

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PRİMER İMMUN TROMBOSİTOPENİ'DE
VİTAMİN D VE CLONED-
MYELOPROLİFERATİF LEUKEMİA VİRUS
ONKOGEN'İN YERİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. NADİDE GENCER

DANIŞMAN
Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından **TPF-1527** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

AYDIN-2016

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum, bana her konuda yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU'na İç hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU başta olmak üzere uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan değerli hocalarım Prof. Dr. Abdulvahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Ali Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Prof. Dr. Mehmet Hadi YAŞA, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Prof. Dr. Sabri BARUTÇA, Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Yrd. Doç. Dr. Adil COŞKUN, Yrd. Doç. Dr. Hakan AKDAM, Yrd. Doç. Dr. Hilal Bektaş UYSAL, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL, Yrd. Doç. Dr. Songül ÇILDAĞ ve Yrd. Doç. Dr. Altay KANDEMİR'e en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez yazım sürecinde yardımlarını esirgemeyen Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Firuzan Kaçar DÖGER'e şükranlarımı sunarım.

Son olarak bu güzel ancak bir o kadar da zorlu olan süreçte her zaman yanımda olan aileme, canım oğlum Çağan GENCER ve sevgili eşim Dr. Fatih GENCER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nadide GENCER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
TABLolar DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.	v
ŞİMGELER DİZİNİ.	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İmmün Trombositopenik Purpura.	3
2.1.1. İTP’de Terminoloji.....	3
2.1.2. Patogenez.....	4
2.1.3. İTP’de Genetik Faktörler.....	6
2.1.4. Klinik.....	7
2.1.5. İTP Tanısı.	7
2.1.5.1. İTP Şüphesi Olan Hastalarda Temel Tanısal Yaklaşım.	8
2.1.5.2. İTP Tanısında Faydası Olabilecek Potansiyel Testler.....	9
2.1.6. Sekonder İmmün Trombositopeniler.....	10
2.1.7. Ayırıcı Tanı	10
2.2. İTP’de Tedavi.	12
2.2.1. Yeni Tanı Konulmuş İTP Hastalarında Birinci Basamak Tedavi.	12
2.2.1.1. Kortikosteroid tedavisi.	13
2.2.1.2. Anti-D.....	14
2.2.1.3. İVİg.....	14
2.2.2. İTP ’de İkinci Basamak Tedavi.	15
2.2.2.1. Splenektomi.....	15
2.2.2.2. Rituximab.	16
2.2.2.3. Trombopoietin Reseptör Agonistleri.....	17
2.2.2.4. İkinci Basamakta Diğer Tedaviler.....	17
2.2.3. Refrakter İTP’de Tedavi.....	18
2.2.4. İTP’de Acil Tedavi.....	19
2.3. Helikobakter Piloni ve İTP ilişkisi.....	20
2.4. Vitamin D ve Sellüler İmmunitedeki Yeri.	21
2.5. C-mpl. (Cloned Myeloid Lökemia Virüs)	22

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri.	25
3.2. Etik Kurul Onayı.	26
3.3. İstatiksel Yöntem.....	26
3.4. C-mpl ve Vitamin D Boyamasının Hazırlanması.....	26
4. BULGULAR.	27
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇLAR.....	38
ÖZET.....	39
ABSTRACT.	41
KAYNAKLAR	43

TABLO LİSTESİ

Tablo I. Sekonder trombositopeniler	10
Tablo II. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri.....	27
Tablo III. Hastaların tanı anında, 3. Ay, 6. Ay ve 12. Aydaki Hematolojik verileri	27
Tablo-IV. Hastaların ANA-ASMA-AMA, Hepatit-HIV markerleri, Gaytada Hp antijeni verileri	28
Tablo V. Tanı anı-3.ay, tanı anı-6.ay, tanı anı-12.ay ortalama trombosit sayıları.....	28
Tablo VI. İTP Hastalarında Splenektomi, Refrakterlik ve Aksesuar Dalak ile İlgili Veriler	28
Tablo VII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında c-mpl Boyamasının Derecelerinin Karşılaştırılması.....	29
Tablo VIII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında c-mpl Boyaması Karşılaştırılması.....	29
Tablo IX. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında vitamin D Boyaması Karşılaştırılması.....	29
Tablo X. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında C-mpl Ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması.....	31
Tablo XI. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Splenektomi ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması.....	31
Tablo XII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Refrakterlik ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması.....	31
Tablo XIII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Splenektomi ve c-mpl Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması.....	32
Tablo XIV. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Refrakterlik ve c-mpl Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması.....	32

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. İTP’de epitop yayılması	2
Şekil 2. İTP’de tedavi hedefi olan patojenik süreçler	13
Şekil 3. Trombopoetin ile Aktive Edilen Sinyal Yolları	24
Şekil 4. C-mpl pozitifliği (2+), C-mplx400.....	30
Şekil 5. Vitamin D pozitifliği (1+), Vitamin DX400	30



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMA	Anti mitokondriyal antikor
ANA	Anti nükleer antikor
ASMA	Anti düz kas antikoru
CD4+	Sınıflandırma belirleyici 4 pozitif
DIC	Yaygın damar içi pıhtılaşma
DNA	Deoksiribonükleik asit
Fc γ	Fragman kristalize gamma
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
GpIa/IIa	Glikoprotein Ia/IIa
GpIb/IX	Glikoprotein Ib/IX
GpIIb/IIIa	Glikoprotein IIb/IIIa
GpIV	Glikoprotein IV
GpV	Glikoprotein V
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
HLA-DR	İnsan lökosit antijeni-DR
Hp	Helikobakter pilori
IFN γ	İnterferon gama
IgA	İmmünglobülin A
IgG	İmmünglobülin G
IgM	İmmünglobülin M
IL-1b	İnterlökin-1b
IL-2	İnterlökin-2

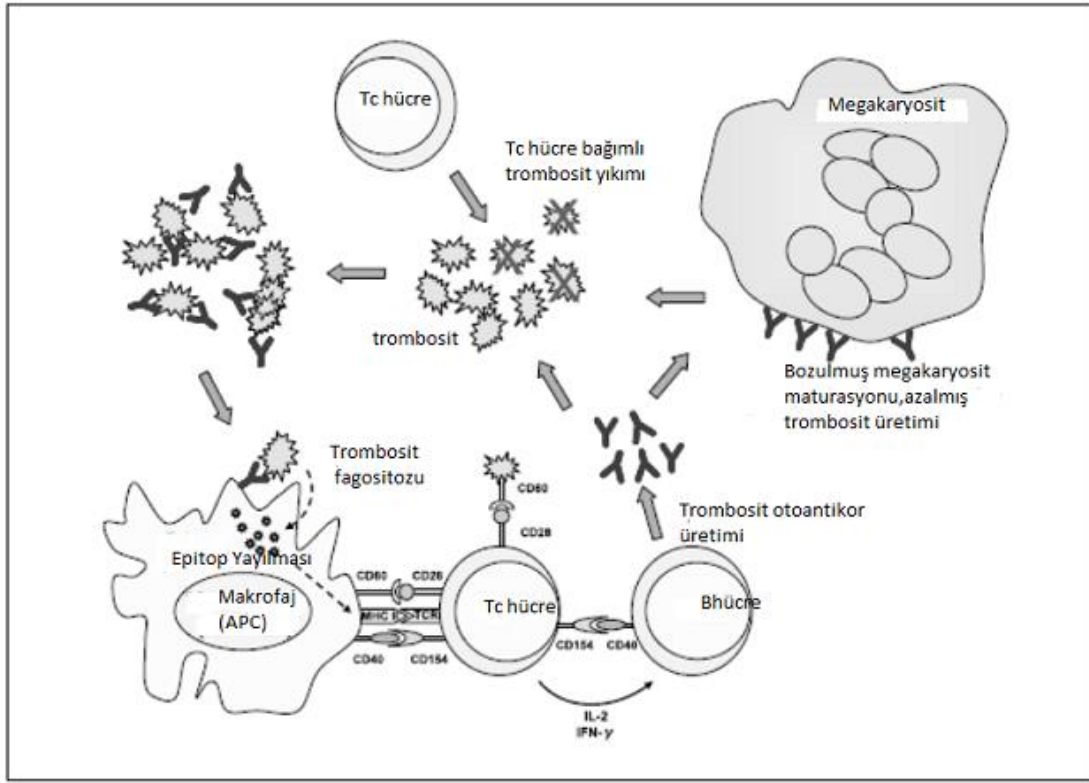
IL-4	İnterlökin-4
IL-5	İnterlökin-5
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-9	İnterlökin-9
IL-10	İnterlökin-10
IL-12	İnterlökin-12
IL-13	İnterlökin-13
I κ B	İnhibitör kappa beta
I κ Bs	İnhibitör kappa beta alt ünitesi
I κ K	İnhibitör kappa beta kinaz
İTP	İmmün trombositopenik purpura
İVİg	İntravenöz immünglobülin
MHC	Spesifik major histokompatibilite kompleks
NF κ B	Nükleer faktör kappa beta
C-MPL	Cloned Myeloid Leukemia Virus
SLE	Sistemik lupus eritematozus
Th1	Yardımcı T Hücresi 1
Th2	Yardımcı T Hücresi 2
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
TNF- β	Tümör nekroz faktör beta

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İmmun Trombositopenik Purpura (İTP) kazanılmış bağışıklık aracılı bir hastalıktır. İzole trombositopeni mevcuttur ve trombosit eşik değeri 100.000/mikrolitredir. Trombositopeniyi başlatacak belirli bir neden yoktur. Purpura hastaların büyük bir kısmında olmadığı için İTP İmmun Trombositopeni'nin kısaltması olarak kabul edilmiştir. 'İdyopatik ' terimi yerine 'primer' terimi kabul edilmiştir. İTP etyolojide rol oynayan faktörlere göre primer ve sekonder İTP olarak iki gruba ayrılmıştır. Sekonder İTP de altta yatan bir etyolojik faktör mevcutken Primer İTP de saptanan bir neden yoktur. İTP'de trombositopeninin patogenezi klasik olarak otoantikorlarla ilişkili olan trombosit yıkım artışı olarak yorumlanmaktadır. Buna rağmen günümüzde hala bozulmuş trombosit üretimi ve T hücre ilişkili olayları içeren bilinenden daha fazla mekanizma olduğu düşünülmektedir.

İTP fazlarına göre sınıflandırıldığında 4 grup oluşmaktadır. Tanıdan itibaren ilk 3 ayı kapsayan grup 'yeni tanı konmuş İTP' , tanıdan itibaren 3-12 aylar arasında sınırlı olup spontan remisyona girmeyen veya tedavi kesildiğinde remisyonda kalamayan grup 'persistan İTP', 12 aydan daha uzun süren grup 'kronik İTP', başvuru sırasında tedavi zorunluluğu gerektiren kanamanın varlığı yada farklı trombosit artırıcı ajanların tedaviye eklenmesi yada tedavi dozunun artırılmasına rağmen yeni kanama bulgularının olduğu grup 'şiddetli İTP' olarak adlandırılır.

Şekil 1'de İTP'nin patofizyolojisinin basit sunumu gösterilmektedir. İTP'de tolerans kaybının primer mekanizması bilinmemektedir. Anti trombosit otoantikorların ortaya çıkması santral patogenik mekanizma olarak açıklanmaktadır. Trombosit glikoproteinleri makrofajlar veya diğer antijen sunan hücreler (APC) tarafından peptidlere parçalanırlar ve Major Histokompatibilite Kompleks (MHC) klas 2 aracılığıyla hücre yüzeyine sunulurlar. T helper hücre yüzeyinde bulunan T Hücre Reseptörü (TCR) MHC klass 2 ile etkileşime girer. Antijen kompleksini tanır ve bir dizi sinyal yolağı başlamış olur. Uyarılan B hücreleri tarafından trombosit otoantikorları üretimi olur ve megakaryosit maturasyonu bozularak trombosit üretimi azalır.



Şekil 1. İTP’de epitop yayılması (1)

Cloned Myeloid Lökemia Virus (c-mpl) tip 1 hematopoetik büyüme faktör reseptör ailesinin bir üyesidir. TPO reseptör olarakta bilinen c-mpl asıl olarak trombosit, megakaryosit ve megakaryosit öncüllerinden sentez edilir. Bu reseptörler normal ve kanserli hücrelerde sinyallerin hücre dışından hücre içine iletiminden sorumludurlar. Büyüme, proliferasyon, sağkalım gibi fonksiyonları vardır. Bu reseptöre ligandın bağlanmasını takiben bir dizi sinyal yolağı aktive olur ve megakaryosit maturasyon ve diferansiyasyonu olumlu yönde etkilenir.

D vitamini’nin aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bazı inflamatuvar hücreler ve sitokinleri üzerinden etki ederek bir çok otoimmün hastalıkta kullanılabilen potent bir immun modülatördür. Vitamin D reseptörleri 38’den daha fazla dokuda yaygın olarak bulunmaktadır. Makrofaj ve dendritik hücreler Vitamin D’nin inflamatuvar yanıtta önemli rol oynamasını sağlayan Vitamin D reseptörleri üretirler.

Çalışmamızda İTP’nin ortaya çıkışında, immun-inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde ve tedavide önemli role sahip olan c-mpl ve vit D’nin etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmmun Trombositopenik Purpura

Purpura mor boya veren bir Akdeniz yumuşakçası olan yunan kökenli porfiri kelimesinden gelmektedir. İTP'nin ilk klasik tanımı 1735 yılında Alman şair Paul Werlhof tarafından yapılmıştır. 1874'e kadar Kanadalı doktor William Osler tarafından kanda dolaşan soluk granül kitleleri çizilip açıklanmasıyla trombositlerin varlığı anlaşılmıştır. 1881'de İtalyan patolog Giulio Bizzozero hemostazda trombositlerin temel rol oynadıklarını tariflemiştir. 1889 yılında ise George Hayem hastalarda trombosit sayısını tespit ederek purpura ve trombositopeni arasında bağlantı olduğunu kanıtlamıştır (2).

İTP prevalansına ilişkin veriler sınırlı olup Kuzey Amerika nüfusuna dayalı olarak türetilmiştir (3). Yetişkin İTP insidansının yaklaşık 1.6-3.9/100000 arasında değiştiği ve bu oranın yaş artışıyla korele olarak arttığı bilinmektedir (4). Tanı almış erişkin İTP hastalarının prevalansı özellikle 18-49 ve 50-64 arası yaş grubunda olmak üzere bayanlarda (59,32/100000) erkeklere (40,66/100000) oranla daha fazladır (5).

2.1.1. İTP'de Terminoloji (6)

İTP'de Etyolojik Değerlendirme

Primer İTP: Tek başına trombositopeni (100.000/mikrolitrenin altı) ile seyreden otoimmün bir hastalıktır. Primer İTP teşhisi bir dışlama tanısıdır, trombositopeni yapan diğer sebeplerin bulunmadığının gösterilmesi gerekir.

Sekonder İTP: Primer İTP dışındaki bütün immün trombositopeniler bu gruptadır.

İTP Evreleri

Yeni Tanı Konmuş İTP: Tanıdan itibaren ilk 3 ayı kapsar.

Persistan (İsrarcı) İTP: Tanıdan itibaren 3-12 aylar arasındadevam eden spontan remisyonagirmeyen veya tedavi kesildiğinde remisyonda kalamayan olguları kapsar.

Kronik İTP: 12 ay veya daha fazla süren İTP olgularını kapsar.

İTP'nin Şiddeti: Basit purpurik lezyonlar dışında klinik olarak anlamlı kanama bulgularının olması durumunda ağır İTP olarak isimlendirilmektedir.

Tedaviye Yanıtın Tanımlanması: Yanıt için mutlaka klinik bulgular da düzelme olması gerekmektedir. Düzelmeyen derecesine göre de yanıt oranları değişir.

Tam Yanıt: Tedavi sonrası trombosit sayısının $>100.000/\text{mikrolitre}$ olmasıdır.

