9 ± 6,9 (13-34)	17,1 ± 7,8 (9-32)	16,6 ± 9,6 (3-31)	8,4 ± 8,0 (0-20)	5,3 ± 5,5 (0-15)							
Kontrolde göre % fark (ort)		6,5	1,4	-20,5	-24,8	-66,3	-80,8	p>0,05	p>0,05	0,007	0,011	0,001	0,000	
Epinefrin-MA	67,3 ± 13,0 (36,8-83,8)	67,4 ± 13,6 (39,6-82,0)	66,2 ± 14,7 (33,8-83,8)	70,2 ± 7,9 (58,8-79,8)	69,1 ± 14,9 (36,8-89,6)	61,8 ± 21,3 (5,2-78,0)	56,4 ± 22,0 (5,8-79,2)							
Kontrolde göre % fark (ort)		3,9	1,1	0,0	1,9	-14,8	-20,7	0,014	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
Epinefrin-EAA	543,7 ± 109,2 (322-694)	552,5 ± 97,6 (353-691)	550,3 ± 102,5 (313-671)	577,8 ± 67,0 (484-669)	544,9 ± 118,1 (328-722)	497,5 ± 167,8 (54-632)	437,7 ± 172,9 (59-645)							
Kontrolde göre % fark (ort)		3,5	2,4	-0,1	1,6	-15,5	-24,8	0,038	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,013	
Epinefrin-S	16,0 ± 6,0 (8-27)	16,6 ± 5,6 (7-23)	15,5 ± 3,6 (10-21)	14,0 ± 4,4 (9-21)	13,5 ± 4,4 (6-21)	9,0 ± 5,3 (0-21)	7,7 ± 5,6 (0,0-20,0)							
Kontrolde göre % fark (ort)		-4,3	-6,6	0,8	-15,6	-37,5	-46,3	p>0,05	p>0,05	0,045	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

(Yeşil dolgulu hücreler anlamlı olarak kontrolden daha yüksek olduğunu göstermektedir.)

(Sarı dolgulu hücreler anlamlı olarak kontrolden daha düşük olduğunu göstermektedir.)

Tablo 10. UDP'nin 6 farklı son konsantrasyonunun ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılan trombosit agregasyonu üzerine etkileri.

n=8	Kontrol [sf (10 µl)]	UDP (10 µl)						p						
		1 µM	10 µM	50 µM	100 µM	500 µM	1000 µM	k x 1	k x 10	k x 50	k x 100	k x 500	k x 1000	
ADP-MA	50,8 ± 14,9 (26,2-76,8)	56,0 ± 11,9 (33,6-73,4)	52,8 ± 15,8 (30,8-76,2)	52,9 ± 18,9 (25,0-83,2)	49,9 ± 16,0 (26,8-81,6)	38,2 ± 18,7 (13,4-71,0)	33,3 ± 19,6 (10,0-65,2)							
Kontrolle göre % fark (ort)		15,9	4,7	7,6	-0,1	-25,1	-34,5	p>0,05	p>0,05	0,014	p>0,05	0,018	0,008	
ADP-EAA	455,2 ± 138,0 (145-689)	505,9 ± 101,2 (313-658)	474,0 ± 147,8 (232-686)	457,9 ± 173,7 (179-706)	445,6 ± 150,1 (195-712)	350,6 ± 170,7 (129-607)	301,2 ± 176,8 (81-550)							
Kontrolle göre % fark (ort)		29,5	9,7	6,0	-2,2	-25,2	-35,7	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,014	0,007	
ADP-S	24,9 ± 9,0 (12-40)	26,7 ± 8,7 (12-44)	25,0 ± 9,7 (12-42)	23,1 ± 7,0 (12-36)	23,9 ± 8,0 (10-35)	18,9 ± 6,1 (8-30)	16,1 ± 4,8 (7-25)							
Kontrolle göre % fark (ort)		7,7	2,6	-3,5	-4,4	-20,7	-32,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,003	0,000	
Kollajen-MA	63,4 ± 12,1 (41,4-78,6)	65,9 ± 12,8 (47,2-81,0)	61,8 ± 11,3 (41,4-77,4)	62,3 ± 12,0 (40,8-79,4)	63,3 ± 14,7 (45,4-80,8)	55,8 ± 14,0 (42,0-76,8)	53,5 ± 13,3 (38,4-68,6)							
Kontrolle göre % fark (ort)		2,2	-4,1	-3,6	2,5	-8,6	-13,1	p>0,05	0,024	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,004	
Kollajen-EAA	585,1 ± 103,9 (389-706)	599,5 ± 110,3 (437-760)	570,4 ± 103,3 (401-709)	569,3 ± 107,6 (377-721)	591,5 ± 139,6 (428-766)	522,5 ± 132,3 (405-734)	510,3 ± 120,1 (379-667)							
Kontrolle göre % fark (ort)		1,1	-3,9	-4,3	3,1	-7,4	-10,4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,037	
Kollajen-S	30,4 ± 9,3 (16-48)	32,7 ± 11,2 (20-55)	30,7 ± 9,6 (18-44)	28,8 ± 8,8 (18-41)	28,3 ± 5,0 (23-35)	25,2 ± 8,8 (16-37)	23,7 ± 7,6 (14-34)							
Kontrolle göre % fark (ort)		2,6	-3,3	-9,2	8,4	-10,4	-14,7	p>0,05	p>0,05	0,003	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
Epinefrin-MA	62,7 ± 12,2 (32,0-80,4)	64,2 ± 11,8 (37,2-77,6)	63,2 ± 14,1 (33,8-81,6)	64,3 ± 15,3 (32,0-83,2)	67,5 ± 8,5 (52,6-76,8)	64,1 ± 13,7 (32,0-76,8)	64,6 ± 16,4 (32,0-83,2)							
Kontrolle göre % fark (ort)		2,2	2,3	2,7	2,2	2,2	2,4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
Epinefrin-EAA	514,1 ± 105,7 (278-717)	529,9 ± 99,1 (320-663)	525,4 ± 98,2 (296-654)	538,3 ± 117,8 (275-723)	567,1 ± 59,8 (492-648)	543,5 ± 109,9 (274-672)	554,5 ± 125,5 (274-728)							
Kontrolle göre % fark (ort)		4,5	5,5	5,8	4,4	4,3	6,2	p>0,05	p>0,05	0,043	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
Epinefrin-S	16,6 ± 5,3 (8-28)	16,1 ± 5,0 (8-26)	16,8 ± 3,7 (11-24)	17,2 ± 3,6 (11-25)	17,8 ± 5,8 (6-25)	14,8 ± 6,2 (4-28)	14,8 ± 5,9 (7-29)							
Kontrolle göre % fark (ort)		-5,1	0,4	3,3	-1,3	-11,3	-7,0	p>0,05	p>0,05	0,020	0,023	p>0,05	0,037	

