

**Kronik Böbrek Yetmezliği Olan Pediatrik Hastalarda Trombosit
Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi***Evaluation of Platelet Functions in Pediatric Patients with Chronic Renal
Failure*

Funda Tayfun Küpesiz¹, Canan Vergin², Mustafa Bak³

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji Bölümü

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji Bölümü

³İzmir Çocuk Nefrolojisi Kliniği

ÖZ

GİRİŞ ve AMAÇ: Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda üreminin ciddiyeti ve süresine bağlı olarak kanamaya yatkınlık görülebilir. Günümüzde etkin diyaliz işlemleri ile trombosit fonksiyon bozukluğu yapan üremik toksinlerin uzaklaştırılması kanama bozukluklarının kısmen düzeltilmesi sağlamıştır. Bu çalışmada kronik böbrek yetmezliği hastalarında kanama bulgularını, trombosit fonksiyon bozukluğunun varlığını ve bunu etkileyen faktörleri değerlendirmeyi amaçladık.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Çocuk Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniğinde KBY olarak takip edilen hastalar prospektif olarak değerlendirildi. Çalışma grubu 57 hasta ve 31 sağlıklı kontrol grubundan oluştu. Trombosit yüzeyi fibrinojen (GP IIb-IIa) ve von Willebrand Faktör (vWF) reseptörleri (GP Ib-IX) akım sitometri ile ölçüldü. İn vitro kanama zamanı ise trombosit fonksiyon ölçüm (PFA 100) yöntemi ile ölçüldü.

BULGULAR: PFA 100 analizi sonucunda; hemodiyaliz hastalarında ortanca kollojen/epinefrin, kollojen/ADP kapanma zamanı periton diyalizi ve kontrol grubu hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,000$, $p=0,000$); ancak bu değerler hemodiyaliz işleminden sonra normal düzeylere döndü ($p=0,018$, $p=0,028$). Periton diyalizi hastalarının in vitro kanama zamanı normal aralıktaydı. Periton diyalizi in vitro kanama zamanını hemodiyalize göre daha iyi düzeltiyordu. Akım sitometri ile yapılan analizlerde; diyaliz yapılan hastalardaki GP Ib (CD42b mAb) düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p=0,037$). Hemodiyaliz yapılan hastalarda ise fibrinojen reseptör (GPIIb) düzeyi hemodiyaliz sonrası anlamlı düzeyde azalıyordu ($p=0,018$).

Yayın hakları Güncel Pediatri'ye aittir.

Sorumlu yazar yazışma adresi: Funda TAYFUN KÜPESİZ. ¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji Bölümü. Antalya

E-posta: fundatyfn@gmail.com

TARTIŞMA ve SONUÇ: Üremik hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğuna bağlı primer hemostazı değerlendirebilmek için PFA 100 yöntemi akım sitometriye göre daha kolay uygulanabilen ve ulaşılabilen bir test olarak kanama riski olan hastaların ilk değerlendirmesinde yol gösterici olabilir.

Anahtar Kelimeler: kronik böbrek yetmezliği, diyaliz, trombosit fonksiyonu, PFA 100

SUMMARY

INTRODUCTION: Patients with chronic renal failure may tend to bleed in relation to the severity and duration of uremia. Currently, effective dialysis procedures and the removal of uremic toxins that cause platelet dysfunction partially alleviate bleeding disorders. In this study, our aim was to evaluate bleeding, platelet dysfunction, and factors that were effective on platelet dysfunction in patients with chronic renal failure.

METHODS: This study was a prospective evaluation of patients who were followed by the Nephrology Clinic of Behçet Uz Children's Diseases and Pediatric Surgery Training and Research Hospital with a diagnosis of chronic renal failure. The study group consisted of 57 patients and 31 healthy controls. Platelet surface fibrinogen (GP IIB-IIa) and von Willebrand Factor (vWF) receptors (GP Ib-IX) were measured by flow cytometry. In vitro bleeding time was measured by the platelet function analyzer method (PFA 100).

RESULTS: PFA 100 analysis showed that median closure time was significantly higher among hemodialysis patients in terms of collagen/epinephrine, collagen/ADP comparisons ($p=0.000$, $p=0.000$); however, these values returned to normal after hemodialysis ($p=0.018$, $p=0.028$). The in vitro bleeding time of patients undergoing peritoneal dialysis was found to be in the normal range. The in vitro bleeding time improvements were better in peritoneal dialysis compared to hemodialysis. Analysis with flow cytometry showed that; GP Ib (CD42b mAb) levels in dialysis patients were significantly higher than control group and predialysis patients ($p=0.037$). The fibrinogen receptor (GPIIb) level decreased significantly in hemodialysis patients, after hemodialysis ($p=0.018$).

