

171781

T.C.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**LEPTOSPIROZİS TANILI HASTALARDA BİR İNFLAMASYON
BELİRTECİ OLARAK
SOLUBL P-SELEKTİN SEVİYESİ**

Dr. Müge USTAOĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet TURGUT**

SAMSUN 2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
• TABLO LİSTESİ	III
• ŞEKİL LİSTESİ	III
• ÖZET	IV
• ABSTRACT	VI
• GİRİŞ VE AMAC	1
• GENEL BİLGİLER	2
• GEREÇ VE YÖNTEM	15
• SONUÇLAR	17
• TARTIŞMA	23
• KAYNAKLAR	27

• TABLO LİSTESİ:

	Sayfa
TABLO I. Çalışmaya dahil edilen grupların demografik özellikleri	17
TABLO II. Hasta ve kontrol grubunun serum sPsel seviyeleri	17
TABLO III. Çalışmaya dahil edilen grupların laboratuar parametreleri	18

• ŞEKİL LİSTESİ:

Şekil 1. Hasta ve kontrol gruplarının ortalama serum sPsel seviyeleri	19
Şekil 2. Hasta ve kontrol gruplarının serum sPsel seviyelerinin cinsiyete göre dağılımı	19
Şekil 3. Hasta sPsel seviyesi ile trombosit sayısı arasındaki ilişki	20
Şekil 4. Hasta sPsel seviyesi ile lökosit sayısı arasındaki ilişki	21
Şekil 5. Hasta sPsel seviyesi ile serum kreatinin seviyesi arasındaki ilişki	21
Şekil 6. Hastalarda ortalama sPsel değerinin cinsiyetlere göre dağılımı	22

ÖZET

Leptospirozis, özellikle tropikal bölgelerde daha belirgin olmak üzere tüm dünyada yaygın görülen spiroketal bir zoonozdur. Hafif febril hastalıktan şiddetli, bazen ölümcül ikterik hastalığa kadar değişen geniş bir klinik spektruma sahiptir. Hematolojik bulgulara da sıkça rastlanır, en sık trombositopeni görülür. Trombositopenin gelişim mekanizması net değildir. Artmış trombosit klirensi sorumlu tutulmaktadır. Leptospiroziste temel patoloji kapiller vasküllittir. Birçok arteryel hastalıkta aktive trombositler anahtar rol oynar. P-selektin endotelyal hücrelerde de bulunan aktivasyon bağımlı bir trombosit reseptöridür. Aynı zamanda tromboz ve inflamasyon sırasında multisellüler etkileşimlerde hayatı rol oynayan bir adhezyon molekülüdür. Biz bu çalışmada, leptospirozis tanılı 21 hastada ve 21 sağlıklı insanda R&D sistemine ait ELISA kiti ile serum solubl P-selektin (sPsel) seviyelerine baktik, klinik ve laboratuar parametreleri arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Çalışmaya yaş ortalamaları $49,2 \pm 17,2$ yıl olan 15' i erkek (%71), 6'sı kadın (%29) olmak üzere toplam 21 leptospirozis tanılı hasta ve yaş ortalamaları $50,7 \pm 13,6$ yıl olan 16'sı erkek (%76), 5' i kadın (%24) olan toplam 21 sağlıklı insan alındı. Leptospirozis tanılı hastalarda ortalama sPsel seviyesi ($479,3 \pm 195,1$ ng/ml) kontrol grubundakinden ($97,9 \pm 30,7$ ng/ml) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$). Hastaların sPsel seviyeleri ile trombosit sayıları arasında anlamlı bir negatif ilişki saptandı ($p < 0,001$). Serum sPsel seviyeleri ile lökosit sayısı ve kreatinin düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Klinik olarak kanamalı hastaların ortalama sPsel seviyeleri $528,3 \pm 311,8$ ng/ml iken kanama gözlenmeyen hastaların ortalama sPsel seviyeleri $471,1 \pm 181,3$ ng/ml olarak bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Sepsisli hastaların ortalama sPsel seviyeleri $488,9 \pm 188,9$ ng/ml iken sepsis

bulguları gözlenmeyen hastaların ortalama sPsel seviyeleri $460\pm219,5$ ng/ml olarak bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Sonuç olarak, bu çalışma leptospirozisli hastalarda serum P-selektin seviyesinin belirgin olarak arttığını ve bu artışın trombositopenik hastalarda daha belirgin olduğunu göstermiştir. Leptospirozisli hastalarda iyi organize edilmiş ve daha ayrıntılı yöntemler (flowsitometri, mikropartikül ölçümlü gibi) kullanılarak yapılacak çalışmalar hastalığın patogenezinin önemli katkılarda bulunacaktır.

ABSTRACT

Leptospirosis is a spirochetal zoonosis commonly seen throughout the world, especially in tropics. Disease spectrum varies from a mild febrile disease to fulminant, occasionally fatal icteric disease. Most common hematological manifestation is thrombocytopenia. The mechanism of thrombocytopenia is still unknown. Increased thrombocyte clearance may be responsible. In leptospirosis, basic pathology is capillary vasculitis. In many arterial diseases, activated thrombocytes play an important role. P-selectin is an activation-dependent thrombocyte receptor which is also found in endothelial cells. It is also an adhesion molecule that mediates multicellular interactions seen in thrombosis and inflammation. In this study, we investigate the relationship between soluble P-selectin (sPsel) levels and clinical and laboratory parameters in 21 leptospirosis and 21 control patients by using R&D ELISA kit.

Twenty-one leptospirosis patients (15 male, 6 female), with a median age of $49,2 \pm 17,2$ years and 21 control patients (16 male, 5 female), with a median age of $50,7 \pm 13,6$ years were enrolled. The sPsel levels in leptospirosis patients was higher than that of control group ($p < 0,001$). There was a negative correlation between sPsel levels and thrombocyte count. There was no statistically significant relationship between sPsel levels and leukocyte and serum creatinine. The mean sPsel levels of patients with hemorrhage was $528,3 \pm 311,8$ ng/ml, whereas the mean sPsel levels of patients without hemorrhage was $471,1 \pm 181,3$ ng/ml, and there was no statistically significant difference ($p > 0,05$). The mean sPsel levels of patients with sepsis was $488,9 \pm 188,9$ ng/ml, whereas the mean sPsel levels of patients without sepsis was

$460 \pm 219,5$ ng/ml, and there was no statistically significant difference ($p > 0,05$).

In conclusion, sPsel levels significantly increase in leptospirosis and this increase is more prominent in patients with thrombocytopenia. Well-organized and more detailed (flow cytometry, microparticule detection) futher studies are required to understand the pathogenesis of the disease.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Leptospirozis, leptospiraların neden olduğu son on yılda sıklığı artan spiroketal bir zoonozdur. Asemptomatik veya hafif febril hastalıktan ölümcül, böbrek yetmezliği ile seyreden ikterik hastalığa (Weil hastalığı) kadar değişen klinik spektruma sahiptir. Hematolojik bulgulara sıkılıkla rastlanır. En sık görülen hematolojik bulgu ise trombositopenidir (%40-86,6). Leptosiroziste temel patoloji kapiller vasküllittir. Trombositler hemostazın en önemli hücresidir. Damar bütünlüğünde bozulma, endotel hasarı ve endotel aktivasyonu (enfeksiyonlarda olduğu gibi) sonucu subendotelyal dokuya yapışır ve diğer trombositlerle agregat oluşturarak vasküler bütünlüğü korur. Son yıllarda trombositlerin aynı zamanda inflamasyonda da rol oynadığı gösterilmiştir. P-selektin aktivasyon bağımlı bir trombosit reseptörü olup aynı zamanda endotel hücrelerinde (Weibel Palade cisimcikleri) de bulunur. Tromboz ve inflamasyonda rol oynayan bir adhezyon molekülüdür.

Daha önce birçok patolojik durum (ateroskleroz, diyabet, inme, enfeksiyon gibi) ile serum P-selektin seviyesi arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmışmasına rağmen, temel patojenik mekanizması vaskülit olan leptospiral infeksiyonlarda bu ilişki irdelenmemiştir. Biz bu çalışmada, leptospiral infeksiyon sırasında P-selektin seviyesini analiz etmeyi, diğer klinik ve laboratuar parametreleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. P-SELEKTİN

P-selektin, uyarılmamış trombositlerin alfa granüllerinde ve endotel hücrelerinde (Weibel-Plade cisimcikleri) bulunan bir adhezyon molekülüdür (1). 1980'li yılların başında trombin ile aktive edilen trombositlerin yüzey proteinlerinin monoklonal antikor kullanılarak incelenmesi sonucu tespit edilen 140 kilodalton molekül ağırlığında bir glikoproteindir. İlk bulunduğu dönemde trombotit bağımlı eksternal granül membran (PADGEM), CD62P veya GMP-140 olarak, daha sonra P-selektin olarak isimlendirilmiştir (2,3). İstirahat halindeki trombositlerin yüzeyinde bulunmamaktadır. Bulunduğu dönemde görevi tam olarak anlaşılmayan bu proteinin, 1980'li yılların sonunda selektin ailesinin üyesi olan bir adhezyon molekülü olduğu (4), 1990'lı yıllarda ise trombüs oluşumu ve prokoagulan mikropartiküllerle ilişkisi anlaşılmıştır (5).

P-selektin, hücre uyarılması ile plazma membranına lokalize olan bir adhezyon molekülüdür. Uyarılmış trombositler ve endotel hücrelerinin, P-selektin ligandı taşıyan lökositlerle etkileşimini sağlar.

Uzun yıllar P-selektinin ligandının ne olduğu bilinmemektedir. İlk olarak 1992 yılında P-selektinin spesifik bir glikoprotein ligandi lökositlerin yüzeyinde gösterildi ve P-selektin glikoprotein ligand-1 (PSGL-1) olarak adlandırıldı (6). Ayrıca nonhematopoetik hücreler ve bazı kanser hücreleri de PSGL-1 eksprese edebilir (7). PSGL-1, E ve L-selektin için de bir ligand olup lökositlerin endotel hücreleri üzerinde yuvarlanması aracılık eder (8,9).

