

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İDİYOPATİK TROMBOSİTOPENİK PURPURADA
KEMİK İLİĞİNDE GİRELİN, HSP70, BCL-2 VE BAX GÖSTERİMİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Mevra ÇAY**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Saadet AKARSU**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Saadet AKARSU

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde ve her aşamasında emeği geçen, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, her konuda desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Saadet AKARSU'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca katkılarından dolayı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdal YILMAZ'a ve tüm hocalarım,

Tez çalışma preperatlarının değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim Hanefi ÖZERCAN'a

Başta sevgili Lütfiye Çilkol olmak üzere beraber çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Hayatıma renk katan Ömer, Erdem ve Azra Duru'ya,

Tüm yaşamım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve her türlü fedakarlıkta bulunan anneme, babama, kardeşlerime ve eşime teşekkür ediyorum.

ÖZET

İdiyopatik trombositopenik purpura (İTP), trombositopeni (trombosit sayısı $<100.000/mm^3$), plazmada antitrombosit antikorların varlığı, trombosit yaşam süresinin kısalığı ve kemik iliğinde megakaryositlerin artması ile karakterize çocukluk çağının en sık karşılaşılan edinsel trombositopeni nedenidir. Patogenezindeki esas neden trombosit ömrünün kısalmasıdır. Buna neden olabilecek pek çok faktör öne sürülmüştür. Oksidatif etki, antioksidan mekanizma, apoptozis ve antiapoptozisin her birinin ayrı ayrı etkisi olduğu üzerine çalışmalar bulunmaktadır.

Çalışma grubumuza İTP tanılı 45 hasta alındı. Tanıdan itibaren ilk 3 ay içinde trombositopenisi düzelen 23 olgu Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP), tanıdan itibaren 12 ay veya daha uzun sürede trombositopenisi düzelmeyen 22 olgu Grup II (Kronik İTP) ve bu tüm olguları içerenler Grup III (Toplam İTP) olarak belirlendi. Grup IV (Kontrol Grubu) olarak solid tümör saptanan, bu nedenle kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılarak normal olduğu belirlenen 20 olgudan oluşturuldu. Çalışmada retrospektif olarak dosya kayıtları incelenerek hasta ve kontrol grupları belirlendi. Bu olguların patoloji laboratuvarında saklı parafin blok örneklerine ayrı ayrı girelin, Hsp70, Bcl-2 ve Bax uygulandı. Boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından immunohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Kronik İTP'li olgularda girelin boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre; girelin boyanma şiddeti ise Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu'na göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Hsp70 ve Bcl-2 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Tüm İTP'li olgularda Kontrol Grubu'na göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Bax boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Bcl-2/Bax ve Hsp70/Bax boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Ancak girelin/Bax boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$).

Bir oksidan olan Bax parametresinin tüm gruplarda düşük olması; antioksidan parametreler olan girelin, Bcl-2 ve Hsp70 parametrelerinden sadece girelin düşüklüğü

İTP'deki olayların bir sonucu mu, yoksa nedeni mi olduğu araştırmaya açık bir konudur. Bu bilgilerin ışığında, trombositlerdeki yapısal ve fonksiyonel değişikliklerden ve trombositopeni mekanizmasından yalnızca antijen-antikor reaksiyonunu sorumlu tutmanın yeterli olmadığı düşünölmektedir.

Anahtar Kelimeler: İdiyopatik trombositopenik purpura, girelin, Hsp70, Bcl-2, Bax

ABSTRACT

THE EXPRESSION OF GHRELIN, HSP70, BCL-2 AND BAX PROTEINS IN IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA AT BONE MARROW

Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is a syndrome that is characterized by thrombocytopenia (thrombocyte count $<100,000/\text{mm}^3$), the presence of antithrombocyte antibodies in the plasma, a short thrombocyte lifecycle, and increased megakaryocytes in the bone marrow. The main factor in its pathogenesis is the shortening of the thrombocyte lifetime, and many studies have been conducted for this purpose. There are studies that state that each of the factors such as oxidative effect, antioxidant mechanism, apoptosis, and anti-apoptosis have individual effects.

Forty-five patients diagnosed with ITP were included in the current study. Diagnosis to three-month, 23 cases in which thrombocytopenia improved were included in Group I (Newly Diagnosis ITP) and during the twelve-month follow up period, 22 cases in which thrombocytopenia did not improve were included in Group II (Chronic ITP) and all cases with ITP were included in Group III (Total ITP). Twenty cases in which a solid tumor was detected and who had normal bone marrow aspiration findings and biopsy were included in Group IV (Control Group). The bone marrow biopsy was immunohistochemically evaluated in terms of diffusiveness of staining, severity of staining, and staining score individually, in paraffin block samples by administration of Bax, Bcl-2, Hsp70, and ghrelin.

In the chronic ITP group, the diffusiveness of staining and staining score with ghrelin were significantly lower when compared to the acute ITP group, and the severity of ghrelin staining was significantly lower when compared with acute ITP group and the control group ($p < 0.05$). There was no significant difference between the study groups in terms of diffusiveness of staining, severity of staining, and staining score with Hsp70 ($p > 0.05$). There was no significant difference between the study groups in terms of diffusiveness of staining, severity of staining, and staining score with Bcl-2 ($p > 0.05$). In all cases with ITP, the severity of Bax staining was significantly lower than the control group ($p < 0.05$). No statistically significant difference was observed in terms of Bax diffusiveness of staining and staining score ($p > 0.05$). No

significant difference was found between the study groups in terms of ratios of Bcl-2/Bax and Hsp70/Bax staining scores ($p>0.05$). However, the ghrelin/Bax staining score ratio in cases with chronic ITP was significantly lower than the cases with acute ITP ($p<0.05$).

Whether finding a low Bax value, which is an oxidant parameter, in all groups, and finding only a low value of ghrelin among the antioxidant parameters such as ghrelin, Bcl-2, and Hsp70, is a result or the cause of the events in ITP, is a subject of discussion. In the light of this information, we believe that it is insufficient to consider the antigen-antibody reaction to be responsible for the structural and functional changes in thrombocytes and the mechanism of thrombocytopenia.

Key words: Idiopathic thrombocytopenic purpura, ghrelin, Hsp70, Bcl-2, Bax,

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. İdiyopatik Trombositopenik Purpura	2
1.1.2. Genel Bilgiler	2
1.1.3. Tanımlama	5
1.1.4. Epidemiyoloji	7
1.1.5. Patogenez	8
1.1.6. Genetik ve Çevresel Faktörler	9
1.1.7. Klinik Bulgular	10
1.1.8. Laboratuvar	11
1.1.9. Ayırıcı Tanı	12
1.1.10. Komplikasyonlar	13
1.1.11. Tedavi	14
1.1.11.1 Kortikosteroidler	16
1.1.11.2. İntravenöz immunglobulin	16
1.1.11.3. Anti-D İmmunglobulin	17
1.1.11.4. Splenektomi	17
1.1.11.5. Trombosit süspansiyon transfüzyonu	18
1.1.11.6. Diğer Tedaviler	18
1.1.11.7. Kronik İTP’de Tedavi	19
1.1.11.8. Hayatı tehdit eden kanamalarda acil tedavi	20
1.1.12. Prognoz	20
1.2. Girelin	20

1.2.1. Girelin ve Apoptozis	23
1.3. Isı Şok Proteinleri	24
1.3.1. Isı Şok Proteini 70	25
1.3.2. Isı Şok Proteini 70 ve Apoptozis	26
1.4. Apoptozis	27
1.4.1. Apoptozis Mekanizmaları	29
1.4.1.1. Ekstresek Yol	31
1.4.1.2. İntresek Yol	32
1.4.1.3. Perforin/granzim yolu	33
1.4.2. Apoptozisteki Biyokimyasal Olaylar	34
1.4.3. Apoptozisin Genetik Kontrolü	34
1.4.3.1. Bcl-2/Bax protein ailesi	35
1.4.4. İdiyopatik Trombositopenik Purpura ve Apoptozis	37
2. GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. İmmunohistokimyasal Boyama	41
3. BULGULAR	42
4. TARTIŞMA	67
5. KAYNAKLAR	77
6. ÖZGEÇMİŞ	89

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Çocuklarda trombositopeninin patofizyolojik sınıflaması	3
Tablo 2.	İmmun trombositopeni meydana getiren ilaçlar	5
Tablo 3.	İTP'li çocuklarda kanama şiddetinin sınıflandırılması	11
Tablo 4.	İTP tedavisinde kullanılan ilaçlar ve trombosit yükselme hızı	15
Tablo 5.	Apoptozisin başlatıcıları (ekstresek yol)	30
Tablo 6.	Apoptozisin başlatıcıları (intrinsek yol)	31
Tablo 7.	Apoptozis ve Genler	34
Tablo 8.	Olguların demografik özellikleri	41
Tablo 10.	Grupların trombosit, MPV, PDW, PCT, Hb ve WBC değerleri	43
Tablo 11.	İTP ve Kontrol Grubu'nda girelin boya değerlendirmesi	44
Tablo 12.	İTP ve Kontrol Grubu'nda Hsp70 boya değerlendirmesi	49
Tablo 13.	İTP ve Kontrol Grubu'nda Bcl-2 boya değerlendirmesi	55
Tablo 14.	İTP ve Kontrol Grubu'nda Bax boya değerlendirmesi	59
Tablo 15.	İTP ve Kontrol Grubu'nda oksidanların antioksidanlara göre boyanma skoru oranları	65
Tablo 16.	İTP ve Kontrol Grubu'nda antioksidanların oksidanlara göre boyanma skoru oranları	66
Tablo 17.	İTP ve Kontrol Grubu'nda antioksidanlar arası boyanma skoru oranları	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Apoptozis mekanizması (8)	30
Şekil 2.	(+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	44
Şekil 3.	(+++) (İmmünperoksidaz, X200).	45
Şekil 4.	(+) boyanma şiddetinde sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	45
Şekil 5.	(+++) (İmmünperoksidaz, X200).	46
Şekil 6.	Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı	47
Şekil 7.	Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti	48
Şekil 8.	Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru	49
Şekil 9.	(+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	50
Şekil 10.	(+++) (İmmünperoksidaz, X200).	50
Şekil 11.	(+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	51
Şekil 12.	(+++) (İmmünperoksidaz, X200).	52
Şekil 13.	Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı	53
Şekil 14.	Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti	54
Şekil 15.	Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru	55
Şekil 16.	(+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	56

Şekil 17.	(++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	56
Şekil 18.	(+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	57
Şekil 19.	(++) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	57
Şekil 20.	Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı	58
Şekil 21.	Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti	58
Şekil 22.	Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru	59
Şekil 23.	(+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	60
Şekil 24.	(+++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	61
Şekil 25.	(+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	62
Şekil 26.	(+++) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).	62
Şekil 27.	Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı	63
Şekil 28.	Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti	64
Şekil 29.	Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru	64

KISALTMALAR LİSTESİ

AGRP	: İştah etkili protein
AİF	: Apoptozisi indükleyen faktör
ANA	: Antinükleer antikor
Apaf-1	: Apoptozis proteaz aktive edici faktör 1
ASH	: Amerikan Hematoloji Birliği
ATPaz	: Adenosine trifosfataz
Bad	: Bcl-2 antagonist of death
BAD	: Bcl-xL/Bcl-2 associated death promoter
Bak	: Bcl-2 antagonist/killer
Bax	: Bcl-2 associated x protein
Bcl-2	: B-cell CLL/lymphoma 2
Bcl-w	: Bcl-2-like 2
Bcl-x	: Bcl-2 like 1 (Bcl2L1) protein
Bcl-XL	: Bcl-2-like 1 Large
Bcl-xS	: Bcl-x Short
BH domain	: Bcl-2 homology domain
BIK	: Bcl-2 interacting killer
Bid	: BH3 interacting domain death antagonist
Bim	: Bcl-2 like 11 (Bcl2L11) protein
BSH	: İngiliz Hematoloji Birliği
CD	: Cluster of diferantiation
CMV	: Sitomegalovirüs
DISC	: Öldürücü sinyal kompleksi
EBV	: Epstein Barr Virüs
EDTA	: Etilen diamid tetra asetik asid
FADD	: Fas ilişkili ölüm domain
FasL	: Fas ligand
GH	: Büyüme hormonu
GHS-R	: Büyüme hormon salgılatıcı reseptör
GpIIbIIIa	: Glikoprotein IIbIIIa
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü

HLA	: İnsan lökosit antijeni
HPA	: İnsan trombosit antijenleri
HSP	: Isı şok proteinleri
HÜS	: Hemolitik üremik sendrom
IgG	: İmmünglobulin G
IL	: İnterlökin
INF γ	: İnterferon gama
IVIG	: İntravenöz immunglobulin
İTP	: İdiyopatik trombositopenik purpura
LTA	: Lenfotoksin alfa
MDA	: Malondialdehit
MMR	: Kızamık, kabakulak, kızamıkçık
MPT	: Mitokondrial permeabilite geçiş poru
Noxa	: Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1 (Pmaip1)
NPY	: Nöropeptid Y
Puma	: Bcl-2 binding component 3
sFasL	: Soluble Fas ligand
TAC	: Total antioksidan kapasite
TAR	: Trombositopeni absent radius
Th	: Yardımcı T hücresi
THANK-R	: TNF homologue activating apoptosis nuclear factor-kappaB c Jun NH2-terminal kinase reseptörü
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNFR	: Tümör nekroz faktör reseptörü
TRADD	: TNFR-ölüm bölgesi olan adaptör protein
TRAIL	: TNF-related apoptosis-inducing ligand
TRAILR	: TRAIL receptor
Ts-XIAP	: A member of IAP family gene
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura
XIAP	: X linked inhiitor of apoptosis family of proteins
TOS	: Total oksidan stres

1. GİRİŞ

İdiyopatik trombositopenik purpura (İTP) dolaşımdaki trombositlerin yıkımının artması ile karakterize, kendi kendini sınırlayan; otoimmün, çocukluk çağının en sık karşılaşılan edinsel trombositopeni nedenidir (1). İdiyopatik trombositopenik purpura patogenezi net değildir. Karmaşık patogenezin olduğu heterojen bir hastalıktır. Etyolojisinde oksidatif etki, antioksidan mekanizma, apoptozis ve antiapoptoz etkisi olduğu bildirilmektedir (2- 4).

Oksidatif hasar otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynar. Otoimmünite sonucuyla geliştiği düşünülen İTP patogenezinde oksidatif stres ve serbest radikallerin etkisi bulunmaktadır (2).

Girelin antioksidan ve anti-inflamatuar etkiye sahiptir. Bcl-2/bax oranını artırarak, sitokrom c salınımını önleyerek; reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu inhibe ederek, mitokondriyal transmembran potansiyelini stabilize ederek; kaspaz 3 aktivasyonunu inhibe ederek antiapoptotik etki gösterir. Girelin Hsp70 ekspresyonunu uyararak apoptozisi baskılar (5). Stresle indüklenebilen moleküler bir şaperon olan Hsp70, proteinlerin katlanmasında ve protein homeostazisini devam ettirmede önemli bir role sahiptir. Hücre içi Hsp koruyucu fonksiyona sahiptir. Bu hücre koruyucu fonksiyonu Hsp'nin antiapoptotik özelliği ile açıklanır. Hsp70 salınımı artmış ısı, besinsel yoksunluk, ağır metaller, oksidatif stres ve viral enfeksiyonlar gibi faktörler tarafından uyarılır. Apoptozisin hem ekstrinsik hem intrinsik yolunu etkiler. Hsp70'in Bax translokasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (6, 7).

Radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi uyarılar apoptozisi tetikleyen pozitif sinyaller olarak rol almaktadır. Apoptozis; antiapoptotik ve proapoptotik proteinler arasındaki denge tarafından düzenlenir. Organizmada apoptozisi uyarıcı ve engelleyen çok sayıda gen ve protein bulunmaktadır. Apoptozis Bcl-2 grubu dimerize proteinler tarafından kontrol edilir. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl...) ve pro-apoptotik (bax, bad...) proteinler bu grupta yer almaktadır. Çalışmalarda "Bcl-2/Bax" oranı "ölüm anahtarı" olarak değerlendirilmektedir (8-10).

İdiyopatik trombositopenik purpuralı hastaların en az %20'sinde halen antitrombosit antikörler tespit edilememektedir. Bu durum İTP fizyopatolojisinde başka mekanizmalar olabileceğini de düşündürmektedir. Otoantikor üretimini başlatan faktörler bilinmemektedir. Yeni tanı konmuş ve kronik İTP'nin patogenezinde farklı

mekanizmaların rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Elektron mikroskop çalışmalarında, İTP megakaryositlerinin %50-70'inde membran anormallikleri ve yaklaşık %78'inde apoptozisle ilgili anormallikler olduğu gösterilmiştir (11).

Çalışmamızda tanı anı yapılan kemik iliği biyopsisi parafin blok örneklerinde, immunohistokimyasal olarak; girelin, Hsp70, Bcl-2 ve Bax boyamaları yapılarak etyolojide suçlanan oksidatif stres, apoptozis ve antiapoptozisin etkisi değerlendirilmek istenildi. Bu şekilde İTP patogenezinde bu parametrelerin rolünü anlayarak İTP tanı, prognoz ve tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağı hakkında yeni bir bakış açısı kazandırılmak istenildi.

1.1. İdiyopatik Trombositopenik Purpura

1.1.2. Genel Bilgiler

Trombositler megakaryositler tarafından üretilen 1-4 µm boyutlarında çekirdeksiz hücrelerdir. Ortalama yaşam süresi 7-10 gündür. 1/3'ü dalakta, 2/3'ü kan dolaşımında bulunmaktadır. Ortalama trombosit hacmi (MPV) 8,9±1,5 fl değerindedir. Trombosit sayısı tüm yaş gruplarında 150.000-400.000/mm³ arasında değişmektedir (1).

Trombositler primer hemostazın önemli parçasını oluşturur. Trombositopenisi olan hastaya yaklaşımda özellikle öykü ve fizik muayene primer hemostaz defektini düşündürmüyorsa, öncelikli olarak düşük trombosit sayısının laboratuvar artefaktına bağlı olup olmadığı saptanmalıdır. Trombositler lökositlere yapışarak trombosit satellitleri adı verilen kümeler oluşturabilirler. Bu da trombositleri, gerçekte olmadığı halde düşük sayıda bulmamıza neden olur (1). Kan alınırken trombositlerin aktivasyonuna, enjektör ya da tüpte trombositlerin agregasyonuna, megatrombositlerin sayılamamasına, etilen diamid tetra asetik aside (EDTA) bağlı trombositlerin in vitro aglütinasyonuna ya da trombosit glikoprotein reseptörlerine bağlanan eptifibatide, tirofiban, absiksimab gibi monoklonal antikorlara bağlı psödotrombositopeni görülebilir. EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni; sitrat, okzalit ya da heparin gibi farklı antikoagülanlar kullanılarak ya da parmak ve topuktan alınan örneğin periferik yayması incelenerek kanıtlanabilir (3). Psödotrombositopeni erişkin hastalarda %0,9-2 oranında görülür. Çocuklarda bu oran daha düşüktür. Tespit edilmemesi gereksiz tetkik, tedavi ve maliyete neden olur. İleri tetkik ve tedavi gerekli değildir (12).

Tablo 1. Çocuklarda trombositopeninin patofizyolojik sınıflaması

I. Artmış trombosit yıkımı (kemik iliğinde normal ya da artmış megakaryositler, megakaryositik trombositopeni)

A. İmmun trombositopeniler

1. İdiyopatik

a. İmmun (idiyopatik) trombositopenik purpura

2. Sekonder

a. Enfeksiyonun indüklediği (HIV, CMV, EBV, suçiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, boğmaca, hepatit, parvovirüs B19; bakteriyel, tüberküloz, tifo)

b. İlaça bağlı

c. Transfüzyon sonrası purpura

d. Otoimmün hemolitik anemi (Evans sendromu)

e. Sistemik lupus eritematozus

f. Hipertiroidizm

g. Lenfoproliferatif hastalıklar

3. Neonatal immün trombositopeniler

a. Neonatal otoimmün trombositopeni

b. Neonatal alloimmün trombositopeni

c. Eritroblastosis fetalis – Rh uygunsuzluğu

B. İmmün olmayan trombositopeniler

1. Trombosit tüketimine bağlı

a. Mikroanjyopatik hemolitik anemi: HÜS, TTP

b. Dissemine intravasküler koagülasyon

c. Virüse bağlı hemofagositik sendrom

d. Kasabach-Merritt sendromu (dev hemanjiyom)

e. Siyanotik kalp hastalıkları

2. Trombosit yıkımına bağlı

a. İlaçlar (ristosetin, protamin sülfat, bleomisin)

b. Enfeksiyonlar

c. Kardiyak (intrakardiyak defekt tamiri, prostetik kapak, sol ventrikül çıkış

obstrüksiyonu)

d. Malign hipertansiyon

II. Trombosit dağılım bozuklukları ve göllenme

A. Hipersplenizm (portal hipertansiyon, Gaucher, siyanotik konjenital kalp hastalıkları, enfeksiyon, neoplazi)

B. Hipotermi

Tablo 1. (Devam) Çocuklarda trombositopeninin patofizyolojik sınıflaması

III. Azalmış trombosit üretimi-etkisiz trombopoez (kemik iliğinde azalmış ya da eksik megakaryositler-amegakaryositik trombositopeni)

A. Megakaryositlerin baskılanması ya da hipoplazi

1. İlaçlar (klorotiazid, östrojenler, etanol, tolbutamid)
2. Konstitüsyonel
 - a. TAR sendromu
 - b. Konjenital amegakaryositik trombositopeni
 - c. Amegakaryositik trombositopeni ile radio-ulnar sinostosis
 - d. Trombositopeni-korpus kallosum agenezisi sendromu
 - e. Paris-Trousseau sendromu
 - f. Rubella sendromu
 - g. Trizomi 13 ve 18
3. Etkisiz trombopoez
 - a. Megaloblastik anemiler (folat ve vitamin B12 eksikliği)
 - b. Ağır demir eksikliği anemisi
 - c. Ailesel trombositopeniler
 - d. Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
4. Kontrol mekanizması bozuklukları
 - a. Trombopoietin eksikliği
 - b. Tidal trombosit disgenezisi
 - c. Siklik trombositopeniler
5. Metabolik bozukluklar
 - a. Metilmalonik asidemi
 - b. Ketotik glisinemi
 - c. Holokarboksilaz sentetaz eksikliği
 - d. İzovalerik asidemi
 - e. İdiyopatik hiperglisinemi
 - f. Hipotiroid annelerden doğan çocuklar
6. Herediter trombosit bozuklukları
 - a. Bernard-Soulier sendromu
 - b. May Hegglin anomalisi ve diğer MYH-9 geni ile ilişkili hastalıklar
 - c. Wiskott-Aldrich sendromu
 - d. Saf sex-linked trombositopeni
 - e. Mediterranean trombositopeni
7. Edinsel aplastik bozukluklar
 - a. İdiyopatik
 - b. İlaçların indüklediği (doz ilişkili: antineoplastikler, benzen, arsenik, mesantoin, tridion, antitiroidler, antidiyabetikler, antihistaminikler, fenilbutazon, insektisidler, altın bileşikleri; idiyosenkrazi: kloramfenikol)
 - c. Radyasyonun indüklediği
 - d. Viral enfeksiyonlara bağlı (HIV, EBV, hepatit)

B. Kemik iliğini infiltre eden durumlar

1. Benign (osteopetroz, depo hastalıkları)
2. Malign (lösemi, myelofibrozu, langerhans hücreli histiyositoz, nöroblastom, solid tümör metastazları)

Trombositopeni, tipik olarak deri ve mukozalarda kanamaya neden olur. Trombositopenisi olan çocuk hastalar sıklıkla peteşi, purpura ve epistaksis ile başvururlar. Ayrıca hematüri, menoraji ve gastrointestinal kanama ve nadir olmakla birlikte intrakraniyal kanama görülmektedir (13, 14).

Trombositopeni; trombositlerin aşırı yıkımına, anormal dağılımına (dalakta göllenme) ya da yetersiz yapımına bağlı olabilir. Çocukluk çağında görülen trombositopenilerin etyolojik sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmiştir (1).

Tablo 2. İmmun trombositopeni meydana getiren ilaçlar

Analjezikler	Sülfonamid derivatives	Diğer
Asetilsalisilik asit	ilaçlar	Alfa metildopa
Asetaminofen	Sülfometoksazol/trimeto	Alprenolol
Fenilbutazon	prim	Antazolin
İndometazin	Sülfisoksazol	Antilenfosit serum
Morfin	Sülfadimidin	BCG
Sulindak	Asetozolamid	Klordiazepoksid
Stibofen	Klorpropamid	Klorfenitamin
Fenoprofen	Diazoksid	Klortiazid
Antitüberküloz ilaçlar	Furosemid	Simetidin
İzoniazid	Talbutomid	Diatrizoat
Para-amino salisilik asit	Antikonvülsan, sedatif,	Digitoksin
Rifampin	hipnotikler	Altın tuzları
Streptomisin	Barbirtüratlar	Hidroklortiazid
Antibiyotikler	Karbamazepin	Heparin
Ampisilin	Fenitoin	Lozetanik asit
Metisilin	Etiklorvinol	Levamisol
Penisilin	Meprobamat	Minoksidil
Sodyum sefalotin	Parametadion	Nitroprusid
Moksolaktam	Primidon	Oksiprenolol
Linkomisin	Sodyum valproat	Penisilamin
Gentamisin	Benzodiazepin	Prokainamid
Oksitetrasiklin	Klonazepam	Propiltiourasil
Novobiosin	Diazepam	Spirolakton
Pentamidin	Cinchona alkaloidleri	Vinilklorid
Vankomisin	Kinidin	
Amfoterisin B	Kinin	
	Besinler	
	Bakla	

1.1.3. Tanımlama

İdiyopatik trombositopenik purpura; trombositopeni, trombosit yaşam sürelerinde kısalma, plazmada antitrombosit antikor varlığı ve kemik iliğinde megakaryosit artışı ile karakterize bir sendromdur (1).

İdiyopatik trombositopenik purpuranın ilk klasik tanımlaması 1735'te Alman şair Paul Werlhof tarafından yapılmıştır. Werlhof 'belli bir olay olmadan aniden burundan ve ağızdan kanayan, yoğun aşırı koyu kan kusan'genç bir kadında tariflemiştir. Boyun ve kollarda siyah mor görünümlü lekeler tespit ederek 'morbus maculosus hemorrhagicus'olarak tanımlamış ve bu tanımlamaya istinaden İTP 'Werlhof hastalığı' olarak bilinmektedir (15). 1889'te Georges Hayem, trombositlerin kanda ölçümlerini sağlayan bir metod geliştirdikten kısa bir süre sonra hastada trombosit düzeyini belirleyerek purpuranın trombositopeniye bağlı olduğunu kanıtlamıştır (15, 16). İdiyopatik trombositopenik purpuranın immun mekanizması ilk olarak 1951'de tanımlanmıştır. Trombositopenik hastaların plazması sağlıklı kişilere transfüze edilerek bu kişilerde trombosit düşüşü gösterilmiş ve "trombositopenik faktör" ün varlığı kanıtlanmıştır (17). Bu plazma faktörünün antitrombosit antikor olduğu; serolojik yöntemlerle bu faktörün immünglobulin G (IgG) olduğu gösterilmiştir (18).

Kronik İTP'li hastalarda 1982'de trombosit yüzeyindeki glikoprotein IIb/IIIa (GpIIb/IIIa)'ya karşı oluşan otoantikorların varlığı belirlenmiştir (19). İdiyopatik trombositopenik purpuralı bir hastada ilk splenektomi 1916 yılında Prag'da yapılmış ve kronik İTP'li hastalarda en önemli tedavi yaklaşımı olmuştur (15, 16).

Eskiden İTP, trombositopeninin süresine göre akut, kronik veya rekürren olarak sınıflandırılırdı. Yeni kılavuzlarda bu tanımlamalar şöyle yapılmaktadır (20).

a. Yeni Tanı Konmuş İTP: Trombositopeni süresi tanıdan itibaren ilk 3 aylık dönemi kapsar.

b. Persistan İTP: Tanıdan itibaren 3-12 aylar arasında hala remisyona girmeyen ve ya tedavi kesildiğinde remisyonda kalmayan olguları kapsar.

c. Kronik İTP: Trombositopenisi 12 ay veya daha fazla süren olgular bu grupta tanımlanır.

Eski literatürde 6 aydan uzun süren trombositopenide kronikleşmeden bahsedilirdi. Ancak 6-12 aylık süre içinde kronik diye belirtilen grubun büyük bölümü bir yıl civarında normal değerlere ulaştığının görülmesi üzerine bu süre bir yıla uzatılmıştır. Ayrıca kronik İTP'de 5 yılda %30, 10 yılda %44 kendiliğinden düzelme olasılığı vardır. Erişkinlerde kronik form, çocuklarda yeni tanı konmuş form daha sıktır. Çocuklarda İTP olgularının %85-90'ı yeni tanı konmuş tiptir. Vakaların %15-20'si ise kronikleşir (1, 21). İdiyopatik trombositopenik purpura altta yatan hastalığın olup olmamasına göre primer ve sekonder

olarak da sınıflandırılabilir. Primer İTP bir dışlama tanısıdır. Trombositopeni yapan diğer nedenlerin bulunmadığının gösterilmesi gerekir. Çocuklarda sekonder İTP ise nadir olmakla birlikte en sık SLE ve HIV enfeksiyonu sonucu görülür (1, 20).

İdiyopatik trombositopenik purpuranın gerçek görülme sıklığı bilinmemekle birlikte yılda 1/10.000 çocukta görüldüğü kabul edilmektedir. Yeni tanı konmuş İTP tanısı konan ortalama 10 vakadan birinin kronikleştiği, bu vakaların da çoğunun spontan remisyona girdiği ya da asemptomatik orta derecede trombositopeni ile seyrettiği bilinmekte ve geriye kalan kronik semptomatik İTP olgularının sıklığının 1/250.000 olduğu bildirilmektedir (21, 22).

1.1.4. Epidemiyoloji

İdiyopatik trombositopenik purpura en sık 2-8 yaş arasında görülür. Beş yaş civarında pik yapar. Her iki cinsiyet eşit oranda etkilenir. Her iki cinsiyette eşit sıklıkta görüldüğü bilinmesine rağmen yapılan bazı çalışmalarda erkek çocuklarda daha fazla görüldüğü bildirilmektedir. İki yaşından küçük çocuklarda görülen İTP'ye infantil İTP denilmektedir. Erkeklerde daha sık, enfeksiyon öyküsü ve kronikleşme oranı daha az, klinik seyir daha ağır ve tedaviye yanıt daha kötüdür. Infantil İTP'nin erkeklerde daha sık görülmesinde başka faktörlerin de rol aldığı düşünülmektedir (1, 23). Kronik İTP, çoğunlukla 10 yaşından büyüklerde ve daha sıklıkla kızlarda görülmektedir. Mevsimlere göre sıklık çalışmaları arasında farklılık göstermektedir. Bir kısmında bahar aylarında, bir kısmında ise kış aylarında daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Mevsimsel farklılığın viral enfeksiyon sıklığı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (1, 20-22).

Vakaların %50-80'inde İTP gelişiminden önce son 1-4 hafta içinde geçirilmiş viral enfeksiyon öyküsü vardır. Enfeksiyon sonrası latent dönem ortalama iki haftadır. Ancak birkaç gün ile altı hafta kadar olabilir. En sık neden non spesifik üst solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Sadece %20'sinde spesifik bir etken (kızamık, suçiçeği, kabakulak, hepatit A-B-C, enfeksiyöz mononükleoz, sitomegalovirüs ve parvovirüs enfeksiyonları, bakteriyel enfeksiyonlar gibi) saptanabilmiştir (1, 23, 24). İdiyopatik trombositopenik purpura ayrıca kızamık, kabakulak, kızamıkçık (MMR) aşısı sonrası genellikle 6 ay içerisinde görülebilmektedir. Riskin 1/24.000 doz olduğu bildirilmiştir (25).

1.1.5. Patogenez

Harrington 1951'de, trombositopenik hastaların plazmasını sağlıklı kişilere transfüze ederek bu kişilerde trombosit düşüşünü göstermiş ve “trombositopenik faktör” ün varlığını kanıtlamıştır (17). Shulman ve ark (18), bu trombositopenik faktörün IgG yapısında olduğunu kanıtlamıştır. Leeuwen ve ark (19), İTP’de saptanan bu antikörlerin trombosit yüzeyindeki GpIIbIIIa’ya karşı oluştuğunu göstermişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda, İTP hastalarının plazmasında ve trombositlerin üzerinde GpIIb-IIIa, GpIb-IX, GpIa-IIb, Gp V, Gp IV ve diğer spesifik glikoproteinlere karşı IgG, IgA, IgM tipinde otoantikörler saptanmıştır. Hastaların %50-85’inde IgG tipi otoantikörler, %50’sinde diğer tip antikörler tanımlanmıştır (IgA, IgM). Otoantikörlerin trombositlerin fonksiyonlarını etkilemediği kabul edilir. İdiyopatik trombositopenik purpuralı çocukların çoğunda çok düşük trombosit sayılarına rağmen ağır kanamaların görülmemesi bununla açıklanabilir (26).

Bu antikörlerin İTP için spesifik olmadığı, sistemik lupus eritematozus (SLE), kronik lenfositik lösemi, ağır kombine immün yetmezlik sendromu, aplastik anemi ve HIV enfeksiyonu gibi çok sayıda hastalıkta bulunduğu bilinmektedir (27, 28). Trombositler, başta dalak olmak üzere retikuloendotelial sistemde Fc reseptörler aracılığı ile makrofajlarca fagosite edilmektedirler. İTP’li hastalarda, 51 Cr veya 111 İndiyum oxine ile yapılan sintigrafik çalışmalarda otolog veya homolog trombositlerin normalde 9 gün olan trombosit yaşam süresinin 1–4 saate kadar kısaldığı gösterilmiştir (29).