DISCUSSION and CONCLUSION: The PFA 100 method, which is easier than the flow cytometry method for the evaluation of primary hemostasis due to platelet dysfunction in uremic patients, may prove to be an ideal method for the general evaluation of primary hemostasis in the event of bleeding in uremic patients.

Keywords: chronic renal failure, platelet function, dialysis, flow cytometry, PFA 100

Giriş

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalarda kanama bozukluğu insidansı % 40-60'dır (1). Kanamanın ciddiyeti üremik durumun süresi ve derecesi ile ilişkilidir (2). Bu hastalarda klinik olarak önemsiz (peteşi, purpura ve epistaksis) hafif kanamalar görülebileceği gibi gastrointestinal sistem kanaması, intrakranial kanama ve hemorajik perikardit gibi ciddi kanamalar da görülebilir. Tanı ve tedavi için sıklıkla girişimsel işlemlere (cerrahi işlemler, böbrek biyopsisi veya santral venöz kateter yerleştirilmesi gibi) maruz kalan bu hasta grubu için kanamaya eğilim morbidite ve mortaliteyi arttırabileceğinden önemli bir sorundur (1). Günümüzde ise etkin diyaliz programlarının uygulanması ile kanama bozuklukları düzeltilerek ağır spontan kanamaların önlenmesini sağlamıştır (1,3,4).

Üremili hastalarda trombosit disfonksiyonu ve endotel etkileşimindeki bozulma özellikle primer hemostazı etkileyerek kanama zamanını uzatır (5-7). Vasküler bir hasar sonrasında trombositlerdeki adezyon ve agregasyon sürecinin in vitro koşullarda taklit edilebilmesini sağlayan 'Trombosit fonksiyon analizi (Platelet Function Analyzer PFA-100)' testi kullanılmaktadır (4,8). Akım sitometri yöntemi ise trombosit aktivasyonu sırasında hücre yüzeyinde ortaya çıkan trombosit yüzey glikoproteinlerinin (GP) epitoplarına bağlanan monoklonal antikorlar (mAb) aracılığıyla değerlendirilmesini sağlar. GP IIb (CD41) ve GP IIIa (CD61) ile birlikte fibrinojen reseptörü olan GP IIb-IIIa'yı oluşturur. GP IIb (CD41) alt üniti fibrinojeni bağlayan kısımdır ve trombosit agregasyonu için mutlaka gereklidir (9). GP Ib (CD42b) von Willebrand Faktörü (vWF) bağlamakla sorumlu olup GP IX (CD42a) ile birlikte GP Ib-IX reseptörünü oluşturarak trombosit adezyonunu sağlar (10). KBY 'li hastalarda vWF aktivitesinin azalması, nitrik oksit ve prostoglandin salınımının artması nedeni ile trombosit ve damar duvarındaki etkileşim ve adezyon azalmıştır. Ayrıca artmış olan fibrin yıkım ürünleri GP IIb-IIIa reseptörüne bağlanır ve trombositlerin fibrinojene bağlanmasını engelleyerek trombosit agregasyonunu bozar (11-15). Üremik plazmadaki inhibitörler nedeni ile bu hastaların trombositleri normal fonksiyonlarını sürdürebilmek daha fazla vWF' e ihtiyaç duyarlar (11). Plazmadaki toksik ürünler (Guanidosuccinic acid, phenol, phenoleic acid) nedeni ile trombositlerden ADP, epinefrin ve serotonin ve tromboksan A2 sentezi azalmıştır (11). Üremiye eşlik eden ağır derecedeki anemi, kan akımı içindeki hemodinamiyi bozar ve nitrik oksit metabolizmasını etkileyerek vazodilatasyon ve trombosit inhibisyonuna sebep olarak trombositlerle damar duvarı arasındaki karşılıklı etkileşimi olumsuz yönde etkiler (16). Bu hastalarda gastrik asit sekresyonunun artmasına bağlı gastrointestinal hastalıkların daha sık görülmesi, trombosit fonksiyon bozukluğu yapması nedeni ile üremik toksin gibi kabul edilen parathormon (PTH) yüksekliği, tanı ve tedaviye yönelik uygulanan cerrahi girişimler (renal

biyopsi, katater takılması) ile antikoagülan kullanımı gibi eşlik eden faktörler kanamayı kolaylaştırabilir (11).