Son günlerde, P-selektinin önemli bir hastalık belirteci olduğu öne sürülmüştür. P-selektin ve PSGL-1, tromboz ve inflamasyon sırasında

görülen hücreler arası etkileşimde hayatı rol oynarlar. Diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında, P-selektin trombosit aktivasyon durumunu değerlendirmede kullanılabilir. P-selektin koroner arter hastalığı, inme, diyabet ve malignitelerdeki etyopatogenezin açıklanmasında oldukça kritik bir öneme sahip olacaktır (7).

2.1.1. SELEKTİNLERİN YAPILARI VE FONKSİYONLARI

Lektinler karbonhidrat bağlayan proteinlerdir. Bu ailedeki proteinler bağlandıkları yerlere göre birçok altgruba ayrılmıştır: C-tip lektin (kalsiyum), S-tip lektin (serbest thiol grupları), P-tip lektin (mannoz-fosfat), I-tip lektin (immunglobulin ailesi). Selektin C-tip lektinlerin bir üyesidir, trombositler ve lökositlerin vasküler yüzeylere adhezyonuna aracılık eder (7).

Üç tip selektin vardır; P, L ve E selektin. L-selektin lökositler üzerinde, E-selektin sadece aktive endotel hücreleri yüzeyinde, P-selektin ise aktive trombositlerin ve endotel hücrelerinin yüzeyinde eksprese olur. Bu üç selektin de PSGL-1'e bağlanabilir; ancak P ve L-selektinler daha güçlü bağlanır (10). P ve L-selektinler primer olarak kan akımındaki lökositlerin endotele tutunmasından sorumludur, aynı zamanda lökositlerin endotel üzerinde yuvarlanması ve takiben aktivasyonunu da destekler. E ve P-selektinler, lökositlerin endotelyal hücrelere tutunmasını sağlarlar. E-selektin, özellikle P ve L-selektin tarafından endotele tutturulmuş olan lökositlerin yavaşlatılmasında önemli rol oynar (11). Kan akımındaki aktive trombositler hızla lökositlerle ilişkiye girer ve damar duvarında beraber yuvarlanırlar (12,13). İnflamasyonda aktive trombositler endotel ile etkileşime girer ve lökositlerin toplanmasına yardımcı olurlar (14,15). Nötrofillerin

inflamasyon bölgesine göçünde ve damar duvarına infiltrasyonunda bu adhezyon molekülleri hayatı rol oynar (16).

Yeni sentezlenmiş P-selektin, ilk olarak endotel hücrelerinin Weibel-Palade cisimciklerine transfer edilir. Histamin ve trombin gibi inflamatuar mediatörler tarafından uyarılınca bu depo granülleri plazma membranına yapışır. Bu sayede de P-selektin süratle hücre yüzeyine lokalize olmuş olur. Uyarıdan 3-4 dakika sonra, P-selektin endotelyal hücre yüzeyinde pik seviyeye ulaşır ve daha sonra 30 dakika içerisinde de bazal seviyeye döner (17). Trombositlerle damar duvarı arasındaki etkileşime aracılık eden diğer bir trombosit reseptörü de, P-selektin için bir ligand olan glikoprotein Ib' dir (18). Weibel Palade cisimciklerinde P-selektin von Willebrand faktör ile birlikte depolanır. Trombositler von Willebrand faktör aracılığıyla aktive endotelde yer değiştirirler, bunu da von Willebrand faktör reseptörü olan glikoprotein Ib' yi kullanarak gerçekleştirirler. Dolayısıyla P-selektin ekspresyonundaki artış von Willebrand faktör salınımıyla birlikte olur. Kompleman aktivasyonu sonucunda çok yüksek molekül ağırlıklı von Willebrand faktör multimerleri salınır. Bu esnada endotel hücre yüzeyinde P-selektin ekspresyonu görülür. P-selektinin von Willebrand faktör multimerlerini endotel hücre yüzeyine bağlayan bir çapa görevi gördüğü öne sürülmüştür (19). Endotel yüzeyine herhangi bir molekülün yapışabilmesi için selektinlerin yüzeye eksprese olmaları ve adhezyonu koordine etmeleri gereklidir (20).

P-selektin trombüste fibrin miktarını belirgin olarak artırmakta ve sistemik koagülasyon potansiyelini güçlendirmektedir. İlk kez 1992 yılında P-selektinin trombüste fibrin birikimini etkilediği gösterilmiştir (21). Lökosit yüzeyinde bulunan PSGL-1 trombosit yüzeyinde bulunan P-selektin ile etkileşime girince lökosit kaynaklı mikropartiküller oluşmaya başlar. Bu mikropartiküllerin yüzeyinde yoğun miktarda doku

faktörü bulunmaktadır. Bu da, koagülasyonun güçlenmesine ve fibrin oluşumunun artmasına neden olur. Önceleri efektif fibrin oluşumu için lökositlerin toplanması gerekli gibi görünülmektedir. Simdilerde azalmış fibrin oluşumundan sorumlu primer faktörün, lökosit kökenli mikropartiküllerin toplanmasının inhibisyonunun daha muhtemel olduğu düşünülmektedir (22). P-selektinin ekspresyon düzeyi fibrin depozitini ve oluşan trombüs boyutunu kontrol eder (23). Peki, P-selektin koagülasyonu nasıl etkilemektedir? Bu büyük oranda, yüzeyinde doku faktörü eksprese eden lökosit kökenli mikropartiküllere bağlıdır. Mikropartiküllerin dolaşımından uzaklaştırılması plazma pihtlaşma zamanını uzatır. P-selektin prokoagulan mikropartikül oluşumunu da indükler (24). Sadece travma bölgesine fibrin birikimini sağlamaz, ayrıca koagülasyon potansiyelini sistematik olarak arttırır (23).

Doku faktörü, hemostazi başlatan bir transmembran proteindir. Faktör IX ve X' un aktivasyonuna, ardından trombin üretimine yol açan koagülasyonun ekstrensik yolağının önemli bir komponentidir. Doku faktörü monositlerin ve endotelyal hücrelerin yüzeyinde sadece induksiyondan sonra eksprese olurken, non-vasküler hücrelerin yüzeyinde daima eksprese olur. İnvitro olarak monositlerde doku faktörü ekspresyonunu indükleme yeteneğine olan ajanlar içinde P-selektin gösterilmiştir. Mikropartiküllerin doku faktörü aktivitesi trombüsün gelişimini etkiler; doku faktörü inhibitörleri trombüsün boyutunu bariz bir şekilde azaltır (25). Mikropartikül fonksiyonları hakkında çoğu görüş belirsiz olmasına rağmen; koagülasyonda, inflamasyonda ve vasküler fonksiyonda (prostaglandin ekspresyonu gibi) önemli bir rol oynadığı ispatlanmıştır (26). Koagülasyonda P-selektin eksprese eden trombosit kökenli mikropartiküller muhtemelen monositler üzerinde, lökosit kökenli mikropartiküller ise endotelyal hücreler üzerinde doku faktörü ekspresyonunu indükler. P-selektin eksprese edebilen endotelyal

mikropartiküllerin, monositler üzerinde doku faktörü ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (27). Prokoagulan mikropartikül oluşum derecesinin plazmadaki P-selektin miktarı ile uyumlu olduğu görülmektedir. Aktive trombositlerden veya endotelyal hücrelerden atılan P-selektin miktarı travma derecesini yansıtır (28,29).

2.1.2. P-SELEKTİNİN LABORATUAR ANALİZİ

Klinikte P-selektin analizi pratik olarak iki şekilde yapılmaktadır; trombosit P-selektininin ölçümü, solubl P-selektininin ölçümü.

2.1.2.1. Trombosit P-selektin:

Trombositlerin yüzeyinde bulunan P-selektin (CD62P) flowsitometrik olarak tespit edilebilir (30). Sonuçların çok süratli ve doğru bir şekilde elde edilmesi gibi avantajlarının yanında bazı dezavantajları da vardır (31,32).

Trombosit aktivasyon durumunun değerlendirilebilmesi için tam kanın çalışılması gereklidir. Trombosit izolasyonu esnasında aktivasyonun önlenmesi şarttır. Trombositten zengin plazmadan ölçülen P-selektin seviyesi tam kan analizine göre yüksek çıkmaktadır (33).

2.1.2.2. Solubl P-selektin (sPsel):

P-selektin trombosit membran reseptörü olmasının yanı sıra aynı zamanda dolaşan bir plazma proteinidir. Normal plazmada, cinsiyetler arasında konsantrasyon farkı vardır, sPsel düzeyi erkeklerde daha yüksektir (34,35). Fizyolojik olarak oluşmasını sağlayan en önemli etken trombositlerdir, dolayısıyla basal P-selektin değerleri tamamen trombositlerden atılan P-selektin miktarlarına bağlıdır. Trombosit sayısı ile sPsel konsantrasyonları arasındaki pozitif korelasyon bu hipotezi desteklemektedir. Fizyolojik şartlarda çok az da olsa endotel hücrelerinden sPsel salınır (36). P-selektinin hücrelerden nasıl atıldığı

net bilinmemektedir. Kesin kanıtlanmamakla beraber metalloproteazların selektinleri hücre dışına atmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Mikropartiküllerde yoğun miktarda P-selektin bulunmasına rağmen plazmadaki sPsel'lerin çoğu mikropartiküllerle ilişkisizdir (37). Ancak, sPsel basit bir trombosit aktivasyon belirteci değildir. P-selektin lökosit fonksiyonlarını indükler ve aynı zamanda hızlandırır (38,39). Kanda sPsel konsantrasyonu ELISA ile ölçülür. Çoğu çalışmada sPsel ölçümü için kullanılan kit R&D sistemine ait olup, normal değeri 20-100 ng/ml iken (40); Taraka Biokimyanın ELISA kitinde ise normal değer 150-250 ng/ml kabul edilmektedir (41). Bu farklılığın muhtemel sebebi kitlerde kullanılan antikorların farklı olmasıdır. Taraka kitinde iki monoklonal antikor kullanılırken, R&D kitinde bir monoklonal antikor ile bir peroksidaz konjuge poliklonal antikor kullanılmaktadır (7).