Yanıt: Trombosit sayısının $30.000-100.000/\text{mikrolitre}$ olması ve başlangıç trombosit sayısının en az 2 katına ulaşılmasıdır.

Yanıtsız: Trombosit sayısı $<30.000/\text{mikrolitre}$ olan ve başlangıç trombosit sayısının 2 katına ulaşamamış olgulardır.

Kortikosteroid Bağımlılığı: Trombosit sayısı $>30.000/\text{mikrolitre}$ olması veya kanamanın önlenmesi için devamlı veya aralıklı olarak en az 2 ay kortikosteroid kullanması gereken olgulardır.

Refrakter İTP: Splenektomi uygulanmış vesonrasında trombositopenik seyreden hastalarda kanama bulguları veya tedaviyi gerektirecek klinik koşulların olmasıdır. Splenektomi yapılmamış olgularda refrakter İTP'den söz edilemez.

Bir veya Daha Fazla İlaça Yanıtsız İTP: Splenektomi yapılmamış/ yapılamamış bir İTP hastasında bir çok tedavi şekline (kortikosteroid, İVİg, immunosupresifler v.b.) yanıtsız trombositopeni bulunması olarak tanımlanır.

2.1.2. Patogeneze

Trombosit üretimi yada trombopoezis kök hücrelerinin megakaryositlere farklılaştığı kemik iliğinde meydana gelir. Megakaryosit progenitörleri matur megakaryositlere dönüşürler ve sonuçta kemik iliği sinüzoidlerine trombositler bırakılır. Stabil trombosit sayısı ancak trombosit üretimiyle tüketim ve yıkım hızı eşit olduğunda mümkündür (7). İTP trombosit yıkımı ve bozulmuş trombosit üretimini kapsayan humoral ve hücrel immunitenin kompleks bir işleyişidir (8).

1950'lerin başlarında Dr. William Harrington ve birkaç arkadaşı kronik İTP'li hastaların kanlarını kendilerine enjekte etmişler ve saatler içinde gelişen ve birkaç gün

süren ciddi trombositopeni meydana gelmiş. Daha sonra kanın globulin fraksiyonundaki önemli bir faktörün bu etkiye sebep olduğu bulunmuş (9).

Harker ve Finch trombositleri Krom 51 ile işaretleyerek kaybolma ve üretim oranlarını (turnover) ilk olarak ölçmüşler. Bu teknikle İTP hastalarının trombosit yaşam sürelerinin kontrol grubundaki hastaların trombosit yaşam süresi ile karşılaştırıldığında kısalmış olduğu tespit edilmiş (10).

İTP hastalarında en sık görülen otoantikorların (%75) trombosit yüzey glikoproteinlerinden gpIIb-IIIa ve gpIb-IX'a karşı olduğu görülmüş. Aynı zamanda diğer glikoproteinlere (Ia-IIa, IV, ve V) karşıda antikorlar tespit edilmiş. VanLeeuwen ve arkadaşları 1982 yılında ilk kez kronik İTP'li hastaların antikorlarını Glanzman Trombasteni'li (GpIIb/IIIa bulunmayan hastalar) hastalara verdiklerinde bu hastaların trombositlerine bağlanmadığını göstermişler (11). Böylece çoğu hastada çoklu trombosit antijen spesifikliği tespit edilmiş. Asıl olarak antikorlar IGG alt grubunda olmasına rağmen IGM ve IGA alt tiplerinde de olabilmektedirler (12).

Trombositler yüzey glikoproteinlerine otoantikorlar eklenerek hedef haline gelirler, retiküloendotelyal sistemin doku makrofajları üzerinde eksprese edilen Fc reseptörlerine bağlanırlar ve dolaşımdan temizlenirler. Etiketlenmiş otolog trombositler öncelikli olarak dalak ve karaciğer tarafından alınırlar. Trombosit alımı ve yıkımı sonrasında, makrofajlar yüzeylerinde trombosit epitoplarını eksprese ederler ve bu CD4+ T hücre klonlarını (T helper; Th) aktive eder. Otoreaktif T helper hücreleri ise antikor üreten B hücre aktivasyonu için gereklidirler (7,13).

İTP hastalarında trombositlerin GpIIb-IIIa'larına otoreaktif CD4+T hücreleri tespit edilmiştir. İTP'de T hücrelerinin regülasyon bozukluğunun tetikleyicisi belirsizdir. GpIIb-IIIa'nın doğal formu normalde T hücre yanıtı oluşturmaz, ancak, İTP hastalarında GpIIb-IIIa'ya karşı otoantikorlar ve dolaşımda otoantikor üreten hafıza B hücreleri tespit edilmiştir. Otoreaktif T hücreleri, sağlıklı kişilerde de bulunabilir ancak sadece otoimmün hastalığı olan hastalarda aktif olduğu görülmektedir. Bu durum normalde immun sistemden kaçan self antijenlerin artan konsantrasyonuna bağlı gizli epitop modeliyle açıklanabilir (9,14). Aktive olmuş antijen sunan hücreler GpIIb-IIIa'yı parçalarken diğer trombosit antijenlerinden de epitoplar oluşturarak (GpIb/IX gibi) yüzeylerinde sunmakta ve böylece trombosit antijenlerine spesifik CD4+T hücre klonlarının üretilmesini sağlamaktadır.

Böylece farklı antijenlere spesifik T hücre klonları, farklı antijenlere spesifik B hücre klonlarının aktivasyonuna neden olur. Sonuçta spesifik bir hedef antijenle başlayan immün reaksiyon, diğer trombosit antijenlerine karşı oluşan antikorlarla katlanarak devam eder. Bu durum epitop yayılması şeklinde açıklanmaktadır (14).

İmmün Trombositopenide Sitokinler ve T hücre

İTP hastalığının etyolojisi belirsizdir ancak yaygın olarak kabul gören genetik ve çevresel faktörlerin hastalığın gelişiminde önemli rol oynamasıdır. Primer immünolojik defekt antiplatelet antikorlar salgılayan otoreaktif B lenfositler olarak düşünülsede disfonksiyonel sellüler immunitenin İTP patogeneğinde önemli olduğu kabul edilmektedir (15). Th1 ve Th2 alt grupları arasındaki denge birçok immün yanıtın regülasyonundan sorumludur. Yapılan çalışmalarda İTP de Th sitokin yanıtının Th1 ile bağlantılı olduğu Th2 yanıtında ise azalma olduğu gösterilmiştir (16). İTP hastalarında Th1 sitokinlerinin (IL-2, IFN- γ) mRNA oranları yükselmekte, Th2 sitokinlerinin (IL-4, IL-5) ise azalmaktadır.

Bir çok çalışma Th17 hücrelerinin aktif otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynadığını göstermiştir. Diğer bir taraftan regülatuar T hücreleri (Treg-periferik kandaki CD4⁺ T hücrelerinin %5-%10 kadarını oluştururlar) self toleransta önemli rol oynarlar. Hücrel ve humöral immunitiyi baskılayıp konağı otoimmüniteye karşı korurlar (17). Aktif İTP hastalarında yapılan flowsitometrik analizler IL 17 oranlarının artmış olduğunu göstermiştir. Saitoh ve arkadaşları 102 kronik İTP hastasında yaptıkları genotip analizlerinde İTP'nin IL17F 7488 T aleli ile bağlantılı olduğunu bulmuşlar (18). Bunu biri pediatrik hasta grubunda olmak üzere iki çalışma izlemiştir. İki çalışmada serum/plazma IL17 oranlarının yükseldiğini göstermiştir. Pediatrik grupta yapılan çalışmada IL17 nin plazmada artışının TGF oranlarındaki azalmayla korele olduğu görülmüştür (19).

2.1.3. İTP'de Genetik Faktörler

İTP'nin otoimmün bir hastalık olduğunun bilinmesinden bu yana SLE, romatoidartrit gibi otoimmün özelliklere sahip bazı hastalıklarda genetik faktörlerin yatkınlık oluşturdıkları bilinmesine rağmen otoimmün trombositopenide genetik yatkınlık ile ilgili olarak bilinenler azdır. Öncelikle majör histokompatibilite kompleks genlerinden HLA-A ve HLA-B serisi üzerinde durulmuştur (20).

Yapılan alışmalarda HLA-DRB1*0410 alellerinin prevalansında artış görülmüş olup HLA-DR4 aleli varlığında kortikosteroidlere yanıtın kötü, HLA-DRB1*0410 aleli varlığında kortikosteroidlereyanıtın daha iyi olduğu tespit edilmiş (20,21).

2.1.4. Klinik

Yetişkinlerin %40'a varan kısmında hiç klinik belirti görülmeyebilir yadavakaların çoğu klinik olarak önem arzetmeyecek olan küçük müköz membran kanamalarına (peteşi, purpura, ekimoz, epistaksis) sebebiyet verebilir. Daha nadiren intrakranial hemoraji gibi ciddi kanamalar görülebilir. Bu durum trombosit sayısı özellikle 5.000/mikrolitre'nin altına düştüğünde görülür. İTP hastalarının çoğunluğu trombosit sayısı 50.000/mikrolitre'den fazla olduğu sürece asemptomatiktir.

Trombositopeni tespit edilmeden önce İTP tanımlaması sağlıklı kişilere göre purpura varlığına bakılarak yapıldı. Purpura mor anlamına gelen latin kökenli bir kelimedir (9,22). Purpura dışında fizik muayene bulguları normaldir. Viral infeksiyon sonrası İTP gelişen olguların yaklaşık %10'unda hafif splenomegali saptanabilir, ancak hepatomegali ve lenfadenomegali yoktur. Çocuklarda İTP genellikle kısa ömürlüdür, az üçte ikisi 6 ay içinde kendiliğinden iyileşme eğilimindedir. Erişkinlerde ise kendiliğinden iyileşme nadir görülür genellikle kronik bir seyir gözlenir (22).

2.1.5. İTP Tanısı

İTP insidansı yaklaşık olarak her yıl 100000 de 2,5 kişi olarak belirlenen etyolojisi bilinmeyen, otoantikora bağlı bir otoimmün hastalık olarak düşünülmektedir (23).

Primer ve sekonder olarak iki ana grupta incelenir. Primer İTP bir dışlama tanısıdır. Anamnezde immün trombositopeniden sorumlu olabilecek aşılama, yakın zamanda geçirilmiş infeksiyonlar, tekrarlayan infeksiyon atakları (immün yetersizlik sendromları açısından), kronik hepatit öyküsü, gebelik morbiditesi, otoimmün hastalıklara ait öykü bulunmamalıdır. Sekonder İTP ise primer İTP dışındaki bütün immün trombositopenileri kapsar.

İTP tanısında öykü, fizik muayene, tam kan sayımı, periferik yayma önemli bir yer tutar. Erişkin hastalarda anamnez, fizik muayene, periferik kan incelemesi ve biyokimyasal incelemelerde bir anormallik saptanmadıysa kemik iliği incelemesine gerek yoktur. Ancak tanı sırasında veya izleminde primer İTP ile ilişkilendirilemeyen, başka hematolojik hastalık düşündürecek bulguları olanlarda, mutlaka kemik iliği incelemesi yapılmalıdır. 60 yaşın üstündeki hastalarda veya splenektomi yapılacak olan olgularda kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılabilir (6,24).

2.1.5.1. İTP Şüphesi Olan Hastalarda Temel Tanısal Yaklaşım

Öykü: Hastanın kanama dışında yakınması olmamalıdır. Anamnezde immün trombositopeniden sorumlu olabilecek aşılama, yakın zamanda geçirilmiş infeksiyonlar, tekrarlayan infeksiyon atakları (immün yetersizlik sendromları açısından), kronik hepatit öyküsü, gebelik morbiditesi, otoimmün hastalıklara ait öykü bulunmamalıdır (6,25).

Fizik Muayene: Kanama bulguları dışında normal olmalıdır. Ek bulguların olması (ateş, kilo kaybı, terleme, lenfadenopati gibi) durumunda altta yatan başka bir hastalık (HIV, SLE gibi) araştırılmalıdır (25).

Tam Kan Sayımı: İTP izole trombositopeni ve diğer kan eleman sayımının normalliği ile karakterizedir. Anemi saptanması halinde açıklanabilir bir nedene bağlı olduğu gösterilebilmelidir (6).

Biyokimyasal Analizler: Eritrosit sedimentasyon hızı, böbrek fonksiyonları, karaciğer fonksiyonları, LDH, protrombin zamanı açıklanabilir nedenler dışında normaldir.

Periferik Yaymanın Değerlendirilmesi: Periferik yayma değerlendirmesi İTP tanısında, tecrübeli bir hematolog tarafından yapıldığında her şeyden daha fazla önem arzeder. Böylelikle İTP ile uyumlu olmayan anormallikler gösterilebilir. Trombotik trombositopenik purpurada ve hemolitik üremik sendromda şistositler, kalıtsal trombositopenide aşırı sayıda dev veya küçük trombositlerin olması gibi. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) bağımlı trombosit aglutinasyonu nedeniyle oluşan yalancı trombositopeniyi ekarte etmek için trombosit sayısının otomatik kan sayım cihazından çıkan sonuç ile uyumluluğu mutlaka kontrol edilmelidir. Periferik yaymada trombosit kümelerinin görülmesi psödotrombositopeninin ana karakteristik özelliğidir (25).

Kemik İliği İncelemesi: Erişkin hastalarda anamnez, fizik muayene, periferik kan incelemesi ve biyokimyasal incelemelerde bir anormallik saptanmadıysa kemik iliği incelemesine gerek yoktur. Ancak tanı sırasında veya izleminde primer İTP ile ilişkilendirilemeyen, başka hematolojik hastalık düşündürecek bulguları olanlarda, mutlaka kemik iliği incelemesi yapılmalıdır. 60 yaşın üstündeki hastalarda veya splenektomi yapılacak olan olgularda kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılabilir. Morfolojik değerlendirmeye ek olarak akım sitometrisi ve sitogenetik testlerde yapılmalıdır. Sitometrik inceleme sekonder İTP'li hastaların belirlenmesinde yardımcı olur(26).

Helikobakter Piloni Testi: Helikobakter Piloni testleri enfeksiyon düşündüren gastrointestinal semptomları olan kişilerde önerilmektedir. Çünkü İTP ve H.piloni enfeksiyonu arasında tanımlanmış bir ilişki mevcuttur. Bakterial eradikasyona trombosit cevabı açıklanan birkaç mekanizma sayesinde düşük olarak saptanmıştır (27).

İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV), Hepatit B Virüsü (HBV), Hepatit C Virüsü (HCV): İTP hastalarının tamamını HIV ve Hepatit virüsleri açısından test etmek gerekmektedir çünkü böyle durumlarda trombositopeni ortak bir bulgudur ve altta yatan enfeksiyonun tedavisi ile trombosit sayısında iyileşme sağlanabilir (25).

Kantitatif İmmunglobulin Seviyeleri: Bazal immunglobulin seviyelerinin ölçümü Yaygın değişken immün yetmezlik, selektif IgA eksikliği gibi durumları ortaya çıkarmak açısından önemlidir (25).

Direkt Antiglobulin Testi: Anti-D tedavisi için önem arzemektedir (25)

2.1.5.2. İTP Tanısında Faydalı Olabilecek Potansiyel Testler

İTP düşünülen hastalarda sistemik lupus eritematozus (SLE), antifosfolipid antikor sendromunu düşündüren bulgular varsa antifosfolipid antikorlar (anti kardiyolipin antikor, lupus antikoagulanı), antinükleer antikor (ANA), anti ds-DNA istenmesi faydalı olacaktır. Ayrıca trombositopeni ile ilişkili olabilecek tiroid hastalıkları açısından antitiroid antikorları ve tiroid fonksiyon testleri, gebeliğe bağlı trombositopeniyi ekarte etmek için doğurganlık yaşındaki kadınlarda gebelik testi, enfeksiyona sekonder trombositopeniye yönelik (parvovirüs, sitomegalo virüs) testler yapılabilir (6).