Üremik hastalar kanama bulguları yönünden değerlendirilmeli ve riskli olan hastalarda kullanılacak ilaç seçimi, uygun heparinizasyonun yapılması kanama sıklığının ve ciddiyetinin azaltılmasını sağlayabilir. Biz de bu amaçla çalışmamızda KBY tanısı ile izlediğimiz hastalarda riskli grubu saptayabilmek amaçlı trombosit fonksiyonlarını ve bunu etkileyen faktörleri değerlendirdik.

Gereç ve Yöntem

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Çocuk Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniğinde takip edilen 0-18 yaş arası son dönem böbrek yetmezliği (Evre 5) ve Evre 3– 4 KBY tanıları ile izlenen 115 hasta Şubat - Aralık 2009 tarihleri arasında prospektif olarak değerlendirildi. Çalışma için yerel etik kurul onayı ve katılımcılar çalışma hakkında bilgilendirilerek gönüllü onamları alındı.

Bilinen bir kanama bozukluğu olan hastalar ile trombosit sayısı $<100.000/\mu\text{L}$ olan hastalar ile kan alınmadan önceki iki hafta içinde aspirin, diğer nonsteroid inflamatuvar ilaçlar ve penisilinler gibi trombosit fonksiyonunu etkileyebilecek herhangi bir ilaç alan hastalar çalışma dışında tutuldu. Böylelikle çalışmaya 57 hasta dahil edildi. Kontrol grubu için örneklem rutin çocuk sağlığı muayenesi için polikliniğe başvuran ve herhangi bir kanama yakınması olmayan sağlıklı çocuklardan seçildi. Kontrol grubu 31 hastadan oluşmaktaydı.

Hastalar, kanama varlığı ve kanamanın ciddiyeti açısından ‘Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)’ kanama skoru ile değerlendirildi (17). Hastaların yaş, cinsiyet, kronik böbrek yetmezliği evresi, almakta olduğu diyaliz tipi, periton diyaliz modeli ve diyalizat tipi ile ne kadar süredir diyaliz tedavisi almakta olduğu ve kullandığı ilaçları kaydedildi.

Hastaların aylık kontrollerinde kan örnekleri alındı. Periton diyalizi hastalarının örnekleri diyaliz öncesinde, hemodiyaliz hastalarının örnekleri ise diyaliz öncesi heparin infüzyonu yapılmadan önce ve diyaliz bitiminde alındı. Hematolojik ölçümler için, tam kan sayımı yapılarak; hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc), trombosit sayısı kaydedildi. Hastanın üremi dışında başka bir nedene bağlı kanama bozukluğunu dışlayabilmek için koagülasyon testi ile protrombin zamanı (PZ), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ) ve fibrinojen bakıldı. Parametreler için laboratuvarımızın referans aralık değerleri (trombosit sayısı: $150000-450000/\mu\text{L}$, MPV: 7,4-10,4 μm (femtolitre, fL), fibrinojen: 190-400 mg/dL) normal değerler olarak kabul edildi.

Trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için PFA-100 testi ile in vitro kanama zamanı ölçüldü. Kollojen/epinefrin (CEPİ) ve kollojen/ADP (CADP) kapanma zamanı için kullanılan PFA 100 kitinin referans aralığı normal kabul edildi (CEPİ için 82-150 sn, CADP için 62-100 sn). Akım

sitometri ile trombosit yüzey glikoprotein mAb düzeyleri ölçüldü. PFA 100 için kan örneklerinin toplanması ve hazırlanması: Kan 21 G ya da daha büyük lümenli (20-19 G) iğne % 3,8 ya da % 3,2 tamponlanmış sitrat içeren (1 kısım antikoagülan 9 kısım kan) silikonlu cam tüplere alındı. Tüp 3-4 kez yavaşça çevrilerek antikoagülan ile karışması sağlandı. Oda ısısında (+16 - +26°C) bekleyen kan 4 saat içinde çalışıldı. PFA 100 tetkiki için 'Dade Behring PFA100 Kollojen/ Epinefrin ve Dade PFA100 Kollojen/ ADP kartuş ile Dade PFA100 tetikleme solüsyonu' kullanıldı.

Akım sitometri analizi için Beckman Coulter kitleri kullanıldı. Fluorescein Isothiocyanate (FITC) ve Phycoerythin (PE) ile konjuge edilmiş CD41, CD42a, CD42b, CD61 mAb` ları kullanılarak fibrinojen reseptörü olan GP IIb-IIIa (CD41-CD61), vWf reseptörü olan GP Ib-IX (CD42a-CD42b) moleküllerinin ekspresyonu ölçüldü.