2.1.3. P-SELEKTİN: BİR HASTALIK BELİRTECİ

2.1.3.1. Tromboz ve kardiyak hastalıklar

Aterosklerozun başlangıç safhası endotel hücre disfonksiyonudur. Bunun sonucunda protrombotik aktivite başlar, trombosit ve lökositlerin adhezivliği artar. Arter hasarının olduğu yerde biriken trombositler PSGL-1-P-selektin etkileşimi sayesinde ortama monositlerin çekilmesini sağlar. Koroner arter hastalığı olanlarda periferik kanda bulunan monosit-trombosit agregatları hastalık aktivitesini göstermesi açısından bir belirteç olabilir (42). Trombotik tüketim hastalıklarında sPsel seviyeleri yükselmektedir (43). Hayvan çalışmalarında P-selektin monoklonal antikorları infarkt alanını küçültmüştür (44). Ayrıca arteryel trombozda P-selektinin bloke edilmesi sonucu farmakolojik tromboliz artmıştır (45). Periferik arter hastalığı olanlarda trombositler dolaşımда

hiperaktif halde bulunur (46). Gelecekte oluşabilecek kardiyovasküler olayların prediktif bir belirteci olarak sPsel kullanılabilir.

2.1.3.2. Venöz tromboz

P-selektin derin ven trombozunun (DVT) patofizyolojisinde de rol oynar. DVT' li hastalarda olduğu gibi tüm hiperkoagülabl hastalıklarda sPsel seviyesi artmıştır (47). Bu hipotez rekombinant PSGL-1 immunglobulin kullanılarak P-selektinin bloke edilmesine ve bunun sonucunda inflamasyonun ve DVT' nin azalmasının gösterilmesiyle desteklenmektedir (48). P-selektin seviyesinin artması prokoagülan mikropartiküller aracılığıyla trombozu hızlandırır (49).

2.1.3.3. İnme

Artmış inme riski, trombosit aktivasyonunu da kapsayan hemostaz anormallikleri sonucu protrombotik ve hiperkoagülabl durumun olduğunu gösterir. Yapılan çalışmalarda inflamatuar belirteçlerle (fibrinojen, lökosit, CRP) trombosit aktivasyon derecesi arasında ilişki bulunamamıştır (50). Trombositlerde artan P-selektin ekspresyonu nitrik oksit seviyelerinin azalmasına neden olur, bu da sessiz serebral infarktüs için risk oluşturur (51). İnme sonrası ilk 7 günde ortalama P-selektin seviyeleri kontrol grubuna göre belirgin olarak artmıştır. Sonuçta, P-selektin ekspresyonunun tespit edilmesi pre-trombotik bir durum olduğunu gösterir (52).

2.1.3.4. Diyabet

Diyabetik hastaların çoğunda kan hiperkoagülabldır ve arteriel dolaşımında koagülasyon eşiği düşüktür. Diyabette megakaryosit-trombosit sistemi aktivedir. Diyabetik ortamda aterotrombotik olayların gelişmesi endotel disfonksiyonuna bağlıdır. Luminal adhezyon

molekülleri aktive olur, bunun sonucunda damar duvarına lökosit ve trombositler yapışır. Bu sonuçlar akut oklüzif tromboza neden olur (53).

Tschoepe ve arkadaşlarına göre yeni tanı almış tip 1 diyabetik hastalarda dahi dolaşımda aktive trombosit sayısı fazladır. CD62(+) trombosit seviyeleri kontrollere göre 5 kat artmıştır (54). Ayrıca plazma sPsel seviyesi de artmıştır. Bu artış, kan şekeri insülinle kontrol altına alındıktan sonra da devam etmektedir. CD62(+) trombositlerin ortalama sayıları pre-diyabetiklerde 3,2 kat artmıştır (55). Normale yakın glukoz kontrolü sağlansa bile hiperkoagülabilite ve megakaryosit-trombosit sisteminin aktivasyonunun azalacağı şüphelidir (56).

2.1.3.5. Malignite

P-selektinin etkilerinin ve fonksiyonlarının en iyi anlaşıldığı alanlardan birisi onkolojidir. P-selektin normalde PSGL-1 ile etkileşerek musin oluşturan karsinomların metastatik yayılımına yardımcı olur (57). Birkaç klinik çalışmada glikozile bir musin olan CD24'ün, over ve küçük hücreli dışı akciğer kanserinde bağımsız bir prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir (58,59). Heparin, P-selektin aracılığıyla gerçekleşen trombosit ile tümör hücresi yüzeyindeki musin etkileşimini bloke eder, dolayısıyla metastazı azaltır (60).

Tümörler P-selektin aracılığıyla başka yollar kullanarak da invazivliklerini artırırlar. Melanomalarda tümör endotelinde P-selektin ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur. Bu da, P-selektin ekspresyonunun azalmasının lökosit infiltrasyonunu engelleyerek melanomada koruyucu mekanizmaya katkıda bulunduğu düşündürür (61). Hematolojik ve meme kanserli hastalarda; sPsel, fibrinojen ve von Willebrand faktör konsantrasyonları artmıştır. Von Willebrand faktör ve sPsel, hematolojik kanserlerde meme kanserli hastalara oranlara daha yüksektir (40).

2.1.3.6. Çeşitli uygulamalar

Son zamanlarda, depresyonlu hastalarda trombositlerde bazı değişiklikler gösterilmiştir. Depresyonlu hastalarda trombositler üzerindeki glikoprotein Ib reseptör sayısı artmıştır. Kontrol grubuya kıyaslandığında bu hastalarda P-selektinin yüzey ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır (62). Trombosit ve sPsel analizinin bir olası kullanım alanı ise tedavi monitörizasyonudur (63).

2.2. LEPTOSPIROZİS

Leptospirozis patojenik leptospiraların neden olduğu asemptomatik infeksiyondan fulminan, ölümcül klinik tablolara kadar değişen vaskülittle karakterize bir infeksiyon hastalığıdır (64).

2.2.1. MİKROBİYOLOJİ VE TAKSONOMİ

Leptospiralar oldukça hareketli, zorunlu aerop, hem gram pozitif hem de gram negatif bakteri özelliklerini taşıyan, spiral şekilli spiroketlerdir. Basit boyalarla zor, gümüşleme yöntemi ile kolay boyanırlar. Karanlık alan veya faz-kontrast mikroskopisinde incelenen örneklerde leptospiralar direkt görülebilir (65). Büyüdükleri ortamın özelliğine göre leptospiraların hareketliliği ve görünümü değişir. 3 çeşit hareket mümkündür: merkezi eksen etrafında dönme, ilerleyici hareket ve sirküler hareket (66).

Tipik olarak leptospiralar insanlar ve hayvanlar için patojen olan; Leptospira interrogans ve nonpatojen olan L.biflexa kompleksi olmak üzere 2 serolojik gruba ayrılmıştır (67).

2.2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Leptospirozis tüm dünyada görülmekle birlikte tropikal bölgelerde daha sık rastlanan bir zoonozdur. Çevresel şartlar leptospirozisin yayılımını oldukça önemli bir şekilde etkiler. Kırsal bölgelerde en önemli potansiyel kaynak, fareler ve köpeklerdir. Leptospirozis, taşıyıcı hayvanların proksimal renal tübüllerinde kalıcı kolonizasyon oluşturur ve bu hayvanlar hayatları boyunca idrarla enfeksiyonu çevreye saçarlar (66,68). İnsanlar hiçbir zaman epidemiyolojik kaynak olarak gösterilmemiştir. Buna rağmen enfekte kişilerin idrarla leptospiraları haftalar, daha da nadiren aylar boyunca veya bir yıldan fazla sürede attığı görülmüştür (69). Leptospiralar enfekte hayvanların idrar, kan ve dokularından direkt temas ile bulaşır. İnsanlara derideki siyrik ve kesilerden, mukozadan ya da konjunktivalardan girebilir (70).

2.2.3. PATOGENEZ

Enfeksiyonun hafif mi yoksa ağır mı seyredeceği, direkt patojen etkisine mi yoksa genetik olarak belirlenmiş immun yanıta mı bağlı olduğu bilinmemektedir (71). Leptospirozisin patojenik mekanizmaları, leptospiraların direkt etkilerine ve konak immun yanıtına bağlıdır. Virülansın bir mekanizması motilite ve leptospiraların visköz ortamda yüzebilme yeteneğidir (69). Motilite enfeksiyonun başlamasında ve giriş yerinden akciğer, karaciğer, böbrek, göz ve beyin gibi hedef organlara yayılmasında önemli rol oynar (71). Temel patoloji, kapiller endotelde hasar sonucu hastaliktaki birçok bulgudan sorumlu vaskülitdir. Leptospirozis patogenezinde konak immunitesinin rolü net değildir. Leptospira reinfeksiyonuna karşı koruyuculuk humoral免疫 tarafından sağlanmaktadır (72). Leptospiroziste hücresel immunitenin rolü net değildir (73).

Enfekte olan taşıyıcıların böbrekleri histolojik olarak incelendiğinde leptospiraların renal dokuyu doğrudan tahrip etmesine bağlı olarak intertisyal nefrit geliştiği görülür, ancak kronik taşıyıcılarda tipik olarak renal patolojiye rastlanmaz (74).

2.2.4. KLINİK

İki tip hastalık söz konusudur; bifazik hastalık (anikterik form) ve fulminan hastalık (ikterohemorajik form). Bifazik hastalıkta başlangıçtaki akut veya septisemik faz yaklaşık bir hafta kadar süren bir bakteriyemi ile karakterizedir. Tanı konan hastaların çoğunda ani başlangıçlı ateşli bir hastalık söz konusudur (75). Leptospira ile enfekte olmuş vakaların önemli bir kısmı asemptomatiktir veya hafif semptomlar bulunabilir (76). Ateş, titreme, baş ağrısı, şiddetli miyalji, konjunktival kızarıklık, iştahsızlık, bulantı, kusma ve halsizlik genellikle akut leptospirozisi düşündürür (77). Semptomların gerilemesi antikorların üretiliği ve spiroketlerin idrarda atılmaya başladığı döneme denk gelir. Ancak, remisyon sonrası 3-4. günlerde ateş yeniden görülebilir, ki bu duruma bifazik hastalık adı verilir.

Tüm leptospira vakalarının dörtte birinde aseptik menenjit görülür. Leptospirozisin nörolojik bulgularının birinci fazında şuur bulanıklığı ve meningismus baskındır, ikinci fazında ise tipik nörolojik bulgular yani bulantı, kusma ve meningeal irritasyon bulguları ön plana çıkar. BOS basıncı ve proteini artmıştır, glukoz normal ve lenfositik pleositoz vardır. Leptospirozisin primer nörolojik hastalık yapması nadirdir (78).