Otoantikör üretiminin başlamasında genetik faktörlerin önemli rol oynar. Olasılıkla trombosit antikörleri, bakteri ve virüslerde bulunan antijenler ile çapraz reaksiyona girmektedir. Bu antijenlerden en iyi bilinenleri varisella zoster virüsü ve H. pilori’dir (30). Bazen çapraz reaksiyon indüksiyonu bir ajana ihtiyaç duymaz ve immün hasar immunojen kaybolduktan sonra da devam eder. Kronik İTP’de viral enfeksiyon tetikleyici faktör olabilir. Ancak viral enfeksiyon asemptomatiktir ya da tanınmamıştır (30, 31).

İdiyopatik trombositopenik purpurada otoantikör oluşumunda hem hümmoral hem de hüccresel immün sistem rol almaktadır. Antikör kaplı trombositler Fc reseptörler aracılığı ile antijen sunan hüccrelere (makrofajlar ve dendritik hüccreler) bağlanırlar, hüccre içine alınarak yıkılırlar. Antijen sunan hüccreler, trombositlerin glikoproteinlerini yıkmakla kalmayarak diğer trombosit glikoproteinlerinden yeni kriptik epitoplara oluştururlar. Yeni peptidleri hüccre yüzeyinde eksprese ederek sitokinler aracılığı ile CD4+ T hüccrelerinin

(Th1 ve Th2) proliferasyonunu başlatırlar. Aktifleşen CD4+ T hücreleri de otoreaktif B hücrelerini aktive ederek anti-GpIIb-IIIa yanında, anti-GpIb-IX antikorların salınmasına neden olurlar. Bazı çalışmalarda T hücrelerinden salınan proinflamatuvar sitokinlerin (IL 2, IL 10, interferon γ) serum düzeylerinin arttığı ve anti-inflamatuvar sitokin olan IL 4 düzeyinin azaldığı gösterilmiştir. Yeni Tanı Konmuş İTP'li hastalarda Th2 sitokin profili (IL 4, IL 5, IL 6, IL 13 azalması) görülürken, kronik İTP'li hastalarda Th1 profilinin (IL 2, IL 10, INF γ artışı) görüldüğü saptanmıştır (31-33).

İdiyopatik trombositopenik purpuralı hastalarda kompensatuar olarak artmış, fakat yetersiz bir trombosit yapımı olduğu varsayılmaktadır. Yapılan çalışmalarda hastaların yaklaşık 2/3'ünde azalmış ya da normal trombosit yapımı, sadece 1/3'ünde artmış trombosit yapımı gösterilmiştir. Diğer taraftan megakaryositler, matürasyon sürecinde yüzeylerinde GpIIb-IIIa ve GpIb-IX eksprese etmektedirler ve megakaryositlere bağlanan otoantikolar, megakaryositopoezi inhibe ederek trombosit üretimini de etkilemektedir (31, 34). Chang ve ark (35), invitro sıvı kültüründe İTP'li hastaların plazmalarında tespit edilen antitrombosit antikorları aracılığı ile kord kanı hücrelerinde megakaryosit üretiminin baskılandığını göstermişlerdir. Kontrol grubunda veya benzer antikor bulunmayan İTP hastalarında aynı etkiyi gösterememişlerdir. İTP'nin patogenezinde kompleman ve kompleman reseptörlerinin yeni yeni tanımlanmıştır. İTP'li çocuk hastalarda properdin, faktör H, C1q, C9 ve faktör B düzeylerinin biri veya birkaçında azalma saptanmıştır (31).

1.1.6. Genetik ve Çevresel Faktörler

İdiyopatik trombositopenik purpura, monozigotik ikizlerde bildirilmiş ve aile bireylerinde otoantikör üretimine eğilim saptanmıştır. Belli etnik gruplarda HLA-DRw2 ve DRB1*0410 allellerinin sıklığı yüksek bulunmuştu. HLA-DR4 ile kortikosteroidlere iyi yanıtın, DRB1*0410 ile kortikosteroidlere kötü yanıtın ve HLA-DRB1*1501 ile splenektomiye kötü yanıtın ilişkili olduğu gösterilmiştir (36). İdiyopatik trombositopenik purpura gelişiminde fagositlerdeki Fc reseptör polimorfizmi etkili olabilir. Üç tip Fc reseptörü vardır. FcRII grubu üç gen (IIA, IIB, IIC) ve FcRIII grubu ise iki gen (IIIA, IIIB) tarafından kodlanır. Genetik polimorfizmler immunoglobulin bağlayan reseptörlerin affinitelerini değiştirmektedir. Fc γ RIIIA polimorfizmleri ile tedaviye yanıtın ilişkili olduğu öne sürülmüştür (37).

İnsan trombosit antijenleri (HPA) ile yapılan çalışmalarda HPA-5b alleli taşıyanların yeni tanı konmuş İTP için artmış risk taşıdıkları gösterilmiştir. Proinflamatuvar sitokinler TNF ve LTA (lenfotoksin alfa)'nın gen polimorfizmlerinin, çocukluk çağı kronik İTP'li olguları ile birlikteliği gösterilmiştir (32, 38).

Çocukluk çağında İTP çoğunlukla viral bir hastalığı takiben oluşur. İdiyopatik trombositopenik purpurada enfeksiyonun tedavisi ile trombosit sayısında artış saptanır. Birçok çalışmada İTP ile H. pilori arasındaki ilişki araştırılmıştır. Gasbarini ve ark (39), H. pilori enfestasyonu saptanan İTP'li hastaların hepsinde, H. pilori eradikasyon tedavisi ile birlikte trombosit sayısında anlamlı bir artış saptamışlardır. Birçok çalışma, İTP'li hastalarda artmış H. pilori sıklığını ileri sürmüştür. Tedavi alan hastalarda trombosit yükselme oranını %38-73 olarak bildirilmiştir (40).

1.1.7. Klinik Bulgular

Peteşi, ekimoz ve mukoza kanamaları İTP ile birlikte olan semptomlardır. Vakaların %50'sinde semptomlar hafiftir. Peteşiler subkonjunktiva, yanak mukozası, yumuşak damak ve ciltte; ekimozlar genellikle alt extremitelerin anterior yüzlerinde ve kemik çıkıntılarının (kaburgalar, skapula, omuzlar, bacaklar ve pubik alan) üzerindedir. Bu tip cilt kanamalarına ilave olarak, özellikle hastalığın başlangıcında epistaksis, dişeti, gastrointestinal sistem kanaması ve hematüri de görülebilir. Ciddi menoraji, retina, işitme kaybına neden olabilen orta kulak ve en korkulan komplikasyonlardan biri olan merkezi sinir sistemi kanaması da olabilir. Hematom ve hemartroz nadirdir, intramuskuler injeksiyon veya ciddi travma sonrasında gelişebilir (1, 41).

Hastalığın en korkulan komplikasyonu ise intrakraniyal kanamadır. İTP'de intrakraniyal kanama insidansı %0.1-0.5 arasındadır. Trombosit sayısı olguların %73'ünde $10.000/mm^3$ 'ün altında; %25'inde $10.000-20.000/mm^3$ arasında; %2'sinde $20.000/mm^3$ 'ün üzerindedir. İTP tanısı ile intrakraniyal kanama arası süre, vakaların %51'i ilk 4 haftada, %49'u 4 hafta-9 yıl arasındadır. Saptanabilen risk faktörleri ve sıklığı aşağıda belirtilmiştir (1, 41, 42):

- Kafa travması (%29)
- Aspirin tedavisi (%5)
- AV malformasyon (%17)

- Muko-kütanöz kanama varlığı (%49)

İdiyopatik trombositopenik purpurada kanama bulguları dışında fizik muayene normaldir. Ağır kanama yoksa solukluk görülmez. %10 vakada dalak ucu palpe edilebilir, viral enfeksiyonla birlikte. Belirgin splenomegali saptanırsa lösemi, sistemik lupus eritematozus, enfeksiyöz mononükleoz, hipersplenizm gibi diğer tanılar dikkatlice araştırılmalıdır. Hepatomegali ve lenfadenopati saptanmaz. Ancak üst solunum yolu enfeksiyonuna bağlı servikal lenfadenopati görülebilir. Yaygın lenfadenopati varsa öncelikle lösemi tanısı dışlanmalıdır (1, 20).

Hastaların %50-75'i hafif kanama bulguları ile başvurur. İTP'de çok düşük trombosit sayılarına rağmen lösemi, aplastik anemi gibi kemik iliğini tutan diğer durumlara ya da kemoterapi alan hastalara kıyasla daha hafif kanamaların görülmesi trombositlerin daha geniş, büyük ve hemostatik olarak daha etkili olmasına bağlanmıştır (1, 41).

Tablo 3. İTP'li çocuklarda kanama şiddetinin sınıflandırılması (32)

Derecesi	Klinik olarak kanama bulguları
Hafif	Peteşi, <5 cm ekimoz, bası ile duran burun kanaması
Orta	Sayısız peteşi, >5 cm ekimoz, 20 dakikadan uzun süren burun kanaması dişeti, sindirim sisteminden aralıklı kanamalar, hematüri, hipermenore vb sonucunda Hb'de 2 gr'dan az düşme
Ağır	Koter ya da tampon gereken burun kanaması Sindirim sistemi, dişeti vb kanamalar sonrasında Hb'de >2 gr'dan fazla düşme, şüpheli organ içi kanamalar
Fatal	Kafa içi kanama veya hipotansiyona neden olan ve kan transfüzyonuna gerek duyulan kanama

1.1.8. Laboratuvar

Trombosit sayısı genellikle $100.000/mm^3$ 'ün altındadır. Ağır kanama belirtileri olan hastalarda trombosit sayısı genellikle $20.000/mm^3$ altında bulunur. MPV ($8,9\pm 1,5$) normal ya da artmıştır. Kan sayımında ağır kanama olmadıkça Hb değeri normal saptanır. İdiyopatik trombositopenik purpurada trombositopeni dışında anormal bulgu saptanmaz. Enfeksiyon varsa lökositoz, lenfositoz ve atipik hücreler saptanabilir. %25 vakada hafif eozinofili saptanır. Tam kan sayımında saptanan trombositopeni megatrombositleri, psödotrombositopeniyi ve diğer hematolojik bozuklukları ayırt etmek için periferik yayma ile doğrulanmalıdır (1, 20, 43).

Kemik iliği aspirasyonu tanısaldır. Kemik iliğinde megakaryositler sayıca artmış veya normaldir. Megakaryositler immatür görünümündedir. Nükleer lobulasyon yoktur ve

koyu bazofilik sitoplazmaları dağınık görünümündedir. Myeloid ve eritroid seriler normaldir. Kan kaybı fazla ise eritroid hiperplazi saptanabilir. Eozinofili kemik iliğinde dikkati çekebilir. Ancak bu bulgular mutlaka İTP tanısı için tanısız ve prognostik sayılmamalıdır. Asıl amaç lösemi gibi diğer hematolojik hastalıkların ayırıcı tanısını yapmaktır (1, 23, 24).

Tanı sırasında kemik iliği aspirasyonu veya biyopsisinin yapılması gerekliliği en çok konuşulan konulardan biridir. Kemik iliği aspirasyonunun İTP tanısı koymak için rutin olarak yapılmaması, hastalarda atipik prezentasyon (ateş, kilo kaybı, kemik ağrısı), organomegali, iskelet bozuklukları, lökosit ve eritrosit sayısında anormallik, atipik lökosit morfolojisi saptanması durumunda ve steroid tedavisi başlanacaksa tanıyı desteklemek amacı ile kemik iliği incelemesi yapılması gerektiği genel olarak kabul edilmiştir (44, 45).

Akut lösemilerin izole trombositopeni ile prezentasyonu çok nadirdir (<%1). Fakat steroid tedavisi lösemi tanısını geciktirmekte ve prognozu kötü yönde etkilemektedir. Down sendromu olan çocuklarda, megakaryoblastik lösemi kendisini trombositopeni ile gösterebileceğinden kemik iliği yapılması önerilmektedir (45).

Kanama zamanı uzun, protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı ve fibrinojen normaldir. Cr 51 ile işaretlenmiş trombositlerin yaşam sürelerinin 1-4 saate kadar kısaldığı gösterilmiştir (1, 29).

Hemostatik olarak daha aktif olan genç ve büyük trombositlere karşı yaşlı, küçük ve etkisiz trombositleri yansıtan MPV değerinin <8 fl olmasının kanama riski ve sıklığında artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir Kanama riskinin önceden belirlenmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir (43).

Akım sitometrisi ile antitrombosit antikor ölçümünün duyarlılığı %90,3 olup, özgüllüğü ise %39,3 kadar düşük bulunmuştur. Yüksek sensitiviteye sahip güvenilir testler olmadığı için antitrombosit antikorların rutinde kullanılması önerilmemektedir. Yeni gelişen tekniklere rağmen hastaların %20'sinde antikor saptanamaz. Antinükleer antikor (ANA), anti-ds DNA, direkt coombs testi, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, EBV, CMV, HIV, parvovirüs titreleri ve kan grubu klinik olarak gerekli ise yapılmalıdır (46).

1.1.9. Ayırıcı Tanı

Çocuklarda İTP tanısı trombositopeni yapan diğer nedenlerin dışlanması ile konulur. Fanconi aplastik anemisi, miyelodisplastik sendrom, Evans sendromu, hipersplenizm, SLE, mikroanjiopatik hemolitik anemi, yaygın damar içi pıhtılaşma,

vonWillebrand hastalığı tip 2B, ilacın uyardığı trombositopeni gibi ikincil trombositopeni yapan nedenler dışlanmalıdır. Trombositopenili hastalarda öncelikle periferik yayma incelemesi ile tam kan tüplerinde Ca-EDTA kullanıldığında trombositlerin kümeleşmesine bağlı olarak trombositopeni ya da trombositlerin lökositlerin etrafında rozet oluşturmaları sonucunda meydana gelen trombositopeni rahatlıkla ayırt edilebilir (47, 48). İTP'li hastalarda hafif splenomegali olabilir. Viral enfeksiyon ile birlikte. Masif splenomegali, lenfadenopati, sarılık ve hepatomegali gibi muayene bulguları da sekonder trombositopeni yapan hastalıklarda yol göstericidir. Anemi, lökositoz, lökopeni veya anormal lökosit morfolojisi varlığında akut lösemi, lenfoma, aplastik anemi, myelodisplazi ve metastatik hastalıkların ayırımı için kemik iliği aspirasyonunun değerlendirilmesi gerekir (43, 48).

Detaylı bir aile öyküsü ile kalıtsal non immun trombositopeni nedenleri elimine edilmelidir. Küçük yaştan itibaren mukokutanöz kanama öyküsü varsa ailesel trombositopeniler, vonWillebrand tip-II ve Wiscott-Aldrich sendromu ayırıcı tanıda hatırlanmalıdır. Üç aydan küçük çocuklarda pasif kazanılmış otoimmün ve alloimmün trombositopeniler akılda tutulmalıdır (43).

Birçok ateşli bakteriyel ve viral enfeksiyona bağlı olarak da trombositopeninin gelişebileceği unutulmamalıdır. Dikkatli fizik muayene, öykü ve gerektiğinde laboratuvar tetkikleri ile ayırıcı tanıya gidilmelidir.

1.1.10. Komplikasyonlar

İntrakraniyal kanama, İTP'nin en çok korkulan komplikasyonudur (41). Görülme sıklığı %0.1–0.5 arasındadır. Trombosit sayısı vakaların %73'ünde $10.000/\text{mm}^3$ 'ün altında; %25'inde $10.000\text{--}20.000/\text{mm}^3$ arasında; %2'sinde $20.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerindedir. İTP tanısı ile intrakraniyal kanama arası süre, vakaların %51'i ilk 4 haftada, %49'u 4 hafta-9 yıl arasındadır. İntrakraniyal kanamalı olgularda eşlik eden risk faktörleri ve sıklığı aşağıda belirtilmiştir (42):

- Kafa travması (%29)
- Aspirin tedavisi (%5)
- AV malformasyon (%17)
- Muko-kütanöz kanama varlığı (%49)

Kanama olguların %77'sinde intraserebral (%87 supratentoriyal, %13 posterior fossada) kanama şeklindedir. Hastaların %23'ünde ise subdural hematom görülür. İTP'de tedavinin intrakraniyal kanamayı önlediğine dair kanıt bulunmamaktadır (41, 42).

1.1.11. Tedavi

Çocuklarda İTP'de tedavi verilmesinin amacı, hayatı tehdit eden santral sinir sistemi kanamasını önlemek ve major kanama ya da uzamış kanamanın neden olacağı kan kaybı riskini azaltmaktır. Tedavi protokollerinden herhangi birinin kanamayı önlediğine ya da hastalığın seyrini etkilediğine dair kanıt bulunmamasına rağmen birçok klinisyen tarafından güvenli trombosit sayısı ($>20.000/mm^3$) düzeyine daha hızlı ulaşılabilmesi için tedavi verilmektedir. Tedavi altta yatan immun defekti düzeltmez. İdiyopatik trombositopenik purpurada tedavinin hastalık süresine ve prognozuna etkisi yoktur (20). Bir prospektif çalışmada hiçbir tedavi verilmeyen, intravenöz immunglobulin (IVIG) ya da steroid tedavisi verilen hastalarda elde edilen remisyon oranları sırasıyla %68, %73 ve %66 olarak bildirilmiştir (49).

Spontan remisyon olasılığının yüksek ve tedavinin yan etkilerinin olması nedeni ile klinik bulgulara göre tedavi verilmeden sadece gözlem (bekle ve gör politikası) ile takip edilebilmektedir. Trombositleri $<20.000/mm^3$ olan ve 10 tanesinde (%38) mukozal kanama saptanan 26 çocuğun tedavisiz 5-32 aylık izlemlerinde, sadece başlangıçta burun kanaması olan iki çocuğa takip süresinde tedavi verilmiştir (49).

Amerikan Hematoloji Birliği (ASH), tarafından 1996'da yayınlanan kılavuza göre tedavi kararı semptomlardan ziyade trombosit sayısına dayandırılmıştır. Trombosit sayısı $>30.000/mm^3$ ve minör purpurası olan hastalarda tedavi verilmesinin gereksiz olduğu belirtilmiş, trombosit sayısı $<20.000/mm^3$ ve yaygın mukozal kanaması olan hastalar ile trombosit sayısı $10.000/mm^3$ ve minör purpurası olan hastaların steroid, IVIG ya da anti-D ile tedavi edilmeleri gerektiği önerilmiştir (46). İngiliz Hematoloji Birliği (BSH) tarafından yayınlanan kılavuzda ise tedavi kararının sadece trombosit sayısına göre değil klinik bulgular dikkate alınarak verilmesi gerektiği savunulmuştur. Tedavide ilk seçenek olarak steroidlerin tercih edilmesini, IVIG tedavisini daha ciddi kanama bulguları olan hastaların acil tedavilerinde önermektedirler (47). Trombosit sayısı $>20.000/mm^3$ ve asemptomatik ya da minör purpurası olan hastalarda tedavinin gerekli olmadığı bildirilmektedir. Bu hastalar tedavi almasalar da yakından izlenmelidirler. Trombositopeniyi ve buna bağlı kanamayı

ağırlaştırabilecek aspirin ve diğer antikoagülan ilaçların alımı önlenmeli, aktivite kısıtlanmalı, travmaya maruz kalınmamalı ve intramusküler enjeksiyonlardan kaçınılmalıdır. Haftada 1-2 kez yapılan kan sayımı trombosit sayısı artışa geçtikten sonra normale dönene kadar 2-3 haftada bir kontrol edilir. İzlemde ailenin eğitimi de önem kazanmaktadır (50).

İdiyopatik trombositopenik purpura tedavisinde ilk tercih edilecek ilaçlar kortikosteroidler ve IVIG'dir. Yapılan çalışmalarda tedavi biçimlerinin birbirlerine üstünlüğünün olmadığı, tedavi ile trombosit sayısının tedavisiz izleme sadece trombosit sayısını yükseltme süreleri arasında farklılık bulunduğu gösterilmiştir (50, 51).

Tablo 4. İTP tedavisinde kullanılan ilaçlar ve trombosit yükselme hızı

Tedavi Tipi	Başlangıç Cevabı (gün)	Pik Cevabı (gün)
Anti-D	1-3	3-7
Azatiopurin	30-90	30-180
Danazol	14-90	28-180
Deksametazon	2-14	4-28
Eltrombopag	7-28	14-90
IVIG	1-3	2-7
Prednizone	4-14	7-28
Rituksimab	7-56	14-180
Romiplostim	5-14	14-60
Splenektomi	1-56	7-56
Vinblastin	7-14	7-42
Vinkristin	7-14	7-42

1.1.11.1 Kortikosteroidler

İdiyopatik trombositopenik purpura tedavisinde ilk kullanılan ilaçtır. İdiyopatik trombositopenik purpura süresi üzerine etkisi olmamakla birlikte trombosit sayısını etkili ve güvenli bir biçimde arttırmaktadır. Steroidlerin etki mekanizması;

1. Antikor kaplı trombositlerin dalakta fagositozunu inhibe ederek trombosit yaşam süresinin uzamasını sağlamak,
2. Antitrombosit antikorların yapımını inhibe etmek,
3. Kapiller stabiliteyi arttırarak trombositopeniye bağlı endotelial bozukluğu düzeltmek ve kanamayı azaltmak şeklindedir (50, 52).

Günümüze kadar çeşitli steroid doz rejimleri kullanılmıştır ve bu rejimleri karşılaştıran çalışmalar yapılmıştır. Standart doz tedavide 2 mg/kg/gün prednizon (60 mg/m²/gün, maksimum doz 60-80 mg/gün) 21 günde azaltılarak kesilir. Daha yüksek dozlarda 4 mg/kg/gün 4 gün kullanılan prednizon ve 30 mg/kg/gün (500 mg/m²/gün) 3 gün kullanılan intravenöz veya oral metilprednizolonun (maksimum 1 gr/gün) ya da yüksek doz metilprednizolon tedavisinin (30 mg/kg/gün 3 gün, 20 mg/kg/gün 4 gün) daha az yan etki ile daha hızlı trombosit sayısını yükselttiği görülmüştür. Hiperglisemi, kilo artışı, hipertansiyon, cushingoid yüz, akne, psödötümör serebri, katarakt, büyüme ve gelişme geriliği, avasküler nekroz, psikoz gibi yan etkilerinden dolayı uzun süreli steroid kullanımından sakınılmalıdır. Ayrıca yüksek dozlarda ve uzun süreli steroid kullanımı trombosit üretimini baskılayarak trombositopeniyi arttırabilir (53, 54).

1.1.11.2. İntravenöz immunglobulin (IVIG)

İlk kez 1981'de Imbach ve ark.'ı (55) tarafından İTP tedavisinde başarı ile kullanılmıştır. Etki mekanizması;

1. Retikuloendotelial sistemde Fc reseptör blokajı,
2. İnhibitör yolların aktivasyonu,
3. İçerdiği anti-idiyopatik antikorlar aracılığı ile otoantikorları yapan B hücrelerini baskılayarak otoantikor üretiminde azalma ve otoantikorları bağlayarak otoantikorları etkisiz hale getirme şeklindedir .

İntravenöz immunglobulin tedavisinde de farklı rejimler kullanılmıştır. 400 mg/kg/gün 5 gün ve 1 g/kg/gün 2 gün olmak üzere 2 g/kg toplam dozda kullanıldığı gibi, daha düşük dozlarda da (800 mg/kg tek doz ya da 250 mg/kg/gün 2 gün) başarılı bir

şekilde kullanılabilir. IVIG tedavisi ile vakaların %95'inde 48 saat içinde trombosit sayısında belirgin artış saptanır. Etki süresi yaklaşık 2-4 hafta kadardır (50, 52, 56).

Yapılan çalışmalara göre standart doz steroidlere ve anti-D tedavisine göre trombosit sayısını daha hızlı yükselttiği gösterilmiştir. Etkisinin yüksek doz steroid tedavisinden hızlı olmadığı bildirilmiştir (57).

İntravenöz immunglobulin tedavisi ile %15–75 oranında yan etki görülür. Sıklıkla ateş, titreme, bulantı, kusma, hipotansiyon, infüzyon hızına bağlı baş ağrısı gibi geçici hafif yan etkiler görülürken, meninkslerde immun kompleks birikimine bağlı aseptik menenjit, özellikle IgA eksikliği olanlarda anaflaksi, IVIG preparatlarında bulunan anti-A, anti-B ve anti-D gibi eritrosit alloantikörlerine bağlı coombs (+) hemolitik anemi, viral bulaş (hepatit C), böbrek yetersizliği ve hemipleji gibi nadir komplikasyonlar da görülebilmektedir. IVIG tedavisinin, steroid ve anti-D tedavilerine göre daha pahalı olması ve ortalama 4–6 saat gibi daha uzun sürede uygulanması dezavantajlarıdır (58-60).

1.1.11.3. Anti-D İmmunglobulin

İdiyopatik trombositopenik purpura tedavisinde ilk kez 1983'te kullanılmıştır. Anti-D eritrosit Rh antijenlerine karşı yüksek miktarda antikör içeren, plazma kaynaklı bir gamaglobulindir. Anti-D immunoglobulin, spesifik olarak eritrositlerdeki D antijenine bağlanarak antikör ile kaplı eritrositlerin, retiküloendotelial sistemde özellikle de dalakta tutularak Fc reseptör blokajı yapmasına ve trombosit yıkımının azalmasına yol açar. Rh pozitif ve splenektomi yapılmamış hastalarda kullanılabilir. Anti-D ile trombosit sayısında artış IVIG kadar hızlı değildir. Trombosit sayısında artış genellikle 48 saat sonra başladığından acil tedavide yeri yoktur. Anti-D tedavisi için önerilen doz 50-75 µg/kg olup hemoglobin değeri 10 gr/dl ve altında olan hastalar için anemi riskini önlemeye yönelik 20–40 µg/kg gibi düşük dozlar kullanılabilir. Ancak son yıllarda yeni tanı konmuş İTP'de yüksek başarı oranları 75 µg/kg/doz ile bildirilmektedir. Rh pozitif kişilerde kullanımı geçici hemolitik anemiye neden olur. Ateş, titreme, baş ağrısı, anti-D'ye bağlı hemoliz ve pozitif Coombs reaksiyonuna bağlı Hb ve hematokritte düşme, akut anaflaktik reaksiyon başlıca yan etkilerdir. Genellikle Hb düşüşü 0.4-6.1 g/dl (ortalama 1.7 g/dl) civarındadır (1, 61, 62).

1.1.11.4. Splenektomi

Splenektomi ile antitrombosit antikorlarının yapıldığı veretiküloendotelial sistem tarafından trombositlerin yıkıldığı organ ortadan kaldırılmış olur. Yeni tanı konmuş İTP’de tedaviye yanıtız, hayatı tehdit eden kanama varsa ya da kronik İTP’de tanıdan 1 yıl sonra trombosit sayısı $<30.000/mm^3$, tedaviye yanıtız ve kanama bulguları mevcutsa splenektomi bir tedavi seçeneği olabilir (1, 63). Erişkinlere oranla spontan remisyonun sık olması ve özellikle 5 yaşın altında splenektomi sonrası kapsüllü mikroorganizmalarla sepsis riskinin yüksek olması nedeniyle çocuklarda daha az sıklıkta uygulanmaktadır. Splenektomi tanıdan sonraki 12 aydan önce yapılmamalıdır. Çünkü bu dönemde hala kendiliğinden remisyon şansı mevcuttur. Splenektomiden hemen sonra 1–2 haftada trombosit sayısı maksimuma ulaşır ve 1–2 ayda normale iner. Splenektomi ile %70–80 oranında remisyon görülür. Splenektomi sonrası pik trombosit sayısının $>500.000/mm^3$ olması hastada remisyon olabileceğini düşündürür. Bu hastalara operasyondan en az 2-4 hafta önce pnömokok, meningokok ve daha önce yapılmadıysa H. influenza tip B aşılı uygulanmalı ve splenektomi sonrası 5 yılda bir pnömokok ve meningokok aşılı tekrarlanmalıdır. Splenektomili hastada sepsis gelişmesi ilk 2 yılda sık olduğu için koruma amaçlı penisilin proflaksisi verilmelidir. Tedavinin başarısı açısından operasyon öncesi abdominal ultrasonografi ile aksesuar dalak ekarte edilmelidir (1, 63, 64).

1.1.11.5. Trombosit süspansiyon transfüzyonu

Antitrombosit antikorlar transfüzyonla verilen trombositlerin kısa sürede yıkımına neden olacağından trombosit transfüzyonu sadece hayatı tehdit eden ağır kanamalarda ve acil splenektomiden önce kullanılmaktadır. Özellikle intrakranial kanamalı olgularda trombosit süspansiyonu ile birlikte IVIG verilmesi önerilmektedir (1, 65).

1.1.11.6. Diğer Tedaviler

Vinka alkaloidleri (vinkristin, vinblastin), danazol, siklofosfamid, azatiopürin, siklosporin, α -interferon 2b, dapson, kolşisin, epsilon-aminokaproik asit, rekombinant faktör VIIa, rituksimab çocuklarda nadiren kullanılması gereken tedavi seçenekleridir. Steroidler ve IVIG tedavisine ya da splenektomiye yanıt alınmayan, splenektominin kontrendike olduğu ve kanama semptomlarının eşlik ettiği refrakter trombositopenili hastalarda tercih edilebilir. Vinka alkaloidleri, trombositlerin mikrotubullerine bağlanır ve oluşan kompleksin makrofajlar tarafından fagositozu inhibe edilir. Vinkristin $1.5 \text{ mg}/m^2$ iv (maksimum 2 mg), vinblastin ise $6 \text{ mg}/m^2$ iv (maksimum 10 mg) 1 ay boyunca haftada tek

doz verilir, yanıt yoksa kesilir, yanıt varsa güvenli trombosit sayısını devam ettirmek için 2-3 haftada bir doz tekrarı gerekir. Periferik nöropati, konstipasyon, alopesi, vinblastin ile doz bağımlı myelosüpresyon, flebit gibi yan etkiler görülebilir. Siklofosfamid immunsupresif bir ajan olup 1-2 mg/kg/gün oral kullanılır. Tedavi başladıktan 2-10 hafta sonra yanıt gelişir. Myelosüpresyon, alopesi, hemorajik sistit, hepatotoksisite görülebilen yan etkilerdir. Siklosporin T hücre fonksiyonlarını baskılar ve 5 mg/kg/gün dozda oral verilir. Bir ayda yanıt alınmazsa kesilir. Yan etki olarak hipertansiyon, nefrotoksisite ve hepatotoksisite görülebilir. Danazol retikuloendotelial makrofajlardaki Fc reseptör sayısını azaltır. 300-400 mg/m²/gün dozunda oral verilir. 2 aydan önce yanıt beklenmez. Hirsutizm, akne ve kilo alımı gibi virilizan yan etkiler görülebilir (1, 66, 67).

Rituksimab B hücre yüzey antijeni olan CD 20'ye karşı oluşmuş monoklonal antikorlardır. 375 mg/m²/hafta iv 4 hafta verilir. %60 olgu yanıt verir. Yanıt birinci yılın sonunda %40'a, ikinci yılın sonunda %30'a düşer. En ciddi yan etkileri ilerleyici multifokal lökoensefalopati, serum hastalığı ve anaflaktik reaksiyonlardır. Ateş, titreme, baş ağrısı, bulantı, kusma, hipotansiyon, sinüs taşikardisi, Steven-Johnson sendromu, likenoid ve vezikülobüllöz dermatit, toksik epidermal nekroliz ve immunsupresyon diğer yan etkilerdir. Rituksimab aktif B hepatiti olan olgularda kullanılmamalıdır (1, 68, 69).

Geleneksel İTP tedavisinde artmış trombosit yıkımının azaltılması amaçlanır. Son yıllarda eltrombopag ve romiplostim gibi trombopoetin (TPO) almacını aktive ederek trombosit yapımını arttıran tedavi şekilleri denenmiştir. En önemli yan etkisi 'rebound trombositopeni' diye adlandırılan, ilacın kesilmesi ile trombositopeninin başlangıç değerine göre %10 azalmasıdır. Çocuklarda kullanımı ile ilgili veriler sınırlıdır (66, 67, 70).

1.1.11.7. Kronik İTP'de Tedavi

Kronik İTP'li hastalarda amaç normal trombosit sayısına ulaşmak değil, kanamaları önlemektir. Trombosit sayısı > 30.000/mm³ olan semptomsuz hastalar, yakın izlemde tutularak tedavisiz takip edilir. Kanama şikayeti olan veya trombosit sayısı <30.000/mm³ olan riskli hastalara ise steroid tedavisi, IVIG, anti-D immunglobulin veya splenektomi uygulanabilir. Kortikosteroid, anti-D immunglobulin, IVIG tedavilerine cevap vermeyen, splenektomi endikasyonu olmayan ya da splenektomiye yanıtız hastalarda siklofosfamid,

azotiopurin, vinkristin, vinblastin, danazol, rituksimab, dapson, alfa-interferon, kolşisin ve siklosporin gibi tedavi seçenekleri uygulanabilir. Bu tedavilerin çocuklarda kullanımı ile ilgili veriler sınırlıdır (1, 66-68).

1.1.11.8. Hayatı tehdit eden kanamalarda acil tedavi

Yaşamı tehdit eden kanama ile gelen hastalarda, yüksek doz metilprednisolon (30 mg/kg/gün 20-30 dakikalık intravenöz infüzyon ile) ve ayrıca aferezle elde edilen trombosit süspansiyonu (0.5–1 ünite/m²/saat veya her 6–8 saatte bir 2–4 ünite/m²) verilmelidir. Trombosit transfüzyonu ve metilprednisolon ile birlikte ya da takiben 1 g/kg/gün IVIG (4–8 saatlik intravenöz infüzyon) tedavisi başlanmalıdır. Bu tedaviye 2–3 gün devam edilmelidir. Bu tedavi seçenekleri tedaviye yanıt ve klinik duruma göre tekrarlanabilir. Dirençli vakalarda vinkristin 2 mg/m² iv kullanılabilir. Medikal tedaviye yanıt yoksa ya da intrakraniyal kanamada gerekirse acil splenektomi düşünülmelidir. Bu önlemler yetersiz kalırsa plazmaferezden faydalanılabilir (39, 66, 67).