İstatistiksel Analiz: Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS-v23 istatistik programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (%25 - % 75 persantil) ile sunuldu. Normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Korelasyon ve sayısal verilerin birbiri ile ilişkisini değerlendirmek için Spearman korelasyon analizi kullanıldı. P <0,05 istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya 29 (% 50,8) erkek ve 28 (% 49,2) kadın olmak üzere 57 hasta dahil edildi. Hasta grubunun yaş ortalaması 12±4,6 (2-19) yıldır. Kontrol grubundaki 31 çocuğun 16 (%52,0)`sı erkek, 15 (%48,0)`i kız olup ortalama yaşları 11,87±4,9 (2-20) yıl olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grubu demografik verileri benzer özelliklere sahipti.

Renal replasman tedavisi alan 38 hastanın 7 (% 12) `sine hemodiyaliz, 31 (% 56) `sına periton diyalizi yapılıyordu. Diyaliz yapılmayan 19 hastanın ise 8 (% 14) `ü Evre 4 KBY, 11 (% 18) `i de Evre 3 KBY olarak izleniyordu. Diyaliz yapılan hastalarda ortalama 30,28 ±21,81 (2-89) aydır diyaliz uygulanıyordu. Hastalarımızdan ikisinin menometroraji yakınması vardı ancak ISTH kanama skoru ile değerlendirdiğimizde anlamlı değildi, hastalarımızın hiçbirinde anlamlı mukokütanöz kanama yakınması yoktu.

Çalışmaya katılan hastalarımızın Hb ortalaması 11 ±1,43 g/dL iken Htc ortalaması % 32,42 ± 4,59 idi. Primer hemostazla ilişkili olan trombosit sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı (p=0,860). Çalışmaya alınan hastaların tam kan sayım sonuçları Tablo 1`de paylaşıldı.

Hastalarda kanama bozukluğu yapabilecek diğer nedenleri dışlayabilmek amacı ile PT, APTT ve fibrinojen değerlerine bakıldı. Hemodiyaliz yapılan hastalarda APTT değeri anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0,033).

Tablo 1. Hastaların tam kan sayımı ve koagülasyon test sonuçları

Gruplar (n)	Hemoglobin (g/dL)	Hematokrit (%)	Trombosit sayısı (/µL)	Ortalama trombosit hacmi (fL)	PT (sn)	APTT (sn)
	Ort ± SD	Ort±SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort± SD
Tüm hastalar (57)	11±1,43	32,42±4,59	244650±89294	9,59±0,96	12,58±0,95	28,28±12,88
Hemodiyaliz (7)	11,45±0,95	33,41±2,69	200714±63036	9,64±0,89	12,54±0,41	41,17±34,88
Periton Diyalizi (31)	10,83±1,4	30,8±3,37	257032±90012	9,2±0,79	12,24±0,84	25,4±2,71
Evre 4 KBY (8)	11,53±1,22	37,51±5,11	244250±85354	10,47±1,11	13,22±1,11	28,75±3,11
Evre 3 KBY (11)	10,82±1,79	32,61±5,41	239428±101483	9,87±0,86	12,95±1,11	27,27±3,52
P	0,569	0,003	0,439	0,013	0,067	0,009
Ort: Ortalama, SD: Standart Deviasyon, PT: Protrombin zamanı, APTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı						

PFA 100 ile in vitro kanama zamanının değerlendirilmesi: Çalışmaya katılan tüm böbrek yetmezliği hastaları diyaliz yapılan son dönem böbrek yetmezliği hastaları ve diyaliz ihtiyacı olmayan prediyaliz (Evre 3- 4 KBY) hastaları olarak analiz edildi ve Tablo 2’de sunuldu.

Tablo 2: KBY evresine göre monoklonal antikor düzeyleri ve kapanma zamanları

Hasta Grubu (n)	PFA 100				GP Ib-IX				GP Ib-IX			
	CEPI		CADP		CD41 mAb		CD61 mAb		CD42a mAb		CD42b mAb	
	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75
Kontrol(31)	116	100 - 127	85	76-95	93,2	86,4-96,6	99,4	98,9-99,6	99,4	98,9-99,7	95,8	92,1-97,2
Prediyaliz (19)	117	104 - 127	96	84-107	97,6	94,6-99,3	99,7	98,9-99,9	99,5	99-99,7	97,6	95,5-98,4
Diyaliz (38)	106	89 - 152	95	74-131	94,3	90,2-98,1	99,6	99-99,8	99,5	99,2-99,7	97,3	95,3-98,7
p	0,517		0,080		0,265		0,191		0,235		0,030	
Ort: Ortanca (median), P: Persantil												

Diyaliz hastalarında ortanca CEPİ değeri 106 sn iken prediyaliz hastalarında 117 sn olarak hesaplandı ($p=0,517$). Ortanca CADP değerleri diyaliz hastaları için 95 sn iken prediyaliz hastaları için 96 sn olarak ölçüldü ($p= 0,080$). Hemodiyaliz ve periton diyalizi uygulanan hastalar ayrı ayrı değerlendirilerek Tablo 3'te ayrıntılı olarak sunuldu.