Weil hastalığı, leptospirozisin en ağır formudur. Bifazik hastalığın akut fazından sonra gelişebildiği gibi ikinci fazdan sonra da gelişebilir. Sarılık, böbrek yetmezliği ve kanama gibi çeşitli klinik tablolar yapabilir (79). Serum bilirübün seviyeleri yükselir (30-40 mg/dl) ve haftalar içinde normale döner. Transaminazlar 100' lü değerlere kadar yükselir

beraberinde alkalen fosfataz seviyeleri hafif artar. Trombosit sayısı düşüktür ve kanama diyatezine katkıda bulunur. Hastalığın düzelmesiyle beraber karaciğer fonksiyonları da sekelsiz iyileşir.

Vakaların %16-40'ında akut böbrek yetmezliği (ABY) gözlenir ve genellikle non-oligüriktir. Oligüri, mortaliteyi tahmin etmede önemli bir faktördür (80). Trombositopeni tipiktir, vakaların % 50'inde görülür, ABY ile korelasyon gösterir ve kötü прогноз göstergesidir (81). İnsanlarda trombositopeni gelişimi ile yaygın damar içi pihtlaşma arasındaki patofizyolojik ilişki gösterilememiştir (82).

Öksürük, dispne, hemoptizi ve akut respiratuar distres sendromu (ARDS) gelişebilir (83). Akciğer grafisinde genellikle yama tarzında infiltratlar vardır, zamanla birleşerek daha geniş konsolide alanlar oluşturur, bu da intraalveolar ve intertisyal kanamayı düşündürür. Plevral efüzyon görülebilir (84).

Akut leptospirozisli hastaların hemen hemen hepsinde ağır miyalji vardır, bu da hafif bir rabdomiyoliz olduğunu işaretidir (85). Rabdomiyolizin gelişme mekanizmaları bilinmemektedir. Spiroket toksinlerinin kas hücrelerine doğrudan toksik olduğu ve leptospiraların kasları invaze ederek inflamasyona ve yıkıma neden olduğu öne sürülmüştür (86).

2.2.5. TANI

Karanlık saha mikroskopisi ile kan veya idrarda organizma görülebilir. Kültür kesin tanı koydurur ancak zordur, haftalar boyu süren inkübasyon gerektirir. Spiroket DNA'sı PCR ile gösterilebilir. Hastalığın ilk 7–10. gününde kandan veya BOS'tan, 2-3. haftada da idrardan leptospiralar elde edilebilir (87).

Seroloji leptospirozis tanısında en sık kullanılan tanısal yöntemdir. Sensitivite ve spesifisitesi yüksek olan mikroskopik agglutinasyon testi

(MAT) tanıda tavsiye edilen yöntemdir (88). MAT testinde standart tanı kriteri antikor titresinde 4 kat artış veya seronegatif olan serumda 1/100 veya üzerinde serokonversiyon görülmüşidir (87).

2.2.6. TEDAVİ

Akut leptospirozisli vakaların çoğu kendiliğinden iyileştiğinden hastaların hepsine antibiyotik verilmeyeceği halen tartışmalıdır (89). Leptospirozisin tedavisi, destek tedavisi ve uygun antibiyotik kullanımıdır. Tavsiye edilen rejim ve dozlar hastalığın şiddetine göre ayarlanmalıdır. Doksiklin hem profilaksi için hem de hafif hastalıkta kullanılabilir (90,91). Ampisilin ve amoksisilin de hafif hastalıkta kullanılabilir ancak ağır hastalıklar için Penisilin G ve ampisilin kullanılmalıdır (92).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 2001 ile 2005 yılları arasında leptospirozis tanısı ile takip edilen 15' i erkek (%71), 6'sı kadın (%29) olmak üzere toplam 21 hastada gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşı $49,2 \pm 17,2$ (yaş aralığı 18-71)였다. Kontrol grubu olarak, hiçbir yakınması olmayan 16'sı erkek (%76), 5'si kadın (%24) ve ortalama yaşı $50,7 \pm 13,6$ (yaş aralığı 20-70) yıl olan toplam 21 sağlıklı insan alındı. Leptospirozis tanısı 18 hastada mikroskopik agglütinasyon testi ile 3 hastada ise spiroketlerin karanlık sahada görülmesi ile koyuldu.

3.2. sPsel Ölçüm Yöntemi

Hastalardan venöz kan örnekleri alınarak, 30 dakika pihtlaşmaya bırakıldı. Ardından 1000 devir / dakika hızda 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve ayrılan serum çalışma zamanına kadar -70°C derecede muhafaza edildi. İşlem öncesinde serumlar oda sıcaklığına getirildi. Daha sonra örneklerin tümünde sPsel ölçümü yapıldı. Bu işlem, bir monoklonal antikor ile bir peroksidaz konjuge poliklonal antikor kullanılan ELİSA kiti (R&D systems Europa 19 Barton Lane Abingdon Science Park Abingdon, Oxon OX14 3NB United Kingdom) ile gerçekleştirildi.

3.3. Deneyin Yapılışı

- 1- Ayıraçlar ve hasta serumları oda sıcaklığına getirildi.
- 2- Hasta serumları 50 kat dilüe edildi.

- 3- Mikroplaka üzerinde bulunan her bir bölmeye 100 μL hasta serumu koyuldu ve üzerine 100 μL standart eklendi.
- 4- Her bir bölmeye 100 μL sPsel konjugatı ilave edilerek 1 saat oda sıcaklığında bekletildi.
- 5- Her bir bölme asripe edilip 300 μL yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işlemi toplam 3 kez gerçekleştirildi.
- 6- 100 μL tetrametilbenzidin solüsyonu her bir bölmeye eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.
- 7- Her bir bölmeye 100 μL asid solüsyonu ilave edildi.
- 8- Her bir bölmeyenin 650 nm dalga boyunda optik dansitesi tespit edildi.
- 9- Veriler bilgisayara girildi ve sonuçlar elde edildi.
- 10- Aynı işlem kontrol serumlarında da gerçekleştirildi.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından yapıldı. İstatistiksel analiz olarak hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamasının karşılaştırılmasında student t testi, cinsiyet dağılımının karşılaştırılmasında ki kare testi kullanıldı. Hasta sPsel düzeyi ile trombosit, lökosit ve kreatinin düzeyleri arasındaki ilişki Pearson koreasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirildi. Hasta grubu ile kontrol grubunun sPsel düzeylerinin karşılaştırılmasında ise student t testi kullanıldı ve p değeri < 0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi.

4. SONUÇLAR

Çalışmaya 21' i hasta, 21' i kontrol grubunda olmak üzere toplam 42 kişi alındı. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Çalışmaya dahil edilen grupların demografik özellikleri Tablo I' de, laboratuar parametreleri Tablo II' de, serum sPsel seviyeleri ise Tablo III' te belirtilmiştir.

Tablo I. Çalışmaya dahil edilen grupların demografik özellikleri

Grup	N	Cinsiyet (K/E)	Yaş (yıl)	p değeri
Hasta	21	6/15	$49,2 \pm 17,2$	$0,05 <$
Kontrol	21	5/16	$50,7 \pm 13,6$	

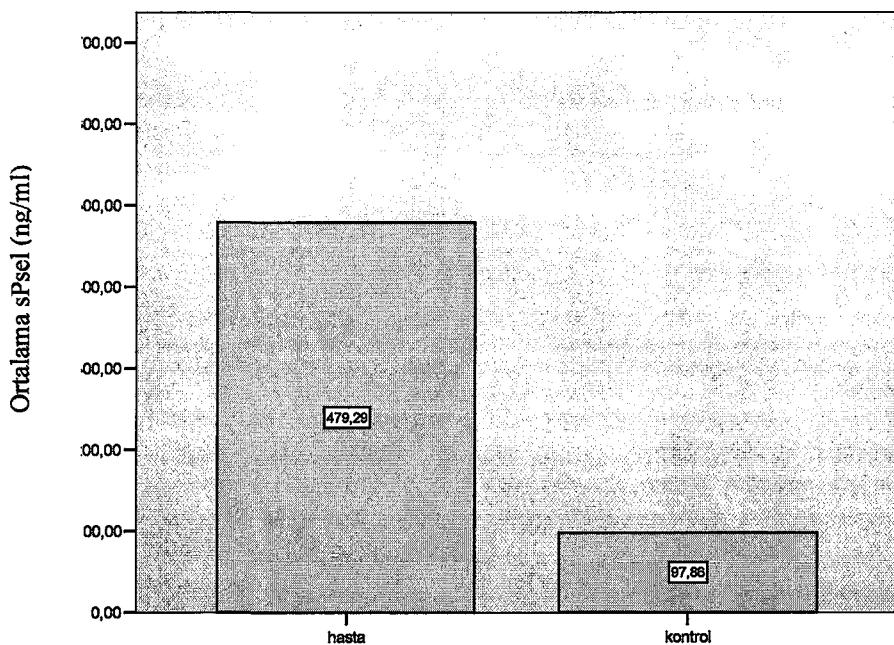
Tablo II. Çalışmaya dahil edilen grupların laboratuar parametreleri

Değişken	Hasta grubu (n=21) ort ± SD	Kontrol grubu (n=21) ort ± SD
sPsel (ng/ml)	$479,3 \pm 195,1$	$97,9 \pm 30,7$
Kreatinin (mg/dl)	$3 \pm 1,8$	$0,8 \pm 0,2$
Trombosit(mm ³)	107048 ± 86653	283238 ± 76447
Lökosit (mm ³)	15432 ± 7521	7528 ± 1100
Sepsis	7 / 21	0 / 21
Kanama	3 / 21	0 / 21