(Yeşil dolgulu hücreler anlamlı olarak kontrolden daha yüksek olduğunu göstermektedir.)

(Sarı dolgulu hücreler anlamlı olarak kontrolden daha düşük olduğunu göstermektedir.)

Tablo 11. UMP'nin 6 farklı son konsantrasyonunun ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılan trombosit agregasyonu üzerine etkileri.

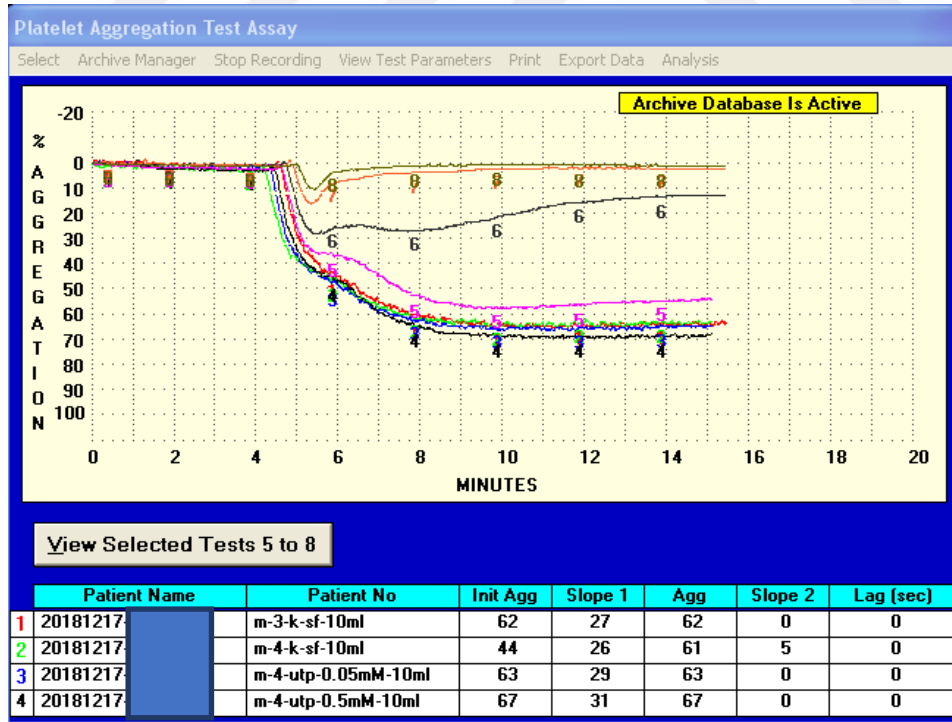
n=8	Kontrol [sf (10 µl)]	UMP (10 µl)						p						
		1 µM	10 µM	50 µM	100 µM	500 µM	1000 µM	k x 1	k x 10	k x 50	k x 100	k x 500	k x 1000	
ADP-MA	59,9 ± 12,7 (33,2-78,6)	65,6 ± 12,8 (44,2-78,6)	64,7 ± 9,3 (46,0-71,6)	63,3 ± 15,7 (39,6-78,6)	67,8 ± 12,7 (48,2-83,2)	66,6 ± 13,1 (50,6-88,0)	62,1 ± 20,4 (21,6-83,2)							
Kontrolde göre % fark (ort)		8,2	7,3	3,4	18,4	15,9	3,4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
ADP-EAA	542,9 ± 124,6 (306-778)	581,6 ± 107,9 (397-698)	573,1 ± 83,6 (402-632)	554,0 ± 142,7 (336-694)	584,3 ± 120,6 (449-778)	573,1 ± 96,5 (452-717)	546,1 ± 178,2 (194-797)							
Kontrolde göre % fark (ort)		7,3	6,3	1,3	12,4	9,4	-1,6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
ADP-S	28,5 ± 5,0 (19-37)	29,7 ± 4,7 (20-35)	30,7 ± 6,8 (18-39)	29,0 ± 6,8 (20-37)	27,3 ± 3,7 (20-30)	32,7 ± 5,9 (27-43)	27,8 ± 3,7 (24-33)							
Kontrolde göre % fark (ort)		3,3	5,8	-0,4	3,0	19,7	1,7	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Kollajen-MA	60,5 ± 14,3 (22,8-78,6)	60,1 ± 20,0 (15,8-82,6)	62,7 ± 23,5 (5,2-84,4)	59,3 ± 20,3 (11,8-78,6)	66,8 ± 7,5 (54,2-82,2)	64,1 ± 7,7 (51,2-79,2)	61,0 ± 7,6 (49,0-72,8)							
Kontrolde göre % fark (ort)		8,6	9,3	3,1	4,5	0,2	-14,6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Kollajen-EAA	569,6 ± 119,6 (200-736)	580,7 ± 124,9 (303-740)	637,5 ± 87,5 (511-765)	587,2 ± 119,4 (384-718)	615,6 ± 71,9 (510-765)	589,3 ± 64,8 (495-721)	555,0 ± 62,0 (462-650)							
Kontrolde göre % fark (ort)		12,3	14,9	5,4	4,4	-0,1	-15,0	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Kollajen-S	28,1 ± 7,6 (12-44)	30,6 ± 13,8 (9-51)	30,4 ± 12,3 (4-50)	28,0 ± 10,9 (4-44)	33,3 ± 5,7 (25-44)	31,3 ± 7,4 (24-47)	28,1 ± 5,7 (21-37)							
Kontrolde göre % fark (ort)		21,5	19,9	9,1	11,2	4,1	-18,9	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-MA	63,3 ± 16,1 (23,4-82,2)	66,8 ± 9,1 (54,8-75,2)	67,8 ± 8,2 (55,4-76,8)	64,9 ± 7,6 (54,8-79,2)	66,1 ± 7,2 (54,8-72,8)	68,7 ± 11,0 (57,6-84,4)	60,7 ± 19,0 (27,4-81,0)							
Kontrolde göre % fark (ort)		24,3	28,9	26,0	0,1	3,8	-8,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-EAA	516,1 ± 137,6 (166-703)	519,0 ± 132,5 (266-645)	540,6 ± 96,1 (399-649)	515,0 ± 90,1 (382-682)	530,2 ± 65,0 (461-596)	573,2 ± 107,9 (439-721)	507,8 ± 158,9 (257-687)							
Kontrolde göre % fark (ort)		11,2	23,1	23,9	-13,4	-8,1	-18,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Epinefrin-S	17,2 ± 7,1 (2-30)	17,3 ± 9,1 (3-29)	18,1 ± 7,3 (6-26)	17,9 ± 8,0 (8-29)	15,9 ± 6,5 (4-23)	16,0 ± 7,8 (1-23)	16,1 ± 6,7 (7-24)							
Kontrolde göre % fark (ort)		8,7	33,4	80,5	-10,1	-11,3	-7,3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Öncelikle kontrol grubunda, her 3 uyarıcı ajanla da normal agregasyon değerleri elde edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelere göre UMP'nin denenen tüm konsantrasyonları, her 3 uyarıcı ajanla elde edilen agregasyon grafiklerinde herhangi bir farklılığa sebep olmamıştır.