1.1.12. Prognoz

Vakaların %50'si bir ay içinde, %70-80'i 6 ay içinde düzelir. İlk bir yıldan sonra spontan remisyon nadirdir. Ancak 20 yıl sonra bile spontan remisyon gelişen vakalar bildirilmektedir. Kronikleşmeyi belirleyici faktörler sinsi başlangıç, semptomların 2 haftadan uzun süredir bulunması, kız cinsiyet ve 10 yaşından büyük olmadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda başlangıç trombosit sayısının daha yüksek olmasının, öncesinde enfeksiyon öyküsünün olmamasının da kronikleşmeyi belirleyici faktörler arasında olduğu belirlenmiştir (1, 71, 72).

1.2. Girelin

Büyüme hormonu (GH) salınımını uyaran GHS-R (büyüme hormon salgılatıcı reseptör) için spesifik endojen bir ligand olarak izole edilmiş, 28 aminoasitli, lipopeptid yapısında bir hormondur. Hint-Avrupa dillerinde gelişim anlamına gelen "grow" sözcüğünün kökü olan "ghre" ile salgılatma anlamına gelen "relin" (salgılatma) sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir. Daha sonra "appetite hormone" (iştah hormonu) olarak da adlandırılmıştır (5).

Başlıca salınım yeri mide oksintik mukozasındaki X/A benzeri hücrelerdir. Vücut sıvılarında açile ve desaçile olmak üzere iki formda bulunur. Girelin öncülü preproghrelin 117 aminoasitten oluşur. Preproghrelin, 23 amino asitlik sinyal peptidi ve 94 amino asitlik proghrelin kısımlarını içerir. Proghrelin 28 amino asitlik matür ghrelin ve 66 amino asitlik kuyruk kısmından oluşmuştur. Preproghrelinin son ürün olan matür ghreline kadar proteolitik olarak yıkımından sorumlu olan enzimler henüz bilinmemektedir. 28 aminoasit içeren girelinin N-terminal ucunda 3. aminoasit olan serine bağlı, 8 karbonlu bir yağ asidi olan n-oktaonik asit içerir. Biyolojik aktiviteyi sağlayan oktanil grubudur. Bu posttransyonal değişim, girelin molekülüne kazandırdığı hidrofobik özelliğiyle beyin dokusuna, özellikle hipotalamus ve hipofize geçişine imkan sağlamaktadır. Açıl grubu taşımayan girelin formu olan desaçil girelinin hipotalamik ve hipofizer reseptörlere bağlanmadığı görülmüştür. Desaçil girelin dolaşımdaki toplam girelinin %80-90'nını oluşturmaktadır (73-75).

Girelin hormonu mideden başka başta ince barsak olmak üzere, hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, böbrekler, myokard, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plesanta, gonadlar, immun sistem, meme dokusu, dişlerde, iskelet kası, cilt, yağ dokusu, nöroendokrin tümörlerden medüller tiroid karsinomaları ve akciğer tümörleri gibi değişik tümör dokularında da sentezlenmektedir. Girelinin yarılanma ömrü 15-20 dakikadır. Plazma konsantrasyonu 200-600 ng/L'dir (5).

Büyüme hormonu salınımını güçlü bir şekilde uyarmaktadır. Fizyolojik olarak GH salınımını nervus vagus yoluyla in vivo stimule etmektedir. Girelinin hipofiz bezindeki somatotropik hücrelerdeki GHS-R1-a aracılığıyla hipofiz içine girmesi ve fosfolipaz C aktivasyonu sonucu intrasellüler Ca²⁺ iyonu derişiminin yükseltmesiyle doz bağımlı olarak GH salınımı uyarılır. Hipotalamustaki GHRH salınımını aktive eder, somatostatin salınımını ise azaltmaktadır. GHRH uygulanması, farelerin hipofiz bezindeki girelin reseptörlerinde belirgin bir artışa neden olduğu, girelin ve GHRH 'ın birlikte verilmesinin sinerjistik etki ortaya çıkardığı ve GH salınımı arttırdığı gösterilmiştir (76, 77).

Girelin sekresyonunun düzenlenmesinde en önemli faktör beslenmedir. İştah açıcı ve adipojenik etkileri vardır. Girelinin iştah üzerine olan etkilerini 3 yolla gösterdiği kabul edilmiştir (78):

1. Mideden sentezlenerek kan dolaşımı ile hipotalamik ARC hücrelerine ulaşır. Kan beyin bariyerini aktif transport ile geçerek beynin diğer bölümlerine ulaşır.

2. Periferik olarak sentezlenen girelin, vagal sinir uçlarını uyarmakta, bu da GHS-R ekspresyonuna neden olarak vagal bağlantısı olan nükleus solitarius yoluyla hipotalamusu uyarmaktadır.

3. Hipotalamusta lokal olarak sentezlenmekte ve direkt olarak ARC'deki Nöropeptid Y (NPY)/iştah etkili protein (AGRP) ve diğer hipotalamik hücreleri uyarmaktadır.

Dolaşımdaki glikoz seviyelerini, GH salınımıyla, insülin direncini arttırarak ve glikoneogenezisi stimule ederek ayarlar. Sistemik girelin uygulaması, insanlarda insülin salınımını inhibe eder ve plazma glukoz seviyesini arttırır. Bu etkilere insan ve hayvanların endokrin pankreasında tespit edilen GHS-R1a aracılık etmektedir. Ayrıca insülin karşıtı hormonlar olan GH, kortizol, epinefrin ve glukagon salınımını stimule ederek ve hepatositlere direkt etki sonucu hepatic glukoz yapımını arttırarak etki göstermektedir (79).

Santral yada periferik yolla uygulanan girelin doza bağımlı olarak ısı artışına neden olmakta ve uygulama şekline göre ise ısı artışında farklılık oluşturmaktadır. Örneğin girelin intraperitoneal verilirse ısı artışı 5-20 dakikada olurken, intraserebroventriküler verilmesi halinde ise 10-60 dakika arasında gerçekleşmektedir. Bu ısı değişimin altında yatan neden, henüz bilinmemesine rağmen ghrelinin enerji harcanmasında ve korunmasında rolü olduğu kabul edilmektedir (73).

Sempatik aktiviteyi önleyerek ve vazodilatasyona neden olarak kan basıncını düşürmektedir. İntraserebroventriküler uygulanan girelin enjeksiyonu nükleus traktus solitarius ile kan basıncı ve otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde görevli olan vagusun dorsomotor nükleusunda c-Fos ekspresyonuna sebep olmaktadır. Üçüncü ventriküle ghrelin enjeksiyonu kahverengi yağ dokusunda ısı düzenlemesinde etkili olan sempatik aktiviteyi azaltmaktadır (5, 78).

Cinsiyet ve yaş faktörleri dikkate alınarak girelinin hastalıklarla ilişkisi hakkında birçok araştırma yapılmıştır. Lipopeptid yapıdaki bu hormonun seviyesi hastalıklara bağılı olarak değişim göstermektedir. Boy kısalığında girelin miktarı artarken akromegalili hastalarda azalmakta yada değişmemektedir. Çölyak, anoreksia nervoza, bulimia nervoza, kansere bağılı anoreksiya ve kaşekside kan ghrelin miktarlarının arttığı bildirilmektedir. Tip 2 diyabeti yada insülin direnci olan hastalarda serum girelin seviyeleri düşük bulunmuştur. Ayrıca Tip 2 diyabetli hastaların tükrüklerinde girelin düzeyi düşük bulunmuş olup hastalığın izlenmesinde önemli parametre olabileceği belirtilmiştir. Tip 1 diyabetli hastalarda ise girelin düzeyi normal bulunmuştur (80, 81). Hipertiroidili hastalarda girelin

seviyesi azalmakta, hipotiroidili hastalarda ise artmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği (KBY), periton diyalizi ve hemodiyaliz hastalarında girelin yüksek saptanmıştır. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda, olmayan bireylere göre girelin düzeyinin 2.8 kat artmış olduğu tespit edilmiştir. Tedavi gören epileptik hastalarda kilo almadan girelin seviyesinin düştüğü gösterilirken, başka bir çalışmada da arttığını göstermiştir. Ancak teorik olarak epilepsi tedavisi ile girelin seviyesinin azaldığı ileri sürülmektedir. Polikistik over sendromu (PKOS) olan hastalarda kontrol grubuna göre düşük girelin düzeyi tespit edilmişken, obez PKOS'lu hastalarda daha düşük bulunmuştur. Bir grup araştırmacı H. pilori enfeksiyonunda girelin seviyesinin arttığını, bir grup girelin seviyesinin azaldığını rapor etmiştir. H. pilori eradikasyonu ile bir grup hastada girelin miktarı artarken, bir grup hastada ise düşmüştür. Girelin gen ürünlerinin değişik sistem ve organ üzerine olan birçok etkisi tanımlanmıştır (5, 82).

1.2.1. Girelin ve Apoptozis

Girelin esas olarak fare midesinden izole edilmiş olup, GHS-R nin endojen ligandıdır. Girelinin kardiyomyosit, endotel hücrelerde adiposit, adrenal zona glomeruloza hücreleri, pankreatik beta hücrelerinde, osteoblastik MC3T3-E1 hücreleri, intestinal epitelyal hücreler ve hipotalamik nöronlar gibi çoğu hücrelerde apoptozisi inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca MAPK, fosfatidilinozitol 3 kinaz, PKA, PKC gibi girelinin antiapoptotik etkisi ile ilişkili yolları aktive ettiği gösterilmiştir. Girelinin antiapoptotik etkisi ile ilişkili olarak Hsp70 ve ASK1 (apoptosis signal-regulating kinaz 1) önemli hedef moleküllerdir. ASK1'in apoptotik hücre ölümünde önemli bir sinyal kinaz olduğu gösterilmiştir. ASK1 aktivasyonu, mitokondriden sitokrom c salınımı, daha sonra kaspaz 9 ve kaspaz 3 aktivasyonu gibi mitokondriyal olaylarla tetiklenen apoptotik hücre ölümünü indükler (83, 84). Isı şok proteini 70 moleküler bir şaperondur. Girelin Hsp70 ekspresyonunu stimule etmektedir. Çalışmalar Hsp70'in ASK1 aktivasyonunu inhibe ettiğini ve ASK1 bağımlı apoptotik hücre ölümünü önlediğini göstermiştir. Girelin ise Hsp70 ekspresyonunu stimule ederek ASK1 ilişkili apoptozisi inhibe eder. Girelinin, sodyum nitroprussid tarafından indüklenmiş ASK1 aktivitesini, ASK1 ilişkili kaspaz 3 aktivasyonunu ve PC12 (feokromasitoma) hücrelerinde apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir. Hsp70'in inhibitörü quercetin, ASK1 aktivitesi üzerinden girelinin etkilerini bloke eder. Girelin, Bcl-2/Bax oranını arttırarak, sitokrom c salınımını önleyerek, reaktif

oksijen ürünlerinin oluşumunu inhibe ederek, mitokondriyal transmembran potansiyelini stabilize ederek, kaspaz 3 aktivasyonunu inhibe ederek anti-apoptotik etki gösterir (5, 6).

Birçok çalışma oksidatif stresin plazma girelin düzeyini arttırdığını göstermiştir. Girelin antioksidan ve anti-inflamatuar etkiye sahiptir. Artmış serum yada plazma girelin düzeyi ülseratif kolit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, sepsis, pankreatit, kolit ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda bildirilmiştir. Serum ve plazma girelin ekspresyonunda artış hastalığın ciddiyeti ile ve özellikle TNF alfa, IL 6 ve IL 1beta gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu ile koreledir. Bu veriler çeşitli fare modellerinde inflamasyonun tedavisinde ekzojen girelin kullanımına yol açmıştır. Bu çalışmalarda açıl girelin kullanımının patoloji yada girelin tedavisinin dozu ne olursa olsun sitokin üretimini yada ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür (85, 86).

Girelinin; glutatyon peroksidaz, süperoksid dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığı ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Reaktif oksijen ürünlerinin birikimi ve süperoksid dismutaz düzeyinde azalma apoptotik hücre ölümüne katılmaktadır. Girelin oksidatif hasara karşı anahtar antioksidan enzim olan SOD aktivitesini artırır (87).

1.3. Isı Şok Proteinleri

Isı Şok Proteinleri (Hsp), ilk olarak 30 dakika süreyle 37 °C'de ısıya maruz bırakılıp; daha sonra 25 °C ısıya düşürülen *Drosophila melanogaster* (sirke sineği) tükrük bezi hücrelerindeki kromozomal kümelerde tariflenmiştir. Hsp sentezinin çeşitli indükleyicileri arasında; çevresel stres, ısı şoku, oksidanlar veya ağır metallere maruziyet, stresin olmadığı durumlar, normal hücre büyümesinin, gelişmesinin ve diferansiasyonunun belli evreleri dahil olmak üzere çeşitli hastalık halleri, iskemi veya inflamasyon sayılabilir (88).

Hücre bir stres etkeni ile karşılaştığı zaman hücre iskeletinde, sitoplazmik yapılarda, hücre yüzey morfolojisinde, hücresel redoks durumunda, DNA sentezinde, protein metabolizmasında ve protein stabilitesinde modifikasyonlar meydana gelmektedir. Stres moleküler hasar meydana getirir ve stres durumunda genellikle anormal katlanmış proteinler açığa çıkmaktadır. Bu proteinler hücre içerisinde agregatlar oluştururlar, bu da ardışık stres yanıtının açığa çıkmasına neden olmaktadır (88, 89).

Isı şok proteinleri ısı şoku tarafından indüklenen ve hücrede çok iyi korunan bir protein ailesi olarak keşfedilmiştir. Hücrede yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasının düzenlenmesi, nükleer bütünlüğün ve matriks materyalinin korunması, yapısı bozulmuş proteinlerin onarılması, hasar görmüş proteinlerin eliminasyonları, proteinlerin organel düzeyinde lokalizasyonu, organelle alınması ya da organelden atılması gibi çok sayıda göreve sahiptir. Bir diğer işlevi geri dönüşümsüz hasara uğramış polipeptidlerin proteolizine yardım etmektir. Isı şok proteinlerinin bir kısmının kendi başlarına proteaz aktivitesi gösterdikleri ya da yıkılması gereken polipeptidlerin proteazlarla etkileşmelerine yardım ettikleri belirlenmiştir (89, 90).

Isı şok proteinlerinin pek çoğu, oldukça korunmuş bir amino (N)-terminal adenosine trifosfat (ATPaz) ucu ve bir Karboksi (C) terminal substrat-bağlayıcı ucundan oluşurlar. Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre; Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 ve düşük moleküler ağırlıklı Hsp (Ubiquitin ve HSP27) aileleri olmak üzere 6 gruba ayrılırlar. Bu aile üyelerinden bazıları hücrede sürekli olarak sentezlenirken, bazılarının stres koşullarında sentezleri artmaktadır. Diğer aile üyeleri ise yalnızca stres etkisi sonucunda sentezlenmektedir. Büyük moleküler ağırlıklı Hsp'ler ATP bağımlı şaperonlardır, kendi konformasyonlarının düzenlenmesi ve ATP bağlanması için ko-şaperonlara gereksinim duyarlar. Hsp27 gibi küçük şaperonlar ATP bağımlı değildirler (91).

1.3.1. Isı Şok Proteini 70

Organizmalarda en iyi korunan ve en çok çalışılan grup Hsp70 ailesi üyeleridir. Hsp70 ailesi insanda en az 11 gen tarafından kodlanan moleküler ağırlığı 66 ile 78 kD arasında değişen proteinleri içermektedir. Isı şok protein 70 üyeleri 6. kromozomun MHC klas 3 bölgesinde bulunur. Isı şok protein 70'in moleküler yapısı 44 kilodaltonluk (kDa), 18kDa, 10kDa olmak üzere 3 ana bileşenden oluşur. Bu protein ailesinin indüklenbilir Hsp70 (Hsp72) ve bazal metabolizmada sentezlenen Hsc70 gibi üyeleri sitozolde lokalize olurken, bir grup Hsp70 mitokondride ve diğer bir grup üyesi de endoplazmik retikulumda lokalize olmuştur (91, 92). Ökaryotik Hsp70 proteini iki işlevsel bölgeye sahiptir. Bunlar; ATP'ye bağlanan -NH₂ terminal bölge ve peptide bağlanan -COOH terminal bölgedir. Normal koşullarda Hsp70 ailesine ait proteinler, olgunlaşmamış polipeptidlerin düzgün katlanmaları, hasarlı proteinlerin yeniden katlanması, protein agregasyonunun önlenmesi,

yıkım için proteinlerin intrasellüler lokalizasyona transportunun indüklenmesi ve protein komplekslerinin formasyonunun sağlanması gibi işlevlere sahip ATP bağımlı moleküler şaperonlardır (90, 91).

1.3.2. Isı Şok Proteini 70 ve Apoptozis

Gen ablasyon yöntemleri Hsp70'in apoptoziste önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Fare embriyonik hücrelerinde indüklenebilir Hsp70, Hsp70.1, Hsp70.3 genleri çıkarıldığında çok sayıda letal uyarılara karşı duyarlılığın arttığı belirlenmiştir (88). Hücrede meydana gelen hasar paradoksal olarak birbirine zıt iki yanıt mekanizmasının tetiklenmesine neden olmaktadır. Apoptozis yukarıda değinildiği gibi yaygın enflamasyonu önlemek üzere hasar gören hücrelerin uzaklaştırılmasına neden olurken, ısı şoku ya da stres yanıtı hücreyi hayatta tutmak üzere hasar gören yapıların kurtarılmasını sağlamaktadır (89).

İnvivo ve invitro çalışmalar ısı uygulamalarının Hsp ekspresyonu için major stimulus olduğunu göstermiştir. Termal ablatif hasarı takiben, Hsp senteziyle apoptozis inhibe olur ve progresif hasarlanmayı sınırlayarak tahrip olmuş hücrelerin iyileşmesine yardım edebilir. Isı şok proteinleri farklı apoptotik proteinler ile etkileşerek apoptozisin kritik kontrol noktalarında düzenleyici etki yapmaktadırlar. Apoptozisin düzenlenmesinde oldukça kompleks rollere sahip olan Hsp'ler öncelikle hücrel koruyucu özelliklerinden dolayı apoptotik yanıtı inhibe etmektedirler. Isı şok proteinleri kaspaz aktivasyonunu engelleyerek apoptozisi bloke edebilirler (6, 7). Hsp27, Hsp70, Hsp60 ve Hsp90'ın aşırı sentezlenmesi apoptozisi inhibe edebilir. Farklı hücre modellerinde Hsp'lerin yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini engellediği ve serbest radikaller ile DNA hasarına neden olan hücrel stres durumlarında apoptozisi inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bunun aksine Hsp27, Hsp70, Hsp60 ve Hsp90'ın yeterli düzeyde sentezlenmemesi hücrelerin apoptotik uyarılara duyarlılığını artırır. Hsp'ler intrinsik ve ekstrinsik apoptotik yolları, üç noktada anahtar proteinlerle tepkimeye girerek bloke edebilir. Bu noktalar (7, 92);

1. Mitokondriden önceki süreçte sinyal yollarının düzenlenmesi,
2. Mitokondride gerçekleşen apoptojenik moleküllerin salınmasının kontrolü,
3. Post mitokondriyal süreçte apoptozom oluşumunun kontrolüdür

Hsp70'in sitokrom c salınımını inhibe ederek kaspaz 3 aktivasyonunu engellediği ve böylece apoptozisi inhibe ettiği belirlenmiştir. Buna ek olarak Hsp70'in Apaf-1

molekülüne doğrudan bağlanarak prokaspaz 9 ile apoptozom oluşumunu engellediği belirtilmiştir. Hsp70'in ATPaz bağlanan bölgesi bu etkileşim için gereklidir. Hsp70, Hsp40 ile eşleşerek Bax'ların mitokondri dış membranına lokalizasyonunu engeller ve mitokondri dış membran geçirgenliğini korur. Ayrıca Hsp90 direkt olarak Apaf-1'e bağlanarak apoptozom oluşumuna engel olur. TNF indüklü apoptozisde Hsp70 kaspaz 3 aktivasyonuna engel olmaz, fakat fosfolipaz A2'nin aktivasyonu gibi hücre ölümünün karakteristiği olan morfolojik değişimlerden korur (93, 94).

Oksidatif stres apoptotik süreç için önemli bir sinyaldir. Isı şok proteini hücrel redoks homeostazisini sürdürmek için antioksidan gibi davranır. Hsp27 ve Hsp70 ailesinin üyeleri oksidatif strese karşı protektif role sahiptir. Hücrelerin redoks durumu Hsp sentezini etkiler (95).

Reaktif oksijen ürünleriyle indüklenen apoptozisin Fas ölüm reseptörlerinin artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hsp70'in aşırı ekspresyonu Fas ile indüklenen apoptozisi azaltır (94).

Isı şok proteini 70, ayrıca kaspaz bağımsız apoptotik yolu önler. Stres durumlarında Hsp70 lizozomal membran stabilizasyonunu sağlayarak katepsinlerin salınımını inhibe eder. Bu bazı hücre modellerinde otofajik hücre ölümünün inhibisyonuna yol açar. Hsp'ler sadece proapoptotik yolağın regülasyonunda değil, antiapoptotik mediatörlerin aktivasyonunda ve devamlılığında yer alırlar. Bcl-2 protein ailesi birbirleri arasında apoptozise izin veren yada inhibe eden, homodimer veya heterodimer oluşturan 20'den fazla üye içerirler. Bir ko-şaperon olan BAG-1 proteini Hsp70 ve Bcl-2 arasında Bcl-2 aktivasyonuna yardımcı olan bir bağlantı yapar. Proapoptotik ve antiapoptotik süreç ayrıca Hsp sentezini düzenler. Fas aktivasyonunun Hsp70 upregülasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Isı şok proteini apoptotik sinyalizasyonda major rol oynar (93-96).

1.4. Apoptozis

Apoptozis; organizmalarda sıkı şekilde korunmuş olduğu kabul edilen doku embriyogenez ve organizmaların şekillenmesinden çeşitli hastalıklara kadar birçok mekanizmada önemli rol almaktadır. Apoptozis ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen mekanizması çok açık değildir. Bu konuda bilinenlerin oldukça başlangıcında olduğu düşünülmektedir. Apoptozis terimi ilk olarak 1972 yılında Kerr, Wyllie ve

Currie tarafından hücre ölümünün morfolojik bir formunu tanımlamak için kullanılmıştır (97).

Programlanmış hücre ölümü ya da apoptozis genel olarak belirli morfolojik özellikler ile karakterize edilen enerji bağımlı biyokimyasal bir mekanizmadır. Apoptozis normal hücre döngüsü, normal gelişim, immün sistem fonksiyonu, hormon bağımlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal olarak uyarılmış hücre ölümünü içeren çeşitli işlemlerin hayati komponenti olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Uygun olmayan apoptozis nörodejenetratif hastalıklar, iskemik zarar, otoimmün hastalıklar ve birçok kanser tipini kapsayan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Apoptozis, intrauterin dönemden itibaren başlar. Fizyolojik ve patolojik birçok olayda önemli rol oynar. Bunlar (8);

1. Embriyonal ve fetal gelişimde; immün sistemin ve sinir sisteminin gelişmesi için önemli role sahiptir. İntrauterin dönemde, immün sistemin maturasyonu esnasında, santral lenfoid organlardaki otoreaktif lenfositlerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Böylece periferik lenfoid ve myeloid kompartmanların aşırı büyümesi kısıtlanır. Sinir sistemi gelişirken; aksonları hedef organlara ulaşamayan nöronların ortadan kaldırılmasını ve nöronlarla hedef organlar arasında oluşan bağlantı hatalarının onarılmasını sağlar.

2. Hormon salgısının azalmasına bağlı olarak gelişen involüsyonlarda; örneğin menstruasyonda endometrial dokunun yıkılması, laktasyon sonrası meme atrofisi.

3. Dokularda hücre hemostazının sağlanması: bağırsaktaki kript epitellerinin sürekli yenilenmesi gibi.

4. İmmün reaksiyonlarda; Viral hepatitte karaciğerde oluşan apoptotik hücreler (Concilman cisimcikleri) veya graft versus host reaksiyonları gibi.

5. Hücrelerin herhangi bir nedenle hasarlanmaları durumunda veya yaşlılıkta; örneğin ısı, radyasyon, antikanser ilaçlar, hipoksi gibi durumlarda apoptozis, belirli uyarılarla başlatılan moleküler olayların enerjiye bağımlı döngüsünün son noktasıdır ve dört ardışık basamağı vardır (98):

1. Ekstra ve intraselüler sinyallerle apoptozisin başlatılma fazı

2. Kontrol ve düzenlenme fazı: İntraselüler pozitif ve negatif düzenleyici moleküllerle apoptozisin stimülasyonu veya inhibisyonu söz konusudur.

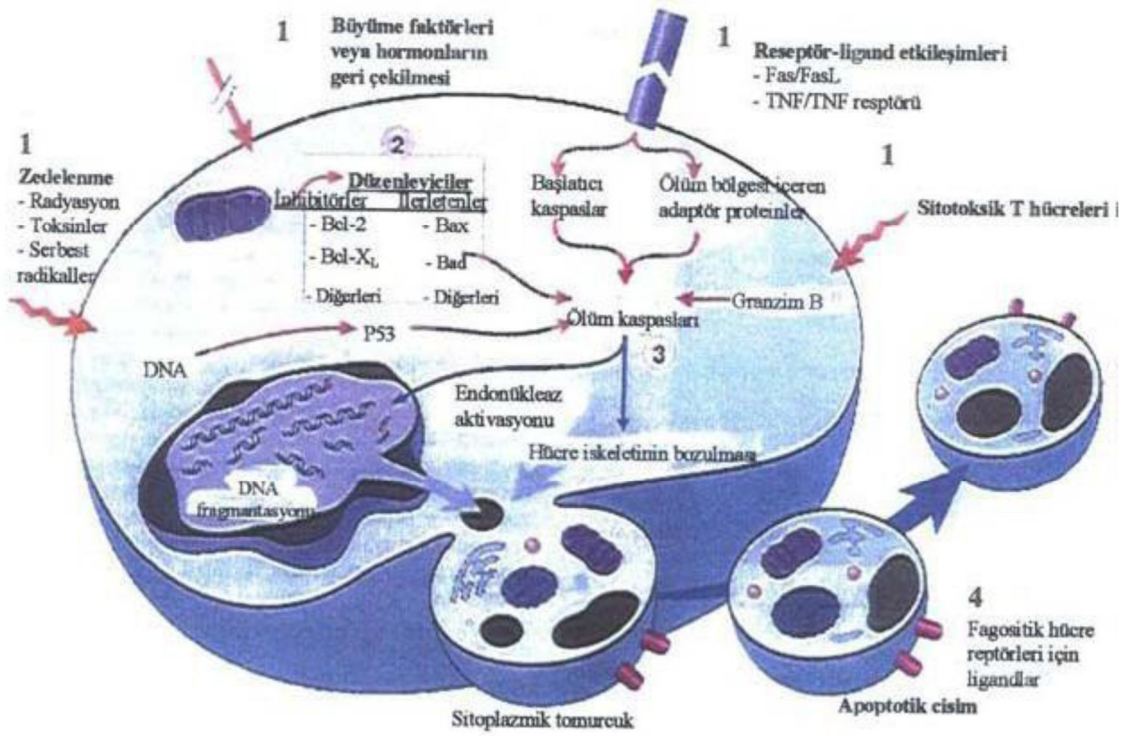
3. İnfaz fazı: Genel final fazı ve fiili ölüm programından oluşur ve bu faz çoğunlukla proteazların kaspaz ailesi tarafından gerçekleştirilir.

4. Fagositoz fazı: Fagositoz ile ölü hücrelerin temizlenmesidir.

1.4.1. Apoptozis Mekanizmaları

Apoptozis hücre yüzeyine spesifik ölüm reseptörlerinin bağlanması ile başlar. Hücrenin apoptozise gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir. DNA hasarı, hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, hücre içi pH değişiklikleri, hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptozise götüren hücre ölüm sinyallerini başlatır. Ölüm reseptörlerinin hücre yüzeyinde spesifik ligandlarına bağlanması sonucu hücre içi proteazlar yani kaspazlar aktive olur. Aktive olan kaspazlar hedef proteinleri yıkarak, hücre içi değişikliklere neden olur (97, 99). Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara bölünür. Bunlara “apoptotik cisim” adı verilir. Apoptotik cisimler çevredeki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite edilerek yok edilir. Apoptozisi indükleyen sinyaller; intrinsek yolu ve ekstrinsek yolu tetikleyen proteinler olmak üzere çok sayıdadır (97).

Apoptozis mekanizması oldukça kompleks enerji bağımlı moleküler kaskad olaylarını içermektedir. Yapılan araştırmalar ekstrinsek ve intrinsek ya da mitokondriyal yol olarak iki ana apoptotik yolun olduğunu, bu iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğu ve bir yolda rol alan moleküllerin diğer yoldakini etkilediğini göstermiştir. Bu iki yola ilave olarak T-hücre aracılı sitotoksititeyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren bir yol daha vardır (8, 100).



- 1- Mitochondriyal stres durumlarında açığa çıkan ve kofaktör nükleotid trifosfat (ATP ve dATP) ile aktiflenen sitokrom-c, sitoplazmada apoptotik proteaz aktive edici faktör (Apaf-1) ve kaspaz 9 ile birleşerek kaspaz-3'ü aktive eder ve kaspaz kaskadının sürdürülmesi ile hücre sel proteoliz gelişir.
- 2- Ölüm aktivatorlerinin (FasL ve TNF) hücre yüzeyindeki Fas ve TNF reseptörlerine bağlanması ve sitoplazmada kaspaz-8'i aktive etmesiyle apoptotik döngü başlar.
- 3- Endoplazmik retikulumda bulunan prokaspaz 12'nin, yüksek kalsiyum seviyeleri, kalsiyum bağımlı bir tiyol-proteaz olan, hücre iskeleti ve sinyal iletiminde görev alan kalpainin endoplazmik retikulumu etkilemesi ile aktif hale geçmesi, aktiflenmiş kaspaz 12, kaspaz 9 ile sitoplazmada etkileşerek kaspaz kaskadını aktifler ve apoptozis oluşumuna neden olur.

Şekil 1. Apoptozis mekanizması (8)

Tablo 5. Apoptozisin başlatıcıları (ekstrensek yol) (100)

Ölüm reseptörleri	Ligandı
TNF ailesi: TNF-R1	TNF
Fas	FasL
DR3	Tweak
TRAIL-R1 (DR4)	TRAIL
TRAIL-R2 (DR5)	TRAIL
DR6	DR6L
TAJ	TAJL
THANK-R	THANK
Diğer:	Granzim B
Mannoz 6-Fosfataz (İnsülin benzeri)	

Büyüme faktörü II reseptörü; ILGF-II)

Tuzak reseptörleri

TNF ailesi (ölüm reseptörlerini antagonize edenler):

Solubl Fas	FasL
TRAIL-R3	TRAIL
TRAIL-R4	TRAIL
Tuzak reseptör 3 Osteoprotegerin	TRAIL

Tablo 6. Apoptozisin başlatıcıları (i ntrensek yol) (100)

Lokalizasyon	Apoptojenik Proteinler	
Mitokondrilerde	Sitokrom C	Kaspaz-9
	Kaspaz-2	Smac/DIABLO
	Kaspaz-3	AIF
	Kaspaz-8	SIM-20
Post mitokondrial (Apoptozomlar)	Apaf-1	Kaspaz-9
	dATP	Sitokrom C
Endoplazmik retikulum	Kaspaz-12	Bap31
Golgi kompleksi	Kaspaz-2	
Nukleus	TR3	

1.4.1.1. Ekstresek Yol

Apoptozisi transmembran reseptör aracılı etkileşimlerle başlatan yol ekstrensek yada ölü reseptör yoludur. Bu sinyal yolunda TNF reseptör gen ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörlerini içeren transmembran reseptörleri rol almaktadır. TNF reseptör ailelerinin üyeleri birbirine benzer sistince zengin ekstrasellüler domainler içerir ve öldürücü domain olarak adlandırılan yaklaşık 80 aminoasitlik bir sitoplazmik domaine sahiptirler. Bu domainler hücre yüzeyinden hücre içi sinyal yoluna öldürücü sinyalin aktarılmasında kritik bir rol oynarlar. Ligand ve onların karşılığı olan öldürücü reseptörler FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/ DR4 ve Apo2L/DR5'i içermektedir (8, 100). Apoptozisin ekstrensek fazını tanımlayan olayların oluş sırası en iyi şekilde FasL/FasR ve TNF- α /TNFR1 modelleri ile karakterize edilir. Bu modellerde, reseptörler ve homolog trimerik ligandların bağlandığı kümeler vardır. Ligand bağlandığında, sitoplazmik adaptör proteinler reseptörlere bağlanan uygun öldürücü domainlerin oluşumunu göstermektedir. Fas ligandının Fas reseptörüne bağlanması, Fas reseptörünün Fas ilişkili ölüm domainine (FADD) bağlanmasına, TNF ligandının TNF reseptörüne bağlanması ise FADD ve reseptör interaktif protein (RIP) birimleri ile adaptör TNFR-1 ilişkili ölüm domaini

(TRADD) proteininin bağlanmasına yol açar. FADD daha sonra öldürücü efektör domaininin dimerizasyonu aracılığı ile prokaspaz 8 ile birleşir. Bu noktada bir öldürücü sinyal kompleksi (DISC) oluşurak bu prokaspaz 8'in oto katalitik aktivasyonuna yol açar. Kaspaz-8 bir kez aktive olunca, apoptozisin uygulama fazı tetiklenir. Öldürücü reseptör aracılı apoptozis, FADD ve kaspaz-8'e bağlanacak olan c-FLIP olarak adlandırılan bir protein tarafından inhibe edilir (97, 101).