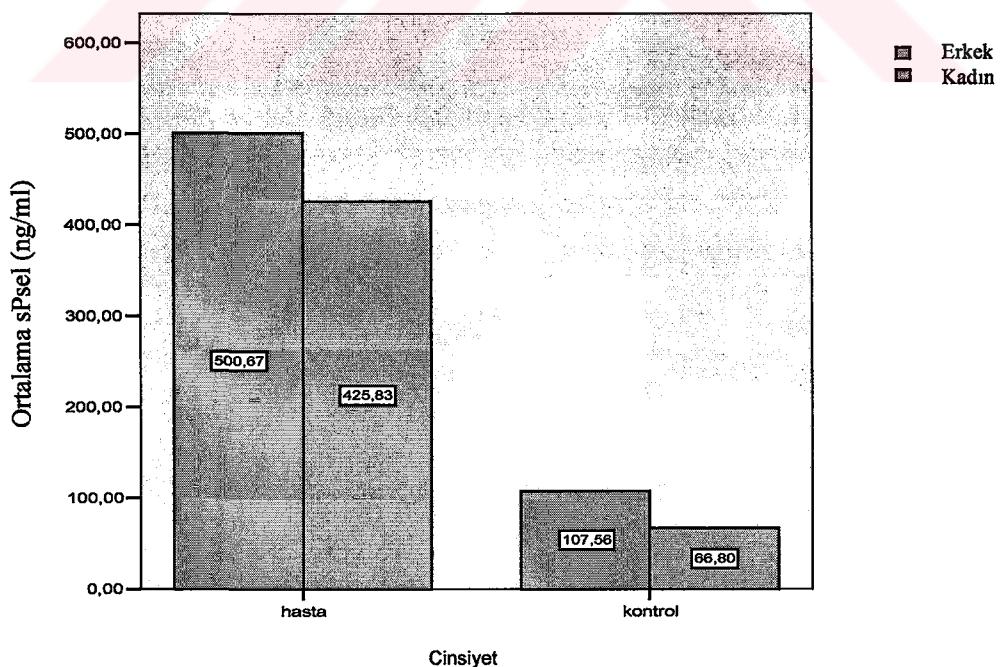
Tablo III. Hasta ve kontrol grubunun serum sPsel seviyeleri

Hasta Numarası	sPsel düzeyi (ng/ml)	Kontrol Grubu	sPsel düzeyi (ng/ml)
1	740	1	60
2	525	2	127
3	585	3	84
4	615	4	182
5	765	5	65
6	390	6	105
7	540	7	72
8	295	8	96
9	370	9	53
10	250	10	72
11	175	11	112
12	400	12	92
13	465	13	102
14	395	14	118
15	790	15	98
16	200	16	99
17	190	17	115
18	645	18	89
19	415	19	84
20	585	20	76
21	730	21	154

Ortalama sPsel seviyesi hasta grubunda $479,3 \pm 195,1$ ng/ml ve kontrol grubunda $97,9 \pm 30,7$ ng/ml olup hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$) (şekil 1).

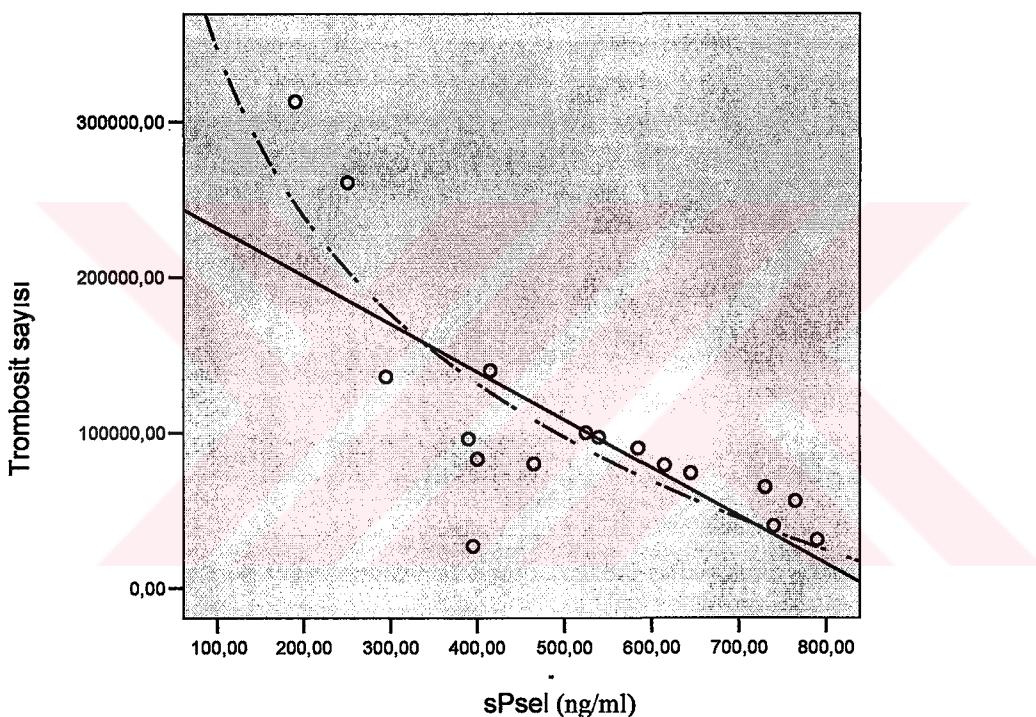


Şekil 1: Hasta grubu ve kontrol grubunun ortalama serum sPsel seviyeleri

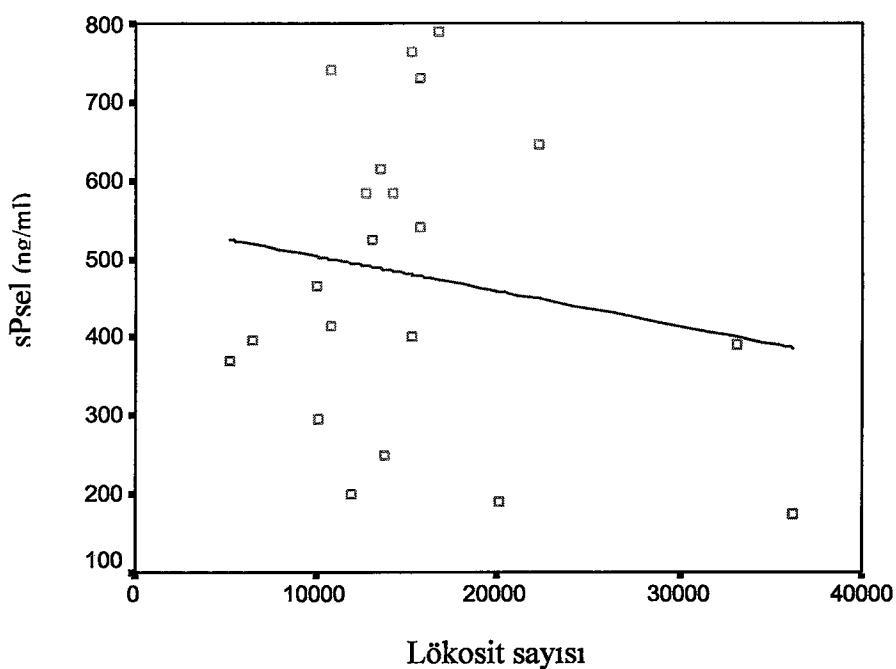


Şekil 2: Hasta grubu ve kontrol grubunun serum sPsel seviyelerinin cinsiyete göre dağılımı

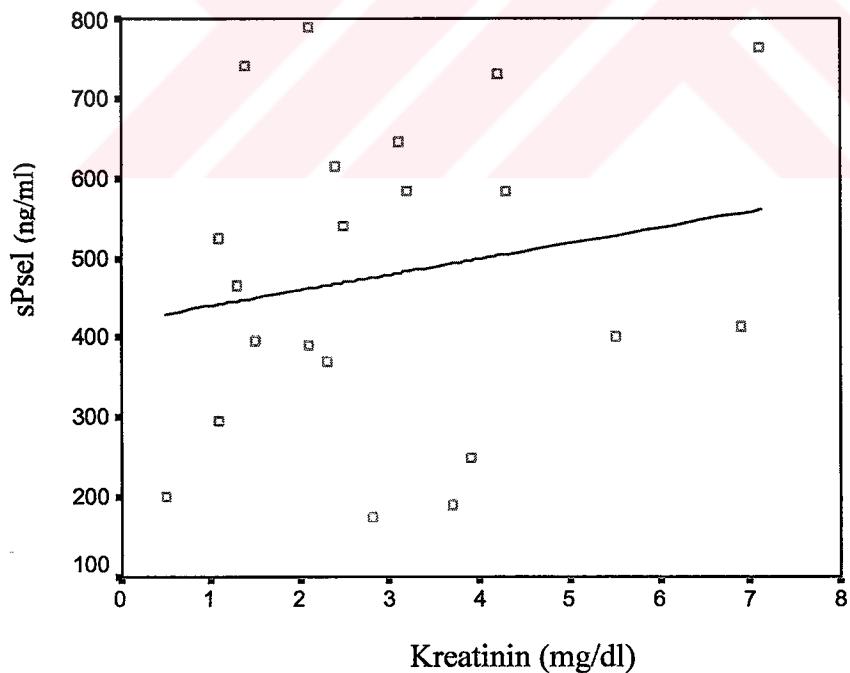
Yirmibir hastanın 19'unda (%91) trombositopeni mevcuttu. Hastaların sPsel düzeyleri ile trombosit düzeyleri arasında anlamlı bir negatif ilişki ($r = -0,61$) saptanırken ($p=0,0035$) (Şekil 3), lökosit ve kreatinin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki (sırayla $r = -0,17$, $r = +0,18$ / Şekil 5,6) saptanmadı ($p>0,05$). Serum sPsel düzeyleri trombositopenisi olan hastalarda anlamlı olarak yüksek bulundu.