Trombosit glikoproteinlerine özgü antitrombosit antikorlar rutin tarama olarak tavsiye edilmez. Trombosit ilişkili IgG hem immun olmayan trombositopenide yüksek saptanabilir (6).

2.1.6. Sekonder İmmun Trombositopeniler

Primer İTP dışındaki bütün immün trombositopeniler bu gruptadır. Tablo I de sekonder trombositler gruplandırılmıştır.

Tablo I. Sekonder trombositopeniler (6)

1) Otoimmün hastalıklar: SLE, antifosfolipid sendromu v.b.
2) Enfeksiyonlar: Hepatit virüslerine bağlı akut ve kronik enfeksiyonlar (HBV, HCV), HIV
3) İlaçlar
4) Aşılar
5) İmmün yetersizlik sendromları: CVID (Common variable immune deficiency) ve diğer immün yetersizlikler
6) Lenfoproliferatif hastalıklar: Kronik lenfositik lösemi, lenfomalar
7) Solid tümörler
8) Transfüzyon (post-transfüzyon purpura)

2.1.7. Ayırıcı Tanı

Primer İTP tanısı, trombositopeni yapan diğer nedenlerin ekarte edilmesi ile konulur.

Trombositopeni Nedenleri (6)

-Yalancı Trombositopeni: Tam kan sayımında trombositopeni olmasına karşın periferik yaymada trombosit kümelerinin görülmesi durumudur. EDTA'ya bağlı aglütinasyon, trombosit satellitizmi ve GpIIb/IIIa antagonistlerinin kullanılması durumlarında görülebilmektedir.

-Trombosit Yapımının Bozulması:

a. Konjenital Nedenler: Doğumdan itibaren olan hastalıklara bağlı görülmektedir. Örneğin; May Hegglinanomalisi, Fechtner Sendromu, Sebastian Sendromu, Bernard Soulier Sendromu, Ailevi Akdeniz Makrotrombositopenisi, GriTrombosit Sendromu, Tip II-Von Willebrand Hastalığı, AmegakaryositikTrombositopeni.

b. Edinsel Nedenler: Doğumda olmayan sonradan kazanılan kemik iliğini infiltre eden hastalıkların ve diğer bazı hastalıkların seyri esnasında görülebilir. Örneğin miyelodisplastik sendrom, aplastik anemi, kemoterapi, radyoterapi, enfeksiyon hastalıkları (HIV, parvovirus, sitomegalovirus, tüberküloz, brucelloz ve diğerleri) gibi durumlarda görülebilir.

-Trombosit Yıkımının Artması

a.İmmun yıkıma bağlı trombositopeni:

-Otoimmün trombositopeni: Sekonder immün trombositopeni nedenleri (Tablo I)

-Alloimmün trombositopeni: Neonatal trombositopeni ve posttransfüzyon purpura

-İlaça bağlı trombositopeni

b.İmmün olmayan trombosit yıkımı:

-Trombotik mikroanjiopatiler: Trombotik trombositopenik purpura, hemolitik üremik sendrom, gebelikle ilişkili trombotik mikroanjiopati

-Dev hemangiomlarda trombosit yıkımı (Kasabach-Merritt Fenomeni)

-Tüketim koagulopatisi

-Yabancı yüzeylerin trombositleri parçalaması

-Hemofagositoz

-Trombositlerin Anormal Dağılımı

-Hipersplenizm

-Hipotermi

-Masif transfüzyon

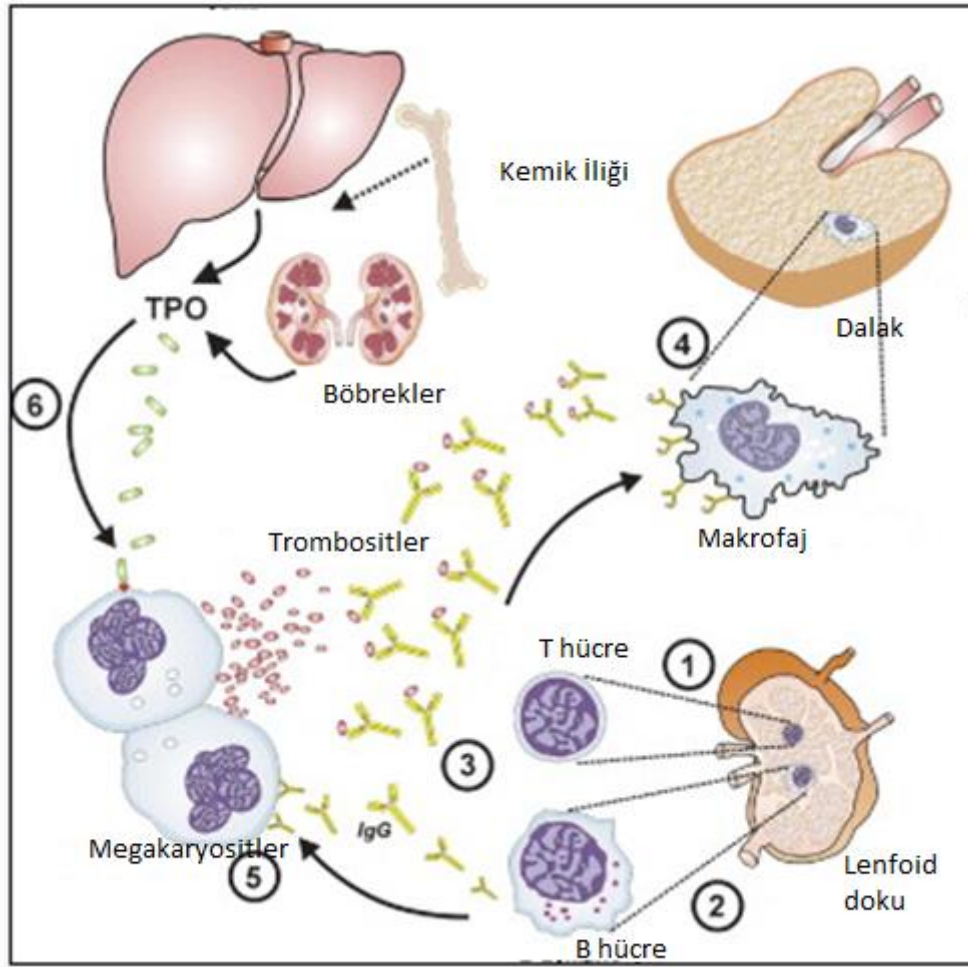
2.2.İTP’de Tedavi

İTP’li hastaların tedavisinde hastanın yaşını, hastalığın şiddetini ve beklentiyi dikkate almak gerekir. Erişikin hastalar, özellikle 60 yaşın üzerindeki, majör yada ölümcül kanamalar için çocuklara oranla daha yüksek insidansa sahiptirler (28). Ancak trombosit sayısı 20.000/mikrolitre’nin altında olmadıkça yada kapsamlı bir kanama olmadıkça spesifik bir tedaviye ihtiyaç yoktur. Aslında şu anda İTP’de tedavi semptomatik ve kanama riski olan hastalarda uygun kabul edilmektedir(29).

İTP’li hastalarda; ileri yaş, yaşam biçimi, mesleki koşullar, kontrolsüz hipertansiyon, daha önceden geçirilmiş kanama öyküsü, gastrointestinal sorunlar (aktif peptik ülser hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi), kafa travması ve diğer travmatik olaylar, cerrahi girişim, doğum, ilaç kullanımı (anti koagulan ilaçlar, antiagregan ilaçlar, steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar, kemoterapötikler, kinin vb.) ve hemostazı bozacak başka sorunların olması (karaciğer sirozu, üremi, koagülasyon bozuklukları v.b.) gibi durumlar kanama riskini artırmaktadırlar (6).

2.2.1. Yeni Tanı Konulmuş İTP Hastalarında Birinci Basamak Tedavi

İTP’de tedavi hedefleri patojenik süreç üzerinden olmaktadır. Şekil 3 te basit bir çizimle patogenezi gösterilmiştir.



Şekil 2. İTP’de tedavi hedefi olan patojenik süreçler (30)

2.2.1.1. Kortikosteroid tedavisi

Kortikosteroidler İTP de fagositik aktiviteyi ve patojenik otoantikor oluşumunu azaltırlar. Optimal kortikosteroid dozu klinik çalışmaları devam etmektedir (30). Kortikosteroidler yeni tanı alan İTP hastalarında tedavinin temelini oluşturur ve tedaviye ihtiyaç duyulan kronik hastalıklarda da denenmelidir. Etkili olmakla birlikte düşük doz prednizon genelde başlangıç tedavisi olarak tavsiye edilmez. Yüksek doz kortikosteroidler, özellikle yüksek doz dexametazon, akut İTP hastalarında standart doz prednizona göre daha dayanıklı trombosit yanıtıyla ilişkilidir. Tekrarlanan döngüler daha efektif olabilir fakat önemli toksisiteler nedeni ile sınırlandırılmıştır. Pulse deksametazonun kronik İTP de bildirilen başarıları çelişkilidir, henüz uzun süreli sağlam yanıtlar genellikle beklenmemektedir (30).

Birinci basamak tedavi olarak metilprednizolon 0,5-2 mg/kg/gün olarak önerilir.3 hafta sonrasında bu tedavi yavaş yavaş azaltılarak kesilmelidir. Çünkü tedavi süresi uzadıkça steroid ile ilişkili komplikasyonların (cushingoid görünüm, hipertansiyon, kan şekerinde yükselme, kiloalmı, sıvıretansiyonu, akne, katarakt, avasküler nekroz, psikoz, peptik yakınmalar gibi) gelişme riski de artmaktadır (6,30).

Birinci basamakta steroid tedavisinde diğer bir yaklaşım yüksek dozda kısa süreli tedavilerdir. Metilprednizolon için 500 mg-1 g/gün, deksametazon için 40 mg/gün/4 gün ayda bir kez;40 mg/gün/4 gün 14 günde bir toplam 4 kez kullanımıdır (6,31). 4 haftanın sonunda tedaviye yanıt alınamamış ise ilaç kesilmelidir.

2.2.1.2. Anti-D:

Yeni tanı almış şiddetli İTP hastalarında prednizolon ve takip eden splenektomi rutinine kıyasla aralıklı anti-D tedavisi ile splenektomi ve majör kanamalarda azalma olabilmektedir (32). Anti-D 50 mg/kg kullanım dozlarında onaylanmıştır fakat 75 mg/kg olan maksimum dozda kullanımında klinik olarak önemli bir hemoliz artışı olmaksızın yanıt sıklığının daha büyük olduğu görülmüştür (33). Anti-D Rh(D) pozitif ve splenektomi yapılmamış hastalarda uygundur. Anti-D daha kısa sürede infüze edilebilir olması, daha küçük bir verici havuzu ile üretilebilir olması ile İVİg'e göre daha efektif bir alternatif olabilmektedir (25).

Bildirilen nadir fakat çok ciddi hatta ölümcül yan etkiler; hemoliz, dissemine intra vasküler koagülasyon ve böbrek yetmezliğidir (65). Tipik olarak etki süresi 3-4 hafta kadar sürmektedir fakat bazı hastalarda aylarca devam ettiği görülmüştür (25).

2.2.1.3. İVİg:

İVİg ile oluşan ilk trombosit yanıtı makrofajFc reseptör mekanizmasını içerecek şekilde retiküloendotelial sistemin geçici blokajı şeklinde olmaktadır. Splenektomi trombosit otoantikör üretiminin ana bölgesini ortadan kaldırmak için aditif etki yapmaktadır (35).

Kortikosteroidlere yanıtızsızlık veya kortikosteroid kullanamayacağımız durumlarda tercih edilebilirler. Geleneksel olarak kullanım dozu 0,3-0,4 g/kg her 3-4 haftada bir şeklindedir. İVİg'in yüksek dozda kullanımı ile özellikle baş ağrısı gibi yan

etkilerine, yüksek dozda meydana gelen toksisitesine ve uzun bir infüzyon süresi (en azından bir kaç saat) gerektirmesine rağmen 1 g/kg (2 gün üzerinde 1-2 infüzyon) dozdaki tedaviler klasik dozda kullanımla karşılaştırıldığında 24 saatte İVİg alıcılarının trombosit düzeyinde artış sağlama olasılığının daha yüksek olduğu tespit edilmiş (25). Nadir fakat ciddi olan toksisite böbrek yetmezliği ve trombozdur. Bazı hastalarda kortikosteroidlerin İVİg yanıtını geliştirdiği görülmüş. Buna ek olarak kortikosteroidlerle birlikte kullanımlarında infüzyon reaksiyonlarında azalma olmakta ve aseptik menenjit önlenmektedir (36).

2.2.2. İTP’de İkinci Basamak Tedavi

İkinci basamakta tedavileri medikal ve cerrahi olarak ikiye ayırabiliriz. Eğer bir kontroendikasyon yoksa öncelikle splenektomi planlanmalıdır (6,25).

2.2.2.1. Splenektomi

Hastaların %80’ i splenektomiye yanıt verir ve bu yanıt %66 ‘sında ek bir tedavi olmadan en az 5 yıl sebat eder (37). Tam tanıt vermeyen hastaların çoğundan kısmi yadage ici yanıt beklenebilir (38). Yaklaşık olarak hastaların %14   yanıt vermez ve yine yaklaşık olarak yanıt verenlerin %20’si haftalar, aylar yada yıllar sonra relaps olabilir (37,38). Splenektomi komplikasyonları kanama, infeksiyon, tromboz, uzamış hospitalizasyon ve ek müdahale gerekliliği için yeniden hastaneye kabul gibi durumları içerir. Bildirilen komplikasyon oranları değişkendir ve gençlere göre 65 yaşın üzerindeki hastalarda daha çok görülür (25).

Görüntüleme teknikleri splenektomili hastaların %12’si kadarında aksesuar dalak dokusu göstermektedir ki bunların çoğunluğu operasyon sırasında çıkarılmıştır. İlk splenektomiye yanıt vermiş hastalarda relaps görülmesi aksesuar dalak için bir değerlendirmeyi akla getirmelidir. Bununla birlikte ilk splenektomiye yanıt vermeyen hastaların daha sonra yanıt vermesi nadirdir (36). Splenektomize hastalar yaşamları boyunca Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis ve Haemophilus influenza’nın kontrolsüz enfeksiyonlarına karşı risk altındadırlar (39). Hastalar genellikle operasyondan tercihen en az 4 hafta önce veya 2 hafta sonra polivalanpn monok, meningokok c konjugatve H. influenza b ye karşı profilaktik olarak aşılanırlar. Sonrasında yaşamları boyunca ülkelerine özgü öneriler doğrultusunda aşılanırlar (40).

Bazı çalışmalarda asplenik hastalara uzun dönem antibiyotik profilaksileri (fenoksimetil penisilin 250-500 mg günde 2 kez yada eritromisin 500 mg günde 2 kez) verilmiş fakat yararları kanıtlanamamıştır. Hastalar splenektomi sonrası enfeksiyonlarda acil servise gitmeyi gerektiren 38 derecenin üzerindeki ateşli durumlar için eğitilmiş olmalı. Buna ek olarak hastalar doktorları uyaracak şekilde asplenik hasta kartları bulundurulmalı (21,41).

2.2.2.2.Rituksimab:

Rituksimab şimerik fare/insan anti-CD20 monoklonal antikorudur. IgG1 kappa immunglobulin antikorudur. Fare hafif ve ağır zincir değişebilen bölgelerini ve insan sabit bölgelerini içerir. Rituksimabın Fab kısmı B lenfositlerdeki CD20 antijenini bağlar ve Fc kısmı B hücre lizisine aracılık eden immunefektör fonksiyonları gerçekleştirir. Böylece otoreaktif b hücre klonları ortadan kalkmış olur (42). Rituximab kortikosteroid, İVİg veya splenektomi sonrası yanıtı olmayan ve kanama riski olan İTP hastalarında kullanılır (6).