Tablo 3: Hemodiyaliz ve Periton diyalizi hastalarının monoklonal antikor düzeyleri ve kapanma zamanı

Analiz Hasta Grubu (n)	PFA 100				GP Ib-IX				GP Ib-IX			
	CEPİ		CADP		CD41 mAb		CD61 mAb		CD42a mAb		CD42b mAb	
	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75
Hemodiyaliz (7)	178	156-300	227	171-260	97,6	94,6-99,3	99,6	99,1-99,9	99,2	97,1-99,8	97,3	95,3-97,9
Periton Diyalizi (31)	98	85-115	85	72-106	94,3	90,2-98,1	99,4	98,9-99,8	99,5	99,3-99,7	97,3	94,9-99
Kontrol (31)	117	104-127	96	84-107	93,2	86,4-96,6	99,7	98,9-99,9	99,5	99-99,7	85,1	95,5-98,4
p	0,000		0,000		0,109		0,405		0,216		0,763	
Ort: Ortanca (median), P: Persantil												

Hemodiyaliz yapılan hastaların ortanca CEPİ kapanma zamanı; 178 sn, periton diyalizi uygulanan hastalarda ortanca CEPİ kapanma zamanı; 98 sn olarak bulundu. CADP kapanma zamanları karşılaştırıldığında; hemodiyaliz uygulanan hastalar için ise ortanca değer 227 sn, periton diyalizi uygulanan hastalar için ortanca değer 85 sn olarak ölçüldü. Periton diyalizi hastalarının CEPİ ve CADP değerleri kontrol grubu ile anlamlı farklılık göstermezken hemodiyaliz grubunda her iki değer de kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldi ($p= 0,000$, $p= 0,000$).

Hemodiyaliz yapılan hastaların CADP ve CEPİ kapanma zamanlarını diyaliz uygulanmadan önce ve diyaliz bitiminde tekrar değerlendirdi. Diyaliz işlemi uygulandıktan sonra kapanma zamanlarının anlamlı olarak kısaldığı görüldü ($p= 0,018$, $p= 0,028$) (Tablo 4).

Akım sitometri ile trombosit yüzey glikoproteinlerinin değerlendirilmesi: Diyaliz ve prediyaliz hastalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; vWF reseptörü GP Ib (CD42b mAb) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p=0,030$). Bu farklılığın hangi hasta grubundan kaynaklandığını ortaya koymak üzere yapılan analizde prediyaliz ve diyaliz hastaları arasındaki GP Ib (CD42b mAb) değerlerinin birbirine yakın olduğu ancak diyaliz yapılan

hastalardaki GP Ib (CD42b mAb) düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p=0,037$). Hemodiyaliz ve periton diyalizi yapılan hastaların fibrinojen reseptörü GP IIb-IIIa (CD41-CD61 mAb) ve vWf reseptörü GP Ib-IX (CD42a- CD42b mAb) düzeyleri arasından anlamlı bir farklılık saptayamadık.

Hemodiyaliz yapılan yedi hastada işlem öncesi bakılan ölçümlerde trombosit yüzeyi fibrinojen reseptörü olan GP IIb (CD41 mAb) düzeyinin işlem sonrası anlamlı şekilde azaldığı görüldü ($p=0,018$). Diğer trombosit yüzey glikoproteinleri için hemodiyaliz öncesi ve sonrası arasında farklılık bulunamadı (Tablo 4).

Tablo 4. Hemodiyaliz öncesi ve sonrası monoklonal antikor düzeyleri ve kapanma zamanı

Analiz	PFA 100				GP IIb-IIIa				GP Ib-IX			
	CEPİ		CADP		CD41 mAb		CD61 mAb		CD42a mAb		CD42b mAb	
	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75	Ort	Persantil %25 - %75
Hemodiyaliz Öncesi	178	156-300	227	171-260	97,6	94,6-99,3	99,6	99,1-99,9	99,2	97,1-99,8	97,3	95,3-97,9
Hemodiyaliz Sonrası	128	113-203	153	126-196	93,7	88,4-96,9	99,7	98,7-99,9	99,1	98,7-99,7	93,7	90,8-99
p	0,018		0,028		0,018		0,932		0,176		0,446	
Ort: Ortanca (median), P: Persantil												

Tartışma

Böbrek yetmezliği ve üremi olan hastalarda kanama ve tromboz sıklıkla görülebilir ancak etkin diyaliz programlarının uygulanması ile trombosit fonksiyonları kısmen düzeltilebilir (4,18).