Şekil 3: Hasta sPsel seviyesi ile trombosit sayısı arasındaki ilişki

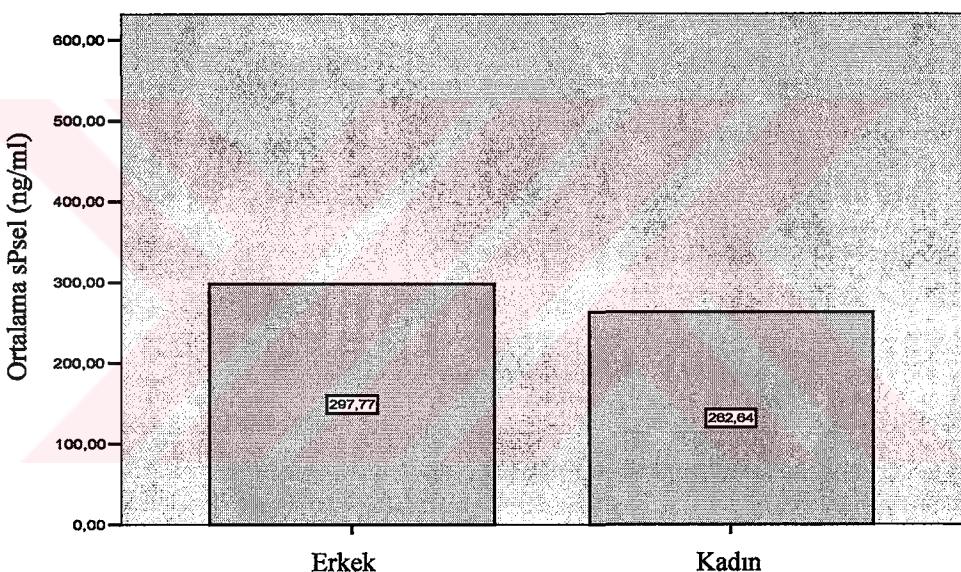


Şekil 4: Hasta sPsel seviyesi ile lökosit sayısı arasındaki ilişki



Şekil 5: Hasta sPsel seviyesi ile serum kreatinin seviyesi arasındaki ilişki

Yirmibir hastanın 3' ünde (%14) klinik olarak kanama gözlandı. Kanamalı hastaların serum sPsel seviyeleri $528,3 \pm 311,8$ ng/ml ve kanamasız hastaların serum sPsel seviyeleri $471,1 \pm 181,3$ ng/ml olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). 21 hastanın 7'sinde (%33) sepsis bulguları gözlandı. Sepsisli hastaların serum sPsel seviyeleri $488,9 \pm 188,9$ ng/ml ve sepsis bulguları olmayan hastaların serum sPsel seviyesi $460 \pm 219,5$ ng/ml olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).



Sekil 6: Hastalarda ortalama sPsel değerinin cinsiyetlere göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Trombositler insanlarda ve diğer memelilerde hücresel hemostazın en önemli efektör hücresidir. Taşındıkları yüzey molekülleri vasıtasyyla inflamatuar bir fonksiyon görürken, lökosit ve endotelyal hücrelerle etkileşime girer. Sistemik inflamatuar cevapta trombosit aktivasyonu ve lökosit-endotel-trombosit etkileşimi oldukça kritik öneme sahiptir. Trombosit aktivasyonu ve hücreler arası etkileşim inflamasyonun şiddetini arttırır. Trombositlerin lökositler ve endotel hücreleri ile etkileşimi sağlayan P-selektin, inflamatuar cevabin oluşmasında primer rol oynar. P-selektin hücre yüzeyinden salgılanarak solubl formda plazmada dolaşır. Dolaşında sPsel seviyeleri trombosit aktivasyonunun ve inflamasyonun şiddeti ile doğru orantılı olarak artar. Sistemik inflamatuar cevabin ve trombosit aktivasyonunun görüldüğü durumlarda (ateroskleroz, enfeksiyonlar, inme, maligniteler gibi) sPsel seviyeleri inflamasyonun şiddeti ile doğru orantılı olarak artar ve bir aktivasyon belirteci olarak kullanılır.

Biz de bir zoonoz olan, şiddetli trombosit aktivasyonu ve inflamatuar cevap görülen leptospiroziste sPsel seviyelerini çalıştık ve diğer klinik ve laboratuar parametreler ile ilişkisini araştırdık. Literatürde, Leptospiroziste sPsel seviyelerinin çalışıldığı başka bir çalışmaya rastlamadık. Bunun nedeninin, bu hastalığın gelişmiş ülkelerde çok yaygın olarak görülmemesi olduğunu düşündük. Trombositopeni birçok viral, bakteriyel, fungal ve protozoon infeksiyonlarında görülebilen bir komplikasyon almakla beraber ayrıca leptospiroziste de oldukça sık görülen bir olaydır (93). Turgut ve arkadaşları, yayınladıkları bir seride %87,8 oranında trombositopeni

tespit etmişlerdir (94). Leblebicioğlu ve arkadaşları ise, 12 vakalık serilerinde vakaların % 90'ında trombositopeni rapor etmişlerdir (95). Leptospiroziste trombositopeninin gelişim mekanizması çok açık değildir. Azalmış üretimden değil de, artmış trombosit klirensi sonucunda trombositopeni meydana gelmektedir. Megakaryopoez azalmamış, aksine stimüle olmuştur. Bu hipoteze uygun olarak karaciğer ve dalak gibi trombosit klirensinde rol alan organlar enfeksiyon sırasında büyümektedir. Ayrıca enfeksiyon esnasında trombosit klirensinin arttığı en iyi tanımlanan 3 neden -yaygın damar içi pihtlaşma, immun trombositopenik purpura ve splenik sekestrasyon- bir rol alıyor gibi görünmemektedir (96). Yaygın sistemik inflamatuar cevap, sitokin salgılanması ve endotel hasarı sonucu oluşan trombosit aktivasyonu ve tüketiminin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Sünbul ve arkadaşları leptospirozis vakalarının %87'inde sepsis bulguları tespit etmiştir (97). Bu da leptospirozis hastalarında sistemik inflamatuar cevap ve yaygın koagülasyon aktivasyonu fikrini desteklemektedir. Bizim hastalarımızın %33'ünde sepsis bulguları gözledik. Sepsisli hastaların ortalama sPsel seviyelerini, sepsis olmayanlarından bir miktar yüksek saptadık fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmadık ($p>0,05$). Yaguchi ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada septik hastalarda trombositler üzerinde P-selektin ekspresyonunda artış bulmamışlardır (98). Benzer sonuçlar Gawaz ve arkadaşları tarafından da rapor edilmiştir (99). Ancak Salat ve arkadaşları septik hastalarda, septik olmayanlara göre trombositler üzerinde P-selektin ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (100). Ancak leptospiroziste trombosit aktivasyonu ve sistemik inflamatuar cevabın laboratuar parametrelerinin değerlendirilmesine dair elimizde yeteri kadar bilgi yoktur. Bizim çalışmamızdaki vakaların %71'

inde trombositopeni mevcuttu. Trombosit sayısı ile sPsel düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir negatif ilişki mevcuttu. Bu da ciddi bir trombosit aktivasyonu ve sistemik inflamatuvar cevabin göstergesidir. Benzer şekilde yapılan çalışmalarda enfeksiyon hastalıklarında sPsel seviyeleri yüksek bulunmuş ve trombosit aktivasyonunun derecesi ile paralel olduğu tespit edilmiştir. Blann ve arkadaşları 84 trombositopenik HIV (+) hastada trombositopeninin derecesi ile sPsel seviyeleri arasında negatif ilişki tespit etmişlerdir. Trombositopeni ağırlaştıkça sPsel seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (101). Bu da trombosit aktivasyonuna ve sistemik inflamatuar cevaba bağlanmıştır. Benzer şekilde Mamarella ve arkadaşları hepatit C' li hastalarda sPsel seviyelerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Yükselme özellikle trombositopenik hastalarda belirgin bulunmuştur. Bu da trombosit aktivasyonuna bağlanmıştır (102).

Zeller ve arkadaşlarının postinfeksiyöz serebrovasküler olaylarda flowsitometrik olarak P-selektin seviyelerine baktıkları çalışmalarında, P-selektin seviyelerini belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Bu durumun belirgin trombosit aktivasyonu ve trombosit-lökosit etkileşimi sonucuoluştuğu kanısına varmışlardır (103). Postinfeksiyöz hastalarda görülen serebrovasküler olaylarda trombosit aktivasyonunun ve buna bağlı oluşan trombusların rolü olduğu ileri sürülmüştür. Bilindiği gibi leptospirozis vakalarında yaygın nörolojik belirtiler (başağrısı, şuur bulanıklığı, meningeal irritasyon bulguları vs.) görülmektedir. Nörolojik bulguların patogenezi açık değildir. Yapılan çalışmalar sonucu leptospirozis tanılı hastaların %15-25' inde nörolojik bulgu görülmektedir (78). Fakat bizim çalışmamıza dahil edilen hastaların nörolojik bulgulara ait kayıtları ayrıntılı olarak tutulmadığından, bu

değerlendirmeyi yapamadık. Ancak bu konu, ayrıntılı nörolojik kayıtları tutulan vakalarda çalışılabilir ve leptospiroziste gözlenen nörolojik bulguların etyopatogenezini aydınlatmada yardımcı olabilir.

Davi ve arkadaşları *Helicobacter pylori*' nin (104,105), Kerrigan ve arkadaşları ise *Streptococcus sanguis*' in trombosit aktivasyon ve agregasyonunu artırdığını göstermişlerdir (106). En önemli mekanizma olarak da, bakterinin von Willebrand faktörüne bağlanması ve oluşan kompleksin glikoprotein Ib reseptörü ile etkileşime girmesi olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Enfeksiyon, mikroorganizmalara karşı organizmanın oluşturduğu basit bir immün yanıt değildir. Mikroorganizmalar bağıskılık sistemine ek olarak koagülasyon dahil olmak üzere çok sayıda sistemi aktive ederek çeşitli klinik bulgulara neden olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda inflamasyon ile koagülasyonun birbiri ile karmaşık ilişkileri olan iki sistem olduğu ileri sürülmüştür. Sistemik enfeksiyonlar sırasında koagülasyon sisteminin ciddi şekilde etkilendiği gösterilmiştir. İnfeksiyon sırasında oluşan pihtlaşma sistemi değişikliklerinin manüplasyonuna yönelik yeni tedavi stratejileri geliştirilmektedir. Bizim çalışmamızda da bir enfeksiyon hastalığı olan leptospiroziste -çok detaylı olmasa da-, enfeksiyon ile koagülasyon ilişkisini araştırdık. Hastalarımızda yaygın trombosit aktivasyonu ve buna bağlı sPsel düzeylerinde yükselme saptadık. Yaygın organ tutulumu ve buna bağlı gelişen çok değişik klinik ve laboratuar bozukluklarda şiddetli koagülasyon aktivasyonunun rolü olabilir. Leptospirozisli hastalarda iyi organize edilmiş ve daha ayrıntılı yöntemler (flowsitometri, mikropartikül ölçümlü gibi) kullanılarak yapılacak çalışmalar hastalığın patogenezinin anlaşılmasına önemli katkılarda bulunacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. McEver PR, Martin MN. A monoclonal antibody to a membrane glycoprotein binds to only activated platelets. *J Biol Chem* 1984; 259: 9799-804.
2. Hsu-Lin SC, Berman CL, Furie BC, August D, Furie B. A platelet membrane protein expressed during platelet activation and secretion. *J Biol Chem* 1984; 259: 9121-6.
3. Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, Jacques YV, Bainton DF. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol* 1985; 101: 880-6.
4. McEver RP. Adhesive interactions of leukocytes, platelets and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb. Haemost.* 2001; 84: 746-56.
5. Bruce Furie and Barbara C.Furie. Role of platelet P-selectin and microparticle PSGL-1 in thrombus formation. *Trendi in Molecular Med.* 2004; 10: 171-8.
6. Moore KL, Stults NL, Diaz S, Smith DF, Cummings RD, Varki A, et al. Identification of a specific glycoprotein ligand-1 for P-selectin (CD62) on myeloid cells. *J Biol Chem* 1992; 118: 445-6.
7. Kappelmayer J, Bela Nagy Jr, Kornel Mistzti-Blasius, Zsuzsa Hevessy and Hendra Setiadi. The emerging value of P-Selectin as a disease marker. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 475-486.
8. Moore KL, Patel KD, Bruehl RE, Li F, Johnson DA, Lichenstein HS, Cummings RD, Bainton DF, McEver RP. P-selectin glycoprotein ligand-1 mediates rolling of human neutrophils on P-selectin. *J. Cell Biol.* 1995; 128: 661-71.