UTP özellikle yüksek konsantrasyonlarda ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu bariz biçimde inhibe etmiştir. Düşük konsantrasyonda epinefrin ile uyarılan agregasyonu hafifçe aktive etmiştir.

UDP de UTP'ye benzer biçimde 500 ve 1000 μM son konsantrasyonda ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu inhibe etmiştir. 50 μM son konsantrasyonda ilginç bir biçimde ADP ve epinefrin ile uyarılan agregasyonu hafifçe aktive etmiştir. Üridin ise ilginç bir şekilde düşük konsantrasyonda, yalnızca kollajen ile uyarılan agregasyonu hafifçe aktive etmiştir.

Sonuç olarak üridin ve nükleotidlerinden UTP ve UDP'nin düşük konsantrasyonlarda hafif uyarıcı etkisi gözlenirken, UDP ve özellikle UTP'nin yüksek konsantrasyonlarda bariz inhibe edici etkisi gözlenmiştir (Resim 3)



Resim 3. UTP'nin artan konsantrasyonları ile ADP ile uyarılan agregasyonun bariz bir şekilde inhibe olması

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada öncelikle üridin ve 3 farklı nükleotidinin trombosit agregasyonu üzerindeki etkileri optik agregometre ile araştırılmıştır. Trombositten zengin plazma üzerinde çalışılarak tek bir hücre topluluğu üzerindeki etkiler ortaya konmuştur. Ne üridin ne de nükleotidlerinin tek başlarına agregasyon oluşturmaları gözlenmiştir. Üridinin 10 µM gibi düşük konsantrasyonda kollajen ile uyarılan agregasyonu arttırdığı gösterilmiştir. UMP'nin herhangi bir uyarıcı ajan ile oluşturulan agregasyon üzerinde etkisi gözlenmemiştir. UDP ve özellikle UTP'nin konsantrasyon artışı ile birlikte bariz bir şekilde ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu inhibe ettiği, düşük konsantrasyonlarda epinefrin ile uyarılan agregasyonu aktive ettiği gösterilmiştir.

Bu çalışmada farklı olarak, üridin ve nükleotidlerinin, bir sistem olarak hemostaz üzerindeki etkileri tromboelastogram ile çalışılmıştır. Koagülasyonun, pıhtı oluşumundaki tüm süreçlerin, eritrositler, lökositler ve trombositler arasındaki etkileşimlerin ve pıhtının çözünme sürecinin topluca değerlendirilebildiği tromboelastogram ile tam kanda hemostaz değerlendirilmiştir. Üridin ve UMP'nin tromboelastogram parametrelerinde herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı, fakat, UTP ve UDP'nin neredeyse birbirine zıt etkiler oluşturduğu ortaya konmuştur. UTP'nin daha hipokoagülan bir durum, UDP'nin ise trombosit aktivasyonunu yansıtan daha hiperkoagülan bir durum oluşturduğu gösterilmiştir.