1.4.1.2. İntrensek Yol

Doğrudan hücre içi reseptörlere etki eden reseptörlerden bağımsız olarak uyarının farklı bir düzenini içeren yola intrinsek ya da mitokondrial yol adı verilmektedir. İntrensek yolu başlatan uyarıcı, pozitif ya da negatif biçimde rol alabilir. Negatif sinyaller, ölüm programının baskılanmasının başarısız olmasına neden olabilecek olan belirli büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinlerin olmadığı durumları içerir ve apoptozisi tetikler. Radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi diğer uyarılar pozitif sinyaller olarak rol almaktadır (8). Bu uyarıların tamamı mitokondrial permeabilite geçiş poru (MPT)'nin açılmasına, mitokondrial transmembran potansiyeli ve sitozolun iç membran boşluğundan normal olarak izole edilmiş proapoptotik proteinlerin iki ana grubunun salınımına yol açan mitokondri iç membranında değişikliklere neden olabilir. İlk grup sitokrom c, Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi'den oluşur. Bu proteinler kaspaz bağımlı mitokondriyal yolağı aktive ederler (100). Sitokrom c bir apoptozom oluşturan prokaspaz-9'a ilave olarak Apaf-1'i aktive eder ve bağlar. Bu şekilde prokaspaz-9'un kümeleşmesi kaspaz 9 aktivasyonuna yol açar. Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi'nin, IAP'ı (apoptozis protein inhibitörü) inhibe ederek apoptozisi desteklediği bildirilmiştir. Proapoptotik proteinlerin ikinci grubu, apoptozis süresince mitokondrilerden salınan AIF, endonükleaz G ve CAD'dır. AIF çekirdeğe transloke edilir ve DNA'nın 50-300 kb'lik parçalara bölünmesine ve periferal çekirdek kromatininin kondensasyonuna yol açar. Endonükleaz G ayrıca çekirdeğe transloke edilir ve nükleer kromatini oligonükleozomal DNA fragmanleri oluşturmak üzere parçalar (97).

Proteinlerden Bcl-2 ailesi mitokondrial membran geçirgenliğini kontrol eder. Şu ana kadar Bcl-2 ailesinden 25 tane gen tanımlanmıştır. Antiapoptotik proteinlerden bazıları Bcl-2, Bcl-x, Bcl-xL, Bcl-w, BAG'ı içerirken; pro-apoptotik proteinlerden bazıları Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik ve Blk'i içerir. Bu proteinler apoptozisi başlatabilir ya da

sonlandırabilir (8, 10). Proteinlerden Bcl-2 ailesinin aktivasyonunun ana mekanizması, mitokondrial membran geçirgenliğinin değişimi ile mitokondriden serbest bırakılan sitokrom c'nin düzenlenmesidir. İlave olarak Bcl- xL ve Apaf-1'de gösterilen bir protein "Aven" in her ikisini bağlayarak prokaspaz-9'un aktivasyonunu önlediği belirlenmiştir. Puma ve Noxa, Bcl-2 ailesinin iki üyesidir ve bunlar proapoptozis mekanizmasında da rol alırlar. Puma p53 aracılı apoptoziste önemli bir rol oynar. İn vitro olarak Puma'nın aşırı ekspresyonunun, Bax ekspresyonunun artışına, Bax'ta konformasyonel değişikliklere, sitokrom c salınımı ve mitokondriyal membran potansiyelinde azalmaya eşlik ettiği gösterilmiştir. Noxa'da aynı zamanda p53 tarafından indüklenmiş apoptozis için aday bir araçtır. Çalışmalar Noxa'nın mitokondride lokalize olduğunu ve antiapoptotik Bcl-2 aile üyeleri ile etkileşime girerek kaspaz 9'u aktive ettiğini göstermiştir. Puma ve Noxa'nın her ikisinin de p53 tarafından indüklenmesi nedeniyle, bunlar geno-toksik hasar ya da onkogen aktivasyonu ile oluşan apoptozise aracılık edebilirler. Miyelositomatozis onkogen (Myc) onkoproteininin de aynı zamanda p53 bağımlı ve bağımsız mekanizmanın her ikisinde de apoptozisi artırma yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (8, 102, 103).

1.4.1.3. Perforin/granzim yolu

Perforin/granzim yolu granzim B ya da granzim A ile apoptozisi indükleyebilir. Ekstresek, intresek ve granzim B yolu aynı uçta ya da infaz yolunda odaklanabilir. Bu yol kaspaz-3'un parçalanması ile başlatılabilir ve DNA'nın fragmantasyonunu, hücre iskeleti ve çekirdek proteinlerinin parçalanmasını, proteinlerin çapraz bağlanmasını, apoptotik yapıların oluşumunu, fagositik hücre reseptörleri için ligantların ekspresyonunu ve sonuç olarak fagositik hücreler tarafından yutulma basamaklarını içermektedir (8, 99). Granzim A yolu tek iplikli DNA hasarı aracılığıyla paralel olan, kaspaz bağımsız hücre ölüm yolunu aktive eder. Sitotoksik T lenfositler (CTLs) konakçı hücre yüzeyindeki antijenleri tanırlar ve bu sırada yüzeylerinde Fas ligand oluşturarak hedef hücrenin Fas reseptörüne tutunurlar. CTL'ler sitoplazmalarında granzim B (serin proteaz) ve perforin adı verilen, apoptozisin oluşmasını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüllere sahiptirler. Bu CTL'ler, perforin ile porlar oluşturarak hedef hücrelerde kaspazları aktive edecek olan granzim B salgırlar ve böylece perforinin salınımını içeren yeni bir yol aracılığı ile tümör hücresi ve virüs tarafından enfekte edilmiş hücre üzerinde sitotoksik

etkilerini uygulayabilirler. Granzim A'da aynı zamanda apoptozisi uyaran ve kaspaz bağımsız yolu aktive eden sitotoksik T hücrelerinde de önemlidir (17, 97, 100).

1.4.2. Apoptozisteki Biyokimyasal Olaylar

Protein ayrılması; Apoptozisin spesifik bir özelliği olan protein hidrolizi, kaspazlar olarak adlandırılan, sistein proteaz ailesinin aktivasyonu ile gerçekleşir. Apoptotik hücrelerde görülen nükleer ve sitoplazmik yapısal değişikliklerin sebebi kaspaz aktivasyonudur. Kaspaz aktivitesi aynı zamanda endonükleazları da tetikler (8, 10).

Protein çapraz bağlanması (Cross-Linking); Apoptoziste hücreler büzüşür ve küçük parçalara ayrılır. Bu parçalar; transglutamazların yaptığı protein çapraz bağlanmaları ile sitoplazmik proteinler apoptotik cisimlere dönüştürülür.

DNA yıkımı; Apoptotik hücrelerde DNA yıkılarak 50-300 kilo baz'lık büyük parçalara ayrılır. Daha sonra Ca^{2+} ve Mg^{2+} 'a bağımlı endonükleazlar DNA zincirini, H1 histon bölgesinden 180-200 baz çiftlik ve katları uzunluğunda parçalara ayırır.

Fagositik tanıma; Apoptotik hücreler, plazma membranlarının dış zarında fosfatidilserin ve trombospondin ekspresyon ederler. Sağlıklı hücrelerde plazma membranının içinde bulunan fosfatidilserin, apoptotik hücrelerde plazma membranının dış yüzünde bulunur. Apoptotik hücrelerde fosfatidilserin ekspresyonu hücrenin fagositozu için makrofajlar ve komşu hücreler tarafından tanınmasına izin verir. Fagositik hücreler için sinyal görevi görür (8, 10, 99, 100).

1.4.3. Apoptozisin Genetik Kontrolü

Apoptozis, antiapoptotik ve proapoptotik proteinler arasındaki denge tarafından düzenlenir. Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen ve protein bulunmaktadır (8, 10, 97).

Tablo 7. Apoptozis ve Genler (10)

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
Bcl-2/Bax grubundan:	Bcl-2/Bax grubundan:
Bcl-2, BHRL-1, Bcl-xL, Bcl-w, Bcl-1, Mcl-1	Bax Harakiri/DP5
E1B-19K, CED-9, A1/BFL-1, BOO/Diva, NR13	Bcl-X _s , BLK, Bax
	Bad, Noxa, Bcl-GI Map-1, BIM/BOD
	BIK/NBK
c-abl geni	c-myc

ras onkogeni	p53, p21
p35	Fas, FADd

1.4.3.1. Bcl-2/Bax protein ailesi

Apoptozisin mitokondriyal yolağın regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xL, Mcl-1) ve proapoptotik (bax, bad, bid) proteinler bu grupta yer almaktadır. Bcl-2/Bax gen ailesi ürünleri mitokondri ve çekirdek zarlarının yanısıra, endoplazmik retikulum zarı üzerinde de yer alırlar ve homodimer yada heterodimer şeklinde kompleksler oluşturarak çalışırlar. Çalışmalarda bu heterodimerlerden biri olan “Bcl-2/Bax” oranı “ölüm anahtarı” olarak değerlendirilmektedir. Bu proteinlerin seviyeleri hücrenin öleceğine veya yaşayacağına karar verir. Örneğin Bcl-2'nin Bax ile olan etkileşiminde, Bcl-2'nin oranının daha yüksek olması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir (9, 10).

Bütün Bcl-2 ailesi üyeleri 4 Bcl-2 homolog alanının (BH) en az birini içermesi ile karakterizedir. Bu alanlar BH1, BH2, BH3, BH4 olarak ifade edilir ve α -heliks segmentlerine karşılık gelir. Antiapoptotik Bcl-2 üyeleri bu 4 alana sahipken, proapoptotik üyelerde BH4 alanı yoktur. Proapoptotik üyeler de kendi arasında iki alt gruba ayrılır. Bunlardan biri BH1, BH2, BH3 içeren grup (Bax ve Bak), diğeri ise sadece BH3 içeren gruptur (Bid, Bad, Bim) (102). Bcl-2 ailesi üyelerinin önemli bir özelliği heterodimer ve homodimer oluşturmalarıdır. Antiapoptotik ve proapoptotik üyeler arasındaki heterodimerizasyon birbirlerinin etkilerini inhibe eder. Bax homodimerizasyonu hücre ölüm sinyali oluşturur. Fakat Bcl-2 ve Bax heterodimerizasyonu, Bax fonksiyonunu inhibe eder. Bcl-xS, Bcl-2'ye bağlanarak, Bcl-2 fonksiyonunu inhibe eder. Bax'ın Bcl-2 ile etkileşimini engeller ve Bax'ın öldürücü fonksiyonu ortaya çıkar. Bcl-2 aile üyeleri arasındaki etkileşimler şu şekilde belirtilmiştir (103, 104).

- Bcl-2 ile Bax
- Bcl-2 ile Bcl-2
- Bcl-2 ile Bcl-xL
- Bcl-2 ile Bcl-xS
- Bcl-2 ile Mcl-1
- Bcl-xL ile Bcl-xL

- Bcl-xL ile Mcl-1
- Bax ile Mcl-1

Fizyolojik ve patolojik birçok olayda apoptozisin regülasyonunda Bcl-2 geni kritik bir role sahiptir. Bcl-2 terimi, “B-cell lymphoma/ leukemia-2” terminolojisinden gelmektedir. Bcl-2 geninin aktivasyonu için kromozomal bir translokasyon oluşur. Bu translokasyonla Bcl-2 geni normal lokalizasyonundan, juxtapozisyonu olan immüoglobulin ağır zincir lokusuna taşınır. Bu translokasyon, Bcl-2 mRNA’sının ve genin kodladığı proteinlerin aşırı üretimine neden olur (97, 102). Bcl-2, 239 aminoasitten oluşan 24-26 kDa'luk bir protein kodlar. Güçlü bir ölüm inhibitörüdür. Bcl-2 mitokondri membran dışında, endoplazmik retikulum ve nükleer membranlarda bulunur. Antioksidan yolda mitokondriden sitokrom-c salınımını engellemede rol oynar. Bcl-2’nin ayrıca mitokondri ile olan ilişkisinden dolayı antioksidan bir etkiye sahip olduğu ve böylece oksidan stresin neden olduğu apoptozisi baskılayabildiği bulunmuştur (102, 103). Bcl-2 ve myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1), Bcl-2-like 1 (Bcl-xL), Bcl-2-like 2 (Bcl-w) ve Bcl-2 ilişkili protein A1 (Bfl-1) gibi diğer antiapoptotik proteinlerin ekspresyonu; Bax ve Bak proteinlerinin homo-oligomerizasyonunu ve aktivasyonunu engelleyerek hücre ölümünü bloke eder. Bcl-xL mitokondri membran dışında lokalizedir. Bcl-xL kaspaz aktivasyonunu, Apaf-1 üzerinden önler. Bcl-xL ve Bcl-2 birlikte mitokondri membran geçirgenliğini korurlar (8, 97, 104).

Apoptotik uyarıya yanıt olarak Bcl-2 ailesinin sadece BH3 alanını içeren belirli üyeleri aktive olur. BH3 proteinleri, Bcl-2 ilişkili X proteininin (Bax) yada Bcl-2 antagonist /killer-1 (Bak) gibi proapoptotik proteinlerin mitokondride aktivasyonuna yol açar. Sağlıklı hücrede bax sitozolde monomerik formda bulunur. Proapoptotik protein olan Bax’ın aktivasyonu hem translokasyonu hem de dimerizasyonu gerektirir. Apoptotik uyarı Bax-Bax homodimerlerinin oluşumuna ve sitozolden mitokondriye translokasyonuna neden olur. Bax integral bir membran protein haline gelir. Bax ve Bak mitokondri membranında por oluşumunu indükler. Mitokondrinin selektif iyon geçirgenliği kaybolur. Bax’ın hidrofobik C terminal ucu açığa çıkar ve sitokrom c salınımına neden olur (10, 100, 103, 104). Sitokrom c ve apoptozis indükleyici faktör olarak bilinen AIF, mitokondriden stoplazmaya çıkar. AIF doğrudan kromatin kondansasyonunun ve nükleer fragmentasyonun meydana geldiği çekirdeğe doğru yönelirken, sitokrom c apoptozisin en son basamağında rol alır. Sitokrom c bir stoplazma proteini olan Apaf-1’in aktivatörüdür.

Sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'u aktive eder ve ATP'nin de katılımı ile oluşan komplekse 'apoptosom'denir. Prokaspaz 9'un aktivasyonu bir seri kaspaz aktivasyonunu başlatır (9).

Stoplazmada Bid inaktif halde bulunur. Sadece bir BH3 içerir. Fas ligand ile Fas'ın aktivasyonu kaspaz 8'i aktive eder. Kaspaz 8 ise Bid'nin bölünerek aktiflenmesine yol açar. Oluşan tBid, Bcl-2'yi inaktive etmek veya Bax'ı aktiflemek üzere mitokondri membranına yerleşir ve mitokondri proteinleri ile etkileşerek apoptozise neden olur (99).

Proapoptotik protein olan Bad, fosforilasyon-defosforilasyon ile düzenlenir. Normal koşullarda Bad stoplazmada inaktif olarak fosforile halde tutulur. Ölüm sinyali ile Bad defosforile edilir. Bad'ın defosforilasyonundan kalsiyum bağımlı fosfataz sorumludur. Defosforile Bad, antiapoptotik Bcl-2 proteinlerine bağlanarak ve bu proteinleri nötralize ederek apoptozise katkıda bulunur. Ayrıca Bad; Bcl-xL-Bcl-2 heterodimerine bağlanır (100, 103).

Apoptozis kompleks biyokimyasal kaskad olaylarının bir sonucudur. Kaspazlar normal hücrelerde inaktif proenzimler olarak sentez edilirler. Bir kaspazın diğer kaspazı aktive edebildiği bu proteolitik kaskad, apoptotik sinyal yolunu artırır ve hızlı hücre ölümüne neden olur. Kaspazlar sistein proteazlardır, aktiviteleri hücre ölüm yolunda ortaya çıkar. Tanımlanmış 10 büyük kaspaz; başlatıcı kaspazlar (kaspaz 2, 8, 9, 10), efektör kaspazlar (kaspaz 3, 6, 7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz 1, 4, 5) olarak sınıflandırılmıştır (8, 97, 98).

Apoptozis yaşamın sürdürülmesinde temel mekanizma olarak görülmektedir ve bu yüzden etyolojisini tam olarak açıklayamadığımız pek çok hastalığın aydınlatılmasında ve belki de tedavisinde ileride anahtar rol oynayabilecektir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar apoptoziste oluşan bozuklukların nörodejeneratif hastalıklara, malignitelere ve otoimmün hastalıklara yol açabileceğini göstermiştir (9).

1.4.4. İdiyopatik Trombositopenik Purpura ve Apoptozis

Dr. William Harrington 1950'deki ünlü deneyde İTP'li bir hastadan aldığı kana başka bir bireye infüze etmesi sonucu ciddi trombositopeni geliştiğini keşfetti. Takip eden yıllarda Harrington ve arkadaşı Shulman İTP'de dolaşımdaki trombositlerin azalmasından sorumlu hüморal bir faktör olduğunu kanıtladılar. Birçok çalışma temelinde şu görüş kabul edildi: İTP'ye dalak ve karaciğerde, retikuloendotelial sistemde fagositler tarafından

dolaşan trombositlerin yıkımına aracılık eden otoantikolar neden olur. Ancak 1980'lerde Ballem ve arkadaşları kinetik çalışmalarda İTP'deki trombositopeninin sadece periferel trombosit yıkımından kaynaklanmadığını göstermişlerdir. Aynı zamanda kemik iliğinde trombosit üretiminin de baskılandığını göstermişlerdir (1, 17-19). İdiyopatik trombositopenik purpuralı hastaların trombosit ve megakaryositlerinde programlı hücre ölüm yolları ve artmış hücre ölüm sinyalleri bulunmuştur. Apoptozisin biyokimyasal yolları trombosit ve megakaryosit yaşamını düzenler. Farklı apoptozis yollarının, megakaryopoezisin farklı basamaklarında rol aldığı görülmektedir. Programlı hücre ölümünün genetik yada otoantikolar tarafından indüklenmiş disregülasyonu İTP'de trombositopeni yada ineffektif trombopoeze yol açar. Altta yatan mekanizmanın anlaşılması gelecekte yapılan çalışmalarla yeni tedavi stratejileri gelişimine yol açabilir ve hasta alt gruplarının tespiti ayrı tedavi yaklaşımlarına yarar sağlayabilir (1, 105).

Apoptozis programlı hücre ölümünün en yaygın formudur. Çekirdeksiz trombositler ve megakaryositler fonksiyonel apoptotik mekanizmaya sahiptirler. Apoptozisin intrinsik yolu yaşam sürelerini belirler. Major apoptotik yollardan biri intrinsik (mitokondriyal) apoptotik yoldur (8, 97). Apoptozisin intrinsik yolu Bcl-2 protein ailesi üyeleri tarafından düzenlenir. Bu aile apoptozisi hem baskılayıcı hem de tetikleyici proteinleri içerir. İntrinsik yolun anahtar mediatörleri Bax ve Bak, kontrolsüzce mitokondri dış membranında oligomerize olursa mitokondri dış membran permeabilizasyonu indüklenir ve sitokrom c ve diğer solüble ve apoptojenik proteinlerin sitoplazmaya salınımı olur. Sitokrom c, apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (APAF-1) ve prokaspaz 9 ile apoptozom oluşturarak birleşir ve kaspaz 9'u aktive eder. Kaspaz kaskadı sürdürülür. Bak ve Bax aktivitesi sıkı bir şekilde megakaryositlerde ekspresse edilen antiapoptotik Bcl-2 aile üyeleri, Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1 tarafından kontrol edilir. Bcl-xL ve Mcl-1 megakaryosit yaşamını kordineli bir şekilde düzenlediği fakat trombosit yaşamı için Mcl-1'in önemsiz olduğu görülmüştür (9, 102, 104).

Apoptozisin ekstrinsik yolu TNF reseptör süper ailesine ait ölüm reseptörlerine bağlanma ile tetiklenir. Bu aile prokaspaz 8'in aktifleyebilen intrasellüler ölüm domainini içerir. Prokaspaz 8'in aktiflenmesi kaspaz 3, 6 ve 7'nin direkt aktivasyonuna yol açar. Ekstrinsik yol Bcl-2 ailesi ve mitokondriyi bypass eder (97, 101).

Bugünkü kanıtların megakaryositlerin apoptozisin intrinsik ve ekstrinsik her iki basamağına da sahip olduğunu desteklemesine rağmen, megakaryositlerde apoptozisin ekstrinsik yolunun moleküler ve fonksiyonel yönü keşfedilmeyi beklemektedir (105).

İdiyopatik trombositopenik purpurada megakaryositlerin stoplazmik vakuoller, apoptozis ve paraapoptozisin yapısal özelliklerini sergilediği bildirilmiştir. İn vitro ortamda İTP plazmasına sağlıklı bireyden megakaryosit maruziyeti ya da in vivo transfüzyonun apoptozis ile uyumlu morfolojik değişiklikleri indüklediği gösterilmiştir (11).

Apoptozise giden hücrelerin yüzeyinde fosfotidilserin eksternalizasyonu fagositler tarafından apoptotik hücrelerin temizlenmesine yol açar. Trombositler üzerinde anormal artmış PS maruziyeti kronik İTP'li yetişkin hastalarda ve yeni tanı konmuş İTP'li çocuk hastalarda bildirilmiştir (106). Winkler ve ark.'ları (107) yeni tanı konmuş İTP'li çocuklarda trombositlerde PS sıklığının anlamlı derecede yüksek olduğunu ve İTP trombositlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman daha yüksek oranda aktive kaspaz 3, 9 ve 8 içerdiğini bildirmişlerdir. Kronik İTP'li yetişkin hastalarda sağlıklı donör trombositler ile kıyaslandığında trombositlerin yüzeyinde anlamlı oranda yüksek PS düzeyi içerdiği gösterildi. İTP'de trombosit yüzeyine PS eksternalizasyonu bu hücrelerin RES tarafından aşırı sistemik klirensine yol açabilir. Bu trombositopeni gelişimine ya da ağırlaşmasına neden olur.

Trombosit apoptozisini tetikleyen trombosit yüzey molekülleri GPIIb-IIIa ve GPIbα olarak bildirilmiştir. GPIIb-IIIa ve GPIbα İTP'de trombosit spesifik otoantikorların hedefi olarak belirtilmektedir. Leytin ve ark.'ları (108) farelere anti-GPIIb antikor enjeksiyonunun fare trombositlerinde kaspazların aktivasyonu sonucu apoptozisi indükleyebildiğini ve trombositopeni geliştiği göstermişlerdir. Anti GPIIb enjeksiyonu trombositlerde PS maruziyeti, kaspaz 3 aktivasyonu ve mitokondri iç membran potansiyelinin depolarizasyonu ile sonuçlanmıştır. IVIG tüm dünyada İTP ve diğer otoimmün hastalıkları tedavi etmede kullanılır. Fare plateletlerinde anti-GPIIb antikorları ile indüklenen apoptoziste IVIG etkisini inceleyen çalışmada İTP'nin iyileşmesine ek olarak IVIG enjeksiyonunun dolaşımdaki plateletlerde kaspaz 3 aktivasyonunu ve fosfotidilserin maruziyetini inhibe ettiğini ve fakat mitokondriyal iç membran depolarizasyonunu inhibe etmediğini bildirdiler. Bu IVIG'in plateletlerde ekstramitokondriyal apoptotik yanıtı iyileştirdiğine, fakat mitokondriyal yanıtı etmediğine işaret eder. IVIG tedavisi kemik iliğinde apoptotik ve paraapoptotik megakaryosit sayısında azalma sağlar (11).

Kronik İTP'li yetişkinlerde artmış proapoptotik soluble Fas ligand düzeyi bulunmuştur. Diğer çalışmada ise soluble TRAIL düzeyinde abartılı artış bildirilmiştir (105). Yang ve ark.'ları (109) azalmış TRAIL ekspresyonundan kaynaklanan megakaryosit apoptozisinde azalmanın, İTP'li hastalarda bozulmuş trombopoetize katkıda bulunabildiğini belirttiler. Bu etkin moleküller otoantikorlardan daha az spesifiktirler. Ancak trombosit ve megakaryositlerde programlı hücre ölümü ve apoptotik süreçte hastalığın seyrine katılabilirler. Dahası immatür dendritik hücrelerin kolayca apoptotik plateletleri fagosite ettiği bulunmuştur. İdiyopatik trombositopenik purpura'lı hastaların dendritik hücreleri, sağlıklı donör plateletleri ile kıyaslandığında, apoptotik plateletleri T lenfositlere sunum kapasitesinde artış vardı (80). Proapoptotik agonistik antikorlar tarafından indüklenebilen ve apoptozis inhibitörleri ve antiapoptotik antikorlar tarafından önlenebilen platelet apoptozisinin, İTP gelişiminde rol oynayabildiğini desteklemektedir (105).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji BD Polikliniği'ne başvurup İTP şüphesiyle yatırılan olgular alındı. Trombosit sayısı $<100.000/\text{mm}^3$, fizik muayenede trombosit düşüklüğüne ait belirtiler dışında başka bulgu olmayan, kemik iliğinde megakaryosit artışı dışında patoloji saptanmayan, trombositopeni yapabilecek başka bir hastalığı olmayan İTP tanılı 45 hasta alındı. Çalışma retrospektif olarak yapıldı. Tanıdan itibaren ilk 3 ayı kapsayan dönemde trombositopenisi düzelen 23 olgu Yeni Tanı Konmuş İTP, 12 ay veya daha uzun sürede trombositopenisi düzelmeyen 22 olgu Kronik İTP grubuna alındı. Kontrol Grubu olarak ise solid tümör saptanan ve kemik iliği tutulumu olmadığını ispatlamak için yapılan kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi incelemesi normal olan 20 olgu çalışmaya dahil edildi. Olgular 4 gruba (Grup I: Yeni Tanı Konmuş İTP, Grup II: Kronik İTP, Grup III: Toplam İTP, Grup IV: Kontrol Grubu) ayrıldı. Ailelerden onam formları alındı. Olgulara ait demografik ve klinikopatolojik bilgiler patoloji raporlarından ve hasta dosyalarından retrospektif olarak elde edildi.

Yeni tanı konmuş İTP'li 23 hastanın 11'i kız (%47,8), 12'si erkek (%52,2) ve erkek/kız oranı: 1.09 idi. Kronik İTP'li hastaların 12'si kız (%54,5), 10'u erkek (%45,5) ve erkek/kız oranı: 0.83 idi. Kontrol Grubu'ndaki hastaların 7'si kız (%35), 13'ü erkek (%65) ve erkek/kız oranı: 1.85 idi. Olgular 1–17 yaşları arası olup Yeni Tanı Konmuş İTP olguları yaş ortalaması $6,73 \pm 4,79$ yıl, Kronik İTP olguları yaş ortalaması $10,27 \pm 5,06$ yıl ve

Kontrol Grubu olguları yaş ortalaması 7,37±5,32 yıl idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05).

Tablo 8. Olguların demografik özellikleri

	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP)	Grup II (Kronik İTP)	Grup III (Toplam İTP)	Grup IV (Kontrol)
Yaş (ort±SD)	6,73±4,79	10,27±5,06	8,13±5,21	7,37±5,32
(alt-üst)	(1-16)	(1-17)	(1-17)	(1-17)
Cinsiyet n (%)				
Erkek	12 (%52,2)	10 (%45,5)	22 (%49)	13 (%65)
Kız	11 (%47,8)	12 (%54,5)	23 (%51)	7 (%35)

N: Hasta sayısı, ort: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma

Olgulara ait H&E boyalı arşiv preparatları ışık mikroskobu ile yeniden incelenerek tanıları doğrulandı. Tüm olgular için demonstratif özelliğe sahip olanlar "referans preparat" olarak seçilerek mikroskopik fotoğraflama için ayrıldı ve daha sonra fotoğrafları çekilerek tez dökümanında kullanıldı.

2.1. İmmunohistokimyasal Boyama

Olgulara ait H&E boyalı arşiv preparatları ışık mikroskobu ile yeniden incelenerek tanıları doğrulandıktan sonra immünohistokimyasal (İHK) uygulama için parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Olgulara ait bloklardan elde edilen kesitler poly-lysine kaplı lamalar üzerine alındı.

İlk olarak 10 dakika etüvde 60°C sıcaklıkta bekletilen lamalar daha sonra Girelin (Boster, Rabbit Anti-ghrelin Polyclonal Antibody, 100 ul, 1/100, USA), Hsp70 (Novus, Rabbit Anti-Hsp70 Polyclonal Antibody, 100 ul, 1/100, USA), Bcl-2 (Boster, Rabbit Anti-Bcl-2 Polyclonal antibody, 100 ul, 1/100, USA) ve Bax (Santacruz, Rabbit Anti-Bax Polyclonal Antibody, 100 ul, 1/100, USA) boyamaları için otomatik boyama cihazında (Ventana Medical System, SN: 712299, REF: 750-700, Arizona, USA) işleme alındı.

Primer antikor ile işlemiden sonra lamalar musluk suyunda yıkanarak ultramount ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak Hsp70 ve Girelin için tükrük bezi dokusu, Bcl-2 ve Bax için tonsil dokusuna ait örnekler kullanıldı. Antikorlar ile boyalı lamalar Olympus marka BX51 ışık mikroskobunda değerlendirildi. Görüntüleme ise Olympus DP71 ile yapıldı.

Her üç boya için de sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Tüm olgularda pozitif boyanan alanların yaygınlığı ve boyanma şiddeti kaydedildi. Her iki

değerlendirmeden elde edilen değerler toplanarak, bu toplamdan boyanma skoru elde edildi (110).

Tablo 9. Sitoplazmik boyama için skorlama sistemi

Boyanma Yaygınlığı	Boyanma Şiddeti	Boyanma Skoru (yaygınlık+şiddet)
Boyanma yok: 0	Negatif: 0	0: Negatif
<%10: 1	Zayıf: 1	1 yada 2: +1
%10-50: 2	Orta: 2	3 yada 4: +2
>%50: 3	Güçlü: 3	5 yada 6: +3

Çalışmada Yeni Tanı Konmuş İTP, Kronik İTP, Toplam İTP ve Kontrol Grubu karşılaştırıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Kontrol ve hasta grubu arasındaki farklılıkların analizi için kategorik verilerde Ki Kare testi, nonparametrik veri analizinde Kruskal-Wallis testi, korelasyon analizinde ise Spearman Korelasyon analizi kullanıldı.

3. BULGULAR

Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 hastanın 11'i kız (%47,8), 12'si erkek (%52,2) ve erkek/kız oranı: 1,09 idi. Kronik İTP'li hastaların 12'si kız (%54,5), 10'u erkek (%45,5) ve erkek/kız oranı: 0,83 idi. Kontrol Grubu'ndaki hastaların 7'si kız (%35), 13'ü erkek (%65) ve erkek/kız oranı: 1,85 idi. Olgular 1–17 yaşları arası olup Yeni Tanı Konmuş İTP olguları yaş ortalaması $6,73 \pm 4,79$ yıl, Kronik İTP olguları yaş ortalaması $10,27 \pm 5,06$ yıl ve Kontrol Grubu olguları yaş ortalaması $7,37 \pm 5,32$ yıl idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Yeni Tanı Konmuş İTP olguları daha çok yaz mevsiminde, Kronik İTP'li olgular ise daha çok kış mevsiminde tanı almışlardır. Her iki grup arasında mevsimlere göre hastalığın dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$). Yeni Tanı Konmuş İTP'li olguların 14'ünde (%31,1), Kronik İTP'li olguların 15'inde (%33,3) enfeksiyon öyküsü mevcut olup, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Yeni Tanı Konmuş ve Kronik İTP'li hastalar ile Kontrol Grubu arasında trombosit ve PCT değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptandı ($p < 0,05$). Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında MPV, PDW değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$). Hemogloblin değeri Kronik İTP'li grupta Kontrol Grubu'na

göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmış olup ($p<0,05$); Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 10. Grupların trombosit, MPV, PDW, PCT, Hb ve WBC değerleri

	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n= 23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n= 22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n=45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Trombosit (x10⁹/L)	23,9±23,00 ^a (1,73-84,00)	33,4±31,07 ^a (3,00-129,00)	28,6±27,00 ^a (1,73-129,00)	460,5±200,15 (174,00-862,00)
MPV (fL)	9,9±2,00 (6,40-13,60)	9,8±2,46 (6,30-15,80)	9,85±2,23 (6,30-15,80)	8,6±3,13 (6,10-19,90)
PDW (%)	39,2±21,66 (15,40-71,80)	34,1±19,44 (16,10-81,40)	36,6±20,5 (15,40-81,40)	42,9±19,30 (17,10-97,00)
PCT (%)	0,026±0,021 ^a (0,00-0,07)	0,05±0,06 ^a (0,00-0,27)	0,038±0,040 ^a (0,00-0,27)	0,47±0,35 (0,13-1,71)
Hb (g/dL)	12,2±1,08 (10,6-14,9)	13,1±1,67 ^a (7,8-15,4)	12,6±1,37 (7,8-15,4)	11,6±1,24 (9,5-13,3)
WBC (x10⁹/L)	8,66±2,62 (3,9-14,9)	7,96±2,29 (3,91-15,1)	8,31±2,45 (3,90-15,1)	9,56±3,66 (4,5-17,5)

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

a; mevcut grubun Grup IV'e göre $p<0,05$

b; mevcut grubun Grup I'e göre $p<0,05$

Çalışmaya dahil edilen tüm olgular oksidan ve antioksidan durumun değerlendirilmesi için girelin, Hsp70, Bcl-2 ve Bax ayrı ayrı boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak değerlendirildi.