9. Norman KE, Moore KL, McEver RP, Ley K. Leukocyte rolling in vivo is mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. *Blood* 1995; 86: 4417-21.
10. Li F, Wilkins PP, Crawley S, Weinstein J, Cummings RD, McEver RP. Post-translational modifications of recombinant P-selectin glycoprotein ligand-1 required for binding to P- and E-selectin. *J Biol Chem* 1996; 271: 3255-64.
11. Ley K, Allietta M, Bullard DC, Morgan S. Importance of E-selectin for firm leukocyte adhesion in vivo. *Circ Res* 1998; 83: 287-94.
12. Frenette PS, Denis CV, Weiss L, Jurk K, Subbarao S, Kehrel B, Hartwig JH, Vestweber D, Wagner DD. P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions in vivo. *J. Exp. Med.* 1995; 191: 1413-22.
13. Alan D. Michelson, MD; Marc R. Barnard, MS; Lori A. Krueger, BA, MLT, ART; C. Robert Valeri, MD; Mark I. Furman, MD. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 106: 1533-7.
14. Frenette, P.S. Moyna C, Hartwell DW, Lowe JB, Hynes RO, Wagner DD. Platelet-endothelial interactions in inflamed mesenteric venules. *Blood* 1998; 91: 1318-24.
15. Schober A, Manka D, von Hundelshausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, Ley K, Weber C. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002; 106: 1523-9.
16. Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, Seed B. Endothelial leukocyte adhesion molecules 1: an inducible receptor for neutrophils

- related to complement regulatory proteins and lectins. *Science* 1989; 243: 1160-5.
17. Hattori R, Hamilton KK, McEver RP, Sims PJ. Complement proteins C5b-9 induce secretion of high molecular weight multimers of endothelial von Willebrand factor and translocation of granule membrane protein GMP-140 to the cell surface. *J Biol Chem* 1989; 264: 9053-60.
18. Romo GM, Dong JF, Schade AJ, Gardiner EE, Kansas GS, Li CQ, McIntire LV, Berndt MC, Lopez JA. The glycoprotein Ib-IX-V complex is a platelet counterreceptor for P-selectin. *J. Exp. Med.* 1999; 190: 803-14.
19. Padilla A, Moake JL, Bernardo A, Ball C, Wang Y, Arya M, et al. P-selectin anchors newly released ultra-large von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface. *Blood* 2004; 103: 2150-6.
20. Libersan D, Merhi Y. Platelet P-selectin expression: requirement for protein kinase C, but not protein tyrosine kinase or phosphoinositide 3-kinase. *ThrombHaemost* 2003; 89: 1016-23.
21. Palabrida T, Lobb R, Furie BC, Aronovitz M, Benjamin C, Hsu YM, Sajer SA, Furie B. Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature* 1992; 359: 848-51.
22. Mayadas TN, Johnson RC, Rayburn H, Hynes RO, Wagner DD. Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P-selectin-deficient mice. *Cell* 1993; 74: 541-54.
23. Beatrice Cambien and Denisa D. Wagner. A new role in hemostasis for the adhesion receptor P-selectin. *Trend Molecular Med.* 2004; 10: 179-86.

24. Andre P, Hartwell D, Hrachovinova I, Saffaripour S, Wagner DD. Procoagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000; 97: 13835-40.
25. Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B, Kling D, Roque M, Fallon JT, Badimon JJ, Himber J, Riederer MA, Nemerson Y. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1999; 96: 2311-5.
26. Van Wijk MJ, VanBavel E, Sturk A, Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. Cardiovasc. Res. 2003; 59: 277-87.
27. Sabatier F, Roux V, Anfosso F, Camoin L, Sampol J, Dignat-George F. Interaction of endothelial microparticles with monocytic cells in vitro induces tissue factor-dependent procoagulant activity. Blood 2002; 99: 3962-70.
28. Berger G, Hartwell DW, Wagner DD. P-Selectin and platelet clearance. Blood 1998; 92: 4446-52.
29. Michelson AD, Barnard MR, Hechtman HB, MacGregor H, Connolly RJ, Loscalzo J, Valeri CR. In vivo tracking of platelets: circulating degranulated platelets rapidly lose surface P-selectin but continue to circulate and function. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996; 93: 11877-82.
30. Johnston GI, Pickett EB, McEver RP, George JN. Heterogeneity of platelet secretion in response to thrombin demonstrated by flow cytometry. Blood 1987; 69: 1401-3.
31. Rinder HM, Murphy M, Mitchell JG, Stocks J, Ault KA, Hillman RS. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. Transfusion 1991; 31: 409-14.
32. Sirolli V, Ballone E, Garofalo D, Merciaro G, Settefrati N, Di Mascio R, et al. Platelet activation markers in patients with nephrotic

- syndrome. A comparative study of different platelet function tests. *Nephron* 2002; 91: 424-30.
33. Weikert U, Kuhl U, Schultheiss HP, Rauch U. Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 2002; 13: 487-91.
34. Dunlop LC, Skinner MP, Bendall LJ, Favaloro EJ, Castaldi PA, Gorman JJ, et al. Characterization of GMP-140 (P-selectin) as a circulating plasma protein. *J Exp Med* 1992; 175: 1147-50.
35. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Plasma von Willebrand factor and sPsel as indices of endothelial damage and platelet activation in 1321 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors. *Circulation* 2002; 106: 1962-7.
36. Fijnheer R, Frijns JM, Korteweg J, Rommes H, Peters JH, Sixma JJ, et al. The origin of P-selectin as a circulating plasma protein. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1081-5.
37. Osmanovic N, Romijn FP, Joop K, Sturk A, Nieuwland R. Soluble selectins in sepsis: microparticles-associated, but only to a minor degree. *Thromb Haemost* 2000; 84: 731-2.
38. Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8767-71.
39. Lorant DE, Topham MK, Whatley RE, McEver RP, Mc-Intyre, Prescott SM, et al. Inflammatory roles of P-selectin. *J Clin Invest* 1993; 92: 559-70.
40. Blann AD, Gurney D, Wadley M, Bareford D, Stonelake P, Lip GYH. Increased soluble P-selectin in patients with haematological and breast cancer: a comparison with fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and von Willebrand factor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 43-50.

- 41.Ikeda H, Takajo Y, Ichiki K, Ueno T, Maki S, Noda T, et al. Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina. *Circulation* 1995; 92: 1693-6.
- 42.Klinkhardt U, Bauersachs R, Adams J, Graff J, Lindhoff-Last E, Harder S. Clopidogrel but not aspirin reduces Pselectin and formation of platelet-leukocyte aggregates in patients with atherosclerosis vascular disease. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 232-41.
- 43.Chong BH, Murray B, Berndt MC, Dunlop LC, Brighton T, Chesterman CN. Plasma P-selectin is increased in thrombotic consumptive platelet disorders. *Blood* 1994; 83: 1535-41.
- 44.Weyrich AS, Ma XY, Lefer DJ, Albertine KH, Lefer AM. In vivo neutralization of P-selectin protects feline heart and endothelium in myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest* 1993; 91: 2620-9.
- 45.Toombs CF, DeGraaf GL, Martin JP, Geng JG, Anderson DC, Shebuski RJ. Pretreatment with a blocking antibody to P-selectin accelerates pharmacological thrombolysis in a primate model of arterial thrombosis. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275: 941-9.
- 46.Robless PA, Okonko D, Lintott P, Mansfield AO, Mikhailidis DP, Stansby GP. Increased platelet aggregation and activation in peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25: 16-22.
- 47.Blann AD, Noteboom WM, Rosendaal FR. Increased soluble P-selectin levels following deep venous thrombosis: cause or effect? *Br J Haematol* 2000; 108: 191-3.
- 48.Myers DD Jr, SchaubR, Wrobleksi SK, Londy FJ 3rd, Fex BA, Chapman AM, et al. P-selectin antagonism causes dose-dependent venous thrombosis inhibition. *Thromb Haemost* 2001; 85: 423-9.

49. Myers DD, Hawley AE, Farris DM, Wrobleksi SK, Thanaporn P, SchaubRG, et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis. *J Vasc Surg* 2003; 38: 1075-89.
50. Marquardt L, Ruf A, Mansman U, Winter R, Schuler M, Buggle F, et al. Course of platelet activation markers after ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33: 2570-4.
51. Minamino T, Kitakeze M, Sanada S, Asanuma H, Kurotobi T, Koretsune Y, et al. Increased expression of Pselectin on platelets is a risk factor for silent cerebral infarction in patients with atrial fibrillation: role of nitric oxide. *Circulation* 1998; 98: 1721-7.
52. Cherian P, Hankey GJ, Eikelboom JW, Thom J, Baker RI, McQuillan A, et al. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. *Stroke* 2003; 34: 2132-7.
53. Tschoepe D. The activated megakaryocyte-platelet-system in vascular disease: focus on diabetes. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21: 152-60.
54. Tschoepe D, Driesch E, Schwippert B, Nieuwenhuis HK, Gries FA. Exposure of adhesion molecules on activated platelets in patients with newly diagnosed IDDM is not normalized by near-normoglycemia. *Diabetes* 1995; 44: 890-4.
55. Tschoepe D, Driesch E, Schwippert B, Lampeter EF. Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM. DENIS Study Group. Deutsche Nikotinamid Interventionsstudie. *Diabetologia* 1997; 40: 573-7.
56. Roshan B, Tofler GH, Weinrauch LA, Gleason RE, Keough JA, Lipinska I, et al. Improved glycemic control and platelet function abnormalities in diabetic patients with microvascular disease. *Metabolism* 2000; 49: 88-91.