Öncelikle eski yayınlarda trombosit yoğun granüllerinde olduğu gösterilen UDP ve UTP'nin (Prada ve Pletscher, 1970; Traut, 1994) tek başlarına 3 dakika boyunca trombositlerle muamele edilmesine rağmen herhangi bir etkinin gözlenmemesi, bu nükleotidlerin trombositler üzerinde reseptörlerinin olmadığını desteklemektedir. Yoğun granüllerde bulunan diğer moleküllerin (serotonin, histamin, epinefrin, ADP, ATP) hemen hepsinin trombositler üzerinde reseptörleri bulunmakta ve trombositleri aktive edici etkileri bulunmaktadır. Tam tersine UTP ve UDP'nin konsantrasyona bağlı olarak ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu

inhibe etmesi, önceki çalışmalarda UTP'nin P2Y12 reseptör antagonizması üzerinden bu etkilerinin kanıtlanmış olması (Dursun ve ark., 2017), bu urasil nükleotidlerinin yoğun granüllerdeki varlığına şüphe ile bakmaya sebep olmaktadır. Yeni literatür ve derlemelerde UTP ve UDP'ye yoğun granül içeriği olarak yer verilmemesi daha mantıklı gibi görünmektedir.

Gündüz ve ark. yaptıkları çalışmada (2017) UTP ve UTP'nin sülfürlü analoglarının P2Y12 antagonistik etkisini ortaya koymuşlardır. Bu bulgu bizim bulgumuzla örtüşmekte, bulunan konsantrasyonlar birbirine çok benzemektedir. Ayrıca Aslam ve arkadaşları (2013) UTP'nin yanısıra CTP ve GTP'nin de ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyona etkisini gözlemlemişlerdir. ADP'nin tersine UDP'de bu etkiyi gözlenmemiştir.

Bizim çalışmamızdaki en önemli farklardan biri UDP'nin de konsantrasyon artışı ile birlikte ADP ve kollajen ile uyarılan agregasyonu inhibe etmesidir. Tek başına üridin de kollajen ile uyarılan agregasyonu aktive etmiştir. Üridinin etkisi tromboelastogramda gözlenmemiş, fakat UDP'nin etkisi aynı yönde tromboelastogramda da gözlenmiştir. UMP'de etkinin gözlenmemesi, UDP'de biraz UTP'de maksimum etkinin gözlenmesi, eklenen fosfat gruplarıyla antagonistik etkinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bune ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (2010) hipotansif durum modellenmiş ve bu durumda ADP, ATP, UTP'nin sürekli perfüzyonlarının fibrinolitik sistem ve TEG parametreleri üzerinden topluca hemostaz üzerine etkileri değerlendirilmiştir. TEG üzerinde yalnızca ADP'nin hipokoagülan bir etkisi gözlenmiştir. Trombositler üzerinde doğrudan reseptörü bulunan, trombositleri aktive etmesi beklenen ADP'nin böyle ters bir etkiye sebep olması ilginç bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda da UDP'nin trombosit aktivasyonu ile birlikte hiperkoagülan, UTP'nin hipokoagülan etkisi birbirine tamamen zıt ve ilginçtir. Bune ve arkadaşlarının çalışmasına göre (2010) bizim çalışmamız oldukça farklıdır. Domuzlar üzerinde hipotansif şartlar oluşturulup nükleotidlerin perfüzyon şeklinde verilmiştir. Bizim çalışmamızda insanlardan alınan kanlar in vitro olarak 5 dk üridin ve nükleotidleri ile muamele edilmiştir. UTP'nin tromboelastogramdaki hipokoagülan etkisi, agregometrede de desteklenmiştir.

Üridin, dokularda ve kanda serbest olarak veya fosfatlı nükleotid bileşikleri şeklinde bulunmaktadır (Cansev, 2006). İnsanlarda kan dolaşımındaki ana pirimidin bileşiği üridindir (Wurtman ve ark., 2000). Üridin konsantrasyonunun farklı çalışmalarda 3-8 µM arası olduğu bildirilmiştir (Yamamoto ve ark., 2011). Bir pirimidin nükleozidi olan üridin, nükleik asitlerin (RNA) yapısına girerek glikojen biyosentezi, protein ve lipid glikolizasyonu gibi fizyolojik fonksiyonlarda yer almaktadır. Nükleotid reseptörlerinin tanımlanmasıyla, pirimidin nükleozidlerinin hemostazda rollerine açıklık getirilmiştir.

Tromboz ve enflamasyon dahil olmak üzere çeşitli patolojik koşullar altında, hücre dışı nükleotit seviyeleri, hem aktif salım hem de hasarlı veya ölen hücrelerden pasif sızıntı nedeniyle artabilir. Ekstraselüler sıvıda, nükleotitler, hemen hemen tüm dolaşan kan hücreleri ve damar endoteli ve düz kasında bulunan P2 pürinerjik reseptör ailesine ait membran reseptörleri ile etkileşime girer. Trombositlerdeki P2 reseptörlerinin yanısıra (P2Y1, P2Y12 ve P2X1); P2Y2, P2Y6 ve P2X7 reseptörleri, dolaşımdaki kan hücrelerinin ve damar duvarı hücrelerinin çeşitli fonksiyonlarında önemli rol oynayan nükleotidlerin proinflamatuvar etkilerine aracılık eden ana P2 reseptörlerini oluşturur.

Trombosit P2Y12 reseptörü, antitrombotik ilaçlar için belirlenmiş bir hedef iken, P2Y1 ve P2X1 reseptörleri, yeni antitrombotik ajanlar için cazip hedefler oluşturur. P2Y12 reseptörlerinin, ateroskleroz gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Hechler ve Gachet, 2015). Bunun aksine, P2Y12'nin lökosit altkümeleri üzerindeki etkisi ve inflamatuvar hastalıklardaki potansiyel rolü yeteri kadar aydınlatılmamıştır.