Gruplar arasında girelin boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar vardı. Kronik İTP'li olgularda girelin boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre; girelin boyanma şiddeti ise Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu'na göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$).

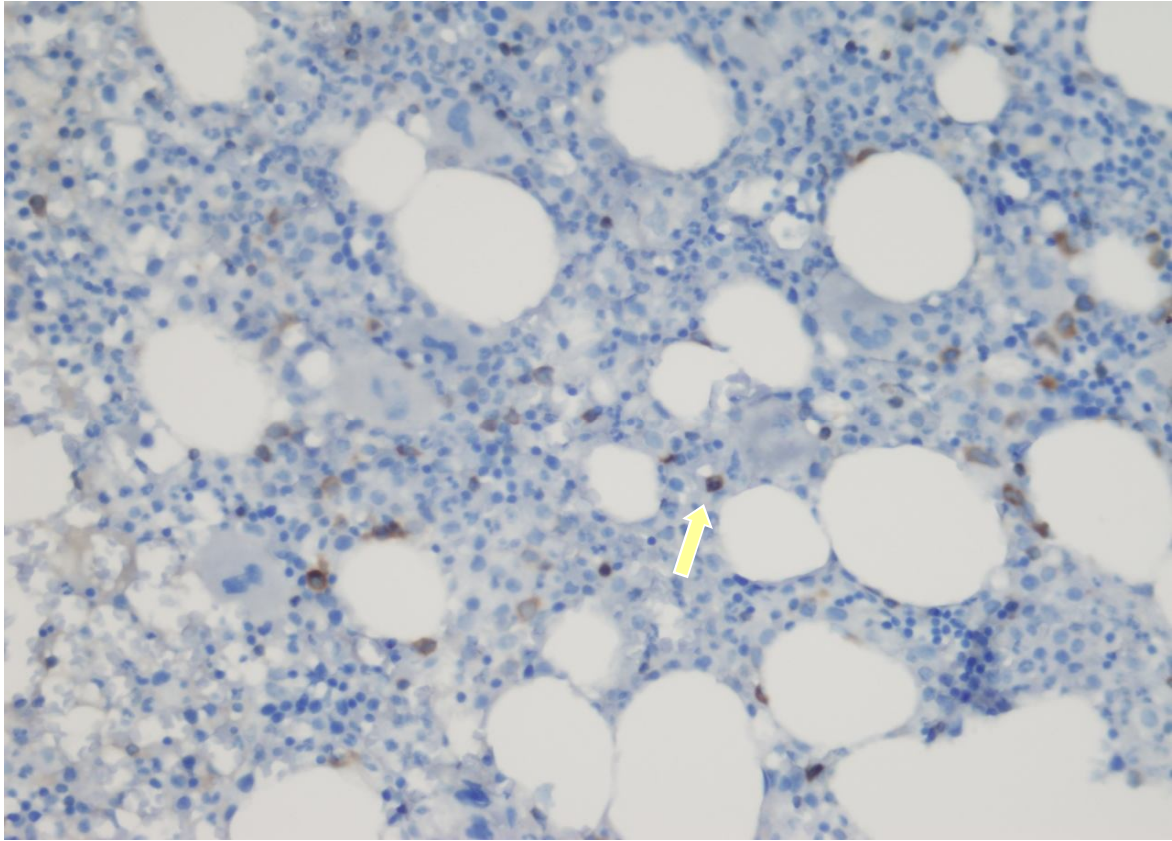
Tablo 11. İTP ve Kontrol Grubu'nda girelin boya değeri

Girelin	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n=23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n=22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n=45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Yaygınlık	2,43±0,66 (1-3)	1,72±0,70 ^b (1-3)	2,08±0,76 (1-3)	2,10±0,64 (1-3)
Şiddet	1,82±0,57 (1-3)	1,27±0,45 ^{ab} (1-2)	1,55±0,58 ^a (1-3)	1,85±0,48 (1-3)
Skor	2,43±0,66 (1-3)	1,72±0,70 ^b (1-3)	2,08±0,76 (1-3)	2,10±0,64 (1-3)

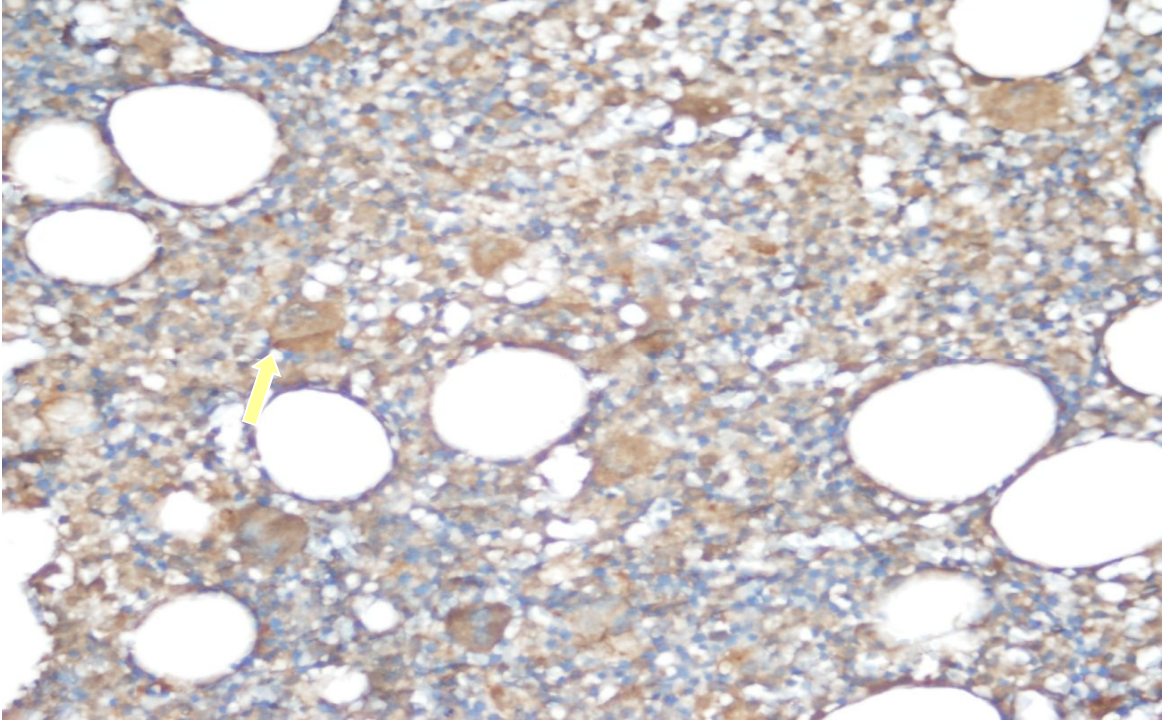
Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

a, mevcut grubun Grup IV'e göre; p<0,05

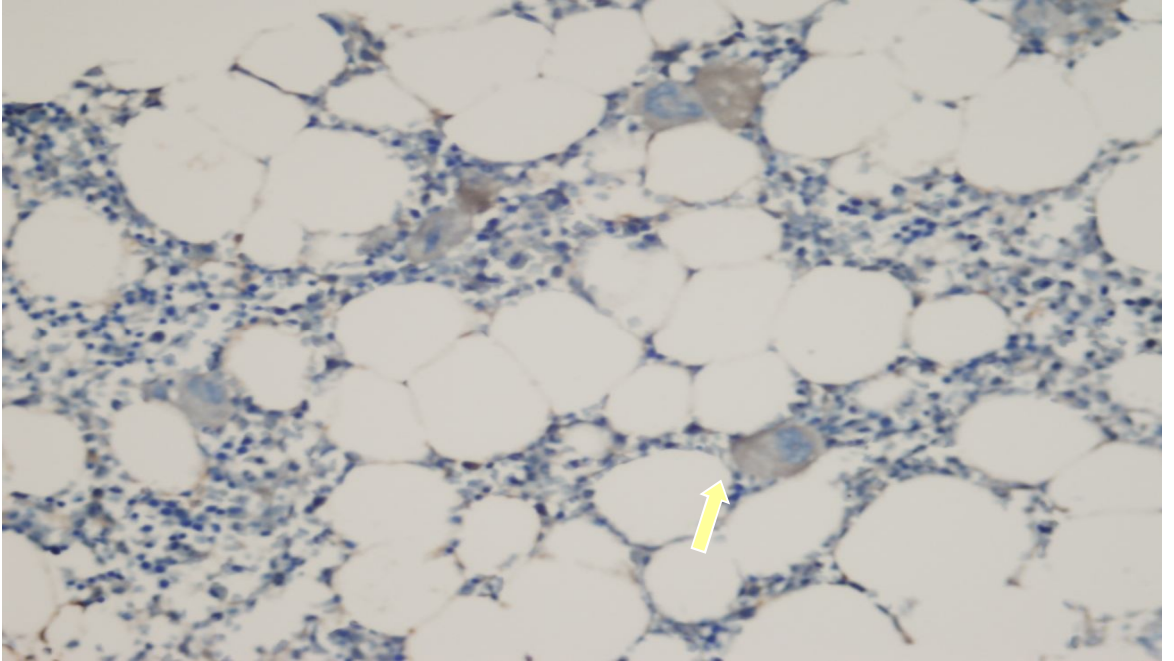
b, mevcut grubun Grup I'e göre; p<0,05



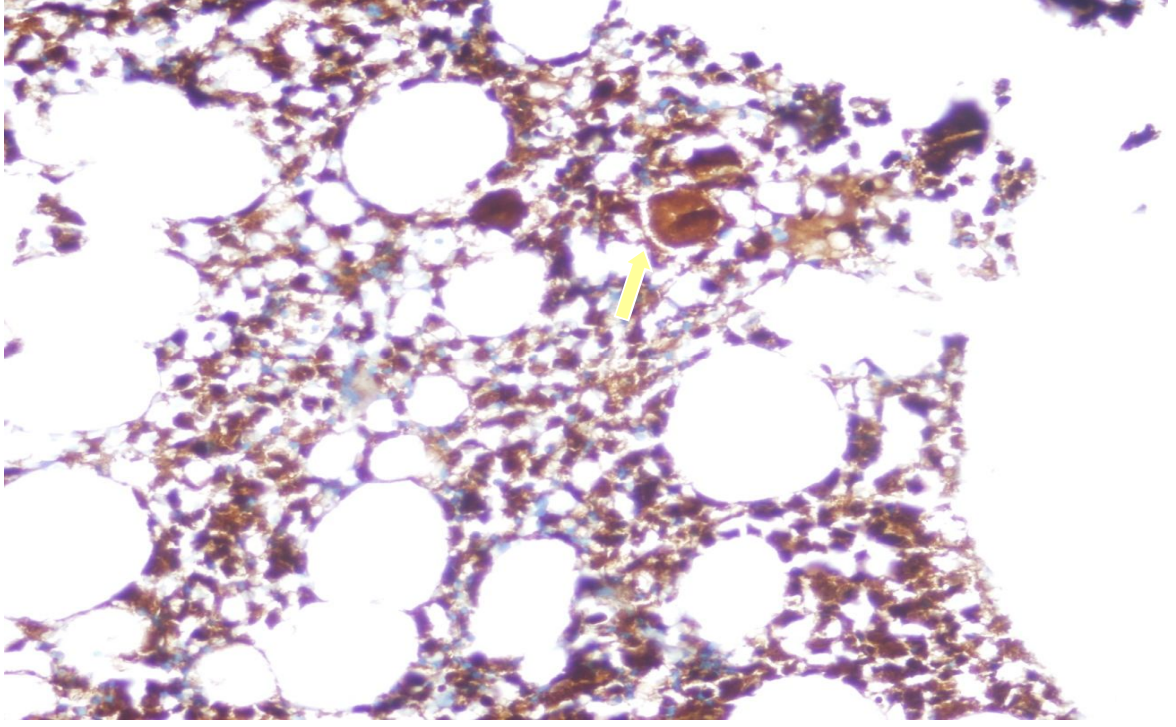
Şekil 2. (+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



Şekil 3. (+++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

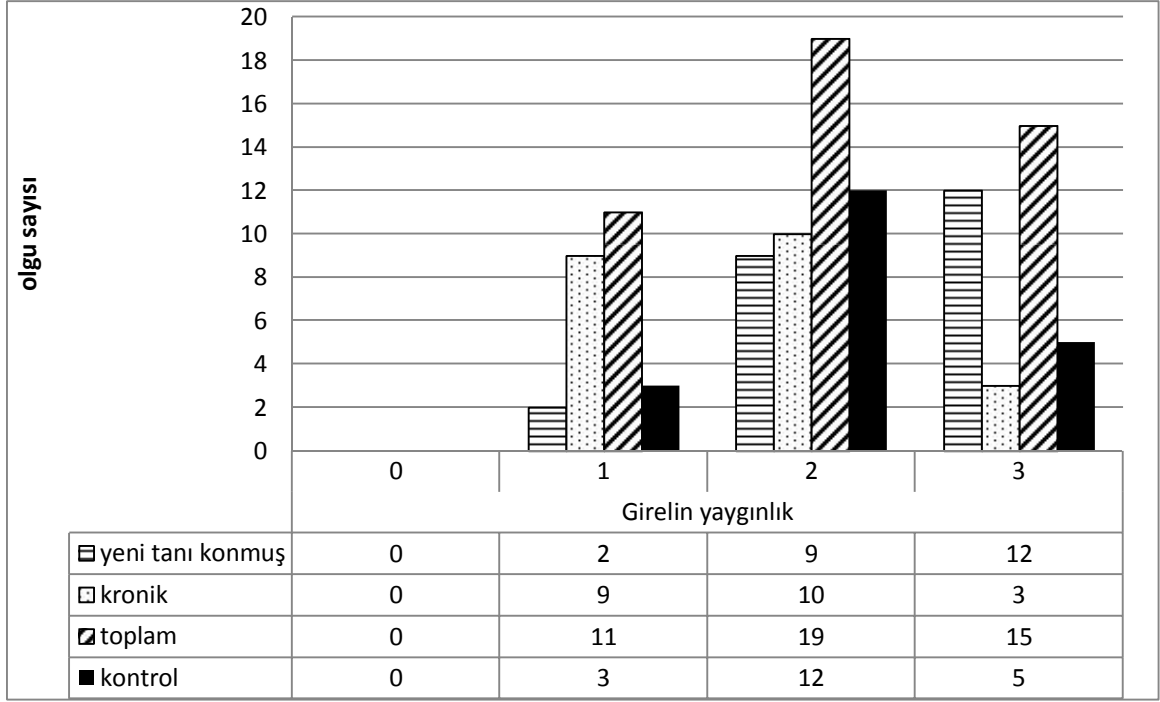


Şekil 4. (+) boyanma şiddetinde sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



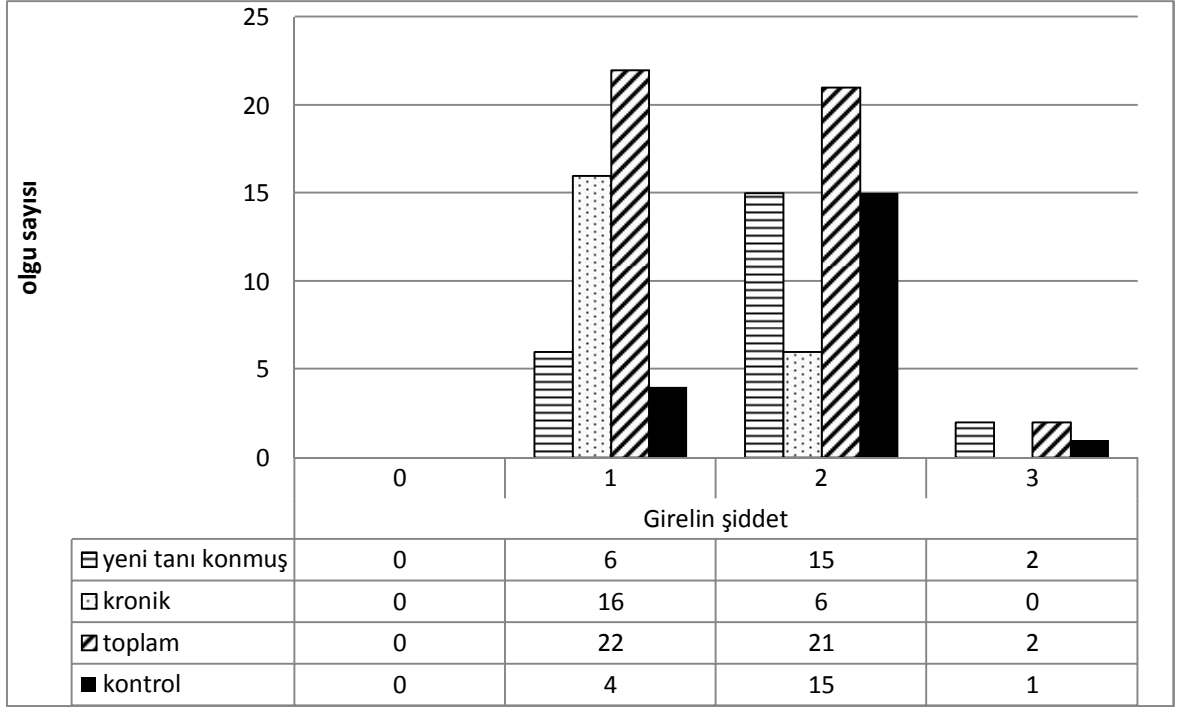
Şekil 5. (+++) boyanma şiddetinde sitoplazmik girelin boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 12'sinde (%52,1), Kronik İTP'li 22 olgunun 3'ünde (%13,6), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 5'inde (%25) (+++) yaygınlıkta girelin boyanması izlendi. Kronik İTP'li olgularda girelin boyanma yaygınlığı Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$).



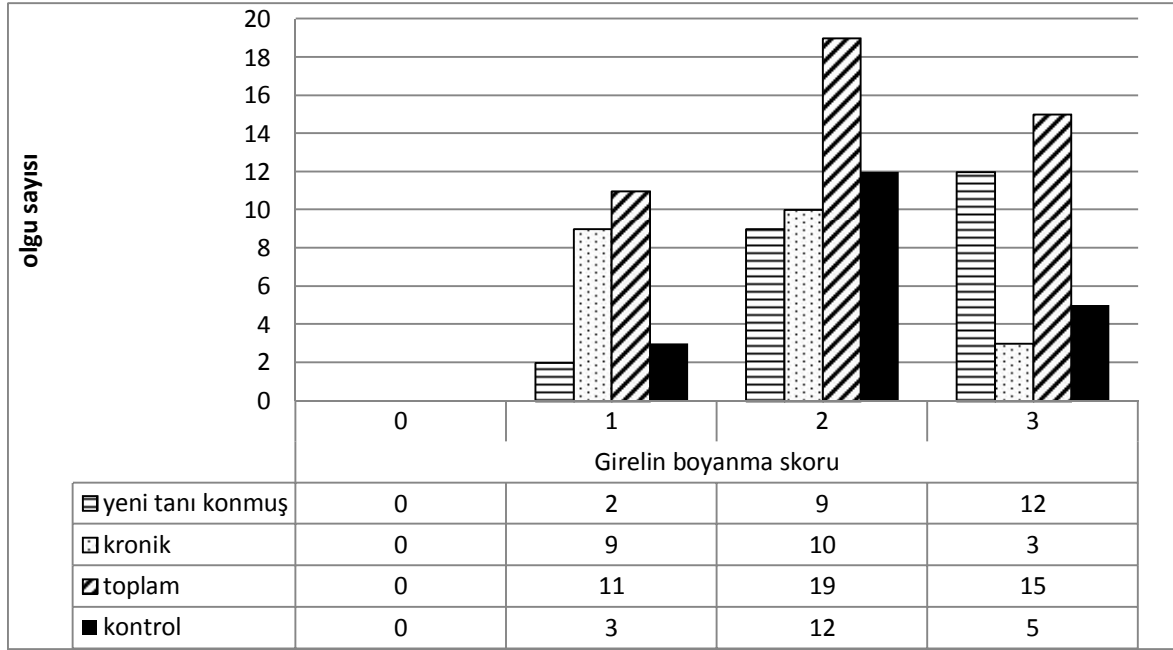
Şekil 6. Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 2'sinde (%8,69), Kontrol Grubu'nda 20 olgunun 1'inde (%5) (+++) şiddette girelin boyanması izlendi. Kronik İTP'li olgularda (+++) şiddette boyanma izlenen olgu yoktu. Kronik İTP'li olgularda girelin boyanma şiddeti Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu'na göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$).



Şekil 7. Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 12'sinde (%52,1), Kronik İTP'li 22 olgunun 3'ünde (%13,6), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 5'inde (%25) (+++) girelin boyanma skoru izlendi. Kronik İTP'li olgularda girelin boyanma skoru Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$).



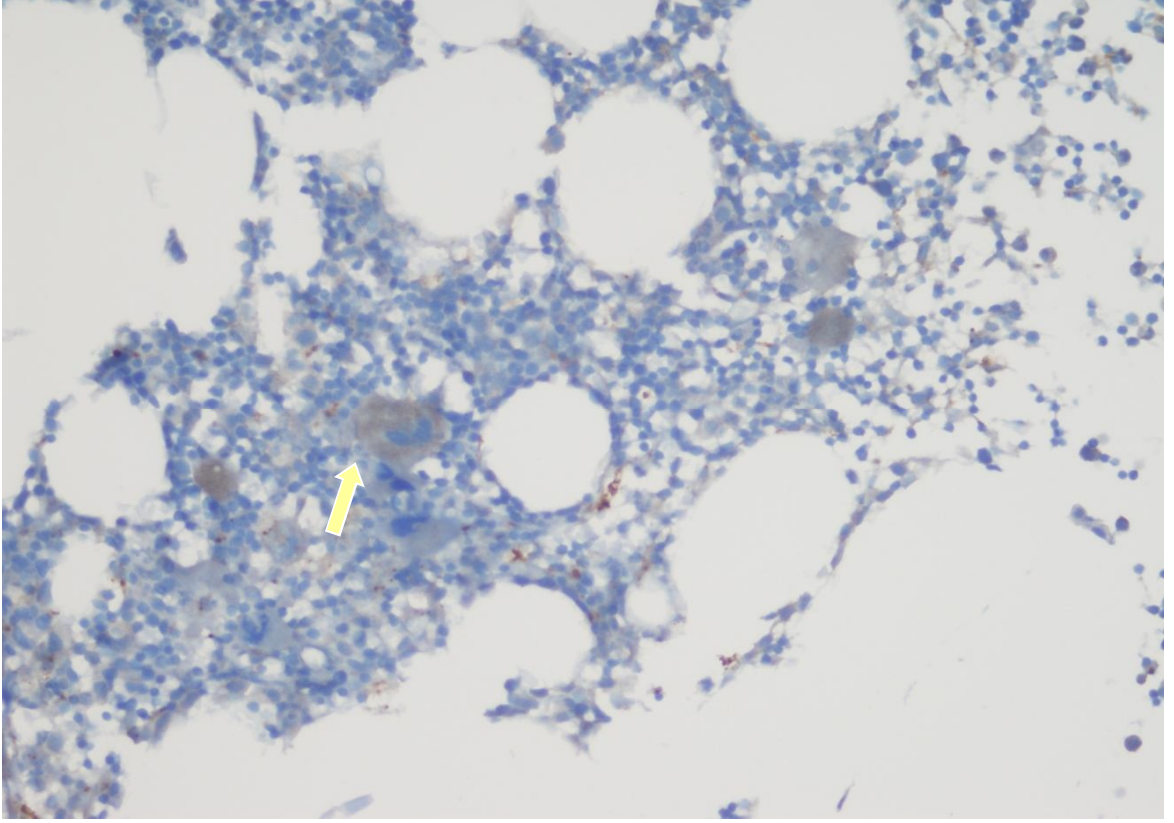
Şekil 8. Girelinin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru

Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Hsp70 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

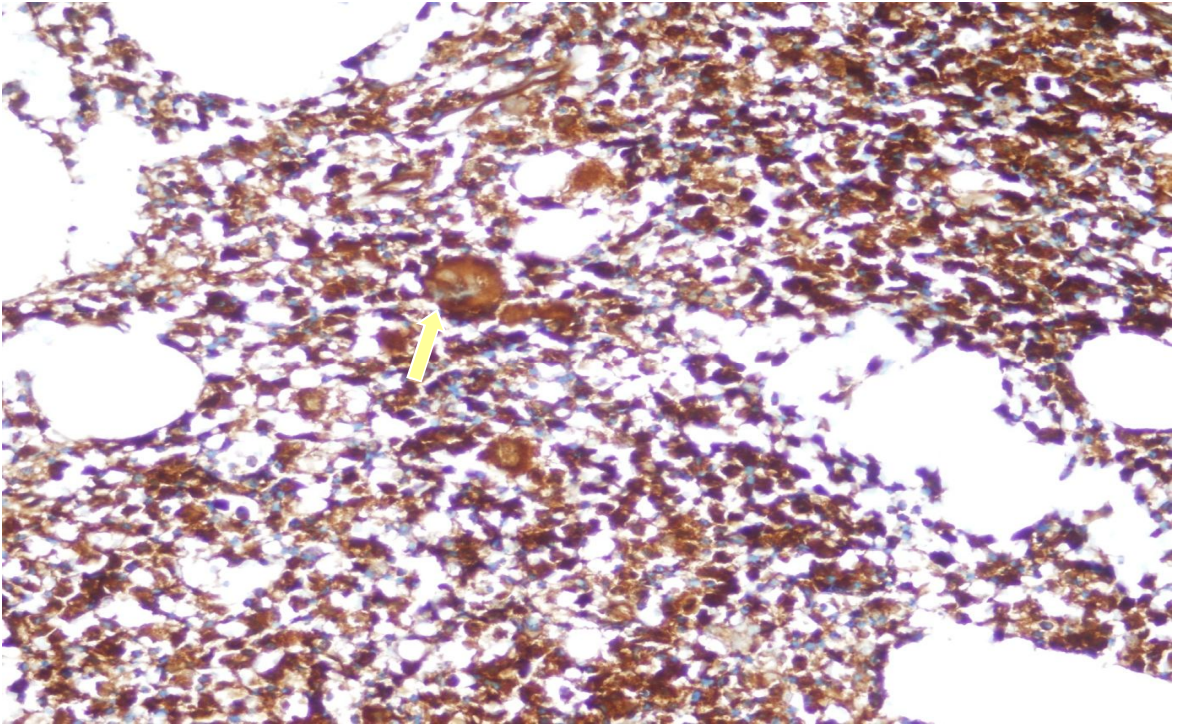
Tablo 12. İTP ve Kontrol Grubu'nda Hsp70 boya değerlendirilmesi

Hsp70	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n=23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n=22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n=45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Yaygınlık	2,60±0,49 (2-3)	2,72±0,45 (2-3)	2,66±0,47 (2-3)	2,45±0,60 (1-3)
Şiddet	2,17±0,57 (1-3)	2,18±0,45 (2-3)	2,17±0,49 (2-3)	2,20±0,69 (1-3)
Skor	2,60±0,49 (2-3)	2,72±0,45 (2-3)	2,66±0,47 (2-3)	2,45±0,60 (1-3)

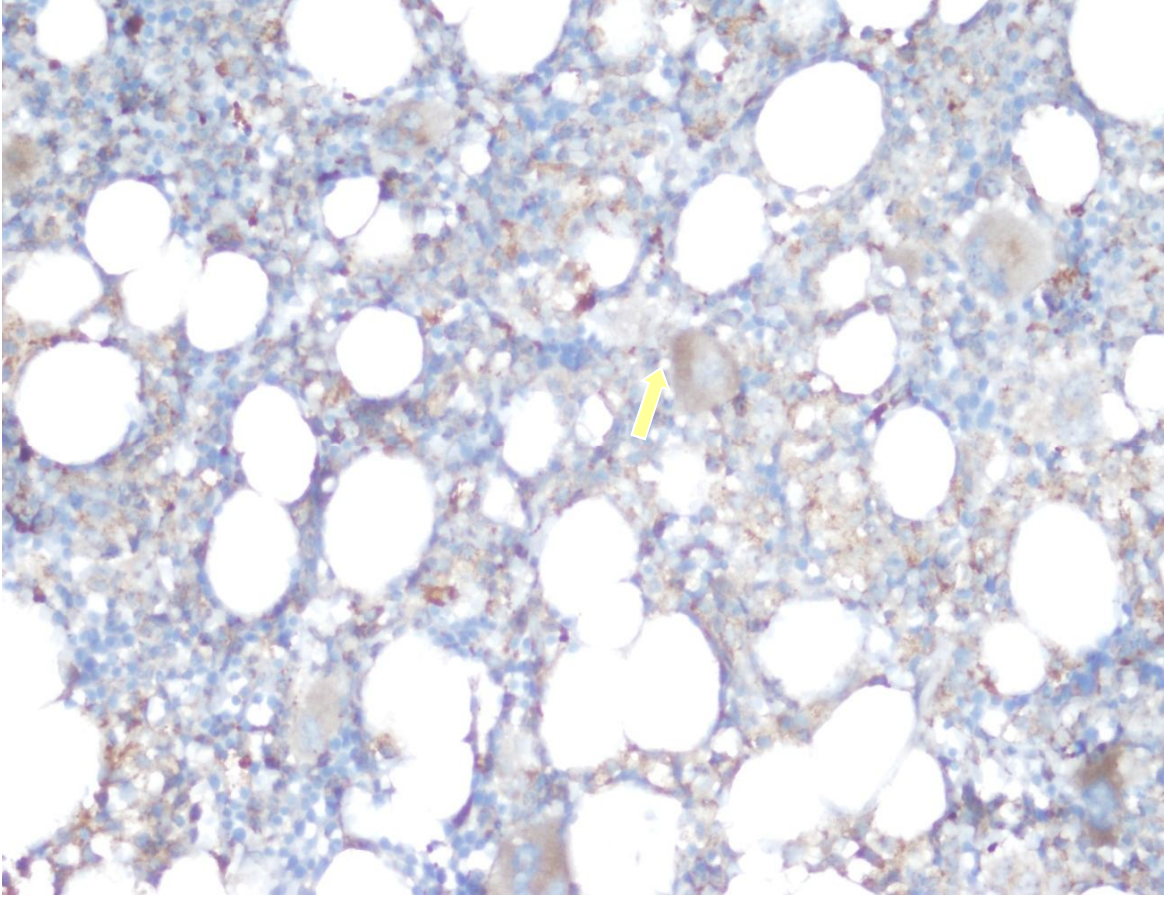
Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi



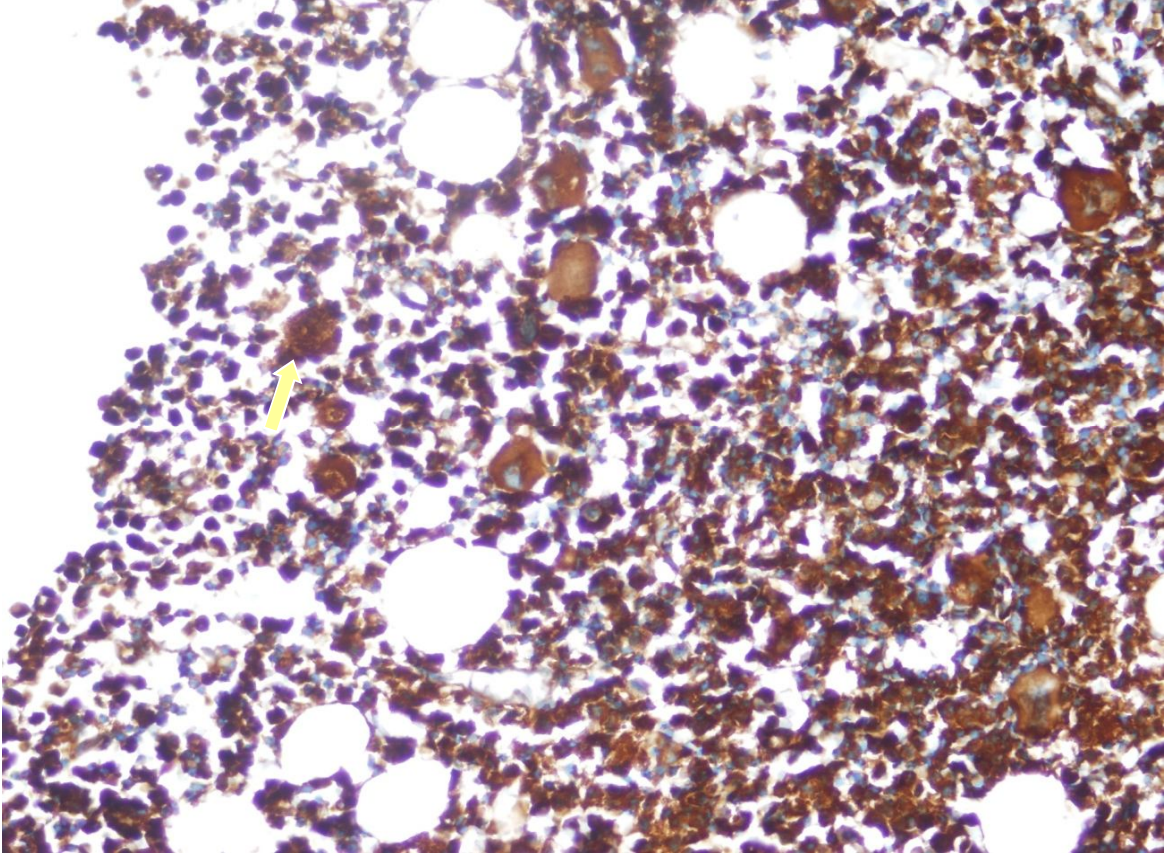
Şekil 9. (+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