Hastalarımıza birebir uyguladığımız ISTH kanama skorlaması ile değerlendirdiğimizde hiçbir hastamızın klinik olarak anlamlı kanama bulgusunun olmadığını gördük Bizim çalışmamızda primer hemostaz testlerinin anlamlı uzun olduğu ancak yedi hemodiyaliz hastası mevcuttu. Hasta grubumuzun küçük olması nedeni ile bu ilişkinin gösterilememiş olduğunu düşünmekteyiz; daha büyük bir çalışma grubunda laboratuvar bozukluğu ile klinik anlamlı kanama yakınmaları arasındaki ilişkinin ortaya konulması mümkün olabilir.

Hemodiyaliz hastalarında CEPİ ve CADP kapanma zamanları periton diyalizi uygulanan hastalardan ve henüz diyaliz ihtiyacı olmayan Evre 3 ve Evre 4 KBY hastalarından belirgin olarak

uzundu. Mekawy ve arkadaşları hemodiyaliz yapılan hastaların %90'ında uzamış olan CEPİ süresinin hemodiyaliz işleminden sonra hastaların %22'sinde normale döndüğünü göstermişlerdir (3). Bilgin ve arkadaşları PFA 100 ile hemodiyalizin trombosit fonksiyonları üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında hemodiyaliz sonrasında CEPİ ve CADP' nin belirgin olarak düzeldiğini, her iki değer de hastaların dörtte birinde normale döndüğünü göstermişlerdir (4). Biz de çalışmamızda hemodiyaliz yapılan hastalarda uzun olan CEPİ ve CADP kapanma zamanlarının hemodiyaliz işlemi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kısaldığını gösterdik. Hemodiyaliz yapılan hastaların in vitro kanama zamanı diyaliz öncesi ölçümlerde uzun iken periton diyalizi yapılan hastaların in vitro kanama zamanının normal olması bize periton diyalizinin trombosit fonksiyonlarını daha iyi düzelttiğini düşündürdü.

Zupan ve arkadaşları hemodiyaliz hastalarında kanama bozukluğunun ciddiyeti ile anemi arasındaki kolerasyonu PFA 100 ile inceledikleri araştırmalarında hemodiyaliz hastalarında hedef Htc düzeyinin % 35'in üzerinde olmasının kanama zamanının normal sürelerde tutulması için yeterli olacağını öne sürmüşlerdir (8,19). Bu sonuç bizim çalışmamızdaki ortalama Htc değerleri ile benzerdi.

Trombosit aktivasyonunu akım sitometri ile değerlendirerek yaptığımız analizlerde, diyaliz yapılan hastalarda vWf reseptörü GP Ib (CD42b mAb)'nün daha yüksek olduğunu gösterdik. Diyaliz yöntemine göre hastaları değerlendirdiğimizde ise fibrinojen reseptörü GP IIB-IIIa (CD41-CD61 mAb) ve vWf reseptörü GP Ib-IX (CD42a- CD42b mAb) düzeyleri arasında bir farklılık saptamadık. Literatürde yapılmış çalışmalar değerlendirildiğinde; Gawaz ve arkadaşları üremili hastalarda trombosit agregasyonunda ve subendotele yapışmasında görevli olan fibrinojen reseptörü GP IIB-IIIa' nın fonksiyonunun bozuk olduğunu öne sürmüşler ve 11 üremik hastada akım sitometri ile fibrinojen reseptördeki azalmayı göstermişlerdir (9). Biz çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında fibrinojen reseptör fonksiyonlarının bozuk olduğunu eş zamanlı baktığımız PFA 100 tetkikindeki CEPİ ve CADP kapanma zamanlarındaki anlamlı uzama ile gösterdik. Gawaz ve arkadaşları hemodiyaliz ile özellikle GP IIB-IIIa (CD41-CD61 mAb) fonksiyonunun düzeltilebildiğini GP IIB-IIIa' ya fibrinojenin bağlanabildiğini göstermiştir. Bu çıkarıma dayanarak üremik toksinlerin trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini söylemişlerdir (9). Thekkedath ve arkadaşları akım sitometri ile üremik hastaların plazmasında normalden fazla bulunan endojen fibrinojen yıkım ürünlerinin fibrinojen reseptörü olan GP IIB-IIIa' ya bağlanarak bu reseptörü inhibe ettiğini ve trombosit fonksiyonunu bozduğunu göstermişlerdir (13).