Koagülasyonda nötrofiller de rol oynamakta ve şekillenen hücre dışı tuzak yapıları pıhtı oluşumu esnasında etki göstermektedir (Brinkmann ve Zychlinsky, 2012). Nötrofiller ve hücre dışı tuzak yapıları, pıhtılaşma faktörleri ve damar endoteli ile etkileşime girmektedir. Hücre dışı tuzaklar sahip olduğu bakterisidal etki ile patojen üzerine olumsuz etkilidir (Vorobjeva ve Pinegin, 2014). Bu süreç esnasında aktive olan trombositlerin hücre dışı tuzak yapıları oluşumu yönünde nötrofilleri uyarmakta ve böylece venöz trombozlar şekillenmektedir (Brinkmann ve Zychlinsky, 2012). Trombositler üridin 5'-difosfat-glikoz için P2Y14 reseptörünü de eksprese eder, ancak bu reseptörün hemostatik fonksiyonlarda hiçbir rolü yoktur.

P2Y14, immün veya inflamatuvar yanıtlarda fizyolojik bir fonksiyon gören nötrofillerde, dentritik hücrelerde, B lenfosit ve T lenfositlerde de bulunur (Hechler ve Gachet, 2015).

Sonuç olarak üridin ve nükleotidlerinden UTP ve UDP'nin düşük konsantrasyonlarda hafif uyarıcı etkisi gözlenirken, UDP ve özellikle UTP'nin yüksek konsantrasyonlarda bariz inhibe edici etkisi gözlenmiştir. Çalışmamızda literatürde ilk defa tam kanda üridin ve nükleotidlerinin hemostaz parametreleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.



6. KAYNAKLAR

Abbracchio MP, Burnstock G (1994) Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacology & therapeutics* 64(3): 445-475.

Abbracchio MP, Burnstock G, Boeynaems JM et al (2006) International union of pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacological Reviews* 58(3): 281-341.

Adams GL, Manson RJ, Turner I et al (2007) The balance of thrombosis and hemorrhage in surgery. *Hematol Oncol Clin North Am* 21: 13-24.

Agus GB, Bono AV, Mira E et al (1996) Hemostatic efficacy and safety of TachoComb in surgery. Ready to use and rapid hemostatic agent. *Int Surg.* 81: 316–319.

Albert JL, Boyle JP, Roberts JA et al (1997) Regulation of brain capillary endothelial cells by P2Y receptors coupled to Ca⁺² phospholipase C and mitogen-activated protein kinase. *British Journal of Pharmacology* 122: 935-41.

Arslan G, Filipeanu CM, Irenius E et al (2000) P2Y receptors contribute to ATP-induced increase in intracellular calcium in differentiated but not undifferentiated PC12 cells. *Neuropharmacology* 39: 482-96.

Aslam M, Sedding D, Koshty A et al (2013) Nucleoside triphosphates inhibit ADP, collagen, and epinephrine-induced platelet aggregation: Role of P2Y1 and P2Y12 receptors, *Thrombosis Research* 132 (5): 548-557.

Barnes LA (1995) *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Editors: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D, 7th edition, McGraw-Hill Press, New York pp. 4605.

Bennett WD, Olivier KN, Zeman KL et al (1996) Effect of uridine 5'-triphosphate plus amiloride on mucociliary clearance in adult cystic fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 153(6 Pt 1): 1796-801.

Biglarnia AR, Lorant T, Lee HS et al (2009) Liver regeneration is impaired by FK778 in partially hepatectomized rats, while supplemental uridine restores both liver growth and hepatocyte proliferation. *Hepatology Research* 39(1): 86-92.

Bizzozero J (1882) Ueber einen neuen formbestandheil des blutes und dessen rolle bei der thrombose und der blutgerinnung. *Arch Pathol Anat Physiol* 90: 261–332.

Bjoraker DG (1991) The thromboelastograph D coagulation analyzer. *Anesthesiol Review* 18(4): 34-40.

- Brinkmann V, Zychlinsky A (2012) Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *The Journal of Cell Biology* 198(5): 773-83.
- Bulon VV, Krylova IB, Selina EN et al (2014) Antiarrhythmic effect of uridine and uridine-5'-monophosphate in acute myocardial ischemia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 157(6): 728-31.
- Bune LT, Thaning P, Johansson PI et al (2010) Effects of nucleotides and nucleosides on coagulation. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 21: 436–441.
- Burnstock G (2006) Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling. *Pharmacological reviews* 58(1): 58-86.
- Burnstock G (2007) Purine and pyrimidine receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64: 1471-83.
- Burnstock G (2012) Discovery of purinergic signalling, the initial resistance and current explosion of interest. *British journal of pharmacology* 167(2): 238-255.
- Burnstock G, Dale N (2015) Purinergic signalling during development and ageing. *Purinergic signalling* 11(3): 277-305.
- Burnstock G, Kennedy C (1985) Is there a basis for distinguishing two types of P2-purinoceptor? *General Pharmacology*, 16 (5) pp. 433-440.
- Cansev M (2006) Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization. *Brain Research Reviews*, 52 (2): 389-397.
- Cansev M (2007) Involvement of uridine-nucleotide-stimulated P2Y receptors in neuronal growth and function. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 7: 223-229.
- Carlezon WA, Mague SD, Parow AM et al (2005) Antidepressant-like effects of uridine and omega-3 fatty acids are potentiated by combined treatment in rats, *Biological Psychiatry* 57: 343–350.
- Casella JF, Bowers DC, Pelidis MA (1999) Disorders of Coagulation. In Mc Millan JA, De Angelis CD, Fergin RD, Warshaw JB Oski's Pediatrics (4th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 1472-1481.
- Celkan T (2003) Trombosit Fonksiyon Bozuklukları ve Vaskuler Nedenli Kanamalar, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Kanama ve Tromboza Eğilim Sempozyum Dizisi, s: 37-60.
- Celkan T, Demirel A (2005) Enfeksiyon ve Koagülasyon. *Türk Pediatri Arşivi* 40: 59-67.
- Chan AK, Paredes N (2013) The coagulation system in humans. *Methods Mol Biol*; 992:3-12.

Ciana P, Fumagalli M, Trincavelli ML et al (2006) The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor. *The EMBO Journal*, 25: 461-527.

Clemetson, Kenneth J (2012) Platelets and primary haemostasis. *Thrombosis Research* 129(3): 220-22.

Coller BS (1984) Biochemical and electrostatic consideration in primary platelet aggregation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 416: 693-708.

Colman RW, Clowes AW, George JN (2001) Overview of hemostasis. In Colman RW, Hirsh J, Marder VJ: *Hemostasis and Thrombosis*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp 3-16.

Colman RW, Hirsh J, Marder VJ et al (2004) Editors. *Hemostasis and thrombosis; basic principles and clinical practice*. 4th ed. Philadelphia; Lippincott Williams, pp: 381-400.

Connolly GP, Duley JA (1999) Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potential. *Trends in Pharmacological Sciences*, 20: 218-226.

Della VP, Crippa L, Garlando AM et al (1999) Interference of lupus anticoagulants in prothrombin time assays: implications for selection of adequate methods to optimize the management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *Haematologica* 84: 1065-1074.

Diethorn ML, Weld LM (1989) Physiologic mechanism of hemostasis and fibrinolysis. *J Cardiovasc Nurs* 4: 1-10.

Dinardo JA, Zvara DA (2002) *Anaesthesia for cardiac surgery*. 3rd edition. 75-77.

Dobolyi A, Juhasz G, Kovacs Z et al (2011) Uridine function in the central nervous system. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 11(8): 1058-67.

Erb L, Weisman GA (2012) Coupling of P2Y receptors to G proteins and other signaling pathways. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling* 1(6): 789-803.

Erlinge D, Burnstock G (2008) P2 receptors in cardiovascular regulation and disease. *Purinergic signalling* 4(1): 1-20.

Frantz VK (1943) Absorbable cotton, paper and gauze: (Oxidized cellulose) *Annals of Surgery* 118: 116-26.

Gawaz M (2001) *Blood Platelet* Editor: George Thieme Verlag Academic Press, Stuttgart pp: 4-35.

Geiger A, Yamasaki S (1956) Cytidine and uridine requirement of the brain. *Journal of Neurochemistry* 1: 93-100.

Gezer S (2012) Koagülasyon testlerinin klinikte kullanımı. Türk Hematoloji Derneği s: 8-23.

Ghosal S, Taylor CJ, Colledge WH et al (2000) Sodium channel blockers and uridine triphosphate: effects on nasal potential difference in cystic fibrosis mice. European Respiratory Society 15(1): 146-50.

Gibellini F, Smith TK (2010) The Kennedy pathway-de novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. IUBMB Life, 62(6): 414–428.

Gresele P, Page CP, Fuster V et al (2002) Platelets in Thrombotic and Non-thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics. Cambridge University Press, Cambridge.

Guyton AC, Hall JE (2007) Textbook of Medical Physiology (Tıbbi Fizyoloji) Çeviren: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, 11. basım, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, s: 457-467.

Gündüz D, Tanislav C, Sedding D et al (2017). Uridine Triphosphate Thio Analogues Inhibit Platelet P2Y12 Receptor and Aggregation. Uluslararası moleküler bilimler dergisi 18(2): 269.

Gürdöl F, Ademoğlu E (2010) Biyokimya. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi 511-519.

Gürsel T (2005) Von Willebrand hastalığı. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences 1: 48-56.

Hathcock J (2004) Vascular biology: The role of tissue factor. Semin Hematol 41: 30-34.

Hechler B, Gachet C (2015) Purinergic receptors in thrombosis and inflammation. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 35(11): 2307-2315.

Hoffman R, Benz E, Shattil SJ et al (2005) Hoffman: Hematology: Basic Principles and Practice. 4th ed. Elsevier, Philadelphia.

Holguin S, Martinez J, Chow C et al (2008) Dietary uridine enhances the improvement in learning and memory produced by administering DHA to gerbils. FASEB Journal, 22(11): 3938-46.

Holt JC, Harris ME, Holt AM et al (1986) Characterization of human platelet basic protein, a precursor form of low-affinity platelet factor 4 and beta-thromboglobulin. Biochemistry, 25(8): 1988-1996.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Nucleotides.png>

https://en.wikibooks.org/wiki/General_Genetics/Structure_of_the_DNA_Molecule

<https://library.med.utah.edu/NetBiochem/pupyr/pupy11.gif>

Jacobson KA, Costanzi S, Joshi BV et al. (2006) Agonists and antagonists for P2 receptors. *Novartis Found Symp*; 276: 58-68.

Jarvis GE (2004) Platelet Aggregation: Turbidimetric Measurements. In: Gibbins, JM, Mahaut-Smith MP, eds. *Platelets and Megakaryocytes: Volume 1, Functional Assays*. Humana Press, New Jersey s: 65–76.

Joule JA, Smith GF (1972) *Heterocyclic chemistry*. Van Nostrand Reinhold, California Üniversitesi, pp: 120-128

Kayaalp O (1998) Rasyonel Tedavi Yönünden, Tıbbi Farmakoloji. 8. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, 588-620.

Kondo DG, Sung YH, Hellem TL et al (2011) Open-label uridine for treatment of depressed adolescents with bipolar disorder. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology* 21: 171–175.

Kügelgen VI (2006) Pharmacological profiles of cloned mammalian P2Y-receptor subtypes. *Pharmacology & therapeutics* 110 (3): 415-432.

Laffan M (2012) Platelet aggregation, *Practical Haematology* (Lewis), 11. Edition, 396-398.

Lanzkowsky P (2000) *Hemostasis Pediatric Hematology and Oncology* gi ed.). San Diego: Academic Press 287-331.

Larson PO (1988) Topical hemostatic agents for dermatologic surgery. *The Journal of dermatologic surgery and oncology* 14: 623-32.

Lee GR, Bithall TC, Foerster J (1993) *Wintrobe's Clinical Hematology* 9.Baskı, Philadelphia-London.

Linden MD (2013) Platelet physiology. *Methods Mol Biol*; 992: 13-30.

Mallett SV, Cox JA (1992) Thromboelastography. *British Journal of Anaesthesia* 69: 307-313.

Marilyn J, Johnson M (1996) Hemostasis and Bleeding Disorders. In Rudolph AM, Hoffman JIE, Rudolph CD (eds). *Rudolph's Pediatrics* ooh ed.). Connecticut: Appleton and Lange 1236-51.

Michelson AD edt (2007) *Platelets, Second Edition*. Elsevier, Philadelphia.

Müftüoğlu E (1994) Hemostaz Klinik Hematoloji. Diyarbakır: Şahin yayıncılık 501-507.

Nelson DL, Cox MM (2013) *Lehninger Principles of Biochemistry*. Çeviren: Elçin YM, 5. Baskı, Palme yayınları, Ankara s: 271-302.

Nishimura A, Sunggip C, Oda S et al (2017) Purinergic P2Y receptors: Molecular diversity and implications for treatment of cardiovascular diseases. *Pharmacology & therapeutics*, 180: 113-128.

Ocalan B, Cakir A, Koc C et al (2019) Uridine treatment prevents REM sleep deprivation-induced learning and memory impairment, *Neuroscience Research*

Offermanns S (2000) The role of heterotrimeric G proteins in platelet activation. *Journal of Biological Chemistry* 381: 389-389.

Pekcan M, Eryilmaz M (2006) Travma olgularında güncel hemostaz seçenekleri. *GESDAV Bilimsel Yayınları* 1: 34-5.

Prada M, Pletscher A (1970) Identification of Guanosine 5'-Triphosphate and Uridine 5'-Triphosphate in Subcellular Monoamine-Storage Organelles *Biochem J* 119: 117-119.

Pusateri AE, Holcomb JB, Kheirabadi BS et al (2006) Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *Journal of Trauma* 60: 674-82.

Quick AJ (1966) Salicylates and bleeding: the aspirin tolerance test. *The American Journal of the Medical Sciences* 252: 265-9.

Rafehi M, Müller CE (2018) Tools and drugs for uracil nucleotide-activated P2Y receptors. *Pharmacology & therapeutics* 190: 24-80.

Rains AJ, Capper WM (1965) *Short Practice of Surgery*. London: H. K. Lewis & Co. Ltd; pp. 71-73.

Roberts HR, Monroe DM, Escobar MA (2004) Current concepts of hemostasis. *Anesthesiology* 100: 722-730.

Sağdılek E (2010) Çok düşük frekanslı ve zayıf elektromanyetik alanların trombosit agregasyonu üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi, İzmir*.

Schelling G, Block T, Gokel M et al (1988) Application of a fibrinogen-thrombin-collagen-based hemostatic agent in experimental injuries of liver and spleen. *Journal of Trauma* 28: 472-475.

Schenone M, Furie BC, Furie B (2004) The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol* 11: 272-277.

Scoop IW, Frederics F (1958) Dental extraction in patients undergoing anticoagulant therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology* 11: 470-74.

Sener A, Ozsavcı D, Oba R et al (2005) Do Platelet Apoptosis, activation and Lipid peroxidation and platelet-leukocyte aggregate formation Simultaneously in Hypercholesterolemia *Clinical Biochemistry* 38: 1081-1087.

Smith EL, Hill RL, Lehman IR et al (1983) Principles of Biochemistry-Mamalian Biochemistry. 7th Ed., Mc Graw Hill Book Company, New York, 32-33.

Srinivasa V, Gilbertson IL, Bhavani-Shankar K (2001) Thromboelastography: Where Is It and Where Is It Heading? International Anesthesiology Clinics 39(1): 35-49.

Stenberg PE, Hill RJ (1999) Platelets and Megakaryocytes. Wintrobe's Clinical Haematology Editors: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. 10th edition. MASS 63 publishing. Vol 1, 615-660. Thrombosis and Hemostasis, 1: 103-113.

Suzuki T, Obara Y, Moriya T et al (2011) Functional interaction between purinergic receptors: Effect of ligands for A2A and P2Y12 receptors on P2Y1 receptor function. FEBS Letters; 585: 3978–3984.

Szanto T, Joutsu-Korhonen L, Deckmyn H et al (2012) New insights into von Willebrand disease and platelet function. In Seminars in Thrombosis and Hemostasis 38(1): 55-63.

Tanaka KA, Key NS, Levy JH (2009) Blood Coagulation: Hemostasis and Thrombin Regulation. Anesthesia & Analgesia 1433-46.

Traut TW (1994) Physiological concentrations of purine and pyrimidines. Molecular and Cellular Biochemistry 140: 1-22.

Traut TW, Jones ME (1996) Uracil metabolism UMP synthesis from orotic acid or uridine and conversion of uracil to beta-alanine: enzymes and cDNAs. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology 53: 1-78.

Ulugöl A, Dökmeci İ (1990) Purinerjik Reseptörler Balkan Medical Journal 5: 441-447.

Ulutin ON (1986) Atherosclerosis and hemostasis. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 12: 156-174.

Ulutin ON (1991) Hemostasis and Atherosclerosis. Recently advances in blood coagulation. Editör: L Poller Churchill Livingstone, New York, 53-78.

Venema RC, Sayegh HS, Arnal JF et al (1995) Role of the enzyme calmoduline-binding domain in membrane association and phospholipid inhibition of endothelial nitric oxide synthase. Journal of Biological Chemistry 270: 14705-711.

Vig S, Chitolie A, Bevan DH et al (2001) Thromboelastography: a reliable test? Blood Coagulation Fibrinolysis. 12: 555-561.

Virmani R (2001) Experimental data critical perspective on drug eluting stents. 7th loca drug delivery meeting and cardiovascular course on radiation and molecular strategies, Cenevre, İsviçre.

- Vorobjeva NV, Pinegin BV (2014) Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Moscow)* 79(12): 1286-96.
- White JG, Gerrard JM (1976) Ultrastructural Features of abnormal blood platelets. *The American Journal of Pathology* 83: 590-614.
- Whiting D, DiNardo JA (2014) TEG and ROTEM: Technology and clinical applications. *American Journal of Hematology* 89(2): 228–232.
- Widmaier EP, Raff H, Stang KT (2014) *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. Mc Graw Hill Çeviren: Tuncay Özgünen
- Wihlborg AK, Balogh J, Wang L et al (2006) Positive inotropic effects by uridine triphosphate (UTP) and uridine diphosphate (UDP) via P2Y2 and P2Y6 receptors on cardiomyocytes and release of UTP in man during myocardial infarction. *Circulation Research* 98 (7): 970-6.
- Wintrobe MM (1992) *Clinical Hematology*. Philadelphia, s.3381-3383, 387- 390.
- Wu KK (1992) Endothelial cells in hemostasis, thrombosis and inflammation. *Hospital Practice* 27: 145-150.
- Wurtman RJ (2014) A Nutrient Combination that Can Affect Synapse Formation Nutrients. 6(4): 1701–1710.
- Wurtman RJ, Cansev M, Sakamoto T et al (2010) Nutritional modifiers of aging brain function: Increasing the formation of brain synapses by administering uridine and other phosphatide precursors. *Nutrition Review* 68(Suppl 2): S88–101.
- Wurtman RJ, Regan M, Ulus I et al (2000) Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochemical Pharmacology* 60(7): 989-92.
- Yakar K (2000) *Fizyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi pp. 77-91.
- Yamamoto T, Koyama H, Kurajoh M et al (2011) Biochemistry of uridine in plasma. *Clinica Chimica Acta* 412: 1712-1724.
- Youssefian T, Masse' JM, Rendu F et al. (1997) Platelet and Megakaryocyte Dense Granules Contain Glycoproteins Ib and IIb-IIIa. *Blood* 89(11): 4047-4057.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

AA: Araşidonik asit
AC: Adenilat siklaz
ADP: Adenozin difosfat
ATIII: Antitrombin III
ATP: Adenozin- 5'-trifosfat
cAMP: Siklik adenozin monofosfat
CDP: Sitidin di-fosfat
CMP: Sitidin monofosfat
CTP: Sitidin-5'-trifosfat
DAG: Diaçilgliserol
DHA: Dokosaheksaenoik asit
DF: Doku faktörü
DFYİ: Doku faktör yolu inhibitörü
DNA: Deoksi ribonükleik asit
dTMP: deoksi timidin monofosfat
dUMP: deoksi üridin monofosfat
GP: Glikoprotein
IP3: İnositol trifosfat
PAF: Platelet activator factor
PKC: Protein kinaz C
PLC: Fosfolipaz C
PS: Fosfotidilserin
REM: Rapid eyes movement
RNA: Ribo nükleik asit
TEG: Tromboelastogram
tPA: Doku plazminojen aktivatörü
TXA2: Tromboksan A2
UDP: Üridin difosfat
UDP-galaktoz: Üridin difosfat-galaktoz
UDP-glukoz: Üridin difosfat-glukoz
UMP: Üridin monofosfat
uPA: Ürokinaz plazminojen aktivatörü
UTP: Üridin-5'-trifosfat
VASP: Vazodilatör fosforilasyon proteini
vWF: von villebrand faktör

8. TEŞEKKÜR

Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimi aldığım süre boyunca sürekli desteği ile yanımda olan bilgi, deneyim ve tecrübelerine her zaman başvurduğum Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK hocama; bana her açıdan yol gösteren, desteğini esirgemeyen, bilimsel disiplin ve çalışma prensibini, karakterini, insan ilişkilerini örnek aldığım, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum hoşgörülü, güleryüzlü danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Engin SAĞDİLEK hocama; çalışmanın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Mehmet CANSEV hocama; Fizyoloji Anabilim Dalı'nda olmaktan gurur duyduğum herbirinden ayrı ayrı çok büyük destekler gördüğüm, bilgilerini cömertçe paylaşan, özveri ile çalışan Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Naciye İŞBİL, Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ, Prof. Dr. Tülin ALKAN, Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER, Doç. Dr. Bülent GÖREN'e ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli çalışanlarına; tez çalışmamın deney kısmında büyük katkıları olan İmmünoloji laboratuvarı çalışanlarına ve deneylere dahil olan tüm arkadaş çevreme; beni bugünlere getiren, beni destekleyen, motive eden, her zaman arkamda olan aileme teşekkürü borç bilirim.

9. ÖZGEÇMİŞ

9 Eylül 1989 tarihinde Bursa Karacabey’de doğdu. Orta öğrenimini Bursa Karacabey Atatürk İlköğretim Okulu’nda, lise öğrenimini Bursa Karacabey Anadolu Lisesi’nde tamamladıktan sonra 2007 yılında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü’nü kazandı. 2012 yılı itibariyle hastane ve rehabilitasyon merkezlerinde fizyoterapist olarak görev almaktadır.



BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Merve ARI
Tez Adı	Üridin ve Nükleotidlerinin Hemostaz Parametreleri Üzerine Etkileri
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Fizyoloji
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışmanı	Dr. Öğr. Üyesi Engin SAĞDİLEK
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) İzni Kısıtlama	Patent Kısıt (2 yıl) Genel Kısıt (6 ay) Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum.

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih : 06.08.2019

İmza :