Şekil 10. (+++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

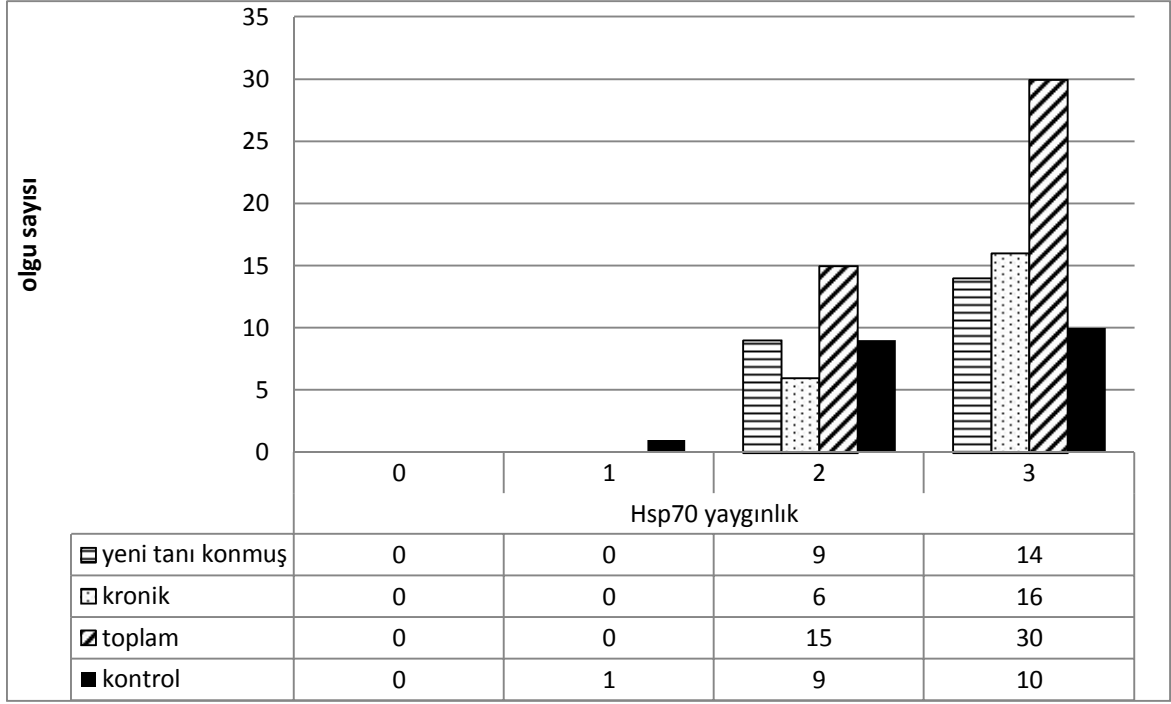


Şekil 11. (+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



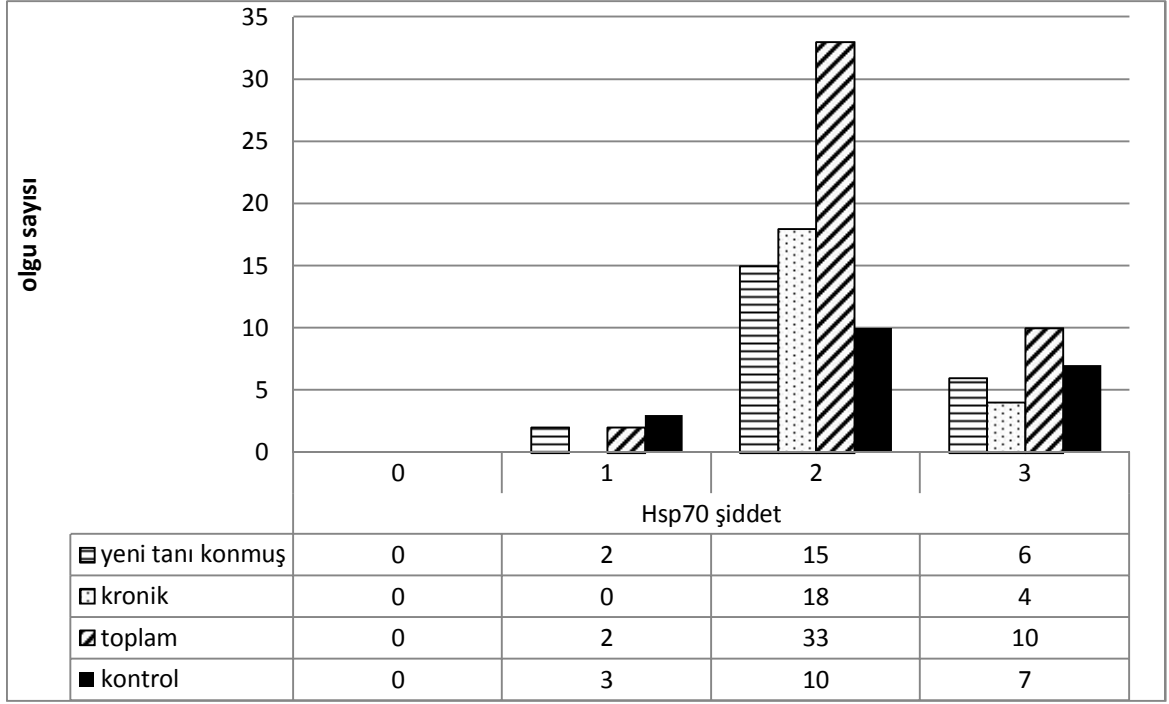
Şekil 12. (++++) boyanma şiddetinde sitoplazmik Hsp70 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 14'ünde (%60,8), Kronik İTP'li 22 olgunun 16'sında (%72,7), Kontrol Grubunda ise 20 olgunun 10'unda (%50) (++++) yaygınlıkta Hsp70 boyanması izlendi. Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Hsp70 boyanma yaygınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).



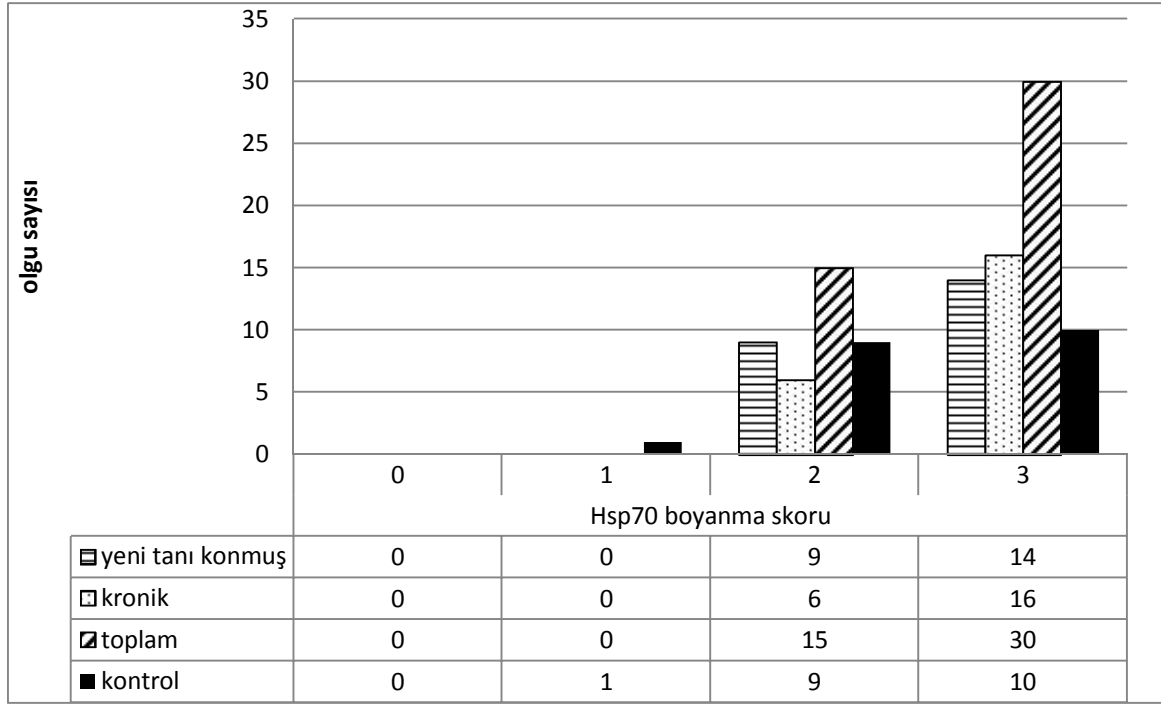
Şekil 13. Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 6'sında (%26), Kronik İTP'li 22 olgunun 4'ünde (%18,1), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 7'sinde (%35) (+++) şiddette Hsp70 boyanması izlendi. Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Hsp70 boyanma şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 14. Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 14'ünde (%60,8), Kronik İTP'li 22 olgunun 16'sında (%72,7), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 10'unda (%50) (+++) Hsp70 boyanma skoru izlendi. Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Hsp70 boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).



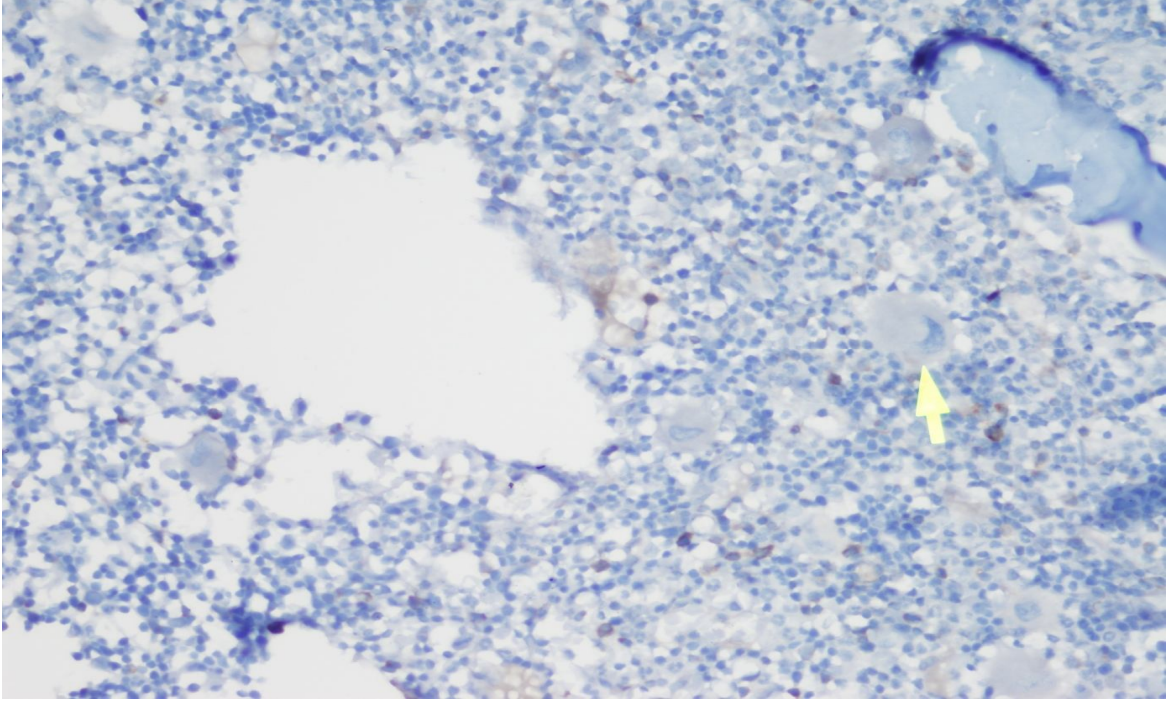
Şekil 15. Hsp70'in Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru

Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Bcl-2 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

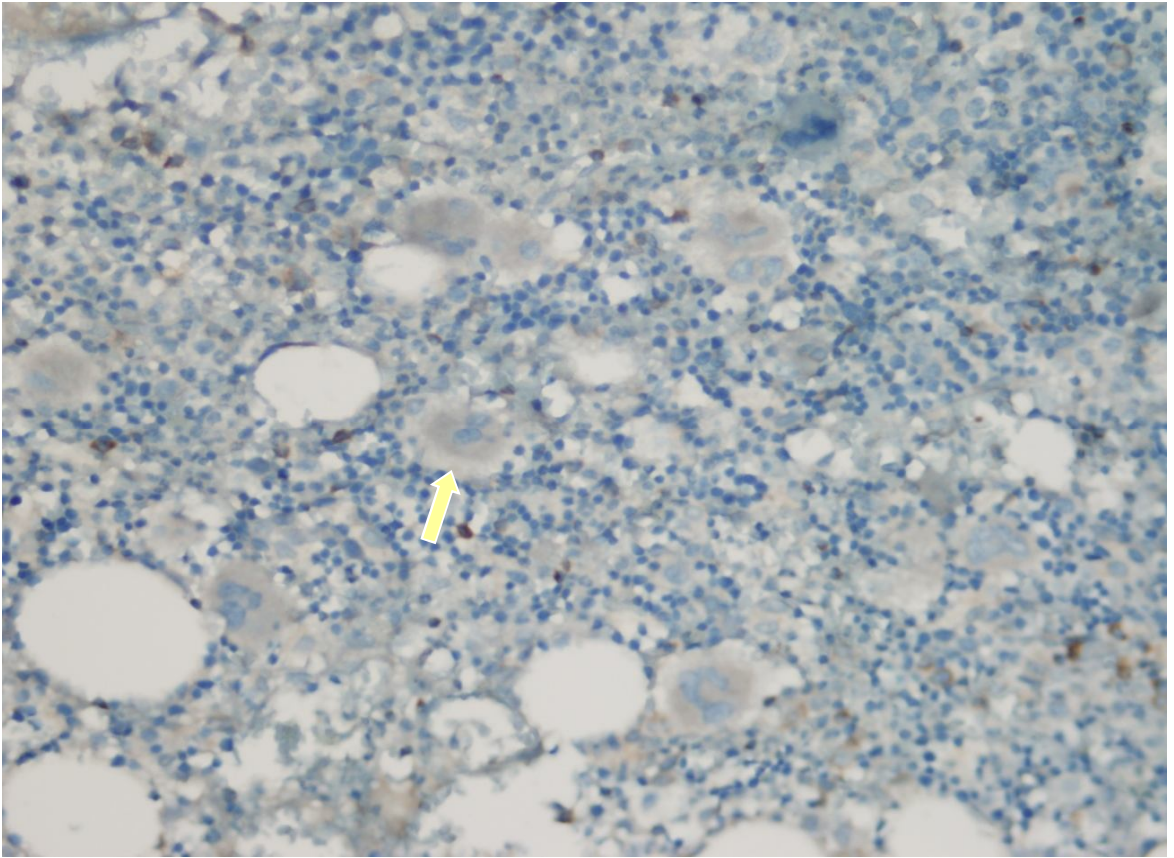
Tablo 13. İTP ve Kontrol Grubu'nda Bcl-2 boya değerlendirmesi

Bcl-2	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n=23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n=22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n=45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Yaygınlık	0,13±0,45 (0-2)	0,18±0,58 (0-2)	0,15±0,52 (0-2)	0,25±0,63 (0-2)
Şiddet	1,00±0,00 (1-1)	1,04±0,21 (1-2)	1,02±0,14 (1-2)	1,00±0,00 (1-1)
Skor	1,04±0,20 (1-2)	1,09±0,29 (1-2)	1,06±0,25 (1-2)	1,10±0,30 (1-2)

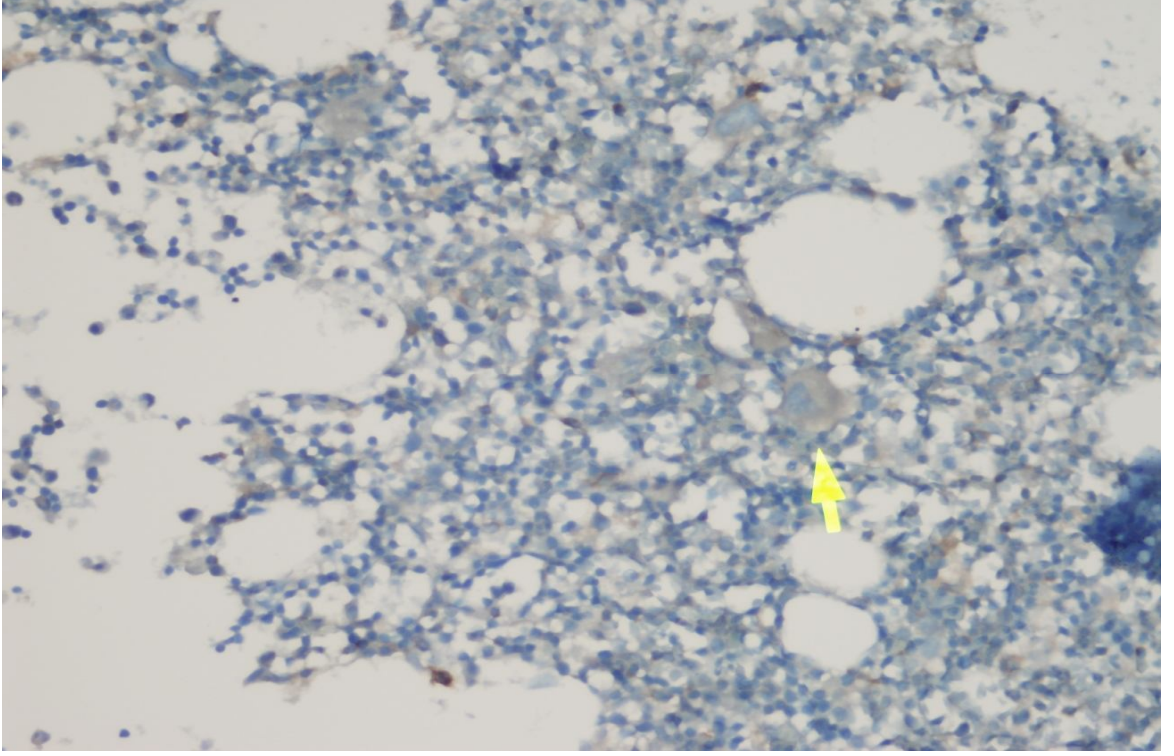
Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.



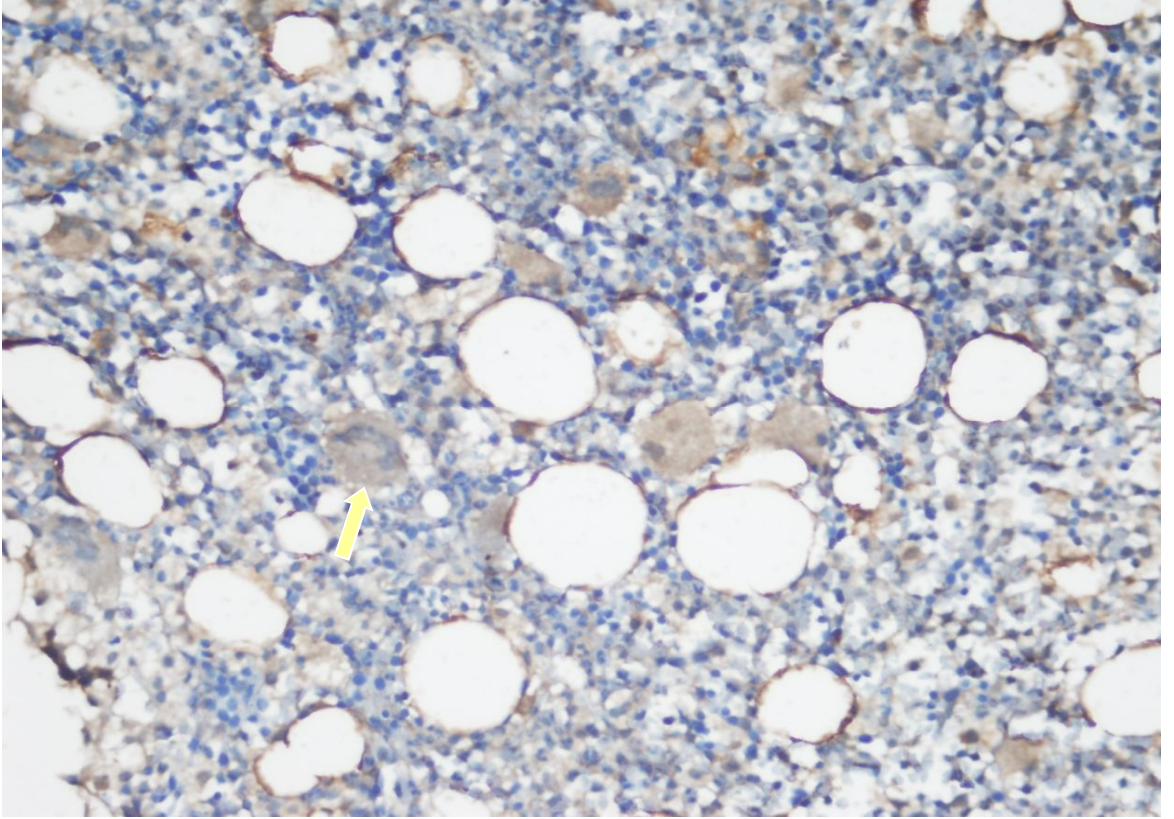
Şekil 16. (+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



Şekil 17. (++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

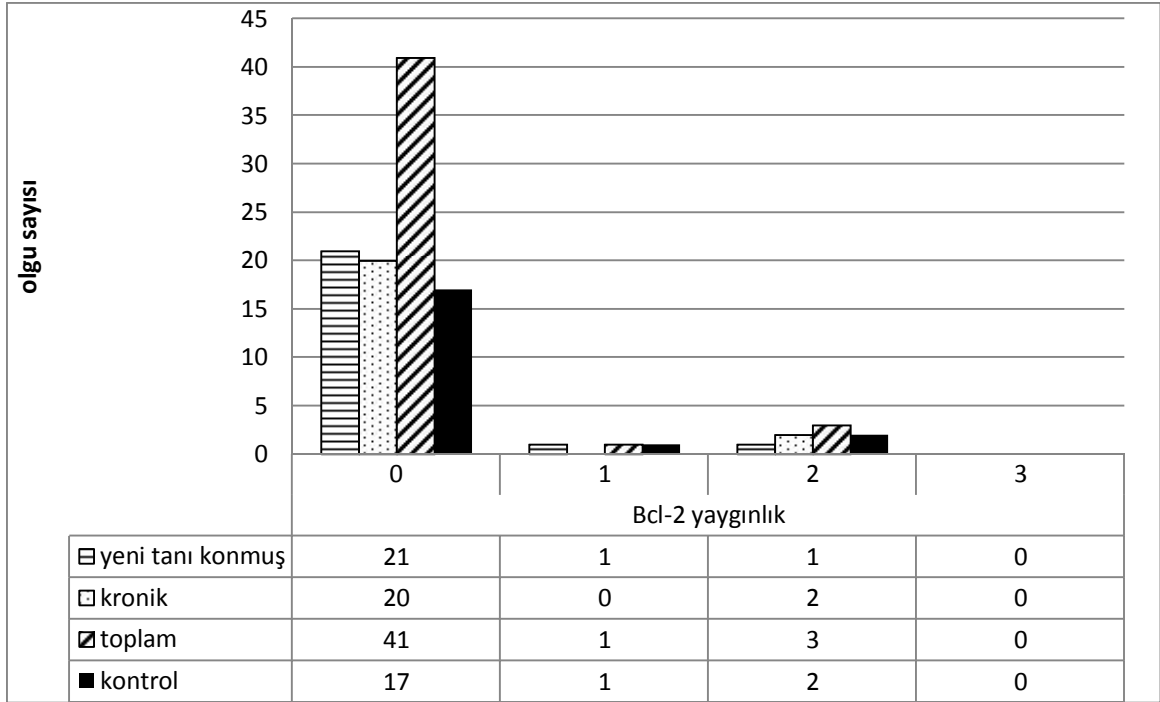


Şekil 18. (+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

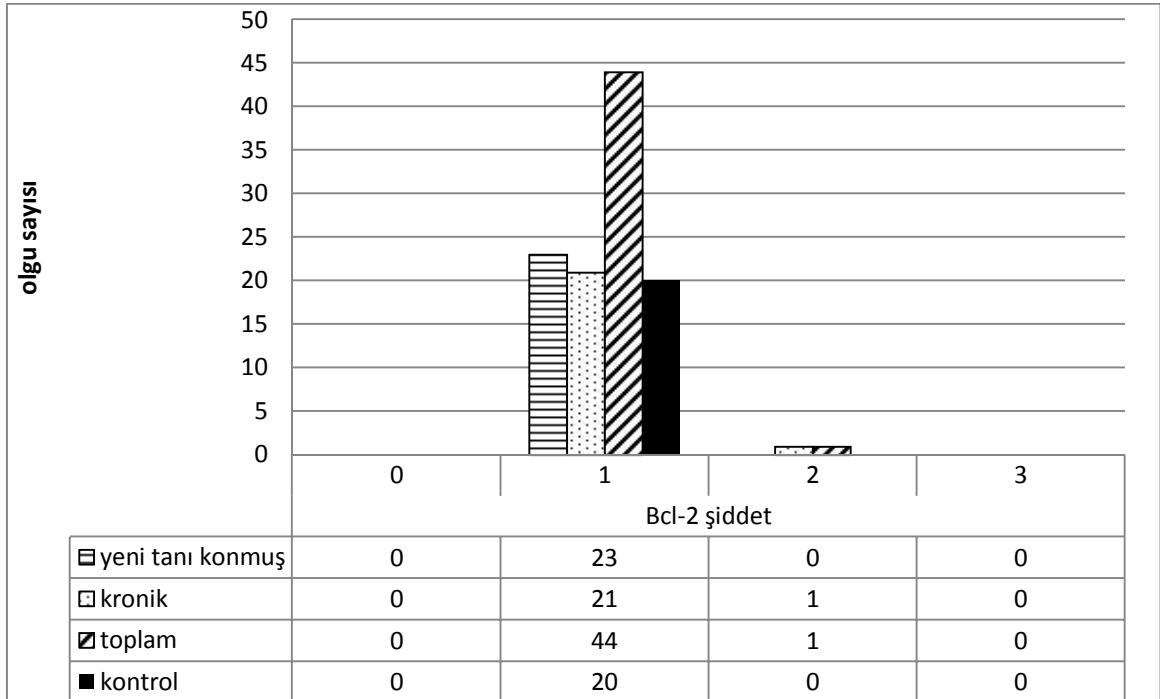


Şekil 19. (++) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bcl-2 boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

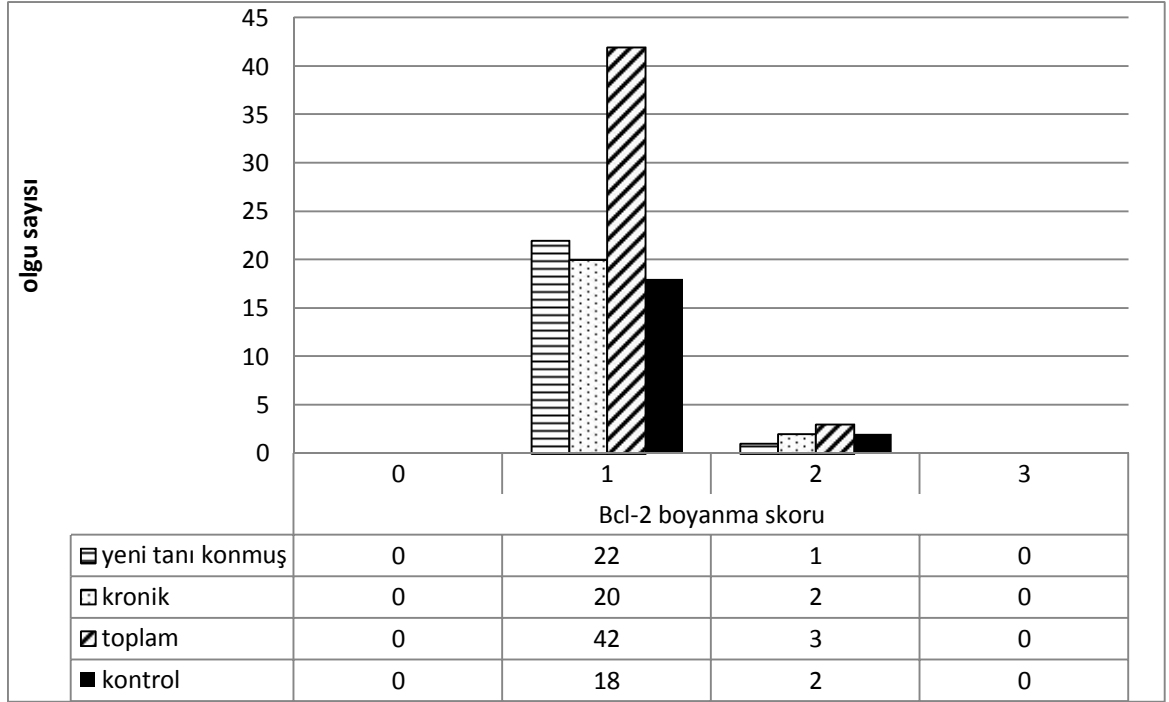
Çalışmamıza dahil edilen gruplarda hiçbir olguda (+++) Bcl-2 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru izlenmedi.



Şekil 20. Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı



Şekil 21. Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti



Şekil 22. Bcl-2'nin Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru

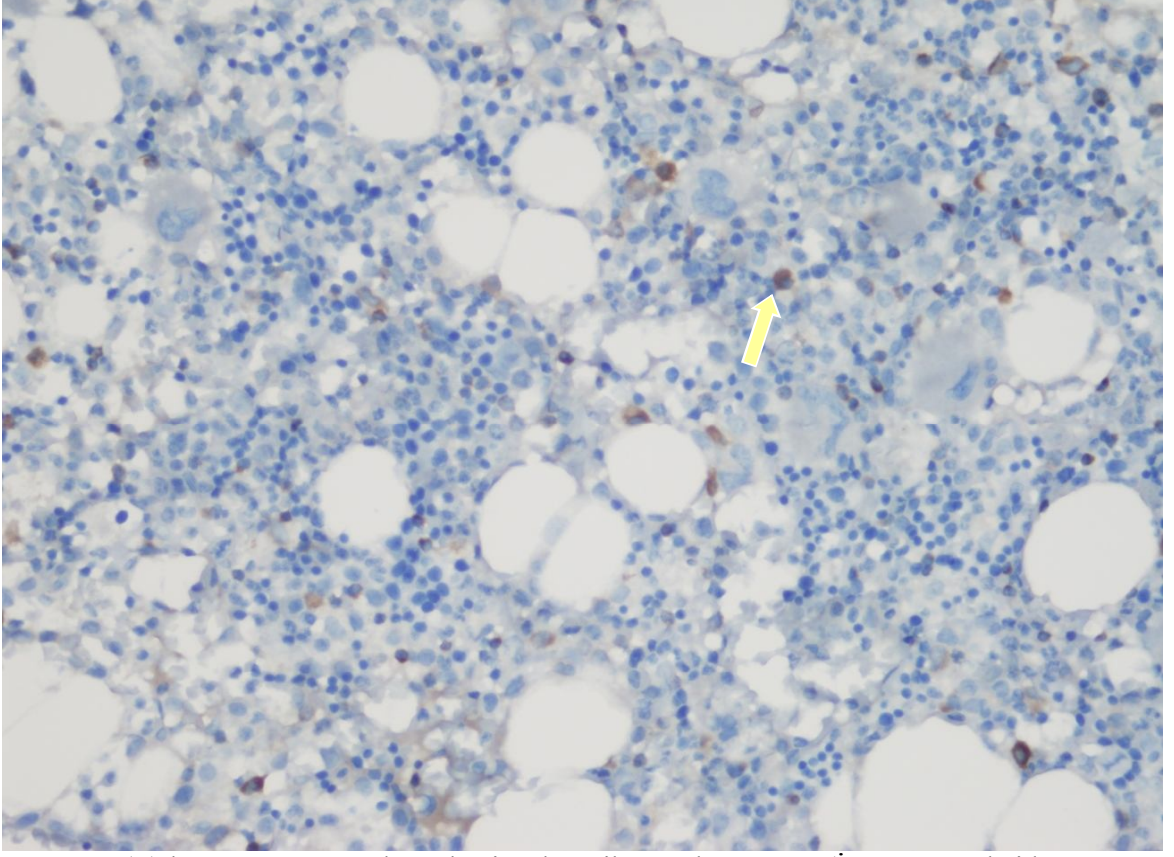
Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında tüm İTP'li olgularda Kontrol Grubu'na göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$). Bax boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$).