Sreedhara ve arkadaşları hemodiyaliz sonrası ardışık ölçümler ile CD42b ve CD41 mAb'ları kullanarak trombositlerde GP Ib, GP IIB-IIIa fonksiyonlarını değerlendirdiklerinde; her iki mAb'un da hemodiyaliz sonrasında düştüğünü ancak bu düşüklüğün geçici olduğunu ve hemodiyalize bağlı olarak spesifik trombosit reseptörlerinin kaybedilmesine bağlı olduğunu belirtmişlerdir (20). Bizim çalışmamızda da hemodiyaliz işleminden sonra hastaların CD41 mAb düzeyinde anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Diyaliz sonrası trombosit yüzeylerindeki fibrinojen

reseptör sayısı azalmış olsa da eş zamanlı olarak bakılan PFA 100 analizinde kanama zamanının normale geldiği yani trombositlerin fonksiyonunun düzeldiği gösterildi.

Benigni A ve arkadaşları, çalışmalarında üremili hastaların trombositlerindeki fibrinojen reseptör sayısının normal olduğunu ancak bu reseptörlerin aktive olamadıklarını; vWf reseptörüne vWf bağlanma aktivitesinin ise normal olduğunu göstermişlerdir (21).

Salvati ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; üremik hastalarda vWf reseptörü GP Ib ekspresyonu ile serum kreatin düzeyi arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Hemodiyaliz ve periton diyalizi yapılması ile vWf reseptörü GP Ib (CD42b mAb) düzeyinin arttırılmadığını göstermişlerdir. Ancak periton diyalizi yapılan hastaların fibrinojen reseptörü GP IIb-IIIa'yı daha iyi düzelttiğini göstermişlerdir (22). Bizim çalışmamızda hemodiyaliz ve periton diyalizi yapılan hastalar arasında trombosit yüzeyindeki fibrinojen ve vWf reseptörü açısından anlamlı farklılığı gösteremedik. Ancak periton diyalizi yapılan hastalarda in vitro kanama zamanının normal olması periton diyalizi işleminin hemodiyaliz işlemine göre trombosit fonksiyonlarını daha etkin düzelttiğini düşündürdü. Çalışmamızda hemodiyaliz yapılan hasta sayısı düşüktü. Daha fazla hasta ile yapılan çalışmalar diyaliz yönteminin trombosit yüzey reseptörleri üzerine etkisini belirlemede yardımcı olabilir.

Akım sitometri ile trombosit fonksiyonlarını değerlendirebilmek oldukça sensitif bir yöntem olsa da spesifik bir ekipman ve deneyimli personel gereksinimi olması yaygın olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Üremik hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğunun Trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için PFA 100 testi tam anlamıyla yeterli olamasa da bu test, kapanma zamanı normal olan hastalarda daha pahalı olan trombosit testlerinin yapılmasına olan gereksinimi ortadan kaldırdığı için tarama testi gibi kullanılabilir. Trombosit agregasyon testleri ise uzmanlaşmış laboratuvarlarda yapılabilen tetkiklerdir (3).

Sonuç: Cerrahi veya girişimsel işlemler planlanan üremik hastaların, özellikle kanama açısından riskli işlemler öncesinde trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesi ciddi komplikasyonlar ile sonuçlanabilecek durumların önlenmesi için gerekli tedbirlerin alınmasına yardımcı olacaktır. Üremili hastalarda kanama bozukluğunun değerlendirilmesi ve invaziv işlemlerden önce kanama riskinin öngörülmesi için PFA 100 testinin uygun bir test olabileceğini düşünüyoruz. Daha geniş hasta grupları ile hemodiyaliz ve periton diyaliz uygulamalarının trombosit fonksiyonları üzerine etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışma tasarlanması özellikle kanama yakınması olan hastalarda diyaliz yöntemleri açısından tercihte öncelik belirlenmesini sağlayabilir.

Çalışmanın kısıtlılıkları: Hemodiyaliz yapılan hasta sayısının görece az olması sonuçlarımızı etkileyen bir parametre olabilir. Trombosit fonksiyon bozukluğu hakkında daha ayrıntılı bir değerlendirme yapılabilmesi için tromboagregometri, tromboelastografi gibi yöntemlerin kullanıldığı bir çalışmanın literatüre katkısı olacağını düşünmekteyiz (23).