Rituksimab ayaktan hastalarda 375 mg/m² haftada bir 4 haftalık süreyle uygulanmaktadır. Başlangıç infüzyonu 50 mg/h olmak üzere toksisite görülmediği takdirde sonrasında infüzyon hızları artırılabilir. 500 mg oral asetaminofen ve 50 mg difenhidramin tüm hastalara premedikasyon olarak verilmektedir (25,42).

Yanıt kriterleri şöyle belirlenmiştir:1) Tam yanıt: trombosit sayısında normal değerlere yükseliş(100000/mikrolitre den fazla) 2) Kısmi yanıt trombosit sayısının 50.000-100.000/mikrolitre arasında olması 3) Minör yanıt: trombosit sayısındaki artışın 50.000/mikrolitre'nin altında olması fakat devam tedavisine ihtiyaç duyulmaması 4)Yanıtsız veya direçli hastalık: trombosit sayısında artışın olmadığı devam tedavisine ihtiyaç duyulan durum 5) Devamli yanıt mevcut durumun en az 6 ay sürmesi olarak kabul edilir. İTP'li hastaların %60'ında yanıt olmakta bunlarında %40' ında tam yanıt olmaktadır. Yanıt genellikle tedavinin 1-8. Haftaları arasında ortaya çıkmaktadır (42,43).

Rituksimab aktif hepatit Benfeksiyon kanıtı olan hastalarda kontroendikedir. Rituksimabın yan etkileri genellikle hafif veya orta derecede düşük enfeksiyon insidansı ile ilişkilidir. Özellikle lenfoması olanlarda ve son zamanlarda sınırlı sayıda SLE 'si olan İTP hastalarında 50 den fazla olguda progresif multifokal lökoensefalopati rituksimab

tedavisiyle bağlantılı olarak bildirilmiştir. Bu durum genellikle ağır immunsupresif olan ve kombine tedavi altında olan hastalarda ortaya çıkma eğilimindedir (44).

2.2.2.3. Trombopoietin Reseptör Agonistleri:

Tedavi seçenekleri içinde immun sistemi modüle etmenin dışında diğer bir seçenek trombosit üretimini stimüle etmektir (45). Trombopoietin (TPO) trombosit üretiminin düzenlenmesinde primer seçenektir ve TPO reseptör agonistleri TPO reseptörlerini aktive ederek trombosit üretimini artırır. İTP de FDA onaylı iki ajan romiplostim ve eltrombopagdır. Romiplostim haftalık 1-10 g/kg subkutan enjeksiyonlar ile uygulanır. Yanıt 1-4 hafta sonra ortaya çıkar (46). Eltrombopag ise oral peptid yapıda olmayan TPO reseptör agonistidir ve günlük 25,50 veya 75 mg dozlarında uygulanır. Yanıt 2. Haftadan sonra ortaya çıkar (47).

Faz 1-3 çalışmalarından elde edilen verilere göre her iki ilacın hem sağlıklı gönüllülerde hemde İTP'li hastalarda trombosit sayısını artırmada son derece etkin olduğu görülmüş (46). Her iki ilaç ile tedavide yan etkiler (baş ağrısı, bulantı, halsizlik) genellikle hafif olmaktadır. Fakat yapılan klinik çalışmalarda romiplostim verilen 271 den fazla hastanın 10 'unda, eltrombopag verilen 117 hastanın 7'sinde kemikte retikülün lif artışı görülmüş. Aynı zamanda eltrombopag ile tedavi edilmiş hastaların %13 ünde karaciğer fonksiyon testlerinde artış görülmüş (48).

2.2.2.4. İkinci Basamakta Diğer Tedaviler

Vinka Alkaloidleri: Vinka alkaloidleri hastaların 3 te 2'sinde 1-3 hafta süren geçici bir trombosit sayı artışı sağlayabilirler. Yaklaşık olarak splenektomize hastaların %50 kadarı vinka alkaloidlerine yanıt verir fakat bu kalıcı değildir. Vinkristin haftada bir 1-2 mg, vinblastin 5-10 mg olarak toplam 4 doz intravenöz uygulanır. Ateş, nötropeni, nöropati ve infüzyon yerinde tromboflebit gelişebilir (6,25).

Danazol: Danazol 200 mg dozunda günde 2-4 kez oral olarak verilen zayıflatılmış androjen preperatıdır. Yanıt oranları %60'tan %67 'ye kadar varmaktadır. Yaşlı bayanlar ve splenektomize hastalarda yanıt en yüksek orana sahiptir.İstenmeyen etkiler olarak akne, amenore, hirsutizm olabilir (6,25).

Azatiyoprin: Günlük 150 mg/gün azatiyopurin ile tedavi edilmiş 40'ı splenektomize 53 hastanın %45' inde tam yanıt bildirilmiştir. Bu yanıt 18 aylık medyan bir süre için tanımlanmıştır. İdame tedavi gerekli olmasına rağmen sıklıkla düşük dozlar yeterlidir. Nötropeni, pankreatit ve karaciğer fonksiyon testlerinde artış görülebilmektedir (6,25).

Siklofosamid: Siklofosamid ile immunsupresyon ister oral (1-2 mg/kg gün en az 16 hafta) ister intravenöz (0,3-1 g/m2 her 2-4 hafta 1-3 dozda) olsun kortikosteroid ve/veya splenektomi direnci olan hastalarda kullanılabilir. Yanıt oranları %24 -%85 arasında değişkendir ve toksisite hafiftir. Buna rağmen İTP ve SLE hastalarında siklofosomid tedavisi sonrasında akut myeloid lösemi gelişimi bildirilmiştir (6,25).

Siklosporin A: İTP hastalarında tekli ajan olarak veya prednizonla birlikte verildiğinde etkilidir. Fakat bazı hastalar için (yaşlı ve renal yetmezliği olanlar) yan etkileri nedeniyle uygunsuz olmaktadır. Birinci basamak tedaviye dirençli hastaların %80' inde klinik gelişme sağlanmış ve %42'sinde tam yanıt elde edilmiştir. Tedaviyi kestikten ortalama 29 hafta sonrasına kadar remisyon stabil olabilmektedir. Yan etkileri çoğunlukla ılımlı ve geçicidir. Halsizlik, renal yetmezlik, hipertansiyon ve nöropati bunlar arasındadır (6,25).

Dapson: Oral olarak 75-100 mg/gün dozlarında uygulanır. Birinci basamak kortikosteroid tedavisine yanıtız hastalarda splenektomiyi 32 ay süreyle geciktirebilir. Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz eksikliği riski olan erkek hastalar tedaviye başlanmadan önce taranmalı, hemoliz ve methemoglobinemi açısından monitörize edilmelidirler (6,25).

Mikofenolat mofetil: Bazı İTP hastalarında faydalı olduğu gösterilen bir antiproliferatif immunsupresandır. Progresif olarak artırılan dozlarda (250mg dan optimal 1000mg/gün'e kadar haftada 2 gün 3 hafta boyunca) kullanımında refrakter İTP' li hastaların %39'unda trombosit artışı sağlanmakta fakat devamlı olmamaktadır (6,28). Yan etkiler baş ağrısı, bulantı, iştahsızlık, karında şişkinliktir (6) .

2.2.3. Refrakter İTP'de Tedavi

Refrakter İTP ciddi bir klinik sorundur. Bu hastaların yönetimi için açıklanmış başarılı tedavi önerileri mevcut değildir. Refrakter İTP tanımı zamanla gelişmiştir. Uzun

zaman önce bu hastalar persistan trombositopeni, tekrarlayan şiddetli trombositopeni, yüksek trombosit sayısı olmasına rağmen kanama semptomları olması veya trombositopeninin ilerlemesi açısından yüksek riske sahip olması nedeniyle devamlı immunsupresif tedaviye ihtiyacı olan hastalar olarak tanımlanmaktaydı (49).

Tedavide zorlanılan bu hasta grubunda seçenekler sınırlıdır. Bir çok faktör göz önüne alınarak tedavi kişiselleştirilmelidir. Tedavide amaç en az yan etki ile klinik olarak anlamlı kanamaları önleyecek yeterli trombosit sayısına ulaşmaktır (50). Bahsedilen birinci ve ikinci basamak tedavilere ek olarak uygulanabilecek bazı tedaviler mevcuttur. Bunların dışında kanama bulgularını azaltarak yaşam kalitesini artıran destek tedavilerinden yararlanmak önemlidir.

Kombine kemoterapi: Siklofosamid, prednizon, vinkristin, etoposid ve azatiyoprinin farklı dozlarda çeşitli kombinasyonları denenebilir (51).

Hematopoietik kök hücre nakli: Kullanımı oldukça sınırlıdır. Yalnızca diğer tedavilere yanıt vermeyen hayatı tehdit eden kanaması olan hastalarda önerilir. Otolog veya allojenik olarak yapılabilir. Nötropenik ateş,sepsis,beyin kanaması gibi ölümcül yan etkileri mevcuttur (51).

Campath-1H: Bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisi çok şiddetli olan alternatif bir tedavi seçeneğidir. Yaşamı tehdit eden enfeksiyon riski nedeniyle uzun süreli antifungal, antibakterial ve antiviral profilaksi gereklidir (6,51).

2.2.4. İTP’de Acil Tedavi

Cerrahi işlem gerektiren, yüksek kanama riski olan, santral sinir sistemi,gastrointestinal sistem veya genitoüriner sistemde aktif kanaması olan bazı trombositopenik hastalarda acil trombosit artışı gerekebilir (6,25). Acil durumlar için kortikosteroidlerin İVİg veya anti-D ile değişimi faydalı olmasına rağmen kontrolsüz kanamalı hastalarda birinci basamak tedavilerin kombinasyonu (prednizon ve İVİg) acil tedavi olarak önerilmektedir. Yüksek doz metilprednizolon da faydalı olabilmektedir (25).

Hızlı sonuç veren diğer tedaviler trombosit transfüzyonu ve acil splenektomidir. Yaşamı tehdit eden kanamalar dışında İTP hastalarında trombosit süspanسیونlarının tek başına kullanılması trombositlerin hızla parçalanmasına neden

olacağından doğru değildir. Transfüze edilen trombositlerin yaşam süresini atırmak amaçlı İVİg ve/veya pulse kortikosteroid uygulamasından sonra trombosit transfüzyonu uygun olacaktır. Vinka alkaloidleri ile ilgili olarak hızlı yanıt verdiğine dair bazı kanıtlar mevcuttur (6,52).

Diğer bir seçenek antifibrinolitik ajanlardır. Şiddetli trombositopenisi olan İTP hastalarında aralıklı kanamaları önlemek için oral veya iv traneksamik asit ve epsilon aminokaproik asit randomize çalışmalar tarafından değerlendirilmemiş olmasına rağmen önerilmektedir (25). Plazmaferez İTP hastalarında küçük gruplarda çalışılmıştır. Kronik İTP' li hiçbir hastada yanıt alınamamıştır (25).

2.3.Helikobakter Piloni ve İTP İlişkisi

H.piloni ve immün trombositopeni arasındaki bağlantı yapılan çalışmalarda H.piloni eradikasyonunu takiben hastalarda trombosit sayısı yanıtının yaklaşık olarak %50 olmasıyla gösterilmiştir (54,55). İTP ile Hp arasındaki ilişki ilk kez Gasbarini tarafından tanımlanmıştır (56).

H.piloni insan midesinde kolonize olan gram negatif mikroaerofilik ortakçı bir bakteridir. Aktif kronik gastrit, peptik ülser, adenokarsinom ve mukoza ilişkili lenfoma gelişiminde etken olarak bilinmektedir (54). Hp negatif kontrol grubu hastalarında yapılan çalışmalarda etkinin tedavinin kendisine değilde Hp eradikasyonuna bağlı olduğu görülmüştür (56).

İTP ve Hp arasındaki ilişki çok çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır. Bunlardan biri Hp'ye karşı gelişen antikorlardan özellikle CagA proteinine karşı gelişenlerin trombosit antijenleriyle çapraz reaksiyon vermesidir. Bu durum trombosit yıkım hızında artışa neden olur (58). Diğer bir mekanizma ise Hp ile kolonizasyonu takiben konak immunitesindeki modülasyonlardır. Otoreaktif B-1 hücrelerinde artış ve monositlerin fagositoz kapasitesinde artış olmaktadır (59). Hp tedavisinde kullanılan klaritromisin içeren makrolid grubu antibiyotikler eradikasyon tedavisinden bağımsız olarak İTP hastalarında trombosit otoreaktivitesinin gelişmesine neden olan proinflamatuvar sitokinlerin üretimini bloke ederler. Ayrıca kullanılan antimikrobiyaller trombosit antikorlarıyla çapraz reaksiyon veren ortakçı bakterileri eradike edebilirler (60).

CagA pozitif suşların varlığından beri Hp tedavi etkinliği ülkeler arasında çeşitlilik göstermektedir. Örneğin Japonya ve İtalya’da CagA pozitif Hp suşları prevelansının Kuzey Amerikadan daha fazla olduğu bilinmektedir (55,56).

Ampirik Hp eradikasyon tedavisi basit ve düşük toksisiteli olmasına rağmen veriler sadece Hp pozitif hastaların tedavi edilmesini önermektedir. Japonya gibi yüksek prevelansı olan ülkelerde Hp için rutin tarama yapılmaktadır (61). Antibiyoterapi tamamlandıktan sonra hastalar eradikasyon sağlanıp sağlanmadığının kontrolü açısından üre nefes testi, gayta testi ile bakterinin eradike edilip edilmediği kontrol edilmelidir (62).

2.4. Vitamin D ve Sellüler İmmunitedeki Yeri

Vitamin D bazı yiyecekler ve ek ürünlerle alınabilir yada Ultraviole B’ ye maruz kalan cilt tarafından 7-dehrokolesterolden üretilir. Previtamin D elde edildikten sonra karaciğerde hidroksillenerek hidroksivitamin D (25(OH)D) oluşmaktadır. Bir sonraki hidroksilasyonda böbrekte olmakta ve bağırsaklardan kalsiyum emilimini sağlayan aktif form olan 1,25-dihidroksivitamin D (1,25(OH)2D) oluşmaktadır. VitaminD’nin klasik rolü kalsiyum regülasyonunun sağlanmasıdır (63).

Yapılan çalışmalarda 1,25-dihidroksivitamin D3 (1,25(OH)2D3)’ün, bir çok otoimmün hastalıkta kullanılabilen potent bir immunomodülatör olabileceği gösterilmiştir. Bazı inflamatuvar hücreler ve sitokinleri üzerinden bu etkilerini gösterebilmektedir. Araştırmacıların önerisi 1,25(OH)2D3 ‘ün hedefinin CD4+T hücreleri olduğunu göstermekte ve etkilerini T-hücre proliferasyonunun ve aktivasyonunun inhibisyonu ile yapmaktadır (64).

Diğer çalışmalar Vitamin D’nin inflamatuvar T hücre aktivitesini suprese edecek şekilde Transforming Growth Faktör (TGF)-B1 ve IL-4 üretimini stimüle ettiğini göstermektedir (65,66). TGF-β1 T hücre diferansiyasyonunu direk etkiler ve immunsupresyon gözlenmesiyle sonuçlanan FoxP3 transkripsiyon yolağıyla T regülatuar hücre üretimini destekler (67).

Vitamin D reseptörleri 38’den daha fazla dokuda yaygın olarak bulunmaktadır. Makrofaj ve dendritik hücreler Vitamin D’nin inflamatuvar yanıtta önemli rol oynamasını sağlayan Vitamin D reseptörleri üretirler (68). 1991 de araştırmacılar hücre kültürlerinde

IL-6 ve IL-2' nin üretiminin 1,25(OH)2D3 tarafından azaltıldığını bulmuşlar. 1,25(OH)2D3 'ün IL-6 üretimi ve fonksiyonlarını azalttığını ve bu yüzden lenfositregülasyonunu düzenlediğini öne sürmektedir. VDR'lerin aktivasyonu ile immün hücre transkripsiyonel paternleri değişir. CD4+ ve CD8+ lenfositlerin her ikisinin de proliferasyon ve diferansiyasyonu çeşitli intrasellüler yollarla değişir (64,68).