Tablo 14. İTP ve Kontrol Grubu'nda Bax boya değerlendirmesi

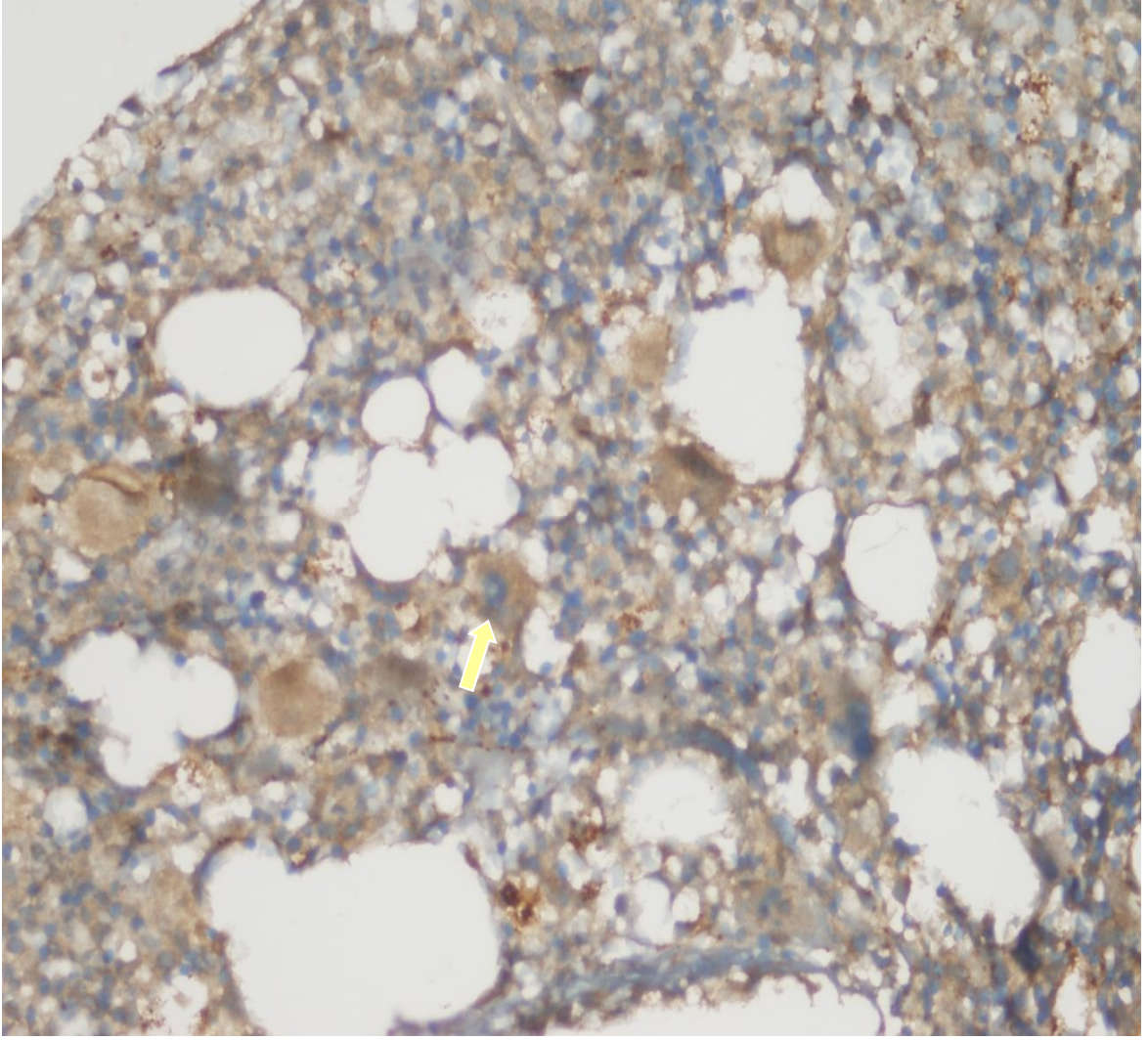
Bax	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n= 23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n= 22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n= 45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Yaygınlık	2,39±0,58 (1-3)	2,68±0,47 (2-3)	2,53±0,54 (1-3)	2,60±0,50 (2-3)
Şiddet	1,86±0,54 (1-3)	1,95±0,37 (1-3)	1,91±0,46 ^a (1-3)	2,15±0,36 (2-3)
Skor	2,39±0,58 (1-3)	2,68±0,47 (2-3)	2,53±0,54 (1-3)	2,60±0,50 (2-3)

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

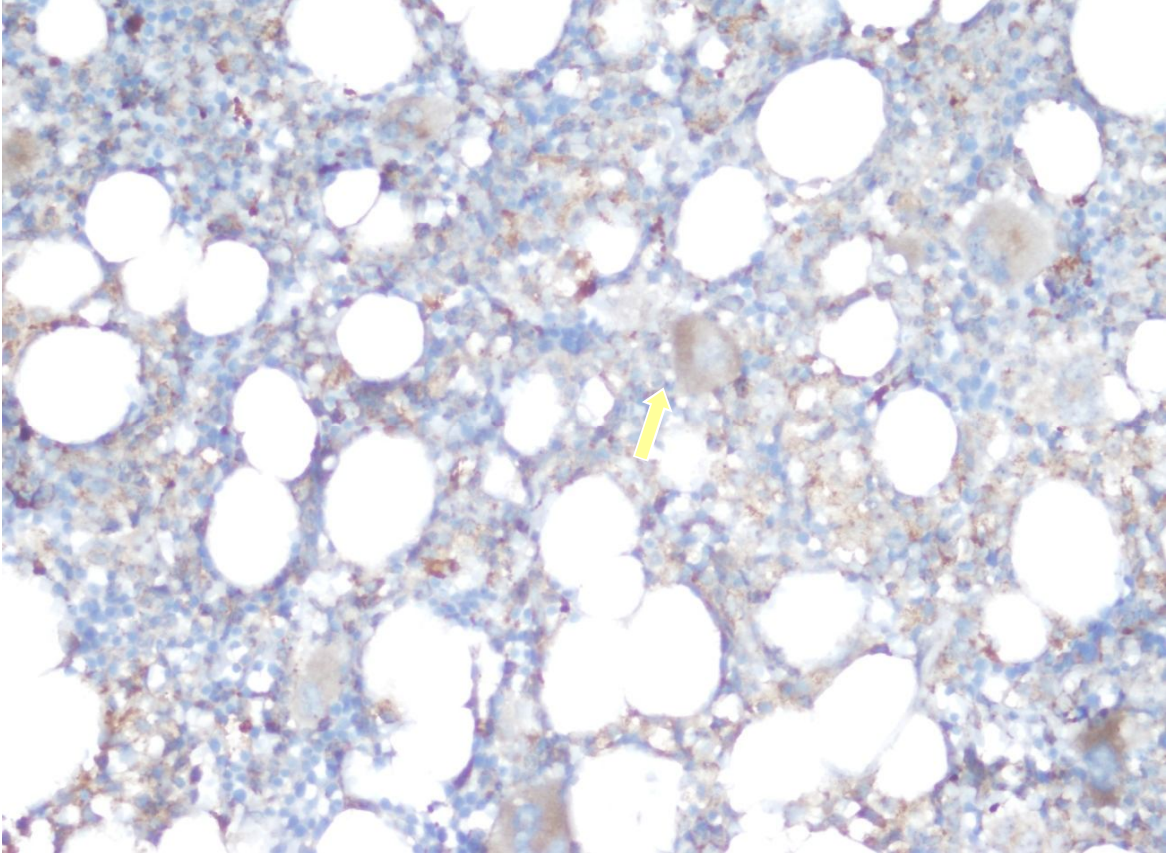
a, mevcut grubun Grup IV'e göre; $p < 0,05$



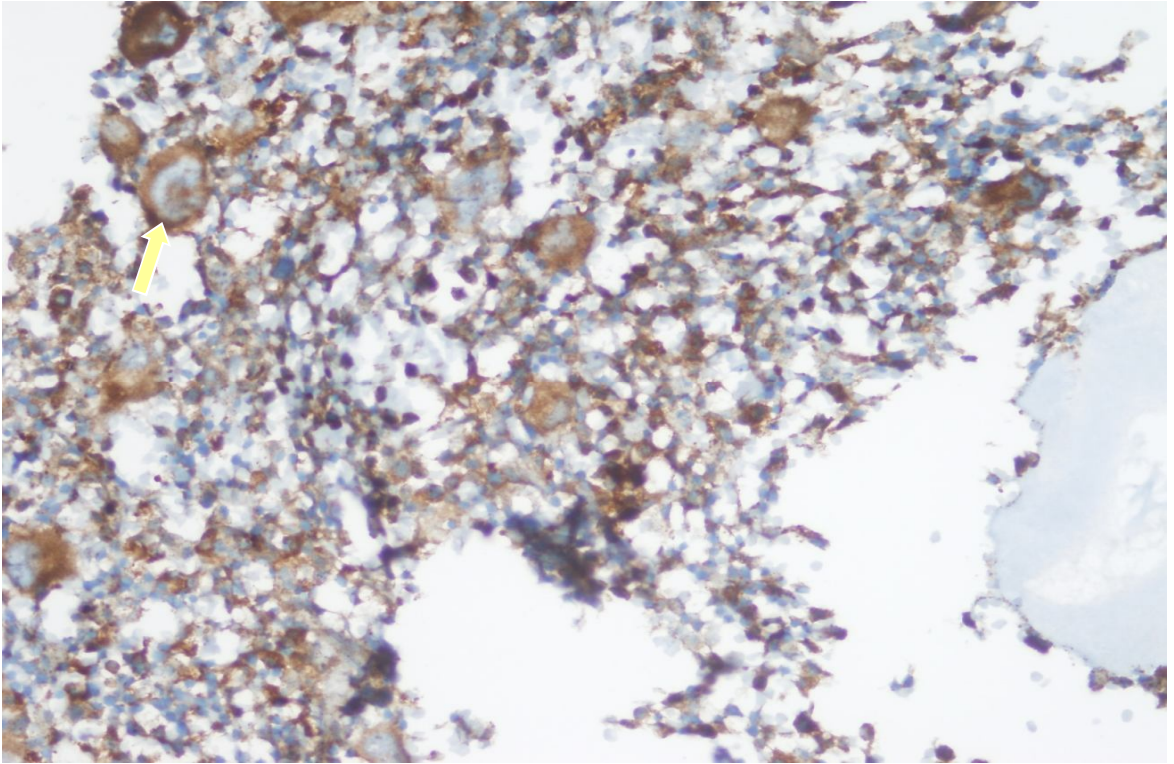
Şekil 23. (+) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



Şekil 24. (+++) boyanma yaygınlığında sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

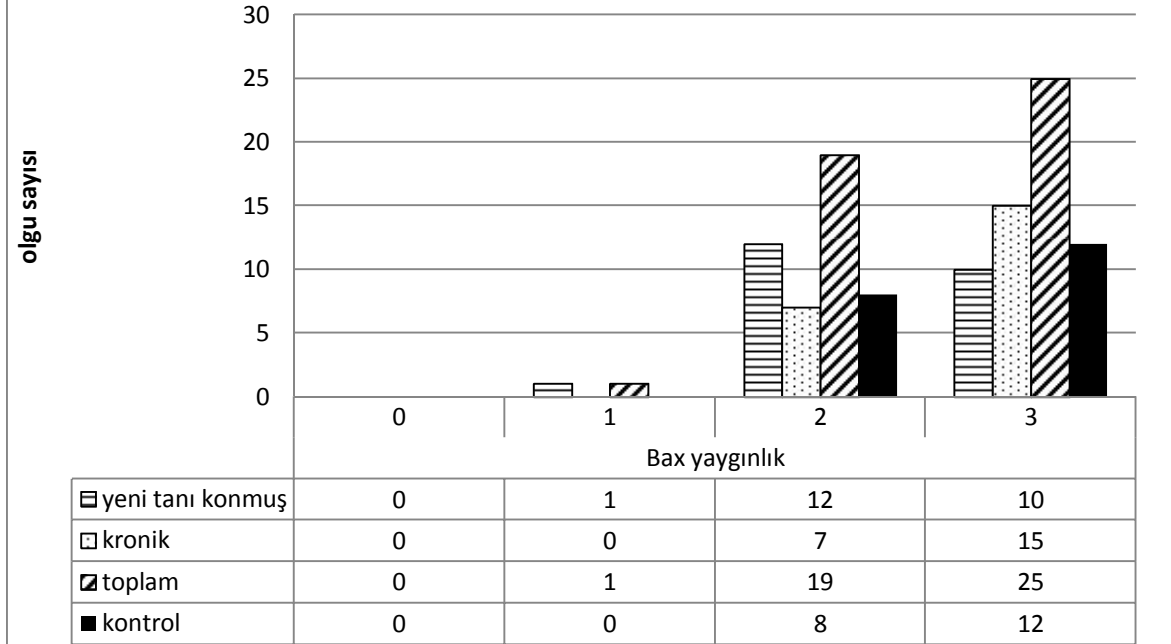


Şekil 25. (+) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).



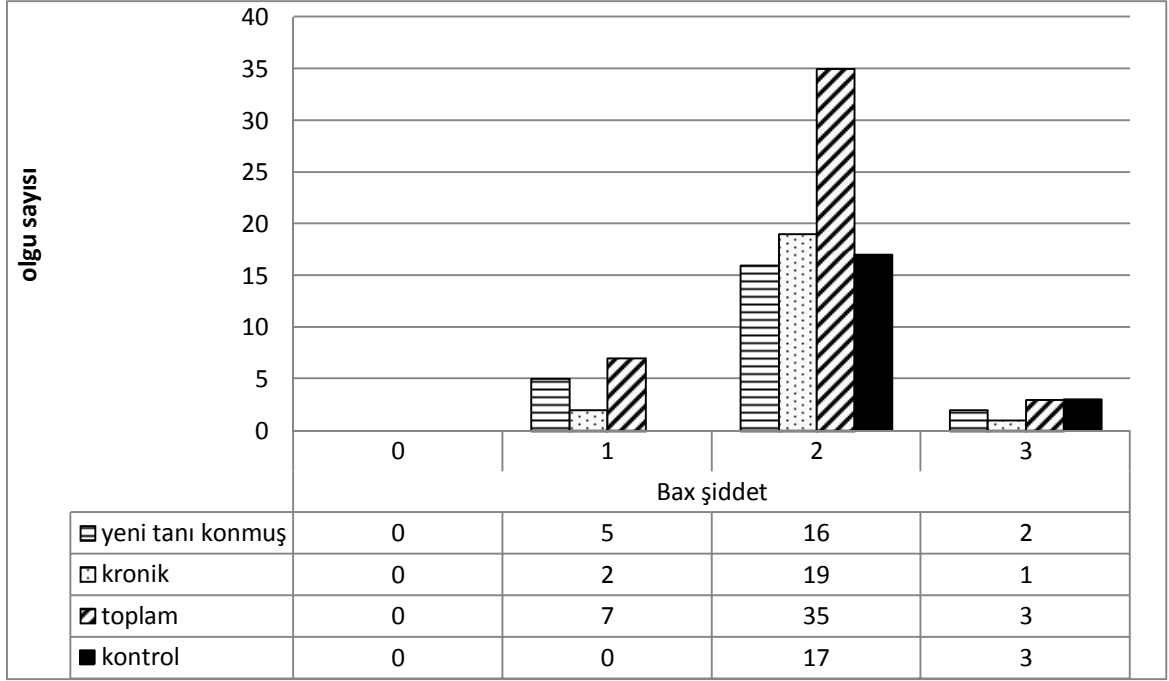
Şekil 26. (+++) boyanma şiddetinde sitoplazmik Bax boyaması (İmmünperoksidaz, X200).

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 10'unda (%43,4), Kronik İTP'li 22 olgunun 15'inde (%68,1), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 12'sinde (%60) (+++) yaygınlıkta Bax boyanması izlenmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$).



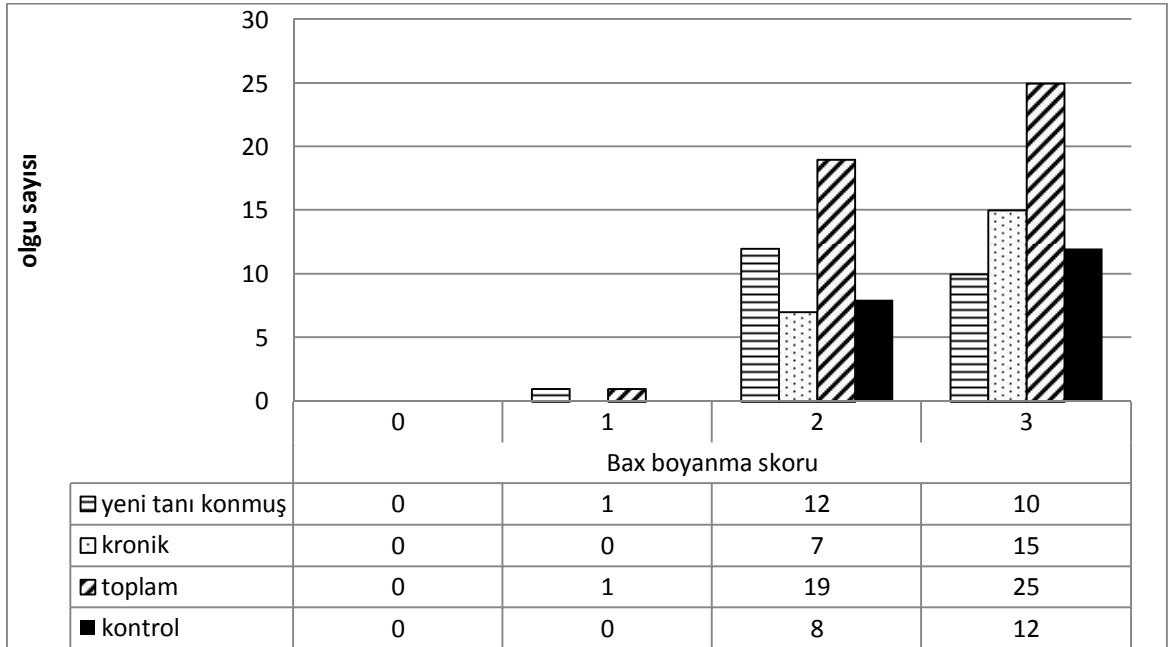
Şekil 27. Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma yaygınlığı

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 2'sinde (%8,69), Kronik İTP'li 22 olgunun 1'inde (%4,54), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 3'ünde (%15) (+++) şiddette Bax boyanması izlendi. Tüm İTP'li olgularda Kontrol Grubu'na göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$).



Şekil 28. Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma şiddeti

Çalışmamızda Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 10'unda (%43,4), Kronik İTP'li 22 olgunun 15'inde (%68,1), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 12'sinde (%60) (+++) Bax boyanma skoru izlenmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$).



Şekil 29. Bax'ın Yeni Tanı Konmuş, Kronik İTP ve Kontrol Grubu olgularındaki boyanma skoru

Oksidan/antioksidan oranların durumunun değerlendirilmesi için Bax/Bcl-2, Bax/Hsp70, Bax/girelin boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bax/Bcl-2 ve Bax/Hsp70 boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Ancak Bax/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Kontrol Grubu'na göre ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Tablo 15. İTP ve Kontrol Grubu'nda oksidanların antioksidanlara göre boyanma skoru oranları

Oksidan/antioksidan BS	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n= 23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n= 22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n= 45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Bax / Bcl-2	2,32±0,59 (1-3)	2,54±0,57 (1,5-3)	2,43±0,58 (1-3)	2,50±0,68 (1-3)
Bax / Hsp70	0,94±0,28 (0,33-1,5)	1,00±0,23 (0,67-1,5)	0,97±0,26 (0,33-1,5)	1,13±0,36 (0,67-2)
Bax / Girelin	1,07±0,51 (0,33-3)	1,82±0,81 b (0,67-3)	1,44±0,76 (0,33-3)	1,40±0,65 (0,67-3)

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

b, mevcut grubun Grup I'e göre; $p<0,05$

Antioksidan/oksidan oranların durumunun değerlendirilmesi için Bcl-2/Bax, Hsp70/Bax, girelin/Bax boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bcl-2/Bax ve Hsp70/Bax boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Ancak girelin/Bax boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Kontrol Grubu'na göre ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 16. İTP ve Kontrol Grubu'nda antioksidanların oksidanlara göre boyanma skoru oranları

Antioksidan/oksidan BS	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n= 23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n= 22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n= 45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Bcl-2 / Bax	0,46±0,15 (0,33-1)	0,41±0,11 (0,33-0,67)	0,44±0,13 (0,33-1)	0,45±0,20 (0,33-1)
Hsp70 / Bax	1,17±0,48 (0,67-3)	1,04±0,24 (0,67-1,5)	1,11±0,38 (0,67-3)	0,97±0,31 (0,50-1,5)
Girelin / Bax	1,08±0,49 (0,33-3)	0,66±0,30 b (0,33-1,5)	0,88±0,46 (0,33-3)	0,85±0,35 (0,33-1,5)

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

b, mevcut grubun Grup I'e göre; p<0,05

Antioksidan/antioksidan oranlarının durumunun değerlendirilmesi için Bcl-2/Hsp70, Bcl-2/girelin, Hsp70/girelin boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bcl-2/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p<0,05). Hsp70/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda, hem Yeni Tanı Konmuş İTP, hem de Kontrol Grubu olgularından anlamlı derecede yüksekti (p<0,05). Gruplar arasında Bcl-2/Hsp70 boyanma skoru oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Tablo 17. İTP ve Kontrol Grubu'nda antioksidanlar arası boyanma skoru oranları

Antioksidan/antioksidan BS	Grup I (Yeni Tanı Konmuş İTP) (n= 23) (ort±SD) (alt-üst)	Grup II (Kronik İTP) (n= 22) (ort±SD) (alt-üst)	Grup III (Toplam İTP) (n= 45) (ort±SD) (alt-üst)	Grup IV (Kontrol) (n=20) (ort±SD) (alt-üst)
Bcl-2 / Hsp70	0,41±0,09 (0,33-0,67)	0,40±0,11 (0,33-0,67)	0,41±0,10 (0,33-0,67)	0,47±0,16 (0,33-1)
Bcl-2 / Girelin	0,47±0,19 (0,33-1)	0,74±0,38 b (0,33-2)	0,60±0,32 (0,33-2)	0,56±0,20 (0,33-1)
Hsp70 / Girelin	1,18±0,51 (0,67-3)	1,82±0,73 ab (0,67-3)	1,49±0,70 (0,67-3)	1,30±0,58 (0,5-3)

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

a, mevcut grubun Grup IV'e göre; p<0,05

b, mevcut grubun Grup I'e göre; p<0,05

4. TARTIŞMA

İdiyopatik trombositopenik purpura, dolaşımdaki trombositlerin yıkımının artması ile karakterize, kendi kendini sınırlayan, otoimmün, çocukluk çağının en sık karşılaşılan edinsel trombositopeni nedenidir. İdiyopatik trombositopenik purpura karmaşık patogenezin olduğu heterojen bir hastalıktır. Etiyolojisinde oksidatif etki, antioksidan mekanizma, apoptozis ve antiapoptozisin etkisi olduğu üzerine çalışmalar bulunmaktadır (1, 105).

Oksidatif hasar otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynar. Otoimmünite sonucu geliştiği düşünülen İTP patogenezinde oksidatif stres ve serbest radikallerin etkisi bulunmaktadır (111, 112).

Çalışma grubumuz İTP tanılı 45 olgudan oluşturuldu. Tanıdan itibaren ilk 3 ayı kapsayan dönemde trombositopenisi düzelen 23 olgu Yeni Tanı Konmuş İTP, 12 ay veya daha uzun sürede trombositopenisi düzelmeyen 22 olgu Kronik İTP grubuna alındı. Kontrol Grubu olarak ise solid tümör saptanan ve kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi incelemesi normal olan 20 olgu çalışmaya dahil edildi. Çalışma retrospektif olarak yapıldı. İdiyopatik trombositopenik purpura tanı anı yapılan kemik iliği biyopsisi parafin blok örneklerinde, immunohistokimyasal olarak; girelin, Hsp70, Bcl-2, Bax uygulanarak boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından değerlendirilerek etyolojide suçlanan oksidatif stres, apoptozis ve antiapoptozis etkisi değerlendirilmek istenildi. Bu şekilde İTP patogenezinde bu parametrelerin rolünü anlayarak İTP tanı, prognoz ve tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağı hakkında yeni bir bakış açısı kazandırılmak istenildi.

Girelin esas olarak fare midesinde izole edilmiş olup, GHS-R nin endojen ligandıdır. Girelinin kardiyomyosit, endotel hücrelerde adiposit, adrenal zona glomeruloza hücreleri, pankreatik beta hücrelerinde, osteoblastik MC3T3-E1 hücreleri, intestinal epitelyal hücreler ve hipotalamik nöronlar gibi çoğu hücrelerde apoptozisi inhibe ettiği bildirilmiştir (5). Girelin; Bcl-2/Bax oranını artırarak, sitokrom c salınımını önleyerek, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu inhibe ederek, mitokondriyal transmembran potansiyelini stabilize ederek, kaspaz 3 aktivasyonunu inhibe ederek antiapoptotik etki gösterir. Çalışmaya dahil edilen gruplarda girelin ile Bcl-2/Bax oranı arasında pozitif korelasyon vardı. Kronik İTP Grubu'nda girelin ile Bcl-2/Bax oranı arasındaki pozitif korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Birçok çalışma oksidatif stresin plazma girelin düzeyini arttırdığını göstermiştir. Girelin antioksidan ve anti-inflamatuar etkiye

sahiptir (5, 85). Artmış serum yada plazma girelin düzeyi ülseratif kolit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, sepsis, pankreatit, kolit ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda bildirilmiştir. Çalışmamızda gruplar arasında girelin boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar vardı. Kronik İTP'li hastalarda girelin boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru, Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre; girelin boyanma şiddeti ise Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu'na göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$). Kronik İTP Grubu'nda girelin yaygınlık, şiddet ve boyanma skorunun, Yeni Tanı Konmuş İTP Grubu'ndan istatistiksel olarak anlamlı düşük değerlerde olması kronik olgularda antiapoptotik etkinin düşük olduğunu vurgulamaktadır. Yeni Tanı Konmuş İTP'li 23 olgunun 12'sinde (%52,1), Kronik İTP'li 22 olgunun 3'ünde (%13,6), Kontrol Grubu'nda ise 20 olgunun 5'inde (%25) (+++) yaygınlıkta girelin boyanması izlendi. Yeni Tanı Konmuş İTP Grubu'nda Kontrol Grubu olgulardan daha yüksek yüzdede antiapoptotik ve antioksidan etki bulunmaktadır. Kronik olgularda ise belirgin düşüklük mevcuttur. Buna göre Yeni Tanı Konmuş İTP olguları otoimmün patoloji göstermemektedir.

Serum ve plazma girelin ekspresyonunda artış hastalığın ciddiyeti ile ve özellikle TNF alfa, IL 6 ve IL 1beta gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu ile koreledir. Bu veriler çeşitli fare modellerinde inflamasyonun tedavisinde ekzojen girelin kullanımına yol açmıştır. Bu çalışmalarda açıl girelin kullanımının patoloji yada girelin tedavisinin dozu ne olursa olsun sitokin üretimini yada ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür (83).

Waseem ve ark.'nın (113) yaptığı çalışmada girelinin inflamatuvar barsak hastalıklarında TNF alfa'nın indüklediği antiproliferatif ve pro-apoptotik etkileri hafifleterek mukozal iyileşmeyi arttırdığını göstermişlerdir.

Kheradmand ve ark.'nın (114) fare overlerinde girelinin antioksidan etkisini incelemişlerdir. Farelerde subkutan girelin enjeksiyonu sonrası over dokusunda antioksidan enzim aktivitesini ve lipid peroksidasyonunu değerlendirmişlerdir. Girelin enjeksiyonu sonrası süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ve glutatyon düzeyini artmış, lipid peroksidasyonu ise azalmış bulunmuştur. Jahromi ve ark.'nın (115) yaptığı çalışmada farelerde asetaminofene bağlı karaciğer toksisitesine karşı girelinin protektif rolü araştırılmıştır. Girelin ile tedavi edilen farelerde karaciğer enzimlerinin, N-asetilsistein ile tedavi edilenlere göre daha hızlı düştüğü görülmüştür.

Zhang ve ark.'nın (116) yaptığı çalışmada rat aortik endotel hücrelerinde palmitat

ile apoptozisi indüklemişlerdir. Girelinin endotel hücrelerde palmitatla indüklenen oksidatif stresi ve apoptozisi Bcl-2 ekspresyonunu arttırıp, Bax ekspresyonunu azaltarak baskıladığı görüldü. Çalışmamızda girelin ve Bcl-2 arasında pozitif korelasyon olup istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Girelin ve Bax arasında negatif korelasyon olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p<0,05$). Bu bulgu literatür ile benzerlik göstermektedir.

Kiang ve ark.'nın (117) yaptığı bir çalışmada fareler iyonize radyasyona maruz bırakılıp, sonrasında girelin enjeksiyonu uygulanarak etkisi incelenmiştir. İyonize radyasyon sonrası farelerde lenfosit, nötrofil, hemoglobin, hematokrit ve trombosit değerlerinde düşme, kemik iliği hücrelerinde azalma meydana gelmiştir. İyonize radyasyonun 24, 48 ve 72. saatinde farelere girelin enjeksiyonu yapılmıştır. Girelin tedavisi sonrasında iyonize radyasyonun neden olduğu nötropeni, trombositopeni ve kemik iliği hasarında düzelme, hemoglobin ve hematokrit değerlerimde yükselme meydana geldiği görülmüştür.

Stresle indüklenebilen protein Hsp70; yaklaşık olarak 70 kDa ve ATP bağımlı moleküler şaperondur. Isı şok proteinleri moleküler büyüklüklerine, yapısal ve fonksiyonel çeşitlerine göre sınıflandırılır. Bu proteinlerin intrasellüler ve ekstrasellüler yerleşimine bağlı olarak farklı fonksiyonları vardır. Hsp70 salınımı artmış ısı, besinsel yoksunluk, ağır metaller, oksidatif stres ve viral enfeksiyonlar gibi faktörler tarafından indüklenir (88). Hücre içi Hsp koruyucu fonksiyona sahiptir. Isı şok proteinlerinin bu hücre koruyucu fonksiyonu antiapoptotik özelliği ile açıklanır. Çalışmamızda Hsp70'in Kronik İTP Grubu'nda Yeni Tanı Konmuş İTP ve Kontrol Grubu'ndan daha yüksek olması hücre içi koruyucu etki sağlamak ve antiapoptotik etkiyi arttırmak nedeniyle olduğu düşünüldü.

Apoptozisin hem ekstrinsik hem intrinsik yolunu etkileyen Hsp70'in Bax translokasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen tüm İTP'li olgularda Kontrol Grubu'na göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Fakat Bax boyanma yaygınlığı ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Bazı otoimmün hastalıklarda stres proteinlerine karşı yüksek düzeyde otoantikörler saptanmışsa da önemleri henüz net olarak açıklığa kavuşmamıştır. Stres proteinlerinin genel olarak intrasellüler yerleşimli olduğu düşünülmekeyse de, stres altında kalan bazı hücrelerin yüzeylerinde de stres proteinlerinin bulunduğu dair kanıtlar mevcuttur. Stres proteinlerinin inflamasyon gibi stres hallerinde

artmaları stres proteinlerinin otoimmünitinin tetiklenmesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (88, 90).

Yapılan çalışmalarda romatoid artritli hastaların sinoviyal membran ve sıvılarında Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde Behçet hastalığında IgA tipindeki anti-Hsp60 antikoru yüksek bulunmuştur (118). Birtaş ve ark.'ları (119) Behçet hastalığı tanısı olan 62 hastada serum Hsp70 ve anti-Hsp70 düzeyini ölçmüşlerdir. Sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Behçet hastalarında serum Hsp70 ve anti-Hsp70 düzeyinde artış olduğunu saptanmıştır. Isı şok proteinlerinin çoğunun otoimmün hastalıkların patogeneğinde yeri olduğu görülmüştür. Sistemik lupus eritematozus'lu hastalarda periferik kandaki mononükleer hücrelerde Hsp70 ve Hsp90'ın aşırı miktarda yapıldığı ve bu bulgunun SLE'ye spesifik olduğu düşünülmektedir (120). Mügge ve ark.'nın (121) yaptığı bir çalışmada ise 47 SLE'li hastada Western Blot yöntemi ile Hsp70'e karşı otoantikor oluşumunu incelemişlerdir. Kontrol grubu ve SLE'li hastalar arasında Hsp70'e karşı otoantikor oluşumu benzer sıklıkta saptanmış olup, antikor titresi ve hastalığın aktivitesi arasında ilişki olmadığı görülmüştür. Bu veri otoantikor oluşumunun doğal yollarla gerçekleştiğini ve SLE patogeneğinde Hsp70 otoantikorlarının varlığının tartışılması gerektiğini desteklemektedir.

Dolaşık ve ark.'nın (122) yaptığı çalışmada İTP'li hastalarda serum Hsp60, Hsp70, anti-Hsp60 ve anti-Hsp70 düzeylerini araştırmışlardır. Akut İTP hastalarında serum Hsp60 düzeyi, kronik İTP ve kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Trombosit sayısı $30 \times 10^9/L$ 'den yüksek olan İTP'li hastalarda Hsp60 düzeyi, trombosit sayısı $30 \times 10^9/L$ 'den düşük olan İTP'li hastalarla kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek olup, serum Hsp60 düzeyi ile trombosit sayısı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Düşük serum Hsp60 düzeyinin anti-inflamatuvar cevapta yetersizliğe yol açabileceği sonucuna varılmıştır. İTP patogeneğinde Hsp'lerin rolünü anlamak için ve İTP tanı, prognoz ve tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağı ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Xiao ve ark.'nın (123) yaptığı çalışmada 29 İTP'li çocukta Western Blot yöntemi ile lenfositlerde Hsp60 ve Hsp70 ailesinin üyesi olan Hsp71 düzeyini ölçmüşlerdir. Hem kontrol grubunda hem de İTP'li grupta lenfositlerde Hsp71 ve Hsp60 saptanmışlardır. İTP'li hasta lenfositlerinde Hsp71 düzeyi kontrol grubundan hafif derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca Hsp60 ve Hsp71'e karşı plazma antikor düzeyini incelemişlerdir. Hsp71'e karşı antikor düzeyi İTP'li hastalarda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. İdiyopatik

trombositopenik purpuralı hastaların %50'sinden fazlasında Hsp71'e karşı antikor saptanmıştır. Hsp71'e karşı antikor varlığının İTP formları ile ilişkili olmadığı görüldü. Çalışmamıza dahil edilen gruplar arasında ise Hsp70 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Bu verinin klinik önemi şu şekilde açıklanabilir. Birincisi; Hsp'ler çevresel stres, viral, bakteriyel, parazitik enfeksiyonlar, ateş, inflamasyon, malignensi ve otoimmunité tarafından indüklenebilir. İkincisi; Hsp'ler hücreleri, organları ve organizmayı bu stresin neden olduğu hasara karşı koruyabilir. Isı şok proteinlerinin yokluğu ya da düşük düzeyde olması hücreleri strese karşı daha duyarlı hale getirebilir. İmmun cevapta Hsp'lerin önemini araştıran çalışmalar Hsp'lerin düşük ekspresyonunun plateletlere karşı antikor oluşumu ile ilişkili olabildiğine işaret eder.