Kaynaklar

1. Gangji AS, Sohal AS, Treleaven D, Crowther MA. Bleeding in patients with renal insufficiency: a practical guide to clinical management. *Thromb Res* 2006;118(3):423-8.
2. Mohapatra A, Valson AT, Gopal B, Singh S, Nair SC, Viswabandya A, et al. Hemostatic Abnormalities in Severe Renal Failure: Do They Bark or Bite? *Indian J Nephrol* 2018;28(2):135-42.
3. Mekawy MA, Habashy DM, Abd El-Mohsen WA. Effect of hemodialysis on platelet function in end-stage renal disease Egyptian patients using in vitro closure time test (PFA-100 analyzer). *Platelets* 2015;26(5):443-7.
4. Bilgin AU, Karadogan I, Artac M, Kizilors A, Blogin R, Undar L. Hemodialysis shortens long in vitro closure times as measured by the PFA-100. *Med Sci Monit* 2007;13(3):CR141-5.
5. Rios DR, Carvalho M, Lwaleed BA, Simoes e Silva AC, Borges KB, Dusse LM. Hemostatic changes in patients with end stage renal disease undergoing hemodialysis. *Clin Chim Acta* 2010;411(3-4):135-9.
6. Boccardo P, Remuzzi G, Galbusera M. Platelet dysfunction in renal failure. *Semin Thromb Hemost* 2004;30(5):579-89.
7. Soyoral YU, Demir C, Begenik H, Esen R, Kucukoglu ME, Aldemir MN, et al. Skin bleeding time for the evaluation of uremic platelet dysfunction and effect of dialysis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2012;18(2):185-8.
8. Zupan IP, Sabovic M, Salobir B, Ponikvar JB, Cernelc P. Utility of in vitro closure time test for evaluating platelet-related primary hemostasis in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003;42(4):746-51.
9. Gawaz MP, Dobos G, Spath M, Schollmeyer P, Gurland HJ, Mujais SK. Impaired function of platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1994;5(1):36-46.
10. Liani M, Salvati F, Golato M, Tresca E. Platelet glycoproteins GPIb and GPIIb/IIIa abnormalities in uremia. *Nephron* 1996;72(4):716.
11. Sohal AS, Gangji AS, Crowther MA, Treleaven D. Uremic bleeding: pathophysiology and clinical risk factors. *Thromb Res* 2006;118(3):417-22.
12. Sreedhara R, Itagaki I, Hakim RM. Uremic patients have decreased shear-induced platelet aggregation mediated by decreased availability of glycoprotein IIb-IIIa receptors. *Am J Kidney Dis* 1996;27(3):355-64.
13. Thekkedath UR, Chirananthavat T, Leyboldt JK, Cheung AK, Mohammad SF. Elevated fibrinogen fragment levels in uremic plasma inhibit platelet function and expression of glycoprotein IIb-IIIa. *Am J Hematol* 2006;81(12):915-26.

- 14.Kozek-Langenecker SA, Masaki T, Mohammad H, Green W, Mohammad SF, Cheung AK. Fibrinogen fragments and platelet dysfunction in uremia. *Kidney Int* 1999;56(1):299-305.
- 15.Escolar G, Diaz-Ricart M, Cases A. Uremic platelet dysfunction: past and present. *Curr Hematol Rep* 2005;4(5):359-67.
- 16.Kaw D, Malhotra D. Platelet dysfunction and end-stage renal disease. *Semin Dial* 2006;19(4):317-22.
- 17.Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Coller B, James P, et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2010;8(9):2063-5.
- 18.Zeck J, Schallheim J, Lew SQ, DePalma L. Whole blood platelet aggregation and release reaction testing in uremic patients. *Biomed Res Int* 2013;2013:486290.
- 19.Zupan IP, Sabovic M, Salobir B, Ponikvar JB, Cernelc P, Lavre J, et al. The study of anaemia-related haemostasis impairment in haemodialysis patients by in vitro closure time test. *Thromb Haemost* 2005;93(2):375-9.
- 20.Sreedhara R, Itagaki I, Lynn B, Hakim RM. Defective platelet aggregation in uremia is transiently worsened by hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1995;25(4):555-63.
- 21.Benigni A, Boccardo P, Galbusera M, Monteagudo J, De Marco L, Remuzzi G, et al. Reversible activation defect of the platelet glycoprotein IIb-IIIa complex in patients with uremia. *Am J Kidney Dis* 1993;22(5):668-76.
- 22.Salvati F, Liani M. Role of platelet surface receptor abnormalities in the bleeding and thrombotic diathesis of uremic patients on hemodialysis and peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs* 2001;24(3):131-5.
- 23.Shaydakov ME, Blebea J. Thromboelastography (TEG). *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019.*