- 57.Kim YG, Borsig L, Varki NM, Varki A. P-selectin deficiency attenuates tumor growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 9325-30.
- 58.Kristiansen G, Denkert C, Schluns K, Dahl E, Pilarsky C, Hauptmann S. CD24 is expressed in ovarian cancer and is a new independent prognostic marker of patient survival. *Am J Pathol* 2002; 161: 1215-21.
- 59.Kristiansen G, Schlu" ns K, Yongwei Y, Denkert C, Dietel M, Petersen I. CD24 is an independent prognostic marker f survival in nonsmall cell lung cancer patients. *Br J Cancer* 2003; 88: 231-6.
- 60.Borsig L, Wong R, Feramisco J, Nadeau DR, Varki NM, Varki A. Heparin and cancer revisited: mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins, and tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3352-7.
- 61.Nooijen PTGA, Westphal JR, Eggermont AMM, Schalkwijk C, Max R, de Waal RMW, et al. Endothelial P-selectin expression is reduced in advanced primary melanoma and melanoma metastasis. *Am J Pathol* 1998; 152: 679-82.
- 62.Walsh MT, Dinan TG, Condren RM, Ryan M, Kenny D. Depression is associated with an increase in the expression of the platelet adhesion receptor glycoprotein Ib. *Life Sci* 2002; 70: 3155-65. in humans with multiple risk factors for coronary artery disease. *Eur J Pharmacol* 2003; 462: 139-43.
- 63.Malain Al, Atar D, Callahan KP, McKenzie ME, Serebruany VL. Effect of a single dose aspirin on platelets in humans with multipl risk factors for coronary artery disease. *Eur J Pharmacol* 2003; 462: 139-43.
- 64.Vinetz JM. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14: 527-38
- 65.Hovind-Hougen K. Determination by means of electron microscopy of morphological criteria of value for classification of some spirochetes, in particular treponemes. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1976; 255: 1-41.

66. Ellis WA, Hovind-Hougen K, Müller S, Birch-Andersen A. Morphological changes upon subculturing of freshly isolated strains of *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 1983; 255: 323-35.
67. Terpstra WJ. Typing leptospira from the perspective of a reference laboratory. *Acta Leiden* 1992; 60: 79-87.
68. Leonard FC, Quinn PJ, Ellis WA, K OF. Duration of urinary excretion of leptospires by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Vet Rec* 1992; 131: 435-9.
69. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira and leptospirosis*. 2nd edn. Melbourne, Australia: Medisci, 1999.
70. Matthias MA, Levett PN. Leptospiral carriage by mice and mongooses on the island of Barbados. *West Indian Med. J.* 2002; 51: 10-3.
71. Ren SX, Fu G, Jiang XG, et al. Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 2003; 422: 888-93.
72. Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoen-Clouet N, Ganiere JP, Andre-Fontaine G. Evidence of crossprotection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine* 2000; 19: 86-94.
73. Naiman BM, Alt D, Bolin CA, Zuerner R, Baldwin CL. Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma-delta T lymphocytes. *Infect Immun* 2001; 69: 7550-8.
74. Yang CW, Wu MS, Pan MJ, Hong JJ, Yu CC, Vandewalle A, Huang CC. *Leptospira* outer membrane protein activates NF-kappaB and downstream genes expressed in medullary thick ascending limb cells. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 2017-26.

- 75.Takafuji ET, Kirkpatrick JW, Miller RN, Karwacki JJ, Kelley PW, Gray MR et al. An efficacy trial of doxycycline chemoprophylaxis against leptospirosis. *N Engl J Med* 1984; 310: 497-500.
- 76.Ashford DA, Kaiser RM, Spiegel RA, Perkins BA, Weyant RS, Bragg SL et al. Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 63: 249-54.
- 77.Katz AR, Ansdell VE, Effler PV, Middleton CR, Sasaki DM. Assessment of the clinical presentation and treatment of 353 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Hawaii, 1974-1998. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1834-41.
- 78.Panicker JN, Mammachan R, Jayakumar RV. Primary neuroleptospirosis. *Postgrad Med J* 2001; 77: 589-90.
- 79.Heath CW, Alexander AD, Galton MM. Leptospirosis in the United States. Analysis of 483 cases in man 1949–1961. *N Engl J Med* 1965; 273: 857-64 and 915-22.
- 80.Daher E, Zanetta DM, Cavalcante MB, Abdulkader RC. Risk factors for death and changing patterns in leptospirosis acute renal failure. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 630-4.
- 81.Edwards CN, Nicholson GD, Everard COR. Thrombocytopenia in leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1982; 31: 82-9.
- 82.Edwards CN, Nicholson GD, Everard COR, Callender J. Thrombocytopenia in leptospirosis: the absence of evidence for disseminated intravascular coagulation. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35: 352-4.
- 83.Hill MK, Sanders CV. Leptospiral pneumonia. *Sem Resp Infect* 1997; 12: 44-9.
- 84.Im JG, Yeon KM, Han MC, Kim CW, Webb WR, Lee JS et al. Leptospirosis of the lung: radiographic findings in 58 patients. *Am J Roentgenol* 1989; 152: 955-9.

- 85.Charon NW, Johnson RC, Muschel LH. Antileptospiral activity in lower-vertebrate sera. *Infect Immun* 1975; 12: 1386-91.
- 86.Ho KJ, Scully KT. Acute rhabdomyolysis and renal failure in Weil's disease. *Ala J Med Sci* 1980; 17: 133-7.
- 87.Levett PN. Usefulness of serologic analysis as a predictor of the infecting serovar in patients with severe leptospirosis. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 447-52.
- 88.Cumberland P, Everard CO, Levett PN. Assessment of the efficacy of an IgM-elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 731-4.
- 89.Vinetz JM. A Mountain out of a molehill: do we treat acute leptospirosis, and if so, with what? *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1514-5.
- 90.Guidugli F, Castro AA, Atallah AN. Antibiotics for preventing leptospirosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000: CD001305.
- 91.Takafuji ET, Kirkpatrick JW, Miller RN, Karwacki JJ, Kelley PW, Gray MR et al. An efficacy trial of doxycycline chemoprophylaxis against leptospirosis. *N Engl J Med* 1984; 310: 497-500.
- 92.Watt G, Padre LP, Tuazon ML, Calubaquib C, Santiago E, Ranoa CP, Laughlin LW. Placebo-controlled trial of intravenous penicillin for severe and late leptospirosis. *Lancet* 1988; 1: 433-35.
- 93.Wilson JJ, Naeme PB, Kelton JG. Infection-induced thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost*. 1982; 8: 217-33.
- 94.Turgut M, Sünbül M, Bayırlı D, Bilge A, Leblecioğlu H and Haznedaroğlu I. Thrombocytopenia Complicating the Clinical Course of Leptospiral Infection. *The Journal of International Medical Research* 2002; 30: 535-40.
- 95.Leblecioğlu H, Sencan I, Sünbül M, Altintop L and Günaydin M. Weil's Disease: Report of 12 Cases. *Scand J Infect Dis*. 1996; 28: 637-9.

- 96.Kishore R, Alugupalli A, Michelson I, Joris T, Schwan S, Kairbaan H, Dilke R, O'Hynes R, M. Leong S. Spirochete-platelet attachment and thrombocytopenia in murine relapsing fever borreliosis 2003; 102: 2845-50.
- 97.M Sünbül ile leptospirozisli hastalarda sepsis bulguları görülme sıklığı konusunda yapılan kişisel görüşme.
- 98.Yaguchi A, Lobo FLM, Vincent J-L, Pradier O. Platelet function in sepsis. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 2096–102.
- 99.Gawaz M, Dickfeld T, Bogner C, Fateh-Moghadam S, Neumann FJ. Platelet function in septic multiple organ dysfunction syndrome. *Intensive Care Med* 1997; 23: 379-85.
- 100.Salat A, Bodingbauer G, Boehm D, Murabito M, Tochkow E, Sautner T, Mueller MR, Fuegger R. Changes of platelet surface antigens in patients suffering from abdominal septic shock. *Thromb Res* 1999; 95: 289-94.
- 101.Blann AD, Seigneur M, Constans J, Pellegrin JL, Conri C. Soluble P-selectin, thrombocytopenia and von Willebrand factor in HIV infected patients. *Thromb Haemost*. 1997; 77: 1221-2.
- 102.Ferroni P, Mammarella A, Martini F, Paoletti V, Cardarello CM, Labbadia G, Donnarumma L, De Matteis A, Gazzaniga PP, Musca A, Basili S. Increased soluble P-selectin levels in hepatitis C virus-related chronic hepatitis: correlation with viral load. *J Investig Med*. 2001; 49: 407-12.
- 103.Zeller JA, Lenz A, Eschenfelder CC, Zunker P, Deuschl G. Platelet-Leukocyte Interaction and Platelet Activation in Acute Stroke With and Without Preceding Infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 1519-23.
- 104.Cassar K, Bachoo P, Ford I, McGee M, Greaves M, Brittenden J. Helicobacter pylori seropositivity is associated with enhanced platelet

- activation in patients with intermittent claudication. *J Vasc Surg.* 2004; 39: 560-4.
- 105.Davi G, Neri M, Falco A, Festi D, Taraborelli T, Ciabattoni G, Basili S, Cuccurullo F, Patrono C. Helicobacter pylori infection causes persistent platelet activation in vivo through enhanced lipid peroxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 246-51.
- 106.Kerrigan SW, Douglas I, Wray A, Heath J, Byrne MF, Fitzgerald D, Cox D. A role for glycoprotein Ib in *Streptococcus sanguis*-induced platelet aggregation. *Blood.* 2002; 100: 509-16.