VDR'lerin aktivasyonu B hücrelerinden IgE ekspresyonunu inhibe ederken atopik durumlara karşı koruyuculuğu çalışmalarla gösterilmiş olan IL-10 ekspresyonunu güçlendirir. VDR'lerin yokluğu farelerde hava yollarında hiperaktiviteyle sonuçlanmıştır (2). Bir çalışmanın sonucunda VDR'nin T hücrelerinin bağırsaklara yerleşmesine aracılık ettiği görülmüş. Deneysel fare modellerinde VDR olmayanlarda IL-10 oranlarının azaldığı, inflamatuvar yanıtın arttığı ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarına eğilimin arttığı görülmüş (43,64,68).

1,25(OH)2D3 hem insan hem fare T hücreleri üzerinde IL-17A üzerinde direk baskılayıcı etkiye sahiptir. 1,25(OH)2D3'ün VDR ile bağlantılı olarak IL-17A ekspresyonunu baskılamasının transkripsiyonel bir baskılama olduğu bulunmuştur(66,69). Ligand bağlı VDR heterodimerleri ile retinoid X reseptörleri koregülatuvar proteinlerle birlikte hedef genlerin promoter bölgelerinde bulunan spesifik DNA sekanslarını (vitamin D yanıt elementleri VDREs) etkiler ve transkripsiyonlarını modüle eder(19,69). Bu çalışmalar otoimmün hastalık şiddetindeki azalmanın 1,25(OH)2D3 ile bağlantılı IL-17A sekresyonundaki azalma ile olduğunu göstermiştir (66,69).

2.5.C-MPL(Cloned Myeloid Lökemia Virus)

C-mpl tip 1 hematopoetik büyüme faktör reseptör ailesinin bir üyesidir (36). C-mpl geni 12 adet ekzon içerir ve hematopoetik sitokin reseptör ailesinin diğer üyeleri gibi düzenlenir (70).

Bu reseptörler normal ve kanserli hücrelerde sinyallerin hücre dışından hücre içine iletiminden sorumludurlar. Büyüme, proliferasyon, sağkalım gibi fonksiyonları vardır. Ekstra sellüler domain, transmembran domain ve intrasellüler domain olmak üzere 3 bölüm şeklindedirler. Ekstrasellüler domain ligand bağlamakta, İntrasellüler domain ise tirozinkinaz aktivitesine sahiptir ve downstream sinyal yolunu aktive etmektedir.

Reseptörüne bir ligandın bağlanması HER sinyal yolunda ilk basamağı oluşturmaktadır (71).

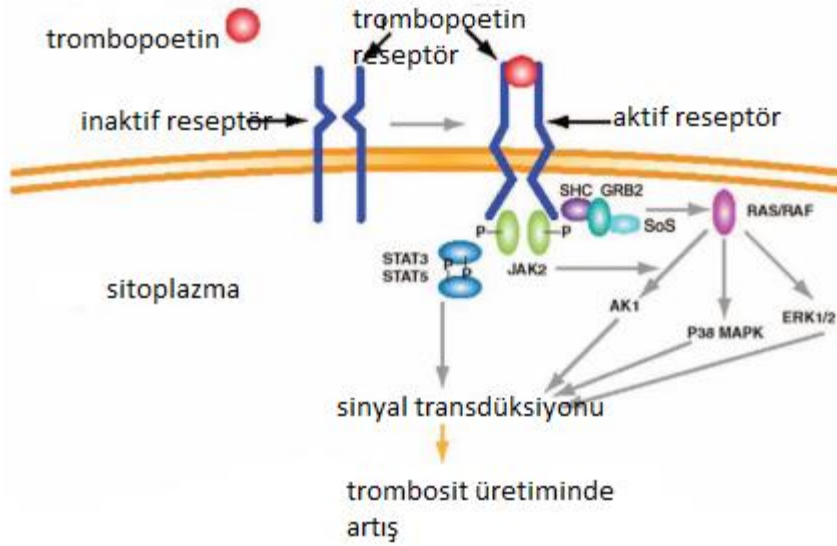
Ligandın bağlanmasıyla reseptörde konformasyonel değişiklik meydana gelmektedir. Reseptördeki bu değişim dimerizasyon olarak adlandırılan başka bir HER aile reseptörü ile birleşmesi ile sonuçlanmaktadır. Daha sonra dimerize resptörlerinin transsellüler tirozinkinaz domainleri transfosforilasyon ile aktive olmaktadır. Tirozinkinaz domainlerinin aktivasyonu birbirini takip eden sellüler sinyal yollarını indüklemektedir. Ligand bağlandıktan sonra reseptörün konformasyonu açık pozisyonundan kapalı pozisyona geçmektedir. Ligand bağlamayan HER2 reseptörü açık konformasyonda bulunmaktadır. Açık konformasyondaki bir HER aile reseptörü dimerizasyon için veya başka bir HER aile reseptörü ile heterodimerizasyona hazırdır. Dimerizasyondan sonra reseptörler biri diğerine yakınlığından kolaylıkla birbirlerini transaktive edebilirler. Transaktivasyonda 2 reseptörün intrasellüler TK domainleri fosforlanmaktadır. Transaktivasyon diğer proteinlerin bağlanmasını indüklemekte ve downstream sellüler sinyal proteinlerini aktive etmektedir. Ligand-reseptör kompleksi oluştuğu zaman, hücre yüzeyinde kümelenmektedir. Bu kümelenme oyuk oluşturarak endozom içine geçmektedir. Endozom içinde;ligand HER aile reseptöründen ayrılarak hücre yüzeyine tekrar geçebilir yada yıkım için hedef olabilir (70,71).

Megakaryopoez hematopoetik kök hücrelerden trombosit üretimini gerçekleştiren proliferasyon, diferansiyasyon ve maturasyon süreçlerini içeren çok basamaklı bir süreçtir. Nükleusu olmayan kan bileşenleri olan trombositler hemostatik süreçte temel bir role sahiptir. Sitokin ve kemokinlerin karmaşık ağı megakaryopoezin tüm farklı aşamalarını kontrol eder ve düzenler (72).

Megakaryosit proliferasyon ve maturasyonunda en az iki büyüme faktörü gereklidir. Biri megakaryosit progenitörlerinin proliferasyon ve diferansiyasyonunu sağlayan megaryosit koloni stimüle edici faktör(MK-CSF) diğeri ise megakaryosit maturasyon faktörü olan trombopoetindir. C-mpl olarak kodlanan reseptör megakaryosit homeostazında humoral rol alan bir ligand (C-mpl ligand) bağlar. c-Mpl ligand, trombopoetin, MK-CSF nin aynı moleküller olabileceği düşünülmektedir (73,74).

Şekil 4 te trombopoetin ile aktive edilen sinyal yolları görülmektedir. C-MPL burada aktive formda (fosforile form)görülmemektedir.Ligandın reseptörüne

bağlanmasıyla birbirini izleyen kaskadlar şeklinde antiapoptatik ve proliferatif sinyal moleküllerinin oluşmasına neden olan yolak başlar (bcl-x gibi) .



Şekil 3. Trombopoetin ile Aktive Edilen Sinyal Yolları (75)

TPO/c-mpl etkileşimi sadece megakaryosit maturasyon ve diferansiyasyonunu etkilemez, aynı zamanda TPO serum düzeyini ve c-mpl yüzey ekspresyonunuda düzenler (76). İTP’inde içinde bulunduğu farklı etyolojilere bağlı trombositopenilerde yapılan bir çalışmada c-mpl ve trombopoetin düzeyleri normal kişilerle karşılaştırılmış. Trombopoetin ve c-mpl’nin her ikisinde de kontrol gruplarına göre artış sağlandığı gözlenmiş. Ayrıca bu İTP’ li hasta grubunda istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuş (77).

Kongenital amegakaryositik trombositopenili bir hastada yapılan çalışmada serum trombopoetin düzeylerinin yüksek olduğu ve invitro megakaryosit kültürlerinde TPO uyarısına yanıt alınamadığı saptanmış. Etiyolojinin her iki c-mpl alelindeki germline mutasyonlara bağlı olduğu görülmüş (76,77). MDS ‘li hastalarda yapılan bir çalışmada normal bireylerle karşılaştırıldığında trombosit başına daha az TPO-R olduğu görülmüş (78).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri

Bu çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğine ve acil servise başvuran 18 yaş ve üzeri primer İTP tanılı olan tedavi almış ve/veya almamış 95 İTP hastası alındı. Kontrol grubu olarak aynı yaş grubunda kemik iliği tutulumu bulunmayan 35 lenfoma hastası alındı. Özellikleri belirtilen hasta ve kontrol grubunda bulunan hastaların mevcut bilgilerine Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi arşivinde bulunan dosyalardan ulaşıldı. Hasta grubundan tanı ve tedavi sırasında alınmış olan hemogram, biyokimyasal veriler, hepatit markerleri, HIV markeri, anti nükleer antikor (ANA), anti mitokondriyal antikor (AMA), anti düz kas antikor (ASMA), gaytada bakılmış olan Hp antijeni sonuçlarına hasta dosyaları taranarak ulaşıldı.

Hasta grubu için dışlanma ölçütleri;

1. Akut ve kronik enfeksiyonlar
2. Kronik inflamatuvar hastalık
3. İmmün yetersizlik
4. Diyabetes mellitus
5. Otoimmün hastalıklar
6. Hematolojik maligniteler
7. Solid tümörler

Kontrol grubu için dışlanma ölçütleri;

1. Akut ve kronik enfeksiyonlar
2. Kronik inflamatuvar hastalık
3. İmmün yetersizlik
4. Diyabetes mellitus
5. Otoimmün hastalıklar
6. Kemik iliği tutulumu olması
7. Solid tümörler

3.2. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Etik Kurulundan (Sayı:14083461/050.04-212, karar 1, protokol no:2014/425) onay alındı.

3.3. İstatiksel Yöntem

Çalışmada nitel değişkenler arasındaki farklılık olup olmaması Ki kare analizi ile araştırıldı. Nitel değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri n(%) şeklinde verildi. $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. (SPSS 18 versiyonu kullanıldı).

3.4. C-MPL ve Vitamin D Boyamasının Hazırlanması

Olguların blokları Leica rotary mikrotomda 4 mikron kalınlığında kesildi ve elde edilen yeni kesitlerde c-mpl ve vitamin D ekspresyonu İHK'sal olarak araştırıldı. İmmün histokimyasal boyama Avidin-Biotin kompleks sistemi (ABC) kullanılarak yapıldı. İmmün histokimyasal yöntem için bloklardan hazırlanan kesitler poly-L-lysin (MicroSlides Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond, IL, USA) kaplı lamlara alınarak bir gece 37 derecelik etüvde bekletildi. Kesitlere İHK'sal c-mpl(santacruz/sc-13187) ve Vitamin D (atlas/sc-32899) boyaları uygulandı. İmmün histokimyasal c-mpl ve vitamin D ile megakaryositlerde sitoplazmik ve/veya nükleer boyanma gözlemlendi. Değerlendirme boyanmanın yoğunluğuna göre; negatif (0), zayıf (1+), orta (2+) ve güçlü (3+) olarak yapıldı (77,79).

4. BULGULAR

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğine ve acil servise başvuran, 18 yaş ve üzeri primer İTP tanılı olan tedavi almış ve/veya almamış 95 hasta (58 kadın ve 37 erkek, yaş ortalaması 51,3) ve kontrol grubu olarak kemik iliği tutulumu olmayan 35 lenfoma hastası (11 kadın, 24 erkek, yaş ortalaması 58) alındı. Çalışmamız retrospektif bir çalışma olduğu için hasta ve kontrol grubunun bilgilerine Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi arşivinde bulunan dosya kayıtlarından ulaşıldı. Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri Tablo II de verildi.

Tablo II. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

	Kadın (n)	Erkek(n)	Yaş ortalaması	Toplam
İTP (n)	58	37	51,3	95
Lenfoma (n)	11	24	58	35
Toplam (n)	69	61		130

Çalışmaya alınan İTP'li hastaların tanı anındaki başlangıç hematolojik verilerine, takipleri sırasında 3. ay, 6. ay, 12. aydaki hematolojik parametrelerine (Tablo-III) ve ve tanı anında ANA, ASMA, AMA, hepatit markerleri, anti-HIV, gaytada Hp antijeni (Tablo-IV) bakıldı.

Tablo III. Hastaların tanı anında, 3. Ay, 6. Ay ve 12. Aydaki Hematolojik verileri

	Tanı Anında	3. ay	6. ay	12. ay
Hemoglobin (g/dl)	12,14 ± 2,03	12,73 ± 1,63	13,80 ± 11,31	12,48 ± 1,65
Hematokrit (%)	37,18 ± 5,38	39,03 ± 4,45	38,04 ± 4,74	38,10 ± 4,53
Lökosit (/µL)	7881,38 ± 3327,06	9680,93 ± 4083,67	9288,96 ± 4775,46	8208,47 ± 3071,42
Trombosit (/µL)	9556,92 ± 12636,22	157662,79 ± 134984,49	155948,05 ± 119734,67	104223,33 ± 122076,30
MPV (fL)	9,64 ± 2,19	10,05 ± 2,27	10,42 ± 2,15	10,83 ± 2,39

Tablo-IV: Hastaların ANA-ASMA-AMA, Hepatit-HIV markerleri, Gaytada Hp antijeni verileri

	ANA	AMA	ASMA	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HCV	Anti-HIV	Gaytada Hp antijeni
Pozitif (n)	12	3	0	2	23	1	0	18
Negatif (n)	54	74	76	83	61	84	86	43
Çalışılmamış(n)	19	19	19	10	11	10	9	34
Toplam (n)	95	95	95	95	95	95	95	95

Hastaların takipleri sırasında tedavi alan/almayan hastalar dahil olmak üzere tanı anı-3. ay, tanı anı-6. ay ve tanı anı-12. aydaki ortalama trombosit sayıları karşılaştırıldı, her 3 karşılaştırmada da anlamlı farklılık olduğu ($p<0,001$) ve trombosit sayılarında artış olduğu gözlemlendi (Tablo V).

TabloV. Tanı anı-3.ay, tanı anı-6.ay, tanı anı-12.ay ortalama trombosit sayıları

	Ortalama Trombosit Sayısı (/ μ L)	P değeri
Tanı Anı 3. Ay	35000(7000-149700) 123500(42750-253500)	<0,001
Tanı Anı 6. Ay	35000(7000-149700) 128000(42500-242000)	<0,001
Tanı Anı 12. Ay	35000(7000-149700) 56000(14000-120000)	<0,001

Tablo VI’de çalışmaya aldığımız 86 hastanın splenektomi, aksesuar dalak ve refrakter olma durumları ile ilgili veriler gösterildi.

Tablo VI. İTP Hastalarında Splenektomi, Refrakterlik ve Aksesuar Dalak ile İlgili Veriler

	Splenektomi	Refrakter	Aksesuar Dalak
Evet (n)	38	13	8
Hayır (n)	55	80	55
Bilinmiyor (n)	2	2	31
Toplam (n)	95	95	95

95 İTP hastasının 61'inde yapılan kemik iliği örneklerinde ve kontrol grubunda bulunan 35 olgunun 30'unda yapılan kemik iliği örneklerinde c-mpl ve vitamin D boyaması yapıldı. Boyanma paternine göre örnekler pozitif ve negatif olarak ayrıldı(şekil 4 ve5). Ek olarak c-mpl için boyanma paterni boya alma derecelerine göre 1+ pozitif 2+pozitif ve 3+pozitif olarak derecelendirildi. Boyanma paterninin pozitif boyanmalar içerisindeki oranı da incelendi. Anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Ve İTP hastalarının kemik iliği örneklerinde c-mpl boyamasının ve vitamin D boyamasının anlamlı sonuç vermediği görüldü (Tablo VII).

Tablo VII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında c-mpl Boyamasının Derecelerinin Karşılaştırılması

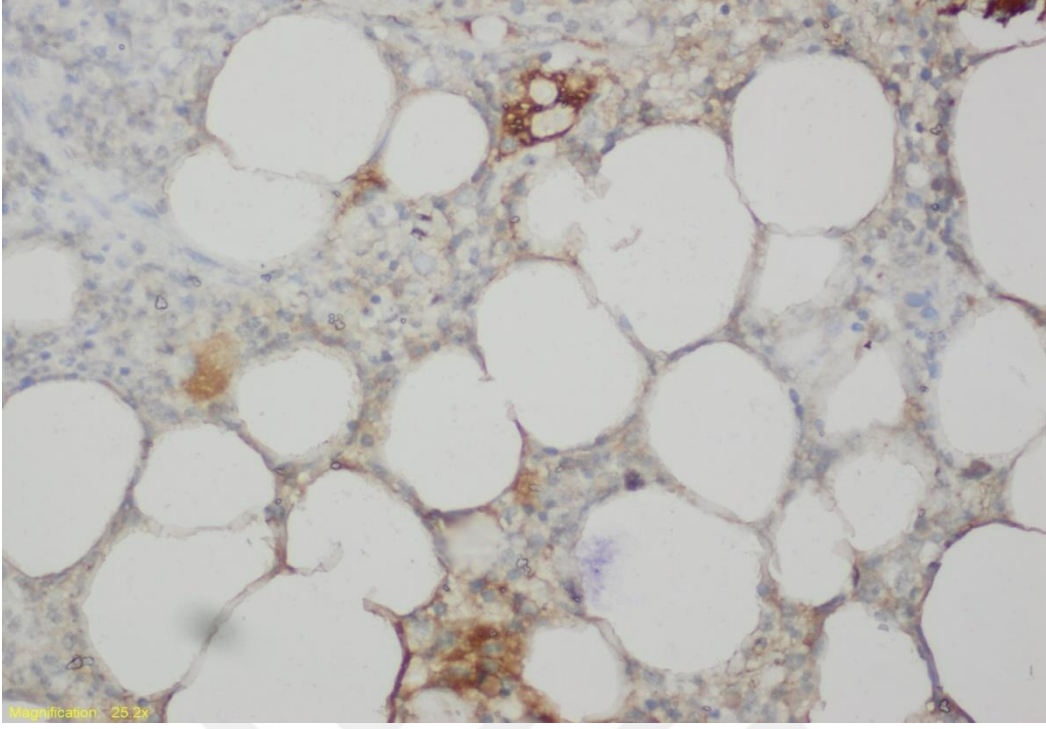
	İTP Hastaları(n)	Kontrol Grubu(n)	P Değeri
Negatif	43	25	0,740
1+Pozitif	10	4	
2+Pozitif	1	-	
3+Pozitif	2	-	
Bakılmamış	39	6	
Toplam	95	35	

Tablo VIII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında c-mpl Boyaması Karşılaştırılması

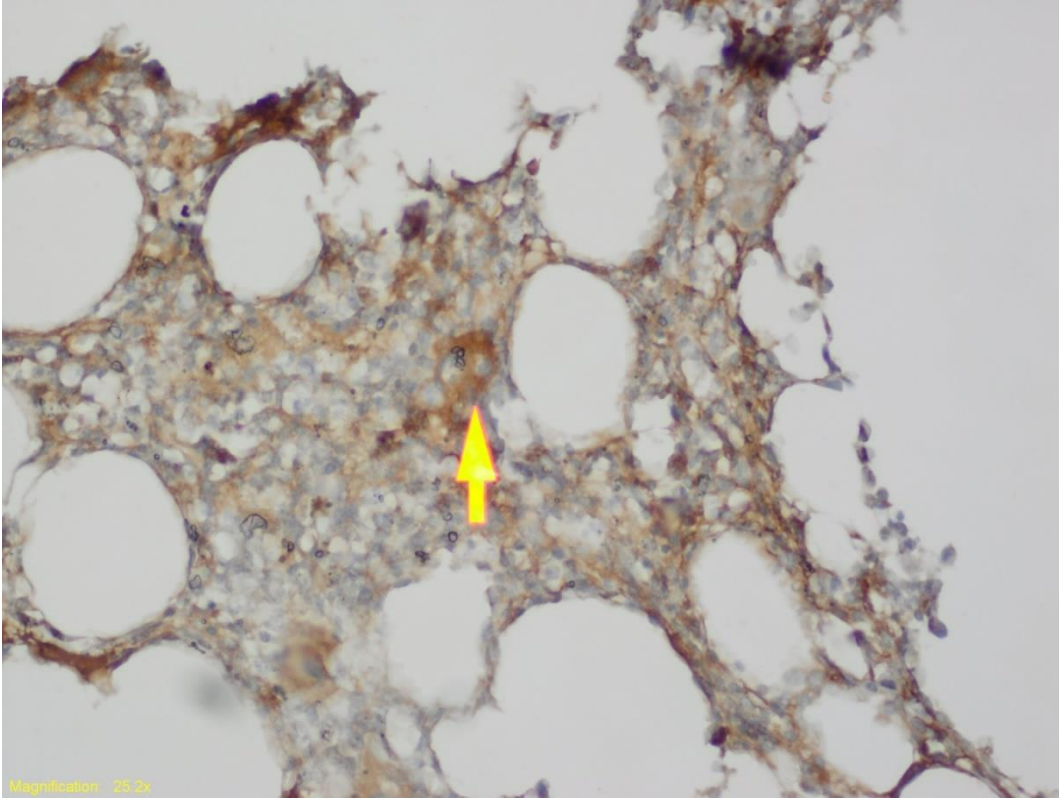
	İTP Hastaları(n)	Kontrol Grubu(n)	P Değeri
Negatif	43	25	0,457
Pozitif	13	4	
Bakılmamış	39	6	
Toplam	95	35	

Tablo IX. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında vitamin D Boyaması Karşılaştırılması

	İTP Hastaları(n)	Kontrol Grubu(n)	P Değeri
Negatif	34	20	0,835
Pozitif	21	10	
Bakılmamış	40	5	
Toplam	95	35	



Şekil 4. C-mpl pozitifliği (2+), C-mplx400



Şekil 5. Vitamin D pozitifliği (1+), Vitamin DX400

Tablo X’de C-mpl ve D vitamini arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. Anlamlı bir sonuç elde edilemedi.

Tablo X. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında C-mpl Ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması

	D Vitamin Pozitif(n)	D Vitamin Negatif(n)	P Değeri
c-mpl pozitif (n)	3	13	0,145
c-mpl negatif (n)	24	39	
Toplam (n)	27	52	

Hasta ve kontrol grupları arasında D vitamini ve splenektomi ilişkisini ve D vitamini ve refrakterlik ilişkisini karşılaştırdık (Tablo XI). Anlamlı bir sonuç elde edemedik.

Tablo XI. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Splenektomi ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması

	D Vitamin Pozitif(n)	D Vitamin Negatif(n)	P Değeri
Splenektomi Yapılmış (n)	10	14	0,823
Splenektomi Yapılmamış (n)	10	19	
Toplam (n)	20	33	

Tablo XII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Refrakterlik ve Vitamin D Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması

	D Vitamin Pozitif(n)	D Vitamin Negatif(n)	P Değeri
Refrakter Olan (n)	3	3	0,528
Refrakter Olmayan (n)	17	31	
Toplam (n)	20	34	

Hasta ve kontrol grupları arasında c-mpl ve splenektomi ilişkisini ve c-mpl ve refrakterlik ilişkisini karşılaştırdık. C-mpl ve splenektomi kolunda p değeri<0,001 olarak geldi ve anlamlı kabul edildi. C-mpl ve refrakterlik kolunda ise anlamlı bir sonuç elde edilemedi.

Tablo XIII. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Splenektomi ve c-mplBoyaması ilişkisinin Karşılaştırılması

	Splenektomi Yapılmış(n)	Splenektomi Yapılmamış(n)	P Değeri
c-mpl pozitif (n)	1	12	<0,001
c-mpl negatif (n)	23	18	
Toplam (n)	24	30	

Tablo XIV. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Refrakterlik ve c-mpl Boyaması ilişkisinin Karşılaştırılması

	Refrakter Olan(n)	Refrakter Olmayan(n)	P Değeri
c-mpl pozitif (n)	0	13	0,212
c-mpl negatif (n)	4	37	
Toplam (n)	4	50	

5. TARTIŞMA

Megakaryopoezis hemostatik süreçte önemli role sahip olan trombositlerin hematopoetik kök hücreden oluşumunda proliferasyon, diferansiyasyon ve maturasyonu içeren çoklu bir süreçtir. Bu kompleks ağın farklı aşamaları sitokin ve kemokinler tarafından kontrol edilir (77). Stabil trombosit sayısı ancak trombosit üretimiyle tüketim ve yıkım hızı eşit olduğunda mümkündür (7,77). İTP patogeneğinde trombosit yıkımının artmış olduğu ve trombosit üretiminin azalmış olduğu açıkça bilinmektedir. Bununla birlikte İTP gelişiminde altta yatan anormallikler açıklandıkça daha kompleks hale gelmektedir (80).

İTP trombosit yıkımı ve bozulmuş trombosit üretimini kapsayan humoral ve hücrel immunitenin kompleks bir işleyişidir (8,80). GPIIb/IIIa ve GPIb/IX gibi trombosit yüzey glikoproteinlerine karşı oluşan otoantikorlar trombosit yıkımında ana rol oynar. Otoantikor bağımsız mekanizma olarak T hücre bağımlı sitotoksikite de yıkım sürecinde rol almaktadır (80).

Trombositler yüzey glikoproteinlerine otoantikorlar eklenerek hedef haline gelirler, retikuloendotelial sistemin doku makrofajları üzerinde eksprese edilen Fc reseptörlerine bağlanırlar ve dolaşımdan temizlenirler (7,81,82). Etiketlenmiş otolog trombositler öncelikli olarak dalak ve karaciğer tarafından alınır. Trombosit alımı ve yıkımı sonrasında, makrofajlar yüzeylerinde trombosit epitoplarını eksprese ederler ve bu CD4⁺ T hücre klonlarını (T helper; Th) aktive eder (76,83). Otoreaktif T helper hücreleri ise antikor üreten B hücre aktivasyonu için gereklidirler(48). İTP'li hastalarda yapılan çalışmalarda Th1/Th2 oranında artış olduğu, ayrıca T hücrelerinin direk sitotoksik etkisi ile trombosit yıkımında rol oynadığı gösterilmiştir(8,85).

Trombopoetin reseptörü c-mpl vasıtası ile trombosit sayısı üzerinde ana reglatuvardır. Megakaryosit proliferasyon ve diferansiyasyonunda kritik bir öneme sahiptir (77,86). TPO primer olarak karaciğer ve böbrek tarafından üretilmektedir. Dolaşımdaki TPO düzeyleri trombositler tarafından kontrol edilmektedir. TPO trombositler üzerindeki reseptörlerine bağlanır ve sonrasında yıkıma uğrar. Megakaryositlerde aynı mekanizma ile dolaşımdaki TPO düzeyleri üzerinde etkiye sahiptir (87).

C-mpl asıl olarak trombosit, megakaryosit ve hematopoetik progenitörler üzerinde eksprese edilir (88). C-mpl tip 1 hematopoetik büyüme faktör reseptör (HER) ailesinin bir üyesidir (65,89). Ekstrasellüler domain, transmembran domain ve intrasellüler domain olmak üzere 3 bölüm şeklindedir. Ekstrasellüler domain ligand bağlamakta, İntrasellüler domain ise tirozinkinaz aktivitesine sahiptir (70,89).

Öncelikle trombopoetin c-mpl reseptörüne bağlanır ve bir dizi sinyal yolağı tetiklenir. Bağlanma sonrası reseptör dimerizasyonu gerçekleşir. Ligand bağlandıktan sonra reseptörün konformasyonu açık pozisyonundan kapalı pozisyona geçmektedir. Ligand bağlamayan HER2 reseptörü açık konformasyonda bulunmaktadır. Açık konformasyondaki bir HER aile reseptörü dimerizasyon için veya başka bir HER aile reseptörü ile heterodimerizasyon için hazırdır (70,90).

Dimerizasyon sonrası Jak2 aktivasyonu gerçekleşir ve fosforilasyon olur. Fosfoinositol 3 kinaz aktivasyonu ile çeşitli mikroRNA yolağı başlatılmış ve böylece trombosit proliferasyon ve diferansiyasyonu uyarılmış olur (91). Ligand-reseptör kompleksi oluştuğu zaman, hücre yüzeyinde kümelenmektedir. Bu kümelenme oyuk oluşturarak endozom içine geçmektedir. Endozom içinde; ligand HER aile reseptöründen ayrılarak hücre yüzeyine tekrar geçebilir yada yıkım için hedef olabilir (70,91).

Gurney ve arkadaşlarının c-mpl eksik fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada trombosit ve megakaryosit sayılarında yüzde 85 azalma olduğu diğer hematopoetik hücre tiplerinin normal miktarlarda olduğu tespit edilmiş (92).

Hashimoto ve arkadaşlarının romatoid artriti olan ve trombositopeni, anemi ile gelen bir hastada yaptıkları detaylı incelemede kemik iliği biyopsi örneklerinde hipoplazi, myeloid seride displazi olmaksızın megakaryosit ve eritroblastların komplet yokluğu tespit edilmiş. Tüm detaylı araştırmalara rağmen bir pozitif bulgu elde edilememiş olup bakılan anti c-mpl antikorları yüksek tespit edilmiş. Siklosporin ile yapılan immunsupresif tedaviden 45 gün sonra bakılan retikulosit ve trombosit sayılarında artış tespit edilmiş. Anti c-mpl antikorlarında ise azalma olduğu görülmüş (93).

Kuwana ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SLE'li ve İTP'si olan bir grup hastada serum anti c-mpl düzeyleri bakılmış ve yüksek saptanmış. Bu hastaların kontrol gruplarında ise yükseklik saptanmamış (94).

Bozkaya ve arkadaşlarının Konjenital Amegakaryositik Trombositopenili (CAMT) bir hasta üzerinden yaptıkları vaka takdiminde c-mpl de yanlış mutasyonlar tespit edilmiş. Bakılan kemik iliği biyopsi örneklerinde megakaryositlerin olmadığı ve TPO düzeylerinin çok yüksek olduğu tespit edilmiş. CAMT hastalarında c-mpl fonksiyonunun eksikliğine bağlı olarak trombopoezisin azaldığı görülmüş (95).

Balmaier ve arkadaşlarının yine CAMT'li hastalarda yaptığı bir çalışmada ise c-mpl ye karşı poliklonal tavşan antiserumu kullanılarak periferik kan analizi yapılmış. Hastaların trombositleri ve antikorlar arasında bir bağlanma tespit edilmemiş(96).

Aoki ve arkadaşlarının refrakter immun trombositopenili hastaların tedavilerinde trombopoetin reseptör ajanistlerini kullandıkları bir çalışmada yanıt alınmış ve trombosit sayılarında artış gözlenmiş (97).

Heckl ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada mpl gen hasarı olan hastalar değerlendirilmiş. Bu hastalar gen tedavisi sonrası gözlenmiş. Gen transferi sonrasında şiddetli trombositopenisi olan bu hastaların trombosit sayılarında iyileşme saptanmış (98).

Çalışmamızda İTP'li hasta grubu ile lenfoma tanılı kontrol grubundan yapılan kemik iliği biyopsi örneklerinde c-mpl boyaması yaptık. İTP'li hasta grubunda kontrol grubuna göre c-mpl boyamasında anlamlı bir artış saptamadık. Yaptığımız literatür çalışmalarında İTP ve c-mpl arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık fakat bazı hematopoetik hastalıklarda ve kronik inflamatuvar hastalıklarda trombositopeni ve c-mpl ilişkisi gösterilmiş. Özellikle c-mpl eksik fareler üzerinde yapılan bir çok çalışmada ciddi trombositopeni olması da yine c-mpl'nin trombopoezis üzerinde olumlu yöndeki etkisini desteklemektedir. C-mpl reseptörüne ligandı olan trombopoetin bağlanması ile bir dizi sinyal yolağı aktive olmakta ve trombosit üretimi aktive olmaktadır. Yapılan çalışmalarda da gösterildiği gibi c-mpl de bir problem olması yada c-mpl ye karşı antikor gelişimi ile şiddetli trombositopeni olmaktadır. Yine yapılan bazı çalışmalarda ise c-mpl reseptör agonistleri kullanımı ile yapılan tedavilerde trombosit sayısında artış saptanmaktadır. Bu da c-mpl ve trombosit regülasyonu arasındaki sağlam dengeyi göstermektedir.(99,100,101)

Yine çalışmamızda potent bir immunomodulator olan vitamin D'nin immun trombositopeni patogenezindeki önemini belirtmek için İTP'li hasta grubu ile lenfoma

tanılı kontrol grubundan yapılan kemik iliği biyopsi örneklerinde vitamin D boyaması yaptık.

Vitamin D 38'den fazla dokuda yaygın olarak bulunan reseptörlerine bağlanarak bazı inflamatuvar hücreler ve sitokinleri üzerinden etkilerini gösterir. Araştırmacıların önerisi 1,25(OH)2D3 'ün hedefinin CD4+T hücreleri olduğunu göstermekte ve etkilerini T-hücre proliferasyonunun ve aktivasyonunun inhibisyonuyla yapmaktadır (64). Diğer çalışmalar Vitamin D' nin inflamatuvar T hücre aktivitesini suprese edecek şekilde Transforming Growth Faktör (TGF)-B1 ve IL-4 üretimini stimüle ettiğini göstermektedir (65,66). TGF-β1 T hücre diferansiyasyonunu direk etkiler ve immunsupresyon gözlenmesiyle sonuçlanan FoxP3 transkripsiyon yolağıyla T reglatuvar hücre üretimini destekler (67).

Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Primer İmmun Trombositopenili hastaların serumların da 1,25(OH)2D3düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiş. Bu çalışmada 1,25(OH)2D3ve vitaminD reseptörlerinin düzeylerinin T hücre disfonksiyonu ile korele olduğu görülmüş. İTP hastalarında 1,25(OH)2D3ve reseptörlerinde azalma tespit edilmiş. 1,25(OH)2D3 T helper hücrelerinin Th1 yönünde farklılaşmasını engelleyerek Th2 ve Treg yönünde farklılaşmasını uyarmaktadır. Aynı zamanda proinflamatuvar sitokinleri(INF-γ ve IL-17A) inhibe ederek anti inflamatuvar sitokinlerin(IL-10) oluşumunu uyarmaktadır. Sonuç olarak çalışmada İTP patogenezinde 1,25(OH)2D3ve vitaminD reseptörlerinin düzeylerinin azalmış olmasının yer alabileceği ve tedavide 1,25(OH)2D3 eklenmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir(102).

Fattizzo ve arkadaşlarının İTP'nin de içinde olduğu farklı hematolojik hastalığı olanlarda yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre vitamin D düzeylerinin düşük vitamin D reseptör düzeylerinin ise yüksek olduğu saptanmış. IL-6, IL-10, IL-17 ve IFN-γ düzeylerinde kotrol grubuna göre belirgin bir artış saptanmış. Vitamin D 'nin otoimmunité gelişimine karşı koruyucu olduğu tespit edilmiş (103).

Yang ve arkadaşlarının Crohn hastalığı olan kişilerde antiinflamatuvar olarak tedavide vitamin D kullanmışlar ve hastalık aktivite göstergesi olan CRP düzeylerini takip etmişler. Dolaşımdaki 25(OH)D 100 nmol/l olana kadar günlük 25 µg (1000 IU) ile başlayıp 125 µg (5000 IU) a kadar dozları yükseltmişler. 3 aylık tedavi sonrasında önemli derecede vitamin D düzeylerinde gerileme tespit edilmiş(104).

Hayes ve arkadaşlarının Multiple Skleroz (MS) tanılı hasta grubunda yaptıkları çalışmada MS'i olan hastaların 1,25-(OH)2D3 ile tedavi edilmesi sonucunda otoimmün ensefalomyelit gelişimi ve progresyonu önlenmiş. Hormon tedavisi ile 2 anti ensefalitojenik sitokin olan interlökin 4 ve transforming growth faktör beta 1 düzeylerinde azalma gerçekleşmiş (105).

Çalışmamızda İTP'li hasta grubu ile lenfoma tanılı kontrol grubundan yapılan kemik iliği biyopsi örneklerinde vitamin D boyaması yaptık. İTP'li hasta grubunda kontrol grubuna göre vitamin D boyamasında anlamlı bir artış saptamadık. Yaptığımız literatüraraştırmaları göstermektedir ki vitamin D reseptörü üzerinden hem humoral hem hücrel immunitiyi etkileyerek antiinflamatuvar etkiler göstermektedir. Crohn, MS gibi inflamatuvar, otoimmün hastalıklarda vitamin D tedavisi ile alınan olumlu sonuçlar vitamin D'nin antiinflamatuvar etkisini destekler niteliktedir.

Ayrıca çalışmamızda c-mpl ve vitamin D arasında ilişki olup olmadığını da araştırdık. Anlamlı bir sonuç elde edemedik (p:0,145). Yine c-mpl ve vitamin D'nin ayrı ayrı splenektomi ve refrakterlik arasında ilişki olup olmadığını araştırdık. C-mpl ve splenektomi arasında anlamlı bir ilişki saptadık (p<0,001). Ichikawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada karaciğer sirozu, gastrik kanser ve lenfoid malignansı olan bir grup trombositopenisi olan hastanın splenektomi öncesi ve sonrası TPO ve trombosit düzeyleri ölçümü yapılmış. Splenektomi sonrasında TPO ve trombosit düzeylerinde artış saptanmış (106). Çalışmamızda splenektomili hastalarda c-mpl de anlamlı pozitiflik saptanması splenektomiyi öngördürebilir.

İmmünite, sitokin prodüksiyonu, otoimmün hastalıklar, kronik inflamatuvar süreçlerde rol oynadığı bilinen, trombositlerde litik mekanizmaları önlemesi nedeniyle İTP patogenizinde rol oynayan NFκB ile c-mpl arasındaki ilişkiyi de araştırdık. Anlamlı bir sonuç elde edemedik. Dr. Fatih Gencer'in 2014 yılında Adnan menderes üniversitesi polikliniğinin başvuran İTP'li hastalarda yapmış olduğu 'İmmün Trombositopenik Purpura Patogenezinde Nükleer Faktör Kappa Beta'nın Rolü' isimli tez çalışmasında NFκB ile İTP arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş

6. SONUÇLAR

1. İTP'li hastalarda kemik iliğinde c-mpl aktivasyonunda artış saptanmamıştır.
2. İTP'li hastalarda kemik iliğinde vitamin D aktivasyonunda artış saptanmamıştır.
3. İTP'li hastalarda kemik iliğinde c-mpl ve vitamin D arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
4. İTP'li hastalarda kemik iliğinde c-mpl ve NFκB arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
5. İTP'li hastalarda splenektomi uygulanmamış olanlara göre splenektomi uygulanmış olanlarda kemik iliğinde c-mpl boyanmasında anlamlı bir pozitiflik saptandı. Bu sonuç İTP hastalarında splenektomiyi öngördürebilir. Vitamin D boyasında ise anlamlı bir pozitiflik saptanmadı.
6. Refrakter olan İTP'li hastalarda refrakter olmayanlara göre kemik iliğinde c-mpl ve Vitamin D boyasında anlamlı bir artış saptanmadı.

ÖZET

Amaç: İmmün Trombositopenik Purpura (İTP) kazanılmış bağışıklık aracılı bir hastalıktır. İzole trombositopeni mevcuttur ve trombosit eşik değeri 100.000/mikrolitredir. Cloned Myeloid Lökemia Virus (c-mpl) tip 1 hematopoetik büyüme faktör reseptör ailesinin bir üyesidir. Megaryopoezde önemli bir rolü olan bu reseptöre ligandın bağlanmasını takiben bir dizi sinyal yolağı aktive olur ve megakaryosit maturasyon ve diferansiyasyonu olumlu yönde etkilenir. D vitamini'nin aktif formu olan 1,25(OH)2D3 bazı inflamatuvar hücreler ve sitokinleri üzerinden etki ederek bir çok otoimmün hastalıkta kullanılabilen potent bir immün modülatördür. Vitamin D 38'den fazla dokuda yaygın olarak bulunan reseptörlerine bağlanarak bazı inflamatuvar hücreler ve sitokinleri üzerinden etkilerini gösterir. Proinflamatuvar sitokinlerde azalmaya antiinflamatuvar sitokinlerde artışa neden olarak megakaryopoezis üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Çalışmamızda otoimmün bir hastalık olan İTP ile c-mpl ve vitamin D arasında ilişki olup olmadığını saptamayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 18 yaş üzeri 95 İTP hastası ve kontrol grubu olarak 18 yaş üzeri kemik iliği tutulumu olmayan 35 lenfoma hastası alındı. İTP hastalarının tanı anındaki biyokimyasal, hematolojik verileri, anti nükleer antikor, anti mitokondriyal antikor, anti düz kas antikor pozitiflikleri, hepatit ve insan immün yetmezlik virüsü pozitifliği, gaytada helicobakter pilori antijeni pozitifliği, takipleri sırasındaki hematolojik parametreleri bakıldı. Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri kaydedildi. 61 İTP hastası ve 30 lenfoma hastasının kemik iliği biyopsi örnekleri H&E ile boyanarak Olympus BX50 ışık mikroskopunda c-mpl ve vitamin D açısından çalışıldı. Sonuçlar negatif ve pozitif semikantitatif olarak değerlendirildi.

Bulgular: İTP'li hasta grubunda kontrol grubuna göre c-mpl ve vitamin D pozitifliğinde anlamlı olarak artış saptamadık. İTP'li hastalarda splenektomi uygulanmamış olanlara göre splenektomi uygulanmış hastalarda kemik iliğinde anlamlı c-mpl pozitifliği saptadık. Bu sonuç İTP hastalarında splenektomiye öngördürebilir. Vitamin D boyasında ise anlamlı bir artış saptamadık.

Sonuç: Megakaryopoeziste olumlu yönde etkileri olduğu bilinen c-mpl ve vitamin D ile İTP'li hastalarda yaptığımız çalışmada anlamlı bir sonuç elde edemedik.

Fakat daha geniş vaka serilerinde yapılacak olan çalışmalarda İTP patofizyolojisi ve yeni tedavi arayışları açısından katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: İmmun Trombositopenik Purpura, C-Mpl, Vitamin D



ABSTRACT

Objective: Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is an acquired immunity-mediated disease. There is isolated thrombocytopenia and the thrombocyte threshold is 100,000 / microliter. Cloned Myeloid Leukemia Virus (C-mpl) is a member of type 1 hematopoietic growth factor receptor family. A number of signaling pathways are activated following the connection of ligand to this receptor which has a significant role in megakaryopoiesis and megakaryocyte maturation and differentiation are positively affected.

Being effective through some inflammatory cells and cytokines; an active form of vitamin D 1,25(OH)₂D₃ is a potent immune modulator that can be used in many autoimmune diseases. By binding to its receptors commonly found in more than 38 tissues, Vitamin D takes its effect through some inflammatory cells and cytokines. It has positive effects on megakaryopoiesis leading to increase in anti-inflammatory cytokines and decrease in proinflammatory cytokines. We aimed to determine whether there is an association between ITP as an autoimmune disease and c-mpl with Vitamin D.

Materials and Method: In the study, 95 ITP patients over 18 years old and 35 lymphoma patients over 18 years old without bone marrow involvement as a control group were examined. Biochemical, hematological data, anti-nuclear antibody, anti-mitochondrial antibody, anti-smooth muscle antibody positivity, hepatitis and human immunodeficiency virus positivity, helicobacter pylori antigenic positivity in stool (gaita) during diagnosis and hematological parameters during follow-up were examined. Demographical data of patients and control groups were recorded. Bone marrow biopsy samples of 61 ITP patients and 30 lymphoma patients were stained with H&E and were examined on Olympus BX50 light microscope in terms of c-mpl and Vitamin D. The results were evaluated as negative and positive semi quantitative.

Results: We didn't find a significant increase in c-mpl and Vitamin D positivity in ITP patient group compared to control group. In ITP patients, we found significant c-mpl positivity in bone marrow in splenectomy patients compared with patients without splenectomy. This result may lead to splenectomy in ITP patients. We didn't find a significant increase in Vitamin D staining.

Conclusion: We didn't get a significant result with c-mpl and Vitamin D which are known with their positive affects on megakaryopoiesis in our study performed in ITP patients. However, it may make contribution to ITP patophysiology and new treatment seeking in studies to be performed in larger case series.

Key Words: Immune Thrombocytopenic Purpura, C-Mpl, Vitamin D



KAYNAKLAR

1. Stasi R, Laura Evangelista M, Stipa E. İdiopathic thrombocytopenic purpura: current concepts in pathophysiology and management. *Thromb Haemost.* 2008;99:4-13.
2. Anoop P. İmmune thrombocytopenic purpura: historical perspective, current status, recent advances and future directions. *Indian Pediatr.* 2012;49:811-8.
3. Dimitri Bennett K, Hodgson M. E, Shukla A. Prevalence of diagnosed adult Immune thrombocytopenia in the united kingdom. *Adv Ther.* 2011; 28: 1096-1104.
4. Fredericsen H, Schmidt K. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. *Blood.* 1999; 94: 909-13.
5. Fogarty PF. Chronic immune thrombocytopenia in adults: epidemiology and clinical presentation. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23: 1213-1221.
6. Türk Hematoloji Derneği, Ulusal Tedavi Rehberi 2011, Bölüm 3. İmmun Trombositopeni Tanı ve Tedavi Klavuzu.
7. Gernsheimer T, Avenue T. Chronic İdiopathic thrombocytopenic purpura: mecanisms of pathogenesis. *The Oncologist.* 2009; 14: 12-21.
8. Thota S, Kıstangarı G, Daw H. İmmune thrombocytopenia in adults. *Cleve Clin J Med.* 2012; 79: 641-50.
9. Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW et al. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med.* 1951; 38: 1–10.
10. Harker LA, Finch CA. Thrombokinetics in man. *J Clin Invest.* 1969; 48: 963–974.
11. Van Leeuwene F, Van Der Von Jt, Engelfriet Cp, Von Dem Borne AE. Specifity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood.* 1982; 59: 23-6.
12. He R, Reid DM, Jones CE. Spectrum of Ig classes, specificities, and titers of serum antiglycoproteins in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 1994; 83: 1024–1032.
13. Kuwana M, Ikeda Y. The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol.* 2005; 81: 106 –112.

14. Semple JW. T cell and cytokine abnormalities in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci*. 2003; 28: 237–242.
15. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC. Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015; 54: 107–116.
16. Panitsas F. P, Theodoropoulou M, Kouraklis A. Adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is the manifestation of a type-1 polarized immune response. *The American Society of Hematology*. 2003; 07: 2268.
17. Semple J. W, Provan D. The immunopathogenesis of immune thrombocytopenia: T cells still takes center- stage. *Current Opinion*. 2012; 19: 357-362.
18. Saitoh T, Tsukamoto N, Koiso H, Mitsui T, Yokohama A, Handa H, Karasawa M, Ogawara H, Nojima Y, Murakami H. Interleukin-17F gene polymorphism in patients with chronic immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol*. 2011;87:253-8.
19. Wang JD, Chang TK, Lin HK. Reduced expression of transforming growth factor- β 1 and correlated elevation of interleukin-17 and interferon- γ in pediatric patients with chronic primary immune thrombocytopenia (ITP). *Pediatr Blood Cancer*. 2011; 57: 636–640.
20. Karpatkin S, Fotino M, Gibofsky A. Association of HLA-DR α 2 with Autoimmune Thrombocytopenic Purpura. *J Clin Invest*. 1979; 63: 1085-8.
21. Nomura S, Matsuzaki T, Ozaki Y, Yamaoka M, Yoshimura C, Katsura K, Xie GL, Kagawa H, Ishida T, Fukuhara S. Clinical significance of HLA-DRB1*0410 in Japanese patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 1998 May 15;91:3616-22.
22. Kistangari G, McCrae KR. Immune thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013;27:495-520.
23. Stasi R, Laura Evangelista M, Stipa E. Idiopathic thrombocytopenic purpura: current concepts in pathophysiology and management . *Thromb Haemost*. 2008; 99:4-13.
24. Kolonić SO, Patekar MB, Milunović V. Diagnostic approach and treatment of immune thrombocytopenia in adults. *Acta Med Croatica*. 2013;67:3-11.
25. Provan D, Stasi R, Nevaland A. C. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2010; 115: 168-86.

26. Mittal S, Blaylock MG, Culligan DJ, Barker RN, Vicker S MA. A high rate of cll phenotype lymphocytes in autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Hematologica*. 2008; 93: 151-2.
27. Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB, Osborn J, Evangelista ML, Cooper N, Provan D, Newland A, Amadori S, Bussel JB. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Blood*. 2009; 113: 1231.
28. Rodeghiero F. First-line therapies for immune thrombocytopenic purpura: re-evaluating the need to treat. *Eur J Haematol Suppl*. 2008; 69:19-26.
29. Bussel J. Treatment of immune thrombocytopenic purpura in adults. *Semin Hematol ogy*. 2006; 43: S3–10.
30. Arnold DM, Kelton JG. Current options for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol*. 2007; 44: S12-23.
31. Konkle BA, Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. Kanama ve tromboz. *Harrison's Principles Of Internal Medicine*, 17. Baskı. 2013: 363-9.
32. George J. N, Raskop G. E, Vesely S. K. Initial Management of Immune Thrombocytopenic Purpura in Adults: A Randomized Controlled Trial Comparing Intermittent Anti-D With Routine. *Am J Hematol*. 2003;74:161–169.
33. Newman GC, Novoa MV, Fodero EM, Lesser ML, Woloski BMR, Bussel JB. A dose of 75 mg/kg/d of i.v. anti-D increases the trombosit count more rapidly and for a longer period of time than 50 mg/kg/d in adults with immune thrombocytopeic purpura. *Br J Haematol*. 2001; 112: 1076–1078.
34. Gaines AR. Acute onset hemoglobinemia and/or hemoglobinuria and sequelae following Rh (o) (D) immune globulin intravenous administration in immune thrombocytopenic purpura patients. *Blood*. 2000; 95: 2523-2529.
35. Newland A. C, Treleaven J. G, Minchinton R. M. High-dose intravenous igg in adults with autoimmune thrombocytopenia. *The Lancet*. 1983; 1: 84-7.

36. Schiavotto C, Ruggeri M, Rodeghiero F. Adverse reactions after high-dose intravenous immunoglobulin: incidence in 83 patients treated for idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and review of the literature. *Haematologica*. 1993; 78: 35-40.
37. Schwartz J, Leber MD, Gillis S. Long term follow-up after splenectomy performed for immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Am J Hematol*. 2003; 72: 94-98.
38. Johansson E, Engervall P, Landgren O. Response to splenectomy is durable after a certain point in time in adult patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 2006; 77(1): 61-66.
39. Facon T, Caulier MT, Fenaux P, Plantier I, Marchandise X, Ribet M, Jouet JP, Bauters F. Accessory spleen in recurrent chronic immune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*. 1992; 41: 184-189.
40. Davies JM, Lewis MP, Wimperis J, Rafi I, Ladhani S, Bolton-Maggs PH. Guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Br J Haematol*. 1996; 312: 430-434.
41. British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol*. 2003 ;120:574-96.
42. Stasi R, Pagano A, Stipa E. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody treatment for adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2001; 98 : 952-7.
43. Yu S, Bruce D, Froicu M, Weaver V, Cantorna MT. Failure of T cell homing, reduced CD4/ CD8 alpha alpha intra epithelial lymphocytes, and inflammation in the gut of vitamin D receptor KO mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105:20834–20839.
44. Carson KR, Evens AM, Richey EA. Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood*. 2009; 113: 4834-4840.
45. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of megakaryocyte and thrombopoiesis. *Thromb Haemost*. 1995; 74: 521-525.
46. Bussel JB, Kuter DJ, George JN. AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating protein, for chronic ITP. *N Engl J Med*. 2006; 355: 1672-1681.

47. Bussel JB, Provan D, Shamsi T. Effect of eltrombopag on trombosit counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009; 373: 641-648.
48. Bussel JB, Kuter DJ, Pullarkat V. Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood*. 2009; 113: 2161-2171.
49. Hlusi A, Szotkowski T, Indrak K. Refractory immune thrombocytopenia. Successful treatment with repeated cyclosporine A: two case reports. *Clin Case Rep*. . 2015; 3: 337-341.
50. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adult and children: report from an international working group. *Blood*. 2009; 113: 2386-93.
51. Palau J, Jarque I, Sanz MA. Long-term management of chronic immune thrombocytopenic purpura in adults. *Int J Gen Med*. 2010; 3: 305-11.
52. Spahr JE, Rodgers GM. Treatment of immune-mediated thrombocytopenia purpura with concurrent intravenous immunoglobulin and trombosit transfusion: a retrospective review of 40 patients. *Am J Hematol*. 2008; 83: 122-125.
53. Masseau A, Guitton C, Bretonniere C. Plasma exchanges as treatment of severe acute immune thrombocytopenic purpura. *Rev Med Interne*. 2005; 26: 824-826.
54. Arnold D. M, Bernotas A, Nazi I. Trombosit count response to H. Pylori treatment in patients with immune thrombocytopenic purpura with and without H. Pylori infection: a systematic review. *Haematologica*. 2009; 94: 850-6.
55. Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB, Osborn J, Evangelista ML, Cooper N. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura. a systematic review. *Blood*. 2009; 113: 1231-40.
56. Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, Landolfi R, Pola P, Gasbarrini G. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1998; 352: 878.
57. Simanek R, Panzer S, Lechner K, Pabinger I. Late spontaneous remissions in severe adult autoimmune thrombocytopenia. *Ann Hematol*. 2007; 86: 705-10.

58. Franceschi F, Christodoulides N, Kroll MH, Genta RM. Helicobacter pylori and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med.*2004;140:766-7.
59. Perez-Perez GI, Bhat N, Gaensbauer J, Fraser A, Taylor DN, Kuipers EJ. Country-specific constancy by age in cagA+ proportion of Helicobacter pylori infections. *Int J Cancer.* 1997; 72: 453-6.
60. Stasi R, Stipa E, Masi M, Cecconi M, Scimo MT, Oliva F. Long-term observation of 208 adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med.* 1995; 98: 436-42.
61. Pérez-Pérez GI, Bhat N, Gaensbauer J, Fraser A, Taylor DN, Kuipers EJ, Zhang L, You WC, Blaser MJ. Country-specific constancy by age in cagA proportion of Helicobacter pylori infections. *Int J Cancer.* 1997;72:453-456.
62. Ahn YS. Triple play of Hpylori in ITP. *Blood.* 2010; 115: 4155-6.
63. Schwalfenberg Gery K. Solar Radiation and vitamin D: mitigating environmental factors in autoimmune disease. *J Environ Public Health.*2012; 2012: 619381.
64. Bockow B, Bockow Kaplan T. Refractory immune thrombocytopenia successfully treated with high dose vitamin D supplementation and hydroxychloroquine: two case reports. *J Med Case Rep.*2013; 7: 91.
65. Ji X, Zhang L, Peng J. T cell immune abnormalities in immune thrombocytopenia. *J Hematol Oncol.* 2014; 2: 7-72.
66. Joshi S, Pantaleno L-C, LIU X. K.1-25 dihydroxyvitamin D3 ameliorates th 17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin 17a. *Mol Cell Biol.* 2011; 31: 3653-3669.
67. Semple JW. Immunobiology of T helper cells and antigen-presenting cells in autoimmune thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Paediatr Suppl.* 1998; 424: 41-5.
68. Ning C, Liu L, Yang Y. Lipid metabolism and inflammation modulated by vitamin d in liver of diabetic rats. *Lipids in Health and Disease.*2015; 14:31.
69. Shin HC, Benbernou N, Fekkar H, Esnault S, Guenounou M. Regulation of IL-17, IFN-gamma and IL-10 in human CD8(+) T cells by cyclic AMP-dependent signal transduction pathway. *Cytokine* 10:841–850.

70. Alexander WS, Dunn AR. Structure and transcription of the genomic locus encoding murine c-Mpl, a receptor for thrombopoietin. *Oncogene*. 1995; 10: 795–803.
71. Ihle, J. N. Cytokine receptor signaling. *Nature*. 1995; 377: 591–594.
72. Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE Jr. The biogenesis of trombocytes from megakaryocyte protrombocytes. *J Clin Invest*. 2005; 115: 3348-54.
73. Wendling F, Maraskovsky E, Debili N. c-mpl ligand is a humoral regulator of megakaryocytopoiesis. *Nature*. 1994; 369: 571-4.
74. Vainchenker W, Methia N, Debili N. c-mpl, the thrombopoietin receptor. *Thromb Haemost*. 1995; 74: 526-8.
75. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 2005;115:3339 –3347.
76. Passos-Coelho JL, Sebastião M, Gameiro P. Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia—Report of a New c-mpl Gene Missense Mutation *J. Am J Hematol*. 2007; 82: 240-1.
77. Vianello F, Vettore S, Tezza F. Serum thrombopoietin and C-mpl expression in thrombocytopenia of different etiologies. *Hematology Reports*. 2014;6: 4996.
78. Tamura H, Ogata K, Luo S. Plasma thrombopoietin (TPO) levels and expression of TPO receptor on trombocytes in patients with myelodysplastic syndromes. *British journal of Hematology*. 1998; 103: 778-784.
79. Zarei A, Morovat A, Javaid K. Vitamin D receptor expression in human bone tissue and dose-dependent activation in resorbing osteoclasts. *Hematol Rep*. 2014; 6: 4996.
80. Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia. *Int J Hematol*. 2013; 98 (1): 24-33.
81. Heyns AP, Badenhorst PN, Lötter MG. Platelet turnover and kinetics in immune thrombocytopenic purpura: Results with autologous ¹¹¹In-labeled platelets and homologous ⁵¹Cr-labeled platelets differ. *Blood* 1986; 67:86 –92.
82. Branchög I, Kutti J, Weinfeld A. Platelet survival and platelet production in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Br J Haematol* 1974; 27:127–143.

83. Kuwana M, Ikeda Y. The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2005;81:106 –112.
84. Coopamah MD, Garvey MB, Freedman J, Semple JW. Cellular immune mechanisms in autoimmune thrombocytopenic purpura: An update. *Transfus Med Rev.*2003;17:69 – 80.
85. Semple JW. T cell and cytokine abnormalities in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci.* 2003 ;28:237-42.
86. Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE Jr. The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *J Clin Invest* 2005;115: 3348-54.
87. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 2005;115:3339-47.
89. Drachman J, Griffin JD, Kaushansky K. Stimulation of tyrosine kinase activity by MPL-ligand (thrombopoietin). *J Biol Chem.* 1995;270:4979–82.
90. Vigon I, Florindo C, Fichelson S, Guenet JL, Mattei MG, Souyri M, Cosman D, Gisselbrecht S. Characterization of the murine Mpl proto-oncogene, a member of the hematopoietic cytokine receptor family: molecular cloning, chromosomal location and evidence for a function in cell growth. *Oncogene.* 1993;8:2607-15.
91. Garzon R, Pichiorri F, Palumbo T, Iuliano R, Cimmino A, Aqeilan R. MicroRNA fingerprints during human megakaryocytopoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 5078–83.
92. Gurney AL, Carver-Moore K, de Sauvage FJ, Moore MW. Thrombocytopenia in c-mpl-deficient mice. *Science* 1994; 265: 1445-7.
93. Hashimoto A, Kanisawa Y, Fujimi A, Thrombocytopenia and Anemia with Anti-c-Mpl antibodies Effectively Treated with Cyclosporine in a Patient with Rheumatoid Arthritis and Chronic Renal Failure. 2016; 55: 683-7.
94. Kuwana M, Okazaki Y, Kajihara M, Kaburaki J, Miyazaki H, Kawakami Y, Ikeda Y. Autoantibody to c-Mpl (thrombopoietin receptor) in systemic lupus erythematosus: relationship to thrombocytopenia with megakaryocytic hypoplasia. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 2148-59.

95. Ok Bozkaya İ, Yaralı N, Işık P, Ünsal Saç R, Tavil B, Tunç B. Severe Clinical Course in a Patient with Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia Due to a Missense Mutation of the c-MPL Gene. *Turk J Haematol.* 2015; 32: 172-4.
96. Ballmaier M, Germeshausen M, Schulze H. c-mpl mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood.* 2001; 97: 139-46.
97. Aoki T, Harada Y, Matsubara E, Suzuki T, Oyama T, Kasai M, Uchida T, Ogura M. Thrombopoietin receptor agonists in refractory immune thrombocytopenia: differential responses to eltrombopag and romiplostim: a case report and possible explanations. *J Clin Pharm Ther.* 2012; 37: 729-32.
98. Heckl D, Wicke DC, Brugman MH, Meyer J. Lentiviral gene transfer regenerates hematopoietic stem cells in a mouse model for Mpl-deficient aplastic anemia. *Blood.* 2011; 117: 3737-47.
99. Kowalczyk M, Rubinstein PG, Aboulafia DM. Initial Experience with the Use of Thrombopoietin Receptor Agonists'in Patients with Refractory HIV-Associated Immune Thrombocytopenic Purpura: A Case Series.*J Int Assoc Provid AIDS Care.* 2015;14:211-6.
100. González-Porras JR, Mingot-Castellano ME, Andrade MM, Alonso R, Caparrós I, Arratibel MC, Fernández-Fuertes F, Cortti MJ, Pascual C, Sánchez-González B, Bernat S, Fuertes-Palacio MA, Vázquez-Paganini JA, Olivera PE, Alvarez-Román MT, Jarque I, Cortés M, Martínez-Robles V, Díaz-Gálvez FJ, Calbacho M, Fernández-Miñano C, Garcia-Frade J, González-López TJ. Use of eltrombopag after romiplostim in primary immune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2015;169:111-6.
101. Zeng Y, Duan X, Xu J, Ni X. TPO receptor agonist for chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 6;7:235.
102. Liu W, Li H, Hao Y. Decreased immunosuppressive actions of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 in patients with immune thrombocytopenia. *Mol Immunol.* 2016; 78: 89-97.
103. Fattizzo B, Zaninoni A, Giannotta JA. Reduced 25-OH vitamin D in patients with autoimmune cytopenias, clinical correlations and literature review. *Autoimmun Rev.* 2016; 15: 770-5.

104. O'Sullivan M. Vitamin D as a novel therapy in inflammatory bowel disease: new hope or false dawn? *Proc Nutr Soc.* 2015; 74: 5-12.
105. Hayes CE. Vitamin D: a natural inhibitor of multiple sclerosis. *Proc Nutr Soc.* 2000; 59: 531-5.
106. Ichikawa N, Kitano K, Shimodaira S. Changes in serum thrombopoietin levels after splenectomy. *Acta Haematol.* 1998; 100: 137-41.