Programlanmış hücre ölümü ya da apoptozis genel olarak belirli morfolojik özellikler ile karakterize edilen enerji bağımlı biyokimyasal bir mekanizmadır. Apoptozis normal hücre döngüsü, normal gelişim, immün sistem fonksiyonu, hormon bağımlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal olarak uyarılmış hücre ölümünü içeren çeşitli işlemlerin hayati komponenti olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Uygun olmayan apoptozis nörodejenetratif hastalıklar, iskemik zarar, otoimmün hastalıklar ve birçok kanser tipini kapsayan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan araştırmalar ekstrensek ve intrensek ya da mitokondriyal yol olarak iki ana apoptotik yolun olduğunu, bu iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğu ve bir yolda rol alan moleküllerin diğer yoldakini etkilediğini göstermiştir. Bu iki yola ilave olarak T-hücre aracılı sitotoksisteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren bir yol daha vardır (8, 100).

Apoptozisin mitokondriyal yolağın regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl, Mcl-1) ve proapoptotik (bax, bad, bid) proteinler bu grupta yer almaktadır. Bcl-2/Bax gen ailesi ürünleri mitokondri ve çekirdek zarlarının yanısıra, endoplazmik retikulum zarı üzerinde de yer alırlar ve homodimer yada heterodimer şeklinde kompleksler oluşturarak çalışırlar. Çalışmalarda bu heterodimerlerden biri olan "Bcl-2/Bax" oranı "ölüm anahtarı" olarak değerlendirilmektedir. Bu proteinlerin seviyeleri hücrenin öleceğine veya yaşayacağına karar verir. Örneğin Bcl-2'nin Bax ile olan etkileşiminde, Bcl-2'nin oranının daha yüksek olması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir (9,10). Çalışmamızda proapoptotik olan Bax Kontrol Grubu ile

kıyaslanınca Yeni Tanı Konmuş İTP Grubu'nda düşük düzeydedir. Oysa Kronik İTP Grubu'nda yüksek seviyededir. Kronik İTP Grubu'nda hasar gören hücreleri uzaklaştırmak, enflamasyonu engellemek için apoptozisin artmış olabileceği düşünüldü.

İdiyopatik trombositopenik purpuranın patofizyolojisinde bozulmuş hücrel immunitenin önemli olduğu kabul edilmiştir. Ancak T lenfositlerin polarizasyonu ve apoptotik profilleri anlaşılmasız kalmıştır. Lin ve ark.'nın (124) T hücre alt gruplarının polarizasyonunu, T hücre alt gruplarında Fas/FasL, Bcl-2 ve Bax mRNA ekspresyonunu inceleyerek, İTP patogenezindeki rollerini tartışmışlardır. T hücrelerinde Fas/FasL ekspresyonunun arttığını gösterdiler. Ayrıca Bcl-2 mRNA ekspresyonunun arttığını, Bax mRNA ekspresyonunun azaldığını gösterdiler. Bcl-2/Bax mRNA oranı geliştirdiler. Th1/Th2 oranı ile Bcl-2/Bax mRNA oranları arasında pozitif korelasyon saptadılar. T hücre alt gruplarının anormal polarizasyonu, Bcl-2/Bax mRNA'nın yüksek oranı ve T hücre alt gruplarında Fas/FasL 'ın anormal ekspresyonu ile ilişkili olabilir ve İTP immunopatogenezinde yer alabilir. Son çalışmalar İTP'li hastalarda aktive lenfositlerin yer aldığını ve trombositlerin aktive lenfositler tarafından direkt olarak parçalandığını ve hücrel apoptozisin indüklendiğini ortaya koymuştur. Lin ve ark.'larının (124) yaptığı çalışmada ise İTP'li hastaların T hücre alt gruplarında Fas/FasL ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır. Fas/FasL sistemi temel apoptotik yolaktır. Bcl-2 ise Fas/FasL sisteme zıt olarak çalışan antiapoptotik proteindir. Bcl-2 ailesinde apoptozisle ilişkili birçok gen bulunmaktadır. Bax geni hücre apoptozisini arttırırken, Bcl-2 ise apoptozisi inhibe etmektedir. Chang Lin ve arkadaşları akut İTP'li hastalarda T hücrelerde Bcl-2 mRNA ekspresyonunun arttığını ve Bax mRNA ekspresyonunun azaldığını, Bcl-2/Bax mRNA oranının ise arttığını buldular. Çalışmamıza dahil edilen tüm İTP'li olgularda kontrol grubuna göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$). Ancak çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Bcl-2 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$). Antioksidanların oksidanlara göre boyanma skoru oranlarının değerlendirilmesi için Bcl-2/Bax, Hsp70/Bax, girelin/Bax boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bcl-2/Bax ve Hsp70/Bax boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$). Ancak girelin/Bax boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$). Kontrol Grubu'na göre

ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. Girelin/Bax boyanma skoru oranının Kronik İTP Grubu'nda Yeni Tanı Konmuş İTP Grubu'na göre anlamlı düşük olması antiapoptotik/apoptotik düzenlemesinde apoptozisin arttığını göstermektedir.

Winkler ve ark.'nın (107) yaptığı çalışmada akut İTP'li hastalarda kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9 gibi apoptotik markırlar, fosfotidilserin maruziyeti ve mitokondriyal iç membran potansiyeli analiz edilmiştir. İTP'li hastalarda aktive kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, mikropartikül oluşumunun ve fosfotidilserin maruziyetinin arttığı ve mitokondriyal iç membran potansiyelinin azaldığı gösterildi. IVIG tedavisi sonrası kaspaz 3, 8, 9 mikropartikül formasyonu ve fosfotidilserin maruziyetinin azaldığı, fakat mitokondri iç membran potansiyelinde değişiklik olmadığı görüldü. Çekirdekli hücrelerde membran tomurcuklanması, kromatin yoğunlaşması gibi morfolojik değişiklikler apoptozisin özelliklerindedir. Ayrıca apoptozisin iyi tanımlanmış bulguları kaspaz 3, 8 ve 9'un aktivasyonu, mitokondriyal iç membran potansiyelinin değişimi ve mitokondri iç membranından sitokrom c gibi faktörlerin salınımıdır. Çekirdeksiz hücreler olan plateletlerde kaspaz 3, 8, 9 aktivasyonu, mitokondriyal iç membran potansiyelinde değişim ve mikropartikül oluşumunu saptamışlardır. Leytin ve ark.'nın (125) fare modellerinde anti-GPIIb antikör enjeksiyonu sonrası plateletlerde apoptotik olayları tanımlamışlardır. İTP'li hastaların plateletlerinde meydana gelen apoptotik olaylar trombositopeniye katkıda bulunmaktadır. İTP'li hastaların plateletlerinde artmış fosfotidilserin maruziyeti plateletlerin dolaşımdan temizlenmesine yol açabilir.

İdiyopatik trombositopenik purpuradaki trombositopenide, trombosit destrüksiyonu primer olay olmasına rağmen, İTP'de trombositopeninin şiddetine bozulmuş trombosit üretiminin de katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Uçar ve ark.'nın (126) akut ve kronik İTP'li hastaların kemik iliğinde İTP patogenezinde megakaryosit apoptozisinin rolünü araştırmışlardır. Kronik İTP'li hastalarda apoptotik megakaryosit yüzdesi, akut İTP'li hastalardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise akut ve kronik İTP'li hastalarda megakaryosit apoptozisinin artmadığı görülmüştür. Bu bulgu akut ve kronik İTP'li hastalarda bozulmuş platelet üretimi ve dismegakaryopoezin patogenezinde artmış megakaryosit apoptozisinin rol oynamadığına işaret etmektedir. Hızlanmış platelet yıkımı bazı İTP'li hastalarda megakaryopoezin stimülasyonuna neden olurken, bazılarında inefektif megakaryopoez meydana gelmektedir. Uçar ve ark.'nın (126) yaptığı çalışmaya göre kronik İTP'li hastalarda apoptotik megakaryosit yüzdesinin

azalması, matür megakaryositlerin sayısının otoantikorlar tarafından etkilendiğini gösterir. Li ve ark. (2), matür megakaryosit apoptozisinin platelet oluşumu ile ilişkili olduğunu ve megakaryositlerin erken yıkımının direkt olarak trombositopeniye yol açtığını bildirmişlerdir. Trombosit üretimi için kemik iliğinde megakaryositlerin birikimi gerekli olmayıp, ayrıca matür megakaryosit apoptozisi platelet üretiminde rol oynayabilir. Kronik İTP diğer otoimmün hastalıklarla benzer özelliklere sahiptir. Otoimmün ve lenfoproliferatif hastalıkların bazılarında azalmış apoptozisin varlığı bildirilmiştir. Çalışmamızda tüm İTP'li olgularda Kontrol Grubu'na göre Bax boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Çalışmaya dahil edilen gruplar arasında Bcl-2 boyanma yaygınlığı, boyanma şiddeti ve boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Apoptotik megakaryositlerin azalmış yüzdesi kronik İTP'nin önemli bir bulgusu olabilir. Kronik İTP'li hastalarda azalmış megakaryosit apoptozisinin diğer bir nedeni apoptotik ve antiapoptotik moleküllerin düzeyindeki değişiklikler olabilir. Literatürde henüz kronik İTP ile apoptotik ve antiapoptotik moleküllerin düzeyleri arasında ilişkiyi inceleyen bir kanıt bulunmamaktadır. Ayrıca azalmış megakaryosit apoptozisi kronik İTP'li hastalarda persistan trombositopeninin nedenlerinden biri olabilir. Çünkü matür megakaryosit apoptozisi platelet oluşumu ilişkilidir. Kronik İTP'li hastalarda azalmış megakaryosit apoptozisinin mekanizmasının araştırılması için daha geniş hasta gruplarına ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (3, 106, 109).

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ve hasara yol açması olarak tanımlanan oksidatif stres insanlarda çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Birçok çalışmada SLE, RA, MS, Behçet hastalığı, Tip 1 DM, Gullian Barre sendromu gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde artmış oksidatif stres ve bozulmuş antioksidan sistemin rol oynayabildiği desteklenmektedir. Artmış oksidatif stresin, inflamasyona olan katkısından ve apoptotik hücre ölümündeki rolünden dolayı otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Sonuç olarak oksidatif stresin trombosit hasarında rol oynadığı düşünülmektedir (4). Akbayram ve ark.'nın (127) yaptığı çalışmada akut ve kronik İTP'li hastalarda serum malondialdehit (MDA), total antioksidan kapasite (TAC), total oksidan stres (TOS) ve oksidan stres indeksi (OSİ) çalışılmıştır. Akut ve kronik İTP'li hastalarda serum MDA, TOS ve OSİ düzeyi kontrol grubundan daha yüksek, serum TAC düzeyi ise daha düşük bulunmuştur. Akut ve kronik İTP'li hastalarda trombositopeni mekanizmasında serbest oksijen

radikallerinin plateletlerin yapısal ve fonksiyonel hasarında etkili olduğu düşünülmektedir. İdiyopatik trombositopenik purpuralı hastalarda platelet yıkımı serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olur. Serbest oksijen radikallerinin fazla üretimi ise lipid peroksidasyonu ve malondialdehit artışı ile sonuçlanır. Membran lipidlerine bağlı antikorlar ve trombosit yıkımı üzerinde, İTP'deki lipid peroksidasyonunun artması ve antioksidan kapasitenin azalması sorumlu tutulmaktadır. Hücreler lipid peroksidasyonu ile üretilen radikallerin tehdidine karşı koruyucu yollara sahiptir. Glutasyon ve askorbik asit İTP patogenezinde hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu olarak rol oynamaktadır.

Polat ve ark.'nın (128) yaptığı çalışmada lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit ve antioksidan olan glutasyon ve askorbik asit düzeyi ölçülmüştür. İdiyopatik trombositopenik purpuralı grupta kontrol grubuna göre serum malondialdehit düzeyi artmış, eritrosit glutasyon ve askorbik asit düzeyi ise azalmış bulundu. Otoimmün hastalıkların patogenezinde oksidatif hasarın rol oynadığı desteklenmiş oldu. Jin ve ark. (129) ise yetişkin kronik İTP'li hastalarda oksidatif stres ve antioksidan durumu değerlendirmişlerdir. Kronik İTP'li grupta oksidatif stres parametrelerinin arttığını ve antioksidanların azaldığını bulmuşlardır. Artmış oksidatif stresin inflamasyona olan katkısı ve apoptotik hücre ölümündeki rolü nedeniyle otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda oksidanların antioksidanlara göre boyanma skoru oranlarının değerlendirilmesi için Bax/Bcl-2, Bax/Hsp70, Bax/girelin boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bax/Bcl-2 ve Bax/Hsp70 boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Ancak Bax/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Kontrol Grubu'na göre ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. Bu bulgu oksidan/antioksidan dengenin Kronik İTP'de oksidatif stresin artması yönünde bozulma olduğunu göstermektedir.

Antioksidanların oksidanlara göre boyanma skoru oranlarının değerlendirilmesi için Bcl-2/Bax, Hsp70/Bax, girelin/Bax boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bcl-2/Bax ve Hsp70/Bax boyanma skoru oranları bakımından çalışmaya dahil edilen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Ancak girelin/Bax boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li

olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). Kontrol Grubu'na göre ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Antioksidanlar arası boyanma skoru oranlarının değerlendirilmesi için Bcl-2/Hsp70, Bcl-2/girelin, Hsp70/girelin boyanma skorları her grup için ayrı ayrı istatistiksel olarak incelendi. Bcl-2/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda Yeni Tanı Konmuş İTP'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Hsp70/girelin boyanma skoru oranı Kronik İTP'li olgularda, hem Yeni Tanı Konmuş İTP, hem de Kontrol Grubu olgularından anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Bu bulgu Kronik İTP'li olgularda antioksidan parametreler olan Bcl-2 ve Hsp70'in, diğer bir antioksidan olan girelinden daha yüksek olduğuna işaret etmektedir. Gruplar arasında Bcl-2/Hsp70 boyanma skoru oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Bu bilgilerin ışığında, trombositlerdeki yapısal ve fonksiyonel değişikliklerden ve trombositopeni mekanizmasından yalnızca antijen-antikor reaksiyonunu sorumlu tutmanın yeterli olmadığını düşünmekteyiz. Bir oksidan olan Bax parametresinin tüm gruplarda düşük olması; antioksidan parametreler olan girelin, Bcl-2 ve Hsp70 parametrelerinden sadece girelin düşüklüğü İTP'deki olayların bir sonucu mu, yoksa nedeni mi olduğu araştırmaya açık bir konudur. İTP patogenezinde oksidan ve antioksidan parametrelerin rolünü anlamak için ve İTP tanı, prognoz ve tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağı ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Disorders of Platelets. Lanzkowsky P. Manual of Pediatric Hematology and Oncology, Fourth Edition. Elsevier Inc 2005; 250–263.
2. Shuguang Li, Lin Wang, Chunhong Zhao, Lizhen Li, Jun Peng, Ming Hou. CD8+T cells suppress autologous megakaryocyte apoptosis in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 139: 605–611.
3. Zhang F, Chu X, Wang L, Zhu Y, Li L, Ma D, et al. Cell-mediated lysis of autologous platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2006; 76: 427–431.
4. Zhang B, Zehnder JL. Oxidative stress and immune thrombocytopenia. *Semin Hematol* 2013; 50: 1–4.
5. Yang M, Hu S, Wu B, Miao Y, Pan H, Zhu S. Ghrelin inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 activity via upregulating heat-shock protein 70. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 373-378.
6. Glover JR, Lindquist S. Hsp104, Hsp70, and Hsp40: a novel chaperone system that rescues previously aggregated proteins. *Cell* 1998; 94: 73-82.
7. Afshin Samali, Thomas G. Cotter. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp cell res* 1996; 223: 163–170.
8. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 495–516.
9. Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer* 1999; 15: 531-539.
10. Wickremasinghe RG, Hoffbrand AG. Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. *Blood* 1999; 11: 3587-3600.
11. Houwerzijl EJ, Blom NR, Johannes JL, Mariet TE, Jan JK. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; 103: 500-506.

12. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases with 10-year follow up. *Am J Hematol* 1995; 50–103.
13. Sara JJ, Walter HA, Kahr VS, Blanchette LC, Luban GE, Rivard ML, Platelet Disorders in Children: a diagnostic approach. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 975–983.
14. Amy A, Hassan K, Michael HK. Acquired disorders of platelet function. *Am Soc Hematol* 2005; 403-408.
15. Freedman J. ITP: an overview of the conference and future directions with an abbreviated ITP history. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 77–84.
16. Stasi R, Newland AC. ITP: a historical perspective. *Br J Haematol* 2011; 153: 437-450.
17. Harrington W, Sprague C, Minnich V. Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med* 1953; 38: 453–465.
18. Shulman NR, Marder VJ, Weinrach RS. Similarities between known antiplatelet antibodies and the factor responsible for thrombocytopenia in idiopathic purpura: physiologic, serologic and isotopic studies. *Ann NY Acad Sci* 1965; 124: 499–542.
19. van Leeuwen EF, van der Von JTH, Engelfriet CP, von dem Borne AEG. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1982; 59: 23-26.
20. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117: 4190-4207.
21. Bansal D, Bhamare TA, Trehan A, Ahluwalia J, Varma N, Marwaha RK. Outcome of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54: 403-407.
22. Deirdra RT, Laura AB, Sara KV, Barbara RN, Jodi BS, James NG. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: a critical review of published reports. *Am J Hematol* 2010; 85: 174–180.
23. Nugent DJ. Immune thrombocytopenic purpura of childhood. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 97-103.

24. Beardsley DS. ITP in the 21st century. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 402-407.
25. O'Leary ST, Glanz JM, McClure DL, Akhtar A, Daley MF, Nakasato C, et al. The risk of immune thrombocytopenic purpura after vaccination in children and adolescents. *Pediatrics* 2012; 129: 248-255.
26. Anoop P. Immune thrombocytopenic purpura: historical perspective, current status, recent advances and future directions. *Indian Pediatr* 2012; 49: 811-818.
27. Cines DB, Cuker A, Semple JW. Pathogenesis of immune thrombocytopenia. *Presse Med* 2014; 43: 49-59.
28. Cooper N, Bussel J. The pathogenesis of immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2006; 133: 364-374.
29. Johnsen J. Pathogenesis in immune thrombocytopenia: new insights. *Am Soc Hematol* 2012; 306-312.
30. Rand ML, Wright JF. Virus associated idiopathic thrombocytopenic purpura. *Transfus Sci* 1998; 19: 253-259.
31. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC. Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 54: 107-116.
32. Gernsheimer T. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: mechanisms of pathogenesis. *The Oncologist* 2009; 14: 12-21.
33. Semple JW, Milev Y, Cosgrave D, Mody M, Hornstein A, Blancette V, Freedman J. Differences in serum cytokine levels in acute and chronic autoimmune thrombocytopenic purpura: relationship to platelet phenotype and platelet T cell reactivity. *Blood* 1996; 87: 4245-4254.
34. McMillan R, Nugent D. The effect of antiplatelet autoantibodies on megakaryocytopoiesis. *Int J Hematol* 2005; 81: 94-99.
35. Chang M, Nakagawa PA, Williams SA, Schwartz MR, Imfeld KL, Buzby JS, Nugent DJ. Immune thrombocytopenic purpura (ITP) plasma and purified ITP monoclonal autoantibodies inhibit megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 2003; 25: 7-10.

36. Anke K, Bergmann F, Rachael F, Grace J, Ellis JN. Genetic studies in pediatric ITP: outlook, feasibility, and requirements. *Ann Hematol* 2010; 89: 95–103.
37. Fujimoto TT, Inove M, Shimomura T, Fujimura K. Involvement of Fc receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2001; 115: 125–130.
38. Fujimoto BS, Song KS. Genetic polymorphism of human platelet specific antigen specific (HPA) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost Suppl* 1997: 1037.
39. Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, Landolfi L, Pola P, Gasbarrini G. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1998; 352: 878.
40. Cooper N, James R. The Pathogenesis of immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2006; 133: 364–374.
41. Buchanan GR. Bleeding signs in children with idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 42-46.
42. Buchanan GR, Adix L. Grading of hemorrhage in children with idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr* 2002; 141: 683-688.
43. Warner M, Kelton JG. Laboratory investigation of immune thrombocytopenic purpura. *J Clin Pathol* 1997; 50: 5-12.
44. Chong BH, Keng TB. Advances in the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000; 37: 249-260.
45. Bolton-Maggs PHB. Current topic: idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Dis Child* 2000; 83: 220-222.
46. George JN, Woolf SH, Raskob GE, Wasser JS, Aledort LM, Ballem PJ, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996; 88: 3-40.

47. Bolton-Maggs PHB, Moon I. Assessment of UK practice for management of acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura against published guidelines. *Lancet* 1997; 350: 620-623.
48. Panepinto JA, Brousse DC. Acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood – diagnosis and therapy. *Pediatr Emerg Care* 2005; 21; 10: 691-695.
49. Kühne T, Imbach P, Bolton-Maggs PHB, Berchtold W. Newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood: an observational study. *Lancet* 2001; 358: 2122-2125.
50. Panepinto JA, Brousse DC. Acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood- diagnosis and therapy. *Pediatr Emerg Care* 2005; 21; 10: 691-695.
51. Tarantino MD, Buchanan GR. The pros and cons of drug therapy for immune thrombocytopenic purpura in children. *Hematol Oncol Clin N Am* 2004; 18: 1301-1314.
52. Sophie JY, Lazarus P, Lazarus AH. Mechanisms of platelet recovery in ITP associated with therapy. *Ann Hematol* 2010; 89: 31–33.
53. Buchanan G, Adix L. Current challenges in the management of children with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47: 681–684.
54. Tarantino M. Recent advances in the treatment of childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2006; 43: 11–17.
55. Imbach P, Barandum S, d’Appuzzo V. High-dose gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Lancet* 1981; 1: 1228-1231.
56. Blanchette VS, Luke B, Andrew M. A prospective, randomized trial of high-dose intravenous immune globulin G therapy, oral prednisone therapy and no therapy in childhood acute immune thrombocytopenic purpura. *J Pediatr* 1993; 123: 989-995.
57. Fujisawa K, Iyori H, Ohkawa H. A prospective, randomized trial of conventional dose-accelerated corticosteroids and intravenous immunoglobulin in children with newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2000; 72: 376-383.
58. Levy JB, Pusey CD. Nephrotoxicity of iv immunoglobulin. *QJM* 2000; 93: 751-755.

59. Tsiouris J, Tsiouris N. Hemiplegia as a complication of treatment of childhood immune thrombocytopenic purpura with intravenously administered immunoglobulin. *J Pediatr* 1998; 133: 717.
60. Scribner CL, Kapit RM, Phillips ET. Aseptic meningitis and intravenous immunoglobulin therapy. *Ann Int Med* 1994; 121: 305-361.
61. Kjaersgaard M, Halse H. A review of Anti-D treatment of childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47: 717–720.
62. Crow AR, Lazarus AH. The mechanisms of action of intravenous immunoglobulin and polyclonal anti-D immunoglobulin in the amelioration of immune thrombocytopenic purpura: what do we really know? *Trans Med Rev* 2008; 22: 103-116.
63. Wu Z, Zhou J, Pankaj P, Peng B. Laparoscopic splenectomy for immune thrombocytopenia (ITP) patients with platelet counts lower than $1 \times 10^9/L$. *Int J Hematol* 2011; 94: 533-538.
64. Behrman RE, Kliegmen RM, Jenson HB. Idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia: WB Saunders, 2004: 1670–1671.
65. Neunert CE, Buchanan GR, Imbach P. Severe hemorrhage in children with newly diagnosed immune thrombocytopenic purpura *Blood* 2008; 112: 4003-4008.
66. Bredlau AL, Semple JW, Segel GB. Management of immune thrombocytopenic purpura in children: potential role of novel agents. *Paediatr Drugs* 2011; 13: 213-223.
67. Grainger JD, Rees JL, Reeves M. Changing trends in the UK management of childhood ITP. *Arch Dis Child* 2011; 97: 8-11.
68. Bay A, Oner AF, Uner A, Dogan M. Use of rituximab in chronic childhood immune thrombocytopenic purpura. *Pediatr Int* 2006; 48: 514-516.
69. Journeycake JM. Childhood immune thrombocytopenia: role of rituximab, recombinant thrombopoietin, and other new therapeutics. *Am Soc Hematol* 2012; 444-449.
70. Khellaf M, Michel M, Quittet P. Romiplostim safety and efficacy for immune thrombocytopenia in clinical practice: 2-year results of 72 adults in a romiplostim compassionate-use program. *Blood* 2011; 118: 4338-4345.

71. Reid MM. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: incidence, treatment and outcome. *Arch Dis Child* 1995; 72: 125–128.
72. Raymond GW. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a 10-year natural history study at the Childrens Hospital of Alabama. *Clin Pediatr* 2004; 43: 691–702.
73. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
74. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
75. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 909-913.
76. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2990.
77. Frago LM, Baquedano E, Argente J, Chowen JA. Neuroprotective actions of ghrelin and growth hormone secretagogues. *Front Mol Neurosci* 2011; 4: 23.
78. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-907.
79. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002; 107: 63-69.
80. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12: 276-288.
81. Hamed EA, Zakary MM, Ahmed NS, Gamal RM. Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: relation to ghrelin and oxidative stress. *Diabet Res Clin Prac* 2011; 94: 434-441.

82. Berilgen MS, Mungen B, Ustundag B, Demir C. Serum ghrelin levels are enhanced in patients with epilepsy. *Seizure* 2006; 15: 106-111.
83. Baatar D, Patel K, Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 340: 44-58.
84. Dixit VD, Taub DD. Ghrelin and immunity: a young player in an old field. *Exp Gerontol* 2005; 40: 900-910.
85. Ercan S, Basaranlar G, Gungor N, Kencebay C, Sahin P, Ozenci C. Ghrelin inhibits sodium metabisulfite induced oxidative stress and apoptosis in rat gastric mucosa. *Food Chem Toxicol* 2013; 56: 154-161.
86. Caballero MI, Largo C, De Miguel E, Ignacio A, de Segura G, Vallejo MT, et al. Exogenous ghrelin regulates proliferation and apoptosis in the hypotrophic gut mucosa of the rat. *Exp Biol Med* 2010; 235: 463-469.
87. Suematsu M, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Matsumoto K, et al. Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 403-407.
88. Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Meriin AB, Sherman MY, Morimoto RI, et al. The chaperone function of Hsp70 is required for protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 7146-7159.
89. Morimoto RI, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 833-838.
90. Ellis RJ, van der Vies SM. Molecular chaperones. *Annu Rev Biochem* 1991; 60: 321-347.
91. Netzer WJ, Hartl FU. Protein folding in the cytosol: chaperonin-dependent and -independent mechanisms. *Trends Biochem Sci* 1998; 23: 68-73.
92. Bukau B, Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 1998; 92: 351-366.
93. Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Denis-Larose C, Massie B. Role of the human heat shock protein Hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 5317-5327.

94. Takayama S, Reed JC, Homma S. Heat-shock proteins as regulators of apoptosis. *Oncogene* 2003; 22: 9041–9047.
95. Li CY, Lee JS, Ko YG, Kim JI, Seo JS. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 25665-25671.
96. Joly AL, Wettstein G, Mignot G, Ghiringhelli F, Garrido C. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity. *J Innate Immun* 2010; 2: 238–247.
97. Touchette N, Fogle S. Apoptosis: it chimes with mitosis. *JNE Res* 1991; 3: 75-78.
98. Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. Koopman WJ (ed). *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
99. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, Dietrich WD. Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord 75 injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 422-429.
100. Duvall E, Wyllie AH. Death and the cell. *Immunol Today* 2006; 7: 115-119.
101. Ashkenazi A. Targeting the extrinsic apoptosis pathway in cancer. *Cytokine & Growth factor reviews* 2008; 325-331.
102. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *The J Cell Biology* 1994; 124: 1-6.
103. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326
104. Lalier L, Cartron PF, Juin P, Nedelkina S, Manon S, Bechinger B, Vallette FM. Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis. *Apoptosis* 2007; 12: 887–896.
105. Kile BT. The role of apoptosis in megakaryocytes and platelets. *Br J Haematol* 2014; 165: 217-226.
106. Wang L, Li Y, Hou M. Idiopathic thrombocytopenic purpura and dysmegakaryocytopoiesis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 64: 83–89.

107. Winkler J, Kroiss S, Rand ML, Azzouzi I, Bang A, Speer O. Platelet apoptosis in paediatric immune thrombocytopenia is ameliorated by intravenous immunoglobulin. *Br J Haematol* 2011; 156: 508–515.
108. Leytin V, Mykhaylov S, Starkey AF, Allen DJ, Lau H, Ni H, et al. Intravenous immunoglobulin inhibits anti-glycoprotein IIb-induced platelet apoptosis in a murine model of immune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2006; 133: 78–82.
109. Yang L, Wang L, Zhao CH, Zhu XJ, Hou Y, Jun P. Contributions of TRAIL-mediated megakaryocyte apoptosis to impaired megakaryocyte and platelet production in immune thrombocytopenia. *Blood* 2010; 116: 4307-4316.
110. Baspinar S, Bircan S, Orhan H, Kapucuoglu N, Bozkurt KK. The relation of beclin 1 and bcl-2 expressions in high grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostate adenocarcinoma: a tissue microarray study. *Patholog Res Pract* 2014; 210: 412–418.
111. Imbach P. Oxidative stress may cause ITP. *Blood* 2011; 117: 4405-4406.
112. Milz JK, Salama A. Oxidative stress is predominant in female but not in male patients with autoimmune thrombocytopenia. *Oxid Med Cell Long* 2013: 1-9.
113. Waasem T, Duxbry M, Ito H. Ghrelin ameliorates TNF- α induced anti-proliferative and pro-apoptotic effects and promotes intestinal epithelial restitution. *J Am Coll Surg* 2004; 199: 16.
114. Kheradmand A, Alirezaei M, Birjandi M. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. *Reg Peptides* 2010; 162: 84–89.
115. Jahromi MG, Nabavizadeh F, Vahedian J, Nahrevanian H, Dehpour AR, Mehrjardi AZ. Protective effect of ghrelin on acetaminophen-induced liver injury in rat. *Peptides* 2010; 31: 2114–2117.
116. Zhang D, Wang W, Zhou Y, Chen Y, Han L, Liu Y, et al. Ghrelin inhibits apoptosis induced by palmitate in rat aortic endothelial cells. *Med Sci Monit* 2010; 16: 396-403.
117. Kiang JG, Zhai M, Liao PJ, Elliott TB, Gorbunov NV. Ghrelin therapy improves survival after whole-body ionizing irradiation or combined with burn or wound: amelioration of leukocytopenia, thrombocytopenia, splenomegaly, and bone marrow injury. *Oxid Med Cell Longev* 2014: 12.

118. Liu H, Pope RM. The role of apoptosis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 317–322.
119. Birtas-Atesoglu E, Inanc N, Yavuz S, Ergun T, Direskeneli H. Serum levels of free heat shock protein 70 and anti-HSP70 are elevated in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: 96-98.
120. Nowak B, Szmyrka-Kaczmarek M, Durazińska A, Borysewicz K, Płaksej R. Anti-HSP70 antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Reumatologia* 2010; 1: 31-36.
121. Kindas-Mugge I, Steiner G, Smolen JS. Similar frequency of autoantibodies against 70-kD class heat-shock proteins in healthy subjects and systemic lupus erythematosus patients. *Clin Exp Immunol* 1993; 92: 46-50.
122. Dolasik I, Birtas Atesoglu E, Tarkun P, Mehtap O, Keski H. Decreased serum heatshock protein 60 levels in newly diagnosed immune thrombocytopenia patients. *Platelets* 2015; 26: 220-223.
123. Xiao C, Chen S, Yuan M, Ding F, Yang D, Wang R. Expression of the 60 kDa and 71 kDa heat shock proteins and presence of antibodies against the 71 kDa heat shock protein in pediatric patients with immune thrombocytopenic purpura. *BMC Blood Disorders* 2004; 4: 1-10.
124. Lin WU, Jian-Cheng XU, Fang LI, Hong XI, Xue-Min ZH, Qun CH, Xue-Wen LV. Polarization and apoptosis of T cell subsets in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Lab Hem* 2007; 29: 177–184.
125. Leytin V. Apoptosis in the anucleate platelet. *Blood Reviews* 2012; 26: 51–63.
126. Ucar C, Oren H, Irken G, Ates H, Atabay B, Turker M. Investigation of megakaryocyte apoptosis in children with acute and chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2003; 70: 347–352.
127. Akbayram S, Dogan M, Akgun C, Mukul Y, Peker E, Bay A. The association of oxidant status and antioxidant capacity in children with acute and chronic ITP. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32: 277–281.

- 128.** Polat G, Tamer L, Tanriverdi K, Gurkan E, Baslamışlı F, Atik U. Levels of malondialdehyde, glutathione and ascorbic acid in idiopathic thrombocytopenic purpura. *East Afr Med J* 2002; 79: 446-449.
- 129.** Jin CQ, Dong HX, Cheng PP, Zhou JW, Zheng BY, Liu F. Antioxidant status and oxidative stress in patients with chronic ITP. *Scandinav J Immun* 2013; 77: 482–487.

6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Adana'da doğdum. İlk ve orta öğretimini Adana Yavuzlar İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra, 1999 yılında Seyhan Rotary Anadolu Lisesi'ne başladım. 2003 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimine başladım. 2009 yılında mezun olup Adıyaman Besni Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekim olarak çalıştıktan sonra, 2010 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım.