



T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
DURSUN ODABAŞTIP MERKEZİ

**ÇOCUK HEMATOLOJİ POLİKLİNİĞİMİZDE TAKİP EDİLEN GLANZMAN  
TROMBASTENİSİ TANILI HASTALARDA, MUTASYON ANALİZİ VE  
KLİNİK DEĞERLENDİRME**

**Dr. Eyyüp YÜREKTÜRK**  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
(UZMANLIK TEZİ)

TEZ DANIŞMANI  
**Doç. Dr. Kamuran KARAMAN**

VAN - 2018

## **ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR**

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden çok şey öğrendiğim, tez çalışmamın her aşamasında, bilimsel ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan değerli hocam Doç. Dr Kamuran Karaman'a,*

*Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, iyi bir doktordan ziyade, iyi bir hekim olmam için çabalayan değerli hocam Prof. Dr. Oğuz Tuncer başta olmak üzere, Prof. Dr. Ahmet Faik Öner'e ve Dr. Öğr. Üyesi Mecnun Çetin'e*

*İstatistik aşamasında, değerli vaktini ayırarak yardımcı olan Prof. Dr. Sıddık Keskin'e,*

*Genetik testlerin çalışılmasında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül Özcan'a,*

*Adını sayamadığım ve eğitimimde emeği geçen tüm hocalarıma,*

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım yan dal asistanları, uzman doktorlar ve tüm asistan arkadaşlarıma,*

*Tez çalışmamın hemen her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen, değerli ağabeyim Abdullah Yürektürk'e ve aileme*

*Asistanlığım süresince, daima sabırla ve sevgiyle bana destek olan kıymetli eşim Şeydanur hanım'a ve biricik kızım İkranur'a sonsuz teşekkürler...*

**Dr. Eyyüp YÜREKTÜRK**

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Glanzman trombastenisi (GT), anormal platelet agregasyonu ile karakterize, nadir görülen kalıtsal trombosit fonksiyon bozukluğudur. GT, otozomal resesif geçişli olup esas sorun trombositlerin yüzeyinde bulunan GPIIb/IIIa reseptörünün yokluğu veya disfonksiyonudur. Bu çalışmasının amacı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk hematoloji bölümünde GT tanısıyla takipli olguların klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi, genetik mutasyon tipinin araştırılması ve mutasyon tipi ile klinik bulgular arasındaki ilişkinin incelenmesidir.

**Gereç ve yöntem:** Van Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'nda Ocak 2008-Nisan 2018 tarihleri arasında takip ve tedavi edilen 17 GT hastasının dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Çalışmaya dahil edilen hastaların genetik mutasyonları, yaş, cinsiyet, tanı yaşı, başvuru semptomları, klinik bulguları, trombosit sayısı ve hacmi gibi özellikleri dosya kayıtlarından bakıldı. Hastaların kanama bulguları, güncel bir kanama skorlaması kullanılarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Hastalarımızda en sık görülen kanama şekilleri, epistaksis, kutanöz kanama ve minör yaradan kanama idi. Genetik mutasyon tespit edilen 12 hastanın altısında aynı mutasyon tespit edildi. Çalışmamızda daha önce literatürde tanımlanmamış olan, dört yeni mutasyon tespit edildi.. Bunların üçü ITGA2B bölgesinde iken, biri ITGB3 bölgesindeydi. Çalışmamızda genetik bulgular ile klinik bulgular arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

**Sonuç:** Hastalarımızın hastaneye en sık başvuru şekilleri mukokutanöz kanamalar idi. Olgularımızın dördünde yeni mutasyon saptandı. Hastaların genetik mutasyonları ile kanama skorları ve kanama fenotipleri arasında ilişki saptanmadı. Genotip ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi açıklayabilmek için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## ABSTRACT

**Introduction and purpose:** Glanzmann Thrombasthenia (GT) is a rare genetic platelet function disorder which is characterized by abnormal platelet aggregation. GT is an autosomal recessive disorder where the underlying problem is the lack or dysfunction of GpIIb/IIIa receptor on the platelet surface. This study aims at evaluating clinical and laboratory findings, determining genetic mutation typology and analyzing the association between mutation types and clinical findings for GT-diagnosed patients who are followed up in Yüzüncü Yıl University Medical School Pediatric Hematology Department.

**Materials and methods:** In this retrospective study, file records of 17 GT patients, who have received treatment and follow-up by Yüzüncü Yıl University Dursun Odabaş Medical Center Pediatric Hematology Department between January 2008 and April 2018, have been investigated. The included patients' records have been reviewed carefully in terms of patient characteristics such as genetic mutations, age, gender, age of diagnosis, presenting symptoms, clinical findings, platelet count and volume. Bleeding findings have been evaluated using an up-to-date bleeding score.

**Results:** Most frequent bleeding forms in patients were epistaxis, cutaneous bleeding and bleeding from minor injuries. Out of 12 patients with observed genetic mutation, six patients had the same mutation type. We found four novel mutations that have never been defined in the literature before. Out of these four mutations, three were placed in ITGA2B while the remaining one was in ITGB3 region. We found no significant association between genetic findings and clinical findings of patients.

**Conclusion:** The single most frequent reason for apply to the hospital was mucocutaneous bleedings. Novel mutations were found in four cases of our study. No association found between patients' mutation types and patients' bleeding scores and bleeding phenotypes. Further and wide-range studies are required in order to explain the relationship between genotypes and clinical findings of GT patients.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET .....	II
ABSTRACT.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR .....	VIII
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Kalıtsal Trombosit Fonksiyon Bozuklukları .....</b>	<b>2</b>
2.1.1. Agregasyon bozuklukları.....	2
2.1.1.1. Glanzman trombastenisi .....	2
2.1.1.1.1. Patofizyoloji .....	5
2.1.1.1.2. Ayırıcı Tanı .....	7
2.1.1.1.3. Etyoloji.....	8
2.1.1.1.4. Klinik bulgular .....	9
2.1.1.1.5. Laboratuvar bulgular ve tanısal metodlar .....	10
2.1.1.1.6. İnsidans-Prevelans.....	12
2.1.1.1.7. Tedavi.....	12
2.1.2. Adezyon bozuklukları .....	16
2.1.2.1. Bernard soulier sendromu .....	16
2.1.2.2. Von Willebrand Hastalığı (vWH).....	17
2.1.3. Primer granül sekresyon bozuklukları.....	18
2.1.3.1. Alfa granül eksikliği .....	18
2.1.3.1.1. Gri trombosit sendromu .....	18
2.1.3.2. Delta granül eksikliği.....	19
2.1.3.2.1. Hermansky-Pudlak sendromu (HPS) .....	19
2.1.3.2.2. Chediak-Higashi sendromu (CHS) .....	19
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1. DNA izolasyonu .....</b>	<b>21</b>

3.2. ITGA2B ve ITGB3 Genlerinde Mutasyon Analizi.....	22
4. İSTATİSTİK ANALİZ.....	24
5. BULGULAR.....	25
6. TARTIŞMA.....	33
KAYNAKLAR .....	39



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> ITGA2B.....	11
<b>Şekil 2.</b> ITGB3.....	12
<b>Şekil 3.</b> Trombosit agregasyon testleri ile Glanzman Trombastenisi, Bernard Soulier sendromu ve vWF hastalığının ayrımı .....	18
<b>Şekil 4.</b> Kalıtsal trombosit hastalıkları şüphesi taşıyan olgularda klinik bulgular ve trombositopeniye göre yaklaşım. ....	20
<b>Şekil 5.</b> ITGA2B Mutasyonlarının Türleri .....	36
<b>Şekil 6.</b> ITGB3 Mutasyonlarının Türleri .....	37



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Her bir kanama semptomu için skorlama .....	26
<b>Tablo 2.</b> Glanzman trombastenisi tanılı hastalardaki kanama fenotipleri.....	27
<b>Tablo 3.</b> Glanzman Trombastenili Olgularda Kanama Skorlaması .....	29
<b>Tablo 4.</b> Glanzman Trombastenili Hastaların Laboratuar Bulguları .....	29
<b>Tablo 5.</b> Glanzman Trombastenili olgularda tespit edilen mutasyonlar ve akım sitometri bulguları. ....	30





## KISALTMALAR

A	: Adenin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABS	: Ankaferd blood stoper
ADP	: Adenozin difosfat
Ala	: Alanin
Arg	: Arjinin
Asp	: Aspartat
BSS	: Bernard Soulier sendromu
C	: Sitozin
CD	: Cluster of differentiation
CHS	: Chediak-Higashi sendromu
DDAVP	: Desmopressin
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ES	: Eritrosit süspansiyonu
FVIII	: Faktör 8
g	: Gram
G	: Guanin
GİS	: Gastrointestinal sistem
Gln	: Glutamin
Gly	: Glisin
GP	: Glikoprotein
GT	: Glanzman trombastenisi
GTR	: Glanzmann's Thrombasthenia Registry
HGB	: Hemogloblin
HGMD	: Human Gene Mutation Database
HLA	: Human Lökosit Antijen
HPS	: Hermansky-Pudlak sendromu
ISTH	: Uluslararası Tromboz ve Hemostaz Topluluğu
ITA	: Işık transmisyon agregometresi
ITGA2B	: İntegrins alpha-2B
ITGB3	: İntegrins beta-3
IVIG	: İntravenöz imünoglobilin

mg	: Miligram
MPV	: Mean platelet volume
MY	: Minör yara
OD	: Otozomal dominant
OR	: Otozomal resesif
PCR	: Polimerize zincir reaksiyonu
PFA-100	: Platelet Function Analyzer
PLT	: Platelet
PR	: Pıhtı retraksiyonu
Pro	: Prolin
rFVIIa	: Rekombinant FVIIa
SPSS	: Statistics programme for social scientists
SSS	: Santral sinir sistemi
T	: Timin
TAT	: Trombosit agregasyon testi
TBE	: Tris-Borate-EDTA
Thr	: Treonin
TS	: Trombosit süspansiyonu
vWF	: Von Willebrand Faktör
vWH	: Von Willebrand Hastalığı

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Trombositler, kemik iliğindeki megakaryositlerden salgılanan küçük çaplı (1-4 mikrometre) hücrelerdir. Hemostazın ilk fazı olan primer tıkaç oluşumunda önemli rol oynarlar. Trombositlerin sayısal ya da fonksiyonel bozuklukları kanama diyatezine sebep olur. Trombositler ile ilgili kanama bozukluklarında tipik olarak, peteşi, purpura, ekimoz, burun kanaması, menoraji ile gastrointestinal sistem (GİS) kanaması gibi cilt ve mukozal yüzeyleri ilgilendiren kanama bulguları görülür. Trombosit fonksiyon bozukluklarında derin kas içi hematom, hemartroz ve merkezi sinir sistemi (MSS) kanamaları nadiren görülür.

Kalıtsal trombosit hastalıkları, genel olarak kalitatif bozukluklar ve kantitatif bozukluklar olarak sınıflandırılabilir (1). Glanzman trombastenisi (GT) otozomal resesif kalıtılan ender görülen kalitatif bir trombosit işlev bozukluğudur. Hastalığın nedeni trombosit membran glikoproteini GPIIb/IIIa'nın ( $\alpha$ I**II** $\beta$ 3 integrin) yapısındaki nitelik ve niceliksel değişimlerdir. Genetik geçiş özelliği nedeniyle akraba evliliği yüksek olan toplumlarda daha sık görülmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji bölümünde, Glanzman trombastenisi tanısıyla takip edilen olguların klinik, laboratuvar ve genetik bulgularının retrospektif olarak değerlendirilmesi, genetik değişiklikler ile klinik bulgular arasındaki ilişkinin incelenmesidir. Dünyada nadir görülen bu hastalık gurubu ile ilgili bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kalıtsal Trombosit Fonksiyon Bozuklukları**

Trombositler hemostazın birinci fazında görev alan, megakaryositler tarafından üretilip salgılanan kan hücreleridir. Dolaşımdaki trombositlerin temel görevleri; kendi mikroçevrelerindeki anormallikleri algılamak, hasarlı damar duvarına yapışmak, diğer trombositler ile agregasyon göstermektir (1). Kalıtsal trombosit hastalıkları çocukluk döneminden itibaren epistaksis, gingival kanama gibi mukozal kanama, menoraji ve peteşinin eşlik edebileceği ekimotik lezyonlar ile kendini gösterir. Hafif kanama bulguları dışında gastrointestinal, genitoüner ve intrakranyal kanama ile hayatı tehdit edecek boyutta kanama oluşturabilir. Mukozal kanama bulguları farklı hastalıklar sonucunda olabileceği için ayırıcı tanıda dikkat etmek gerekmektedir. Kas içi hematom ve hemartroz ise plazma faktör eksikliklerinde daha sık görülmekte, trombosit fonksiyon bozukluğu olgularında nadiren gözlenmektedir (2).

Açıklanamayan veya yaygın morarma, 30 dk.'dan uzun süren, anemi gelişimine veya hastaneye başvuruya yol açan burun kanaması, ilk menarştan itibaren menoraji varlığı, ağız içi kanamalar, doku bütünlüğünü bozan girişimler ya da diş çekimleri sonrası kanama semptomları olan kişilerde kalıtsal trombosit hastalıklarının akılda tutulması gerekmektedir (3-6). Bu semptomların bebeklikten itibaren emekleme ya da yürüme döneminde gözlenmesi tanıyı daha da güçlendirir. Trombositlerde 1000'den fazla protein bulunmaktadır. Megakaryositlerde ise bu sayıdan çok daha fazla gen kopyalanması gerçekleşir. Bu nedenle çok sayıda gen trombositopeni ve trombosit fonksiyon bozukluklarında rol oynamaktadır (7). Trombosit fonksiyon bozukluğu olan olguların çoğu çocukluk veya erişkin dönemde tip 1 veya tip 2 von Willebrand hastalığına benzer klinik tablo ile başvurumaktadırlar (5).

#### **2.1.1. Agregasyon bozuklukları**

##### **2.1.1.1. Glanzman trombastenisi**

Glanzman trombastenisi (GT), megakaryosit soyu etkileyen ve platelet agregasyon bozukluğuyla karakterize, nadir bir otozomal resesif kanama sendromudur. Nadir görülmesine rağmen, kalıtsal trombosit hastalıkları içinde en sık görüleni GT'dir

(8). Otozomal resesif (OR) geçiş özelliği nedeniyle, akraba evliliği yüksek olan toplumlarda daha sık görölmektedir.

Hastalık homozigot ve compound heterozigot olgularda ortaya çıkmaktadır. GT'de trombositlerin kollajene yapışmaları normal olduğu halde kümeleşmeleri mümkün olmaz. Bunun sonucu olarak GT'de, ana olarak mukokutanöz bölgelerin etkilendiği orta-ciddi seviyede kanamalar görülür. Moleküler temel, integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  ün kantitatif ve/veya kalitatif anormallikleriyle bağlantılıdır. Bu reseptör, agrege edici trombositleri bağlayan ve kan damarlarındaki yaralanma bölgelerinde trombüs oluşumunu sağlayan adeziv proteinlerin bağlanmasına aracılık eder. Glanzman trombastenisinin temel özelliği trombositlerin fibrinojene bağlanmasında ve birbirleriyle agregasyon yapmasında yetersizlik bulunmasıdır. Bu hastalığın ayırıcı özelliği; Adenozin difosfat (ADP), trombin ya da kollajen gibi fizyolojik agonistlerle trombosit agregasyonunun şiddetli olarak az oluşu ya da yokluğudur. Glanzman trombastenisi (GT), ilk kez 1918'de İsviçre'li bir pediatrist olan Glanzmann tarafından tanımlanan, kendisinin trombasteni (trombosit zayıflığı) olarak adlandırdığı heterojen bir hastalık grubu olup, normal trombosit sayısına karşın anormal pıhtı retraksiyonu ile karakterizedir (1). 1956'da Braunsteiner ve Pakesch trombosit fonksiyon bozukluklarını incelemiş ve trombasteniyi; yüzeye yayılmada başarısız olan ve pıhtı retraksiyonunu desteklemeyen, normal büyüklükteki trombositlerle karakterize edilen kalıtsal bir hastalık olarak tanımlamıştır (9). Primer özellik olarak trombosit agregasyonunun yokluğunu da içeren GT'nin diagnostik özellikleri, ilk olarak 1964'te Caen ve ark. tarafından, 15 Fransız hasta üzerine yazılan klasik raporda açıkça ortaya konmuştur (10). Sonraki dönemde ilk olarak 1987 yılında hastalığın varyantları belirlenirken, GT trombosit üzerindeki GPIIb/IIIa varlığına dayalı olarak, 3 alt tipe ayrılmıştır: tip I, II ve III.

Normal GPIIb/IIIa seviyesinin %5'in altında olduğu hastalar tip I, %5 ile %20 arasında olan hastalar ise tip II olarak sınıflandırılmıştır. Tip III hastalar genel olarak normal GPIIb/IIIa seviyeleriyle birlikte, disfonksiyonel reseptörlere sahiptir.

#### **a) Tip I GT**

Tip 1 GT, GT'nin şiddetli bir formu olup, akım sitometriyle analiz edildiğinde; trombositlerin sahip olduğu GPIIb/IIIa, ya eser miktardadır ya da gözlemlenebilir seviyede değildir. Bu hastaların trombositlerindeki GPIIb/IIIa düzeyi genelde %0 ile %5

arasındadır ve bu hastalarda trombosit agregasyon ve pıhtı retraksiyon yoktur. Fakat bazı hastalarda, Western blot yöntemiyle yapılan analizde; az miktarda GPIIIa, GPIIb veya pro-GPIIb, veya GPIIb'ün proteolitik fragmanları gözlemlenmiştir (11,12). Tip I hastalarda, GPIIb genindeki mutasyonlar, sıklıkla, vitronektin reseptör seviyelerindeki artışla sonuçlanmaktadır (13). Tip I GT trombositlerinin yüzeyinde tespit edilen GPIIIa'nın normal seviye ile yüksek seviye arasında oluşu; bir tür GPIIb gen bozukluğunun var olduğu fikrini pekiştirmektedir (14). Tip I GT ile sonuçlanan gen bozuklukları; alternatif zincirlemeye (splicing) sebep olan silinme ve eklenmeler, GPIIb ya da GPIIIa'nın prematür kırılmasına sebep olan nonsense mutasyonlar ve ayrıca normal altünite stabilitesi ve işlenmesi için kritik olan alanlarda amino asit değişikliğine yol açan tek nükleotid değişimlerini içermektedir (15, 16). GPIIb'nin kalsiyum bağlayıcı alan kodlayan bölgeleri arasında veya yakınındaki mutasyonlar, mutasyonun genel bir değişiklikle sonuçlanması durumunda, tip I GT'ye yol açmaktadır (17).

#### **b) Tip II GT**

Tip II GT'li hastaların trombositlerindeki GPIIb/IIIa düzeyi %5 ile %20 aralığındadır. Bu hastalar trombosit agregasyon yokluğu olan ama rezidüel pıhtı retraksiyonu görülen hastalardır (18). Tip II GT vakaları yaygın olarak, GPIIIa'yı kodlayan gende bozukluk olması durumunda ortaya çıkmaktadır. GPIIb'nin kalsiyum bağlayıcı alan kodlayan bölgeleri arasında veya yakınındaki bir mutasyon olup, mutasyonun genel bir değişikliğe yol açmaması durumunda, Tip II GT görülür; zira bu durumda GPIIb/IIIa komplekslerinin yüzeye taşınımı azalmakta ve yavaşlamaktadır.

#### **c) Tip III veya Varyant GT**

GPIIb/IIIa düzeyinin %20 üzeri ile normal seviye arası olan GT hastaları, tip III veya varyant tip olarak sınıflandırılmaktadır. Bu hastalar, GT'nin tipik klinik semptomlarını ve laboratuvar özelliklerini göstermelerine rağmen, genel olarak trombositler üzerinde disfonksiyonel reseptörlere sahiptirler. Bu hastalar moleküler ve klinik belirtiler açısından oldukça çeşitlilik gösterirler, öyle ki trombosit fibrinojen konsantrasyonu ve pıhtı retraksiyonu (PR) yok seviyesi ile normal seviye arasında; kanama semptomları şiddetli ile yok seviyesi arasındadır. GT tip 3'te GPIIb/IIIa'nın fibrinojen-bağlayıcı alanındaki bir yapısal bozukluğa işaret eden, monoklonal antikorların kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur (19). Varyant GT, GPIIb/IIIa'nın

kalitatif bozukluğundan kaynaklanırken; tip I ve II GT, GPIIb/IIIa'nın kantitatif bozukluğundan kaynaklanmaktadır (18, 20). Tip II GT'de olduğu gibi, varyant GT de genel olarak GPIIIa'yı kodlayan gendeki mutasyonların sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.

#### **2.1.1.1.1. Patofizyoloji**

GT' de 17q21.23 kromozomun ITGA2B, ITGB3 genlerindeki mutasyonlar sonucu, GPIIb/IIIa reseptörünün yokluğu ya da fonksiyon bozukluğu gelişir (3-5, 21). Bu durumda uyarılan trombosit IIb-IIIa reseptör aktivasyonu ile fibrinojen, fibronektin ve VWF ile bağlanacağı alanlar ortaya çıkamayacağından agregasyon yapamaz (18, 21). Bir kalsiyum-bağımlı heterodimer olan trombosit GPIIb/IIIa, bir tür fibrinojen, fibronektin, vitronektin, von Willebrand faktörü ve trombospondin reseptörü olup; platelet agregasyonu, sağlam adezyon ve trombosit yayılmasına ortam hazırlamaktadır. GPIIb/IIIa, integrin ailesinin bir üyesi olup, aynı zamanda trombosit fibrinojen reseptörü olarak da bilinen ve en bol bulunan trombosit reseptörüdür. GPIIb/IIIa fibrinojen reseptörünün iki altünitesinden her biri, farklı bir mesajcı RNA (mRNA) transkriptinden türetilmiştir; bu yüzden biyosentezin düzenlenmesi, muhtemelen posttranslasyonel bir olaydır. GPIIb, megakaryositler ve belirli megakaryositik hücre hatları tarafından, bir tek-zincir prekürsör olarak sentezlenmekte; ve endoplazmin retikulumunda (ER), kor glikozilasyon, disülfit bağ formasyonu ve katlanma işlemlerinden geçmektedir. GPIIIa polipeptit, bir tek-zincir prekürsör olarak sentezlenmekte ve altünitelerle kombine şekilde açığa çıkmaktadır. GPIIb, bir prekürsör olan proIIb molekülünden türetilmektedir ve bu molekül ER'de GPIIIa ile birleşmektedir. Ardından pro-IIb/IIIa kompleksi golgi cisimciğine girmekte ve burada pro-IIb parçası proteolitik bir süreçten geçip, bu sürecin sonunda olgun polipeptidin hafif ve ağır zincirleri üretilir. Bu süreç, hücre yüzey ekspresyonu için gerekli olup, hücre içindeki altünitelerin kompleks oluşumunu müteakiben ortaya çıkmaktadır. Golgi cisimciğinde N-bağlı karbonhidratın modifikasyonundan ve O-bağlı karbonhidratın eklenmesinden sonra, olgun GPIIb/IIIa kompleksi hücre yüzeyine taşınır.

Bu hastalığın en belirgin özelliği, çoklu fizyolojik agonistlere yanıt olarak, trombosit agregasyonunun ciddi derecede düşük olması ya da hiç olmamasıdır (22).

### **a) Trombosit Fibrinojeni ve Diğer $\alpha$ -Granül Proteinleri**

GT'li hastalar normal plazma fibrinojenine sahip olmalarına rağmen, trombosit fibrinojeninden yoksundurlar (23). Trombosit fibrinojeni,  $\alpha$ -granülleri arasında tutulmakta ve GPIIb/IIIa'yı içeren reseptör-aracılıklı endositozla elde edilmektedir (24). Erken dönem çalışmalar megakaryositler tarafından fibrinojen sentezini rapor etmiş olsa bile, daha sonraki raporlar ortaya koymuştur ki insan megakaryositleri bu protein için ya hiç ya da çok az mRNA içermektedir (25). Eksojen fibrinojenin trombosit bağlanması; ADP, epinefrin, ve trombin gibi agonistler aracılığıyla, GPIIb/IIIa üzerindeki fibrinojen reseptör aktivitesinin indüklenmesini gerektirmektedir (26). Trombastenik trombositler GPIIb/IIIa'dan yoksun olmakta, stimüle edildiğinde fibrinojene bağlanmada başarısız olmakta ve fibrinojeni  $\alpha$ -granüllere taşıyamamaktadır (27). Trombositleri, rezidüel miktarlarda trombosit GPIIb/IIIa taşıyan trombastenik hastalar; gösterilebilir miktarda  $\alpha$ -granül fibrinojenine sahip olabilmektedir. Öte yandan GT hastalarının  $\alpha$ -granüllerinde; trombosit faktör 4,  $\beta$ -tromboglobülin, immünoglobülin G (IgG), VWF ve trombospondin gibi diğer depo proteinler normal miktarda bulunmaktadır.

### **b) Trombosit Adezyonu, Sekresyon ve Prokoagulan Etkinlik**

Trombastenik trombositler kolajen liflere normal olarak bağlanabilmektedir. Ayrıca açığındaki subendotelial dokuya ilk bağlanma normal şekilde gerçekleşmekte ve sekresyon başlamaktadır. Fakat GT'de, bunu takip eden reaksiyon olarak trombositlerin hücre duvar yüzeyine yayılımı defektifdir. GPIIb/IIIa'nın aynı zamanda tirozin fosforilasyonunun bir altkümesini regüle ettiği gözükmektedir. Böylece GT'deki bozuk protein tirozin fosforilasyonunun, değişmiş trombosit fonksiyonel yanıtlarının bir diğer nedeni olması mümkündür. Tam yayılma ve agregasyon, bazı proteinlerin kademeli tirozin fosforilasyonlarıyla ilişkilidir ve bu durum GPIIb/IIIa'nın dıştan-içe sinyalizasyonunda oynanan bir rolü teyit etmektedir.

Erken dönem çalışmalarda, GT'de trombosit prokoagulan aktivitesinin bozuk olduğu rapor edilmiştir (23). Fakat sonraki dönemde GT hastalarında; uyarılmamış trombositlerde, trombin veya trombin+kolajen ile uyarılmış trombositlerde ve trombosit lizatlarında, protrombinaz aktivitesinin normal olduğu tespit edilmiştir (28). Üstelik trombastenik trombositlerin tek bir tabaka halinde, agregasyon olmaksızın



subendotelyuma yapışması durumunda; fibrin formasyonunun aslında güçlendiği görülmüştür (29).

#### **c) Trombosit Agregasyonu**

Çoklu fizyolojik agonistlere yanıt olarak, GT trombositlerinin sergilediği trombosit agregasyonu ya ciddi derecede düşüktür veya hiç yoktur. Tipik olarak; aralarında ADP, epinefrin, kolajen ve trombinin de bulunduğu fizyolojik agonistlere trombosit agregasyonu yanıtı yoktur, fakat ristosetine yanıt normal düzeydedir (30).

#### **d) Pıhtı Retraksiyonu**

Pıhtı retraksiyonu (PR) olmaması, GT'li hastaların tanımlanmasındaki ilk gözlemlerden biridir. Bu bozukluğun evvela  $\alpha$ -granül fibrinojen eksikliğiyle alakalı olduğu sanılmıştır. Fakat sonraki çalışmalar göstermiştir ki bu durum, trombositlerin rezidüel GPIIb/IIIa içeriğiyle bağlantılıdır. Bir miktar fonksiyonel GPIIb/IIIa'lı hastalarda PR kısmen gerçekleşmektedir; öte yandan GPIIb/IIIa'nın tamamen noksan olduğu hastalarda PR ciddi derecede düşüktür veya hiç yoktur (30).

#### **2.1.1.1.2. Ayırıcı Tanı**

Adenozin difosfat (ADP) veya kolajene özgü trombosit agregasyon defektleri, bunların primer reseptörleri veya sinyal yollarına dair anormalliklere işaret etmektedir. ADP'ye agregasyonun ikinci dalgasında veya kolajene yanıt vermedeki defektler, depo havuzu hastalığına veya dens granüllerde ADP'nin sekretuar depolarının yokluğuna işaret edebilmektedir. Araşidonik asite verilen trombosit yanıtındaki bozukluklar, ya tromboksan A2 yapımındaki kalıtsal bir anormalliğe ya da aspirin Emilimi yoluyla geçici olarak temin edilen bir trombosit fonksiyon defektine işaret etmektedir. Pıhtı retraksiyon yokluğu, sıkça görülen bir diğer karakteristik olmakla birlikte; GT, trombosit agregasyonunun tüm agonistlere karşı defektif olduğu tek hastalıktır. Normal ristosetin-endüklenmiş trombosit aglütinasyonu ve normal trombosit boyutu, bir trombosit adezyon hastalığı olan Bernard-Soulier sendromu tanısını kural dışı bırakmaktadır. Kalıtsal trombositopeniler ise, normal platelet sayımıyla elimine edilmektedir. Normal koagülasyon parametreleri; afibrinojenemi ve von Willebrand hastalığı gibi, trombosit fonksiyonunu etkileyen diğer pıhtılaşma hastalıklarını hakeza

kural dışı bırakmaktadır. Hastalığın aile geçmişinin olmaması durumunda, kalıtsal trombastenini de elimine edilmelidir. Akut promiyelositik lösemili hastalarda platelet  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 bozukluğu ve anormal platelet agregasyonu rapor edilmiştir (31); bu kalıtsal hastalığı etiyojisi muhtemelen bir kromozom 15-17 translokasyonudur. GT teşhisindeki bir diğer problem, agregasyonu bloke eden irsi otoantikoru hastaları elimine etmektir (bu hastalar genelde trombositopenik olmalarına rağmen) (32). Bu antikorlar, hastanın serumuyla inkübasyon esnasında, kontrol trombositlerinin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3'üne tutunmalarına bakılmak suretiyle immünolojik olarak ortaya çıkarılabilirler (33). Lökosit adhezyon defekti tip I'de,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 ve  $\beta$ 3 integrinlerinin rol aldığı GT-like sendrom meydana gelir ve GT ile ayırıcı tanıya girmektedir (34). Aşağıda GT ile ayırıcı tanıya giren bazı önemli kalıtsal trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalıkların listesi verilmiştir.

### **Kalıtsal Trombosit Fonksiyon Bozuklukları (35)**

- 1) **Adezyon bozuklukları**
  - a) **Bernard-Soulier Sendromu (BSS)**
  - b) **Von Willebrand Hastalığı (vWH)**
- 2) **Primer granül sekresyon bozuklukları**
  - a) **Alfa granül eksikliği**
    - Gri trombosit sendromu
  - b) **Delta granül eksikliği**
    - Hermansky-Pudlak sendromu (HPS)
    - Chediak-Higashi sendromu (CHS)
- 3) **Agregasyon bozuklukları**
  - a) **Glanzman trombastenisi**

#### **2.1.1.1.3. Etiyoloji**

Megakaryositler kemik iliğinde mevcut olup, olgunlaştıklarında büyük miktarlarda trombositleri kan dolaşımına bırakırlar. GT'de, trombositler normal şekilde olmalarına rağmen; aralarında ADP, trombin ve kolajenin de bulunduğu tüm doğal agonistlere yanıt olarak agregasyon oluşturmada başarısızlık gösterirler. Bu trombastenik plateletler ayrıca ekspozite subendotelial dokuya yapışabilmekte ve depo granüllerden

sekresyon başlatılabilmektedir. Öte yandan, takip eden reaksiyonlar olan trombositin ekspoze yüzeye yayılması ve trombus oluşumu defektiftir (36). 1970'lerde Nurden ve Caen, GT'li hastalardaki trombositlerin membran glikoprotein (GP) kompozisyonlarında seçici anormalliklerin olduğunu göstermiştir (37). Bu çalışmalar doğrultusunda hastalığın, GPIIb ve GPIIIa'nın spesifik bozuklukları tarafından tetiklendiği anlaşılmıştır. Sonraki dönemde GPIIb ve GPIIIa'ın trombosit membranında bir heterodimerik molekül olarak mevcut olduğu ve  $\alpha$ Ib $\beta$ 3'e benzer şekilde bu kompleksin, hücre yüzey reseptörleri her yerde bulunan integrin familyasının bir üyesi olduğu belirlenmiştir (38,39).

**Human Gene Mutation Database** (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>) 2018 yılı Eylül ayı veritabanına göre GT'ye yol açan şimdilik 350'nin üzerinde mutasyon vardır.  $\alpha$ Ib ve  $\beta$ 3 genlerindeki delesyon ve insersiyon, nonsense veya missense mutasyonlar, çerçeve kaymaları GT'nin yaygın sebepleridir.

#### **2.1.1.1.4. Klinik bulgular**

GT'li hastalarda minimal kanamalardan, ölümcül kanamalara kadar giden klinik çeşitlilik mevcuttur. Hemorajik semptomlar sadece, GT'ye sebep olan mutasyonlar açısından homozigot olan hastalarda gözükmemektedir; heterozigot durum çoğunlukla asemptomatiktir (bu hastaların sadece yarı-normal platelet  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 konsantrasyonuna sahip olmalarına rağmen) (18). GT'de purpura, epistaksis, gingival hemoraji ve menoraji neredeyse her hastada gözlenirken, gastrointestinal kanama ve hematüri ise daha az yaygın olmakla birlikte ciddi komplikasyonlara sebep olabilmektedir (40, 41). GT'li hastalar, daha çok hemofilik hastalarda görülen, eklem içi ve kas içi kanamalar ile de prezente olabilirler (18). Ancak hemofili gibi koagülasyon hastalıklarının bir karakteristiği olan viseral kanamalar, genel olarak görülmez. Menoraji, adolesan çağıdaki kız hastalar için önemli bir problemdir.

Cerrahi işlemler veya travma sonrasında şiddetli kanamalar görülebilir. Epistaksis, ciddi kanamanın yaygın bir sebebidir ve tipik olarak çocuklukta daha şiddetlidir. GT'de kanama eğilimi genel olarak, yaşın ilerlemesiyle azalmaktadır. Nadir de olsa, GT'nin hafif von Willebrand hastalığı gibi diğer kalıtsal hastalıklarla beraber görülmesi, kanamanın klinik ciddiyetini artırabilmektedir (40, 42). GT'de yaşam boyu mortalite oranı %5-10 civarındadır. Bunun en önemli sebebi gastrointestinal sistem

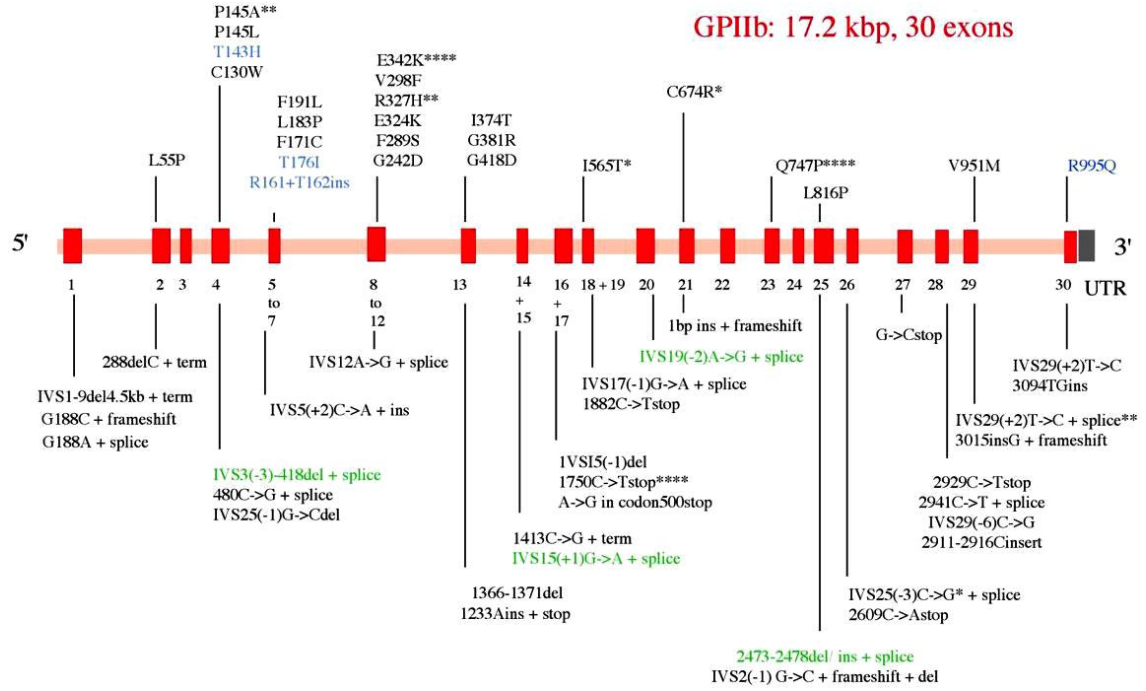
kanamaları ve spontan intrakraniyal kanamalardır. GT ciddi bir hemorajik hastalık olmakla birlikte, dikkatli destek tedaviyle, prognozun iyi olduğu söylenebilir.

#### **2.1.1.1.5. Laboratuvar bulgular ve tanısal metodlar**

GT'de kanama zamanı uzundur. Tam kan sayımında ve periferik yaymada trombosit sayısının normal olmasına rağmen, periferik yaymada trombosit agregasyonunun (kümelenmesinin) görülememesi önemli bir bulgudur. Trombosit agregasyon testi (TAT): Geleneksel TAT invitro ortamda trombosit agonistleri (ADP, araziidonik asit, kollajen, epinefrin, trombin ve ristosetin) kullanılarak trombositlerin aktivasyon ve agregasyonunu ölçmektedir. Trombosit fonksiyonunu değerlendiren en önemli tanısal yöntemdir. Genellikle ışık transmisyon agregometresi (ITA) kullanılarak uygulanmaktadır. Uluslararası Tromboz ve Hemostaz Topluluğu (ISTH), ITA'da kullanılacak yöntem ve teknik ile ilgili standartları oluşturmuştur (43). ITA, trombosit fonksiyonlarını değerlendiren altın standart testi kabul edilmektedir. Trombosit fonksiyon testlerinde ADP, kollajen, epinefrin ve araziidonik asit ile agregasyon izlenmezken, sadece ristosetin ile indüklenen agregasyon normaldir (44). Tüm fizyolojik uyaranlara yanıt olarak trombosit agregasyonunun olmadığı mukatanöz kanama, GT için patognomoniktir ve anormal pıhtı retraksiyon diğer hastalıklarda nadir gözlemlenmektedir (40). Bu iki işaretin normal trombosit sayımı ve morfolojisine eşlik ettiği durumlarda GT teşhisi kesindir. Koagülopatisi olan hastada periferik yaymada trombositlerin büyüklüğü ve trombositopeni varlığı GT tanısını koymada yardımcı bulgulardır. PFA-100 sisteminin (DadeBehring, Miami, ABD) kullanımı, GT'de kanama zamanı testlerinin yerine kullanılabilir (45). PFA-100, kan kolajen-tabanlı filtrelerden geçerken kapanış zamanını ölçmektedir; GT hastalarının kanı, filtreyi tıkamada başarısız olmaktadır.

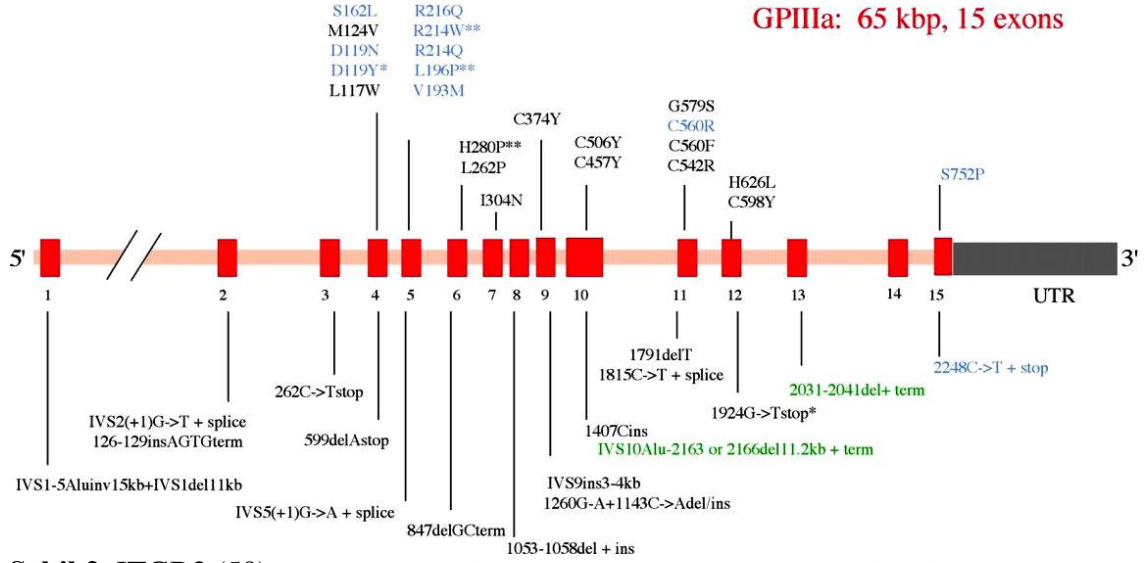
Yeni hastalarda trombosit  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 eksikliği muhakkak daima teyit edilmelidir. Günümüzde bu amaçla en sık kullanılan yöntemler, akım sitometri (46) ve immunoblot analizdir (11). Hastanın trombositlerinde western blotlama yardımıyla eser miktarda hücrelerarası  $\alpha$ Ib veya  $\beta$ 3 keşfedilmesi, etkilenmiş genin kimliğine dair ipucu verebilmektedir; diğer yandan, işlenmemiş prekürsör pro- $\alpha$ Ib ise integrin biyosentezinde bir bloka işaret etmektedir (47, 48). Akım sitometrik yöntemle GPIIb (CD41) ve GPIIIa (CD61) araştırılması hızlı tanıda yardımcıdır. Genetik mutasyonlara

bağlı reseptör yapısının değişime uğrayabilmesi nedeni ile reseptörlerin akım sitometrik varlığı tanıdan uzaklaştırmaz (3, 6, 49). Moleküler yöntemler ile 17q21.23 kromozomu ITGA2B (30 exon), ITGB3 (15 exon) genlerindeki mutasyonların saptanması tanıyı kesinleştirir. Aşağıdaki şekillerde ITGA2B (şekil 1) ve ITGB3'ün (şekil 2) gen yapısı verilmiştir.



**Şekil 1.** ITGA2B (50)

*GPIIb* (*αIIb*) (ITGA2B) gen yapısının şematik temsili ve Glanzman trombastenisine (GT) yol açan genetik anormallik türlerinin temsili spektrumu. Hastalığın varyant formlarından sorumlu olan hasarlar mavi renkle, etnik gruplarda yaygın olan hasarlar ise yeşil renkle gösterilmiştir. Yıldız işaretleri, aynı genetik genetik hasarın bariz şekilde farklı ailelerde kaç kez görüldüğünü belirtmektedir. Hasarlara dair sürekli güncellenen bir listeye ulaşmak için lütfen ISTH veritabanına <http://sinaicentral.mssm.edu/intranet/research/glanzmann> başvurunuz. UTR: çevirisi yapılmayan bölge, del: silinme, ins: eklenme, inv: inversiyon, term: prematür terminasyon, stop: stop kodonu. Basitlik açısından, inisyal genetik hasar vurgulanmıştır. Çerçeve kaymaları ve aberan splayların tamamı not edilmemiştir.



*GPIIIa* ( $\beta 3$ ) (ITGB3) gen yapısının şematik temsili ve Glanzman trombastenisine (GT) yol açan genetik anormallik türlerinin temsili spektrumu. Hem  $\alpha$ IIB hem de  $\beta 3$  geni üzerindeki anormalliklerin oldukça fazla olması, ayrıca bu iki genin hiçbir bölgesinin hasardan muaf olmaması dikkat çekicidir.

#### 2.1.1.1.6. İnsidans-Prevelans

Kalıtsal trombosit hastalıkları içinde en sık görüleni GT'dir (8). Otozomal resesif geçiş özelliği nedeniyle, GT'nin görülme sıklığı, yakın akrabalar arası evliliğin sık görüldüğü popülasyonlarda artmaktadır. Güney Hindistan Hinduları, Irak Yahudileri, Fransız Çingeneri ve Ürdünlü göçebe kabileler gibi, akraba evliliğinin sık görüldüğü, belirli etnik gruplarda, trombasteni yaygın bir herediter hemorajik bozukluk olabilmektedir. Buna örnek olarak; 177 hastanın incelendiği bir çalışmada, hastaların sadece 12'si ABD'den iken, buna karşılık 55'i İsrail ve Ürdün'den, 42'si ise Güney Hindistan'dandır (18). Bu durum, İran'da 382 hastanın rapor edildiği bir çalışmayla da teyit edilmiştir (51). Bu sebeplerden ötürü, dünya prevalansı üzerine bir tahminde bulunmak güvenilir olmayabilir (50).

#### 2.1.1.1.7. Tedavi

Tüm GT hastalarının, bir uzman tarafından takip edilmesi ve günün 24 saatinde teşhis ve tedavi imkanları sunan bir merkeze kayıtlı olması gerekmektedir (52, 53). GT hastaları için periyodik bir terapiye gerek olmamakla birlikte, cerrahi prosedürlerde,

yaralanma sonrası kanama kontrolünde ve spontane kanama epizodlarında, bu hastaların daima tedaviye ihtiyaçları vardır.

#### **a) Hasta Yönetimi ve Eğitimi**

GT hastalarının ömürleri boyunca muhtemelen en az bir defa kan ürünleri transfüzyonu aldığı düşünüldüğünde, tüm hastaların hepatit B'ye karşı bağışıklık edinmesi gerekmektedir (54). Hastaların ayrıca temasın yüksek olduğu sporlardan ve bunun yanı sıra aspirin ve non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlardan kaçınması tavsiye edilmelidir (53). Hastalar, diş eti kanaması ve ağız içi kanamayı en aza indirmek amacıyla, ağız hijyenine dikkat etmeli ve düzenli diş hekimi kontrolüne gitmelidir. Kadın hastalarda, menorajinin olası sonuçlarına karşın takip edilmeli, demir eksikliği açısından düzenli olarak izlenmeli ve gerektiğinde demir takviyesi yapılmalıdır.

#### **b) Lokal önlemler ve antifibrinolitik ajanlar**

Az-orta seviyeli kanama epizodlarında, lokal önlemler ve/veya anti-fibrinolitik ilaçlar kanamanın giderilmesinde etkili olabilmektedir. Anti-fibrinolitik ilaçlar özellikle mukokütanöz kanamada etkilidir ve bu ilaçların ayrıca, lokal önlemlerle desteklendiğinde, dental prosedürlere ilişkin kanamalarda başarılı olduğu gösterilmiştir. Kanama alanına bası yapma, jelatin süngerleri, fibrin yapıştırıcıları ve topikal trombin gibi lokal önlemler; anti-fibrinolitik başarısını artırıcı etkiye sahiptir (52).

Anti-fibrinolitik ajanlar, traneksamik asit ve epsilon aminokaproik asiti içermektedir. Bu ajanların, tek başlarına veya yardımcı terapi olarak rFVIIa (Rekombinant FVIIa) ile kullanıldığı durumlarda, GT'li hastaların kanamalarının minimize edilmesinde veya giderilmesinde etkili ve güvenli olduğu tespit edilmiştir. Hem oral hem de intravenöz olarak kullanılabilirdiği için her iki ajan da, epistaksis, diş eti kanaması, menoraji, diş çekimi öncesi proplaksis ve diğer minör cerrahi kanamalarda başarılı şekilde kullanılabilir. Üriner trakttaki pıhtı riskine karşın, hematüri vakalarında anti-fibrinolitik kullanımından özellikle kaçınılmalıdır (53).

#### **c) Desmopressin**

Diğer trombosit hastalıklarının tedavisindeki başarısına rağmen, DDAVP'nin (Desmopressin) GT'li hastalarda başarıyla kullanıldığına dair ortada önemli bir kanıt yoktur. VWF, FVIII ve doku plasminojen aktivatörünün plazmaya salınımına sebep olan DDAVP'ye tabi tutulan örneklerde, kollajen üzerinde trombosit birikimine dair herhangi bir önemli etki gözlenmemiştir (53). Nadiren bazı çalışmalarda, DDAVP

verilmesi sonrasında kanama zamanında kısıalma/düzelme olduğu bildirilmiştir (55). GT'li hastalardaki fonksiyonel hasarın kısmen düzeltilmesine izin veren trombosit transfüzyonu, lokal önlemler ve/veya anti-fibrinolitiklerin, kanamayı kontrol edemediği durumlarda, hastalar için standart terapi olarak değerlendirilmektedir (56).

#### **d) Trombosit transfüzyonu**

Diğer ajanlar ve lokal önlemlerle kanamanın kontrol altına alınamadığı durumlarda, travma veya doğum sonrası ciddi kanamalı hastalarda, çoklu trombosit ve/veya eritrosit süspansiyonu transfüzyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Doz açısından yeterli delil olmamakla birlikte, erişkinler için bir aferez ünitesi (6-8 ünite random) TS, çocuklar için ise 10-15 ml/kg TS önerilmektedir (3, 57).

Tekrarlanan trombosit transfüzyonları, GPIIb/IIIa izotopları ve/veya HLA izotoplarına karşı izoantikörlerin oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, hastaların %30 ile %70 arasındaki kısmının, trombosit transfüzyonunu takiben alloantikör geliştirdiği tahmin edilmektedir (58, 59). Trombosit alloimmünizasyonu, trombositlerin ivmeli olarak yıkımıyla ve trombosit transfüzyonlarının terapötik başarısızlığıyla sonuçlanmaktadır. Bu açıdan olası alloimmünizasyonlardan kaçınmak için HLA-eşleşmiş trombositler tavsiye edilir (52). rFVIIa'nın yaygınlaşmasından önce, trombosit alloantikörlerinin oluştuğu ve trombosit yıkımının olduğu durumlarda, mevcut durumun geleneksel olarak plazmaferez veya IVIG kullanılarak yönetildiği bilinmektedir.

#### **e) Rekombinant FVIIa (rFVIIa)**

rFVIIa ilk olarak 1996 yılında, 2 yaşındaki GT'li bir erkek hastada ciddi ve kontrolsüz hemoraji için başarılı şekilde kullanılmıştır (58, 60). Bunun akabinde bu tedavinin uygulanması dünya genelinde yaygınlaşmaya başlamıştır. GT'li pek çok hastada kanamanın başarılı şekilde yönetilmesini sağlasa da, rFVIIa tedavisinin tüm hastalarda etkin olduğunu söylemek mümkün değildir. %100 etkili olmasa bile, başarı oranının yüksek ve kullanımla alakalı risklerin düşük olması sebebiyle, rFVIIa'nın GT'li hastalarda kanamayı önlemedeki yeri etraflıca çalışılmış bir konudur.

GT'li hastaların bazılarında başarı sağlayan rFVIIa'nın kanamayı nasıl kontrol ettiğine dair mekanizma henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak rFVIIa'nın, direkt olarak faktör X'u aktive edip trombin patlamasına yol açtığı için, bozulmuş olan trombosit agregasyonunu, diğer membran reseptör yolları yoluyla kısmen düzelttiği düşünülmektedir (61). Artan trombin miktarı, trombositlerin yapışmasına ve



birikmesine yardım etmekte, böylece GPIIb/IIIa eksikliği bulunan trombositlere de destekleyici etkide bulunmaktadır (59).

GT'li hastalarda rFVIIa'nın optimal dozuna ilişkin genel kabul görmüş bir yaklaşım mevcut değildir. Fakat bu tedavide önerilen yöntem; kanama durana dek veya toplamda 3 defa olmak üzere, her 2 saatte bir 90 mcg/kg'lık bolus enjeksiyonun intravenöz olarak yapılması ve akabinde takip amaçlı bir veya daha fazla bakım dozunun uygulanmasıdır (53, 59, 62). rFVIIa'nın yarı-ömrünün kısa olması sebebiyle, doz tekrarına ihtiyaç vardır.

Hemoraji tedavisi veya cerrahi proplaksi amacıyla rFVIIa verilen 59 GT'li hastayı içeren geniş çaplı bir çalışmada, kanama epizodlarında %64 ve cerrahi prosedürlerde %94 seviyesinde başarı yakalanmıştır (62). 28 GT'li hastayı içeren bir diğer çalışmaya göreyse, kanama epizodlu hastaların %93'ü rFVIIa'ya yanıt vermiştir (56).

#### **f) Hematopoetik kök hücre nakli (HSCT)**

Ciddi ve tekrarlayan kanama epizodlarına sahip ve/veya trombosit transfüzyonuna karşı refaktör durumdaki GT'li hastalar için alternatif bir tedavi imkanı sunmaktadır (52, 53, 56). Günümüzde GT'li hastalarda kök hücre nakli nadir olarak yapılmaktadır. Öyle ki bu alanda iyi tanımlanmış herhangi bir nakil algoritması mevcut değildir. Bu alandaki ilk başarılı kemik iliği nakli 1985 yılında, anti-GPIIb/IIIa antikorlu 4 yaşındaki GT'li bir erkek çocuk hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir (53). Günümüze değin başarılı şekilde kök hücre nakli alan şiddetli GT'ye sahip hasta sayısı 19 olarak rapor edilmiştir.

#### **g) Gen tedavisi**

GT'de gen tedavisi, özellikle geçtiğimiz on yıl içinde önemli bir ilgi kazanmış ve bu alanda özellikle hayvan modelleri üzerindeki çalışmalar hızlanmıştır (63). Moleküler biyoloji ve genetik alanındaki teknolojik imkanların yaygınlaşmasıyla birlikte önümüzdeki dönemde; diğer pek çok kalıtsal hastalık gibi GT alanında da gen terapisine ilişkin deney ve uygulamaların hızla artacağı öngörülmektedir.

## 2.1.2. Adezyon bozuklukları

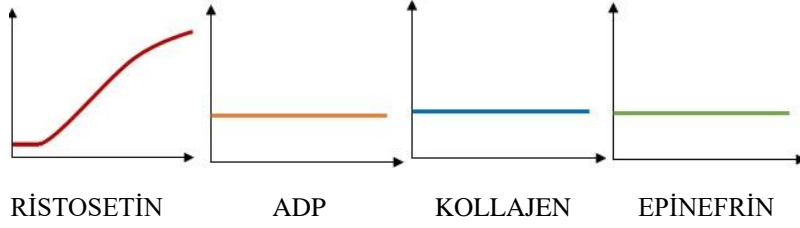
### 2.1.2.1. Bernard soulier sendromu

Bernard Soulier sendromu (BSS), GPIb/V/IX'in kalitatif veya kantitatif defekti sonucunda ortaya çıkan otozomal resesif geçişli bir trombosit fonksiyon bozukluğudur. GPIb/V/IX reseptörünün her bir birleşeni 17, 22 ve 3. kromozomlardaki sırası ile GPIBA, GPIBB, GP5, GP9 genleri tarafından kodlanmaktadır. BSS'li olgularda bu kromozomlarda gerçekleşen çeşitli mutasyonlar (3-6) sonucu GPIb/V/IX reseptörünün; eksikliği, yokluğu veya fonksiyon bozukluğu gelişir. Bu durum, von willebrand faktör (VWF)'e trombosit adezyon eksikliği ile sonuçlanır. Gelişen bu adezyon kusuruna bağlı BSS'li olgularda, diğer trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalardaki gibi, mukokutanöz kanamalar, diş eti kanaması, burun kanaması, GİS kanaması ve uzamış adet kanamaları sıklıkla görülür. Ancak semptomlar yaşın ilerlemesi ile azalma eğilimi gösterir (64, 65). GPIb/V/IX reseptörünün temel yapı taşı sialik asittir. Öyle ki, GPIb/V/IX reseptör eksikliklerinde, sialik asid düzeyi de azalır. Sialik asit aynı zamanda hücre membranının da yapıtaşlarından biri olduğundan, BSS'de adezyon kusurunun yanısıra, trombosit yarı ömründe azalma, hafif trombositopeni (50000-100000) ve makrotrombositoz beklenen bulgular arasındadır. Kanama zamanı ve Platelet Funtion Analyzer 100 (PFA-100) ölçümleri bu hastalarda uzamıştır (1), ancak BSS'yi ayırt ettiren anormallik, trombositlerin ristosetin varlığında agregasyonunun yetersiz olması ve bu durumun normal plazma eklenmesi ile düzelmemesidir (66, 67). Kollajen, ADP, epinefrin gibi diğer agonistlere cevap normal olmakla birlikte düşük doz trombine olan agregasyon cevabı uzamış olabilir (68). Trombosit glikoproteinlerinin akım sitometrik analizi tanı için destekleyici bir kriterdir (69). Tedavisi GT ile benzerlik göstermekte olup; antifibrinolitik tedavi, kanama durumlarında trombosit transfüzyonu ve rekombinan faktör VIIa kullanılır (65). BSS'li hastalarda trombosit süspansiyonu verilmesinden sonra GPIb/V/IX komponentine karşı alloantikör gelişerek, trombosit refrakterliğine neden olabilmektedir (70).

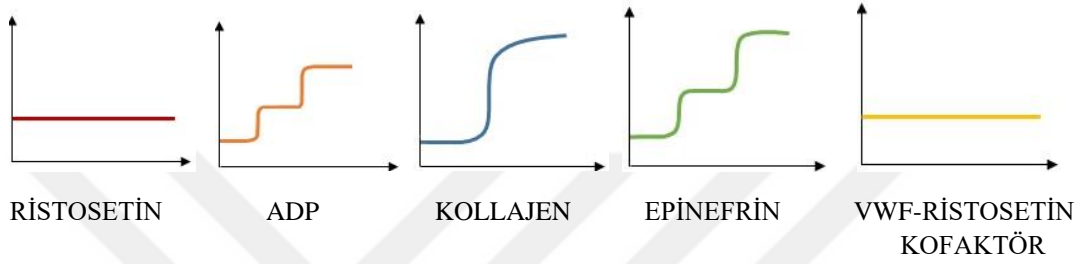
### 2.1.2.2. Von Willebrand Hastalığı (vWH)

Von Willebrand Hastalığı (vWH), bir plazma protein olan, von Willebrand faktörün (vWF) eksikliği veya fonksiyonunun bozukluğu sonucu ortaya çıkan bir kanama diyatezidir. İlk olarak 1926 yılında Dr. Eric von Willebrand tarafından tanımlanmıştır. Bu hastalık aslında toplumda sıktır (%1), ancak hastaların sadece %10'unda kanama bulguları görülmektedir. Tip 1, 2 ve 3 olmak üzere üç farklı klinik tipi vardır. Tip1 vWH'li olguların %75-80'ini oluşturur, vWF yapısal olarak normal olmasına rağmen miktarı azalmıştır. Tip2 hastalıkta kalitatif defekt mevcuttur. Tip3 son derece nadir görülür ve vWF hemen hemen hiç yapılamaz, sonuçta FVIII de taşınamayacağından, Tip3 vWH'de klinik hemofili A'ya çok benzer. Tip3 vWH'de kanama bulguları ağırdır (71). vWH'li hastalarda trombosit sayısı normal olmakla birlikte kanama zamanı uzundur. vWH'nda en sık görülen semptom mukokutanöz kanamalardır ve mukokutanöz kanamaların en sık görüleni ise epistaksistir (%60). Kanamaya eğilim her hastada değişik olabileceği gibi, aynı ailedeki hastalarda da farklılık gözterebilir. Gebelik, östrojen kullanımı ve yaşın ilerlemesiyle birlikte vWF ve FVIII:C yükseldiği için hastalık belirtileri hafifler (72). FVIII ve vWF düzeyi ile ristosetin kofaktör aktivitesi düşüktür. Trombosit fonksiyon testlerinde ristosetin ile agregasyon genellikle azalmış olarak bulunur. Ristosetin ile izlenen agregasyon kusuru, vWF içeren sağlıklı plazma eklenmesi ile Bernard-Soulier sendromunda düzelme olmazken, vWH'da agregasyon kusuru ortadan kalkar (73).

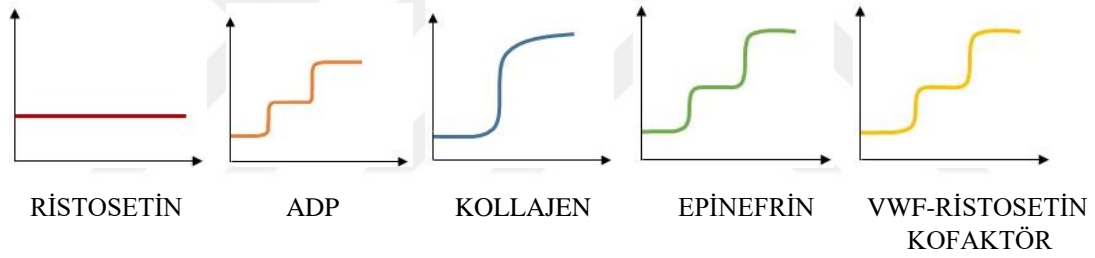
### A. GLANZMAN TROMBASTENİSİ



### B. BERNARD SOULIER SENDROMU



### C. VWF HASTALIĞI



**Şekil 3.** Trombosit agregasyon testleri ile Glanzman Trombastenisi, Bernard Soulier sendromu ve vWF hastalığının ayırımı

## 2.1.3. Primer granül sekresyon bozuklukları

### 2.1.3.1. Alfa granül eksikliği

#### 2.1.3.1.1. Gri trombosit sendromu

Trombosit adezyonu ve agregasyonu için gerekli olan, fibronektin, vWF ve trombospondin içeren,  $\alpha$  granüllerinin bulunmaması ile karakterize, otozomal resesif (OR) ve otozomal dominant (OD) kalıtımla geçebilen bir kanama sendromudur. Makrotrombositopeni, hafiften ağır formlara kadar değişen kanama bulguları, kemik iliğinde myelofibrozis ve splenomegali saptanır. Trombosit fonksiyon testlerinde trombine cevap yoktur, kollajene ise cevap az ya da yoktur; diğer agonistlere ise normal ya da

normale yakın cevap vardır. Romanovsky boyası ile ışık mikroskopik görüntülemelerde trombositler gri renkte görünür. Bu nedenle gri trombosit sendromu olarak adlandırılır (74). Elektron mikroskopide ise alfa granüllerin yokluğu veya azlığı söz konusudur. Genel olarak kanamaların tedavisinde DDAVP, antifibrinolitikler yarar sağlar ve nadiren trombosit süspansiyonları gerekir (64, 65, 75). Ancak kanama bozukluğu genelde trombosit transfüzyonuyla düzeltilebilir düzeydedir (64, 76).

### **2.1.3.2. Delta granül eksikliği**

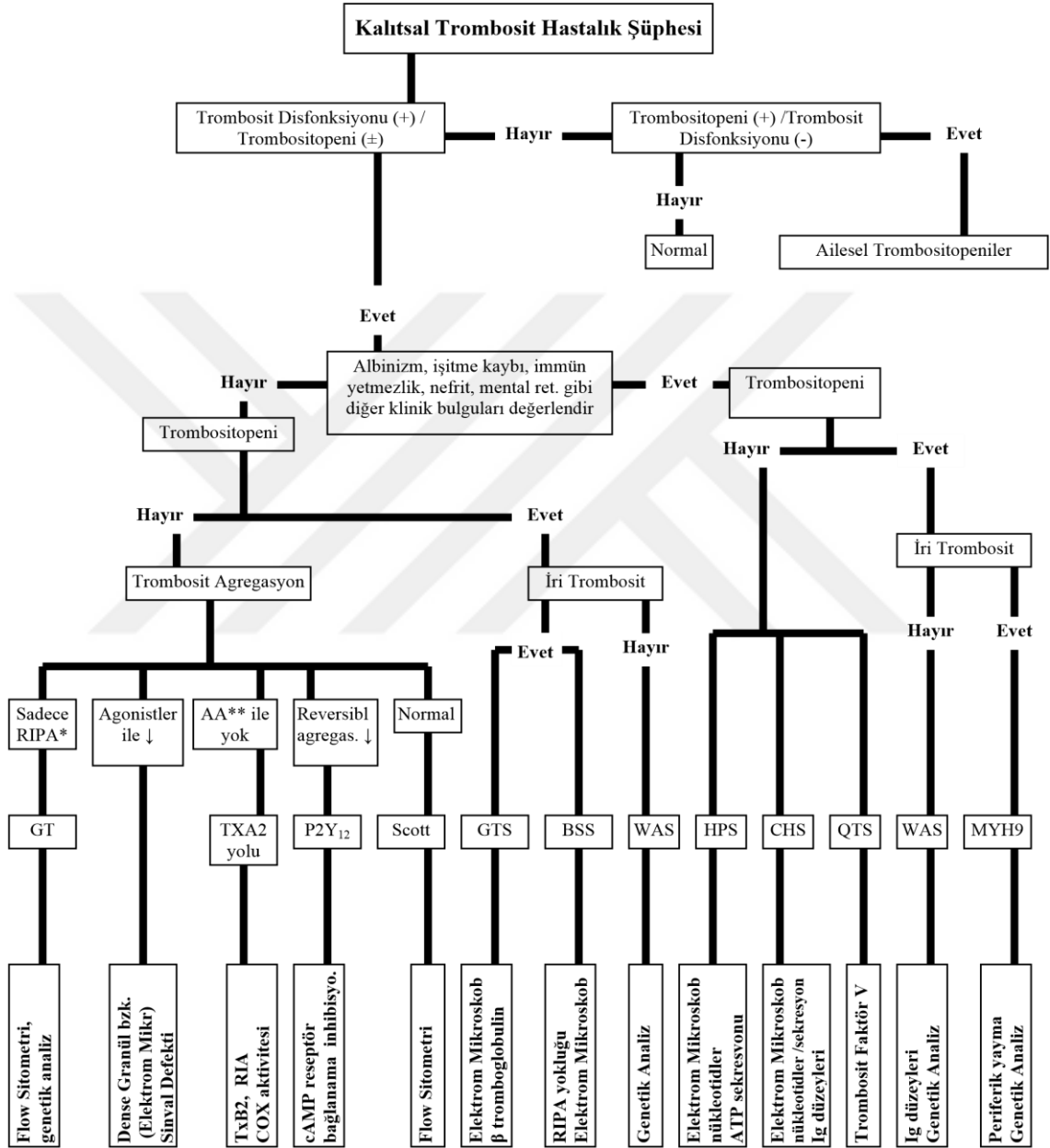
#### **2.1.3.2.1. Hermansky-Pudlak sendromu (HPS)**

Otozomal resesif olarak geçen azalmış sayıda veya anormal dens granüllerin olduğu bir sendromdur. Delta-granüller trombosit agregasyon dalgasının ikinci evresinde içeriklerini boşalttıkları için, eksikliklerinde ADP ve epinefrine agregasyon yanıtında genellikle agregasyonun ikinci dalgası oluşmaz. Kollajene düşük konsantrasyonda yanıt alınmaz, fakat yüksek konsantrasyonda normal veya normale yakın yanıt alınır. Hafif-orta derecede kanama, okulokutanöz albinizm, pulmoner fibrozis, granülamatöz kolit, nütropeni ve hafif immün yetmezlik tabloları gözlenir (49, 77). Trombosit sayısı ve morfolojisi ise genellikle normaldir. Bu hastalarda genelde küçük çocukluk döneminde ekimoz ve burun kanamaları görülürken, fatal kanamalar nadirdir ve trombosit süspansiyonu verilerek tedavi edilebilir. Hastalarda klinik bulgulara ek olarak kromozom 10q23'de HPS1-8 arası mutasyonlar tanı koydurucudur (78).

#### **2.1.3.2.2. Chediak-Higashi sendromu (CHS)**

Otozomal resesif geçiş gösteren, platelet delta granül eksikliği ile karakterize sendromlardandır. CHS'de trombosit sayısı ve morfolojisi genelde normal olduğu halde, hafif-orta düzeyde kanamaya eğilim vardır. Elektron mikroskobu ile bakıldığında, trombositler içinde delta-granülleri saptanamaz. Bu yöntem tanıda oldukça yardımcıdır, ancak elektron mikroskopik inceleme tecrübe gerektiren bir yöntemdir (79). Bu hastalarda ADP, epinefrin ve kollajen ile agregasyon yanıtı düşük iken, araziidonik asit ve ristosetine agregasyon yanıtı normaldir (80). Chediak Higashi sendromu, immün disfonksiyon, trombosit depo havuz defekti ve parsiyel albinizm ile karakterizedir.

Hastalığın hızlandığı dönemlerde, lenfositik infiltrasyonlara bağlı yaygın doku tutulumu, karaciğer yetmezliği, pansitopeni, nöropati ve konvülsiyon gibi nörolojik bulgular gelişebilmektedir (3-5). Tedavisinde kanamalar sırasında DDAVP, kriyopresipitat, trombosit süspansiyonları verilebilir.



**Şekil 4.** Kalıtsal trombosit hastalıkları şüphesi taşıyan olgularda klinik bulgular ve trombositopeniye göre yaklaşım(3).

RIPA; Ristostetin uyarılmış trombosit agregasyonu, TXA2; Tromboksan A2, AA; Araşidonik asit, GT; Glanzman Trombastenisi, WAS; Wiskott Aldrich Sendromu, BSS; Bernard Soulier Sendromu, HPS; Hermansky Pudlak Sendromu, CHS; Chediak-Higashi Sendromu, GTS; Gri Trombosit Sendromu, QTS; Quebec Trombosit Sendromu

### 3. MATERYAL VE METOD

Van Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'nda Ocak 2008-Nisan 2018 yılları arasında takip ve tedavi edilen 17 GT hastasının dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. GT tanılı 4 hasta, genetik mutasyon bakılmadığı için çalışma dışı bırakıldı ve 13 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş, cinsiyet, tanı yaşı, başvuru semptomları, klinik bulguları, trombosit sayısı ve hacmi gibi özellikleri dosya kayıtlarından bakıldı. GT tanısı, kanama diyatezi olan hastalarda, kanama zamanı uzun, kan sayımında trombosit sayısı normal, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı normal, periferik yaymada trombositlerin yeterli, ancak küme yapmamış olması, trombosit agregasyon testlerinde ADP, epinefrin, kollajene cevap bozuk, ristosetine cevap normal olması ve akım sitometrik olarak CD41 ve CD61 ekspresyonunun düşüklüğü ile tanı konulmuş ve GT tanısı almış hastalara genetik mutasyon bakılmış. Hastaların kanama bulguları, güncel bir kanama skorlaması olan, Tosetto ve arkadaşlarının 2006' da yayınladığı kanama skoru kullanılarak değerlendirildi (81). Çalışmada genetik çalışma için teknik olarak DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanılmıştır.

#### 3.1. DNA izolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan olgulardan EDTA'lı tüp içerisine kan örneği alınmıştır. Alınan kan örneği RBC (Red Blood Cell) lizis solüsyonu [155 mM Amonyum Klorid (AppliChem, Almanya); 10 mM Sodyum Bikarbonat (Merck, Almanya); 0,5 mM EDTA (AppliChem, Almanya)] ile karıştırılmıştır. Daha sonra +4 °C' de 13000 rpm' de 10 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edildikten sonra süpernatant dökülüp, pellet üzerine tekrar RBC Lizis solüsyonu eklenmiştir. Bu işlem tüm eritrositler giderilene kadar tekrarlanmıştır. Dipte kalan lökositler üzerine RBC lizis solüsyonu eklenmiş, üzerine 20 µg/ml olacak şekilde Proteinaz K enzimi (MBI Fermentas, Litvanya), son konsantrasyon %0,5 olacak şekilde %10' luk Soydum Dodesil Sülfat (Merck, Almanya) ve lökosit hacminin 2,5 katı olacak şekilde nükleaz solüsyonu [10 mM Trisklorid (Amresco, ABD) pH: 8; 100 mM Sodyum Klorid (Merck, Almanya), 1 mM EDTA (AppliChem, Almanya) pH: 8] eklenerek 56-60 °C'de

yaklaşık 1 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrasında örnekler üzerine 1:1 oranında Fenol/Kloroform [Fenol (Merck, Almanya), Kloroform (Merck, Almanya), İzamilalkol (Merck, Almanya) eklenerek çalkalanmıştır. Buz içerisinde 20 dk bekletildikten sonra +4 °C 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. İki faza ayrılan karışımın üst kısmı başka bir ependorf tüpüne alınarak üzerine toplam hacmin 1/10' u kadar 3 M Sodyum Asetat (Sigma, ABD) ve toplam hacmin 2 katı kadar %95' lik alkol eklenmiştir. Ependorf tüpü alt –üst edilerek DNA görünür hale getirildikten sonra +4 °C 13000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek DNA çöktürülmüştür. Süpernatant kısmı dökülerek tüpe 500 µl %70'lik alkol eklenmiş ve +4 °C 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda alkol dökülmüş ve tüp kurumaya bırakılmıştır. Kurutulduktan sonra tüp içerisine Tris-EDTA (10 mM TrisHCl, 1 mM EDTA) solüsyonu eklenip DNA' nın çözülmesi sağlanmıştır. İzole edilen DNA -20 °C'de saklanır.

### **3.2. ITGA2B ve ITGB3 Genlerinde Mutasyon Analizi**

Bu çalışmada ITGA2B ve ITGB3 genlerinin analizi için DNA dizi analiz yöntemi kullanılmıştır. ITGA2B ve ITGB3 genlerinin kodlama yapan ekzonları PCR işlemi ile çoğaltılmıştır. Yapılan PCR' da konsantrasyonu 10 pikomol/µl olan primer çiftleri kullanılmıştır. Diğer PCR bileşenleri; 10 mM Tris-HCl (25 °C pH: 8,8), 50 mM KCl, son konsantrasyonu 0,2 mM olacak şekilde deoksiniükleotittrifosfatlar [dATG, dGTP, dCTP, dTTP (Fermentas, Litvanya)] ve 15 mM MgCl<sub>2</sub>' dür. Toplam hacim 25 µl' ye ddH<sub>2</sub>O ile tamamlanarak PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

PCR' da sıcaklık koşulları; 95 °C' de 5 dk denatürasyon, 35 döngü olarak 95 °C' 30 sn denatürasyon, 58 °C'de 30 sn hibridizasyon, 72 °C' de 30 sn uzama ve 72 °C' de 7 dk son uzama olarak gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünleri %2'lik agoroz jele 5µl yüklenerek agoroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir. Jel için 0,6 gr agoroz tartılmış, TBE 1X solüsyonu ile 30 ml toplam hacme tamamlanmıştır. TBE 1X solüsyonu, stok olarak hazırlanan TBE 5X solüsyonundan 1/5 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır. TBE 5X solüsyonu; 54 gr Tris (Merck, Almanya), 27,5 gr Borik asit (AppliChem, Almanya), 20 mililitre 0,5 M EDTA (AppliChem, Almanya) dH<sub>2</sub>O ile 1 litre hacme tamamlanarak yapılmıştır. Agoroz istenilen konsantrasyonda hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatılmıştır



(Vestel, Türkiye). İçerisine 2µl Etidyum Bromid (AppliChem, Almanya) ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra jel tabağına dökülmüştür. Agorozun donması için 25-30 dk beklenmiştir. PCR ürünlerinden 5µl Brom-fenol mavisi (Merck, Almanya) ile muamele edilerek jele yüklenmiştir. 200-250 V akımda 10-15 dk kadar yürütmüş ve ultraviyole ışıktta incelenmiştir.

Doğru gen bölgesinin amplifikasyonu görülmüşse PCR ürünlerine pürifikasyon işlemi uygulanarak PCR artıkları temizlenmiştir. Pürifiye edilmiş PCR ürünlerinin dideoksi nükleotitler ile işaretlenmesi için ürünler ile yeni bir PCR döngüsü yapılmıştır. Bu işlemde 4µl bigdye, 1 pikomol/µl primer, 2µl buffer kullanılmış toplam hacim 10µl' ye ddH<sub>2</sub>O ile tamamlanarak cycle sequencing reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Bu işlem sonrasında örnekler tekrar pürifiye edilmiş (Nucleoseq, MN, Almanya) ve sonrasında örnekler DNA dizi analizi cihazına yüklenmiştir. Bu çalışmada otomatik DNA dizi analizi kullanılmış (ABI PRISM 3130xl, Genetic Analyzer, ABD) ve elde edilen sonuçlar ABI DNA sequencing Analysis Software v5.2 programı kullanılarak dalgalar halinde analiz edilmiştir (Applied Biosystems 3130xl, ABD).

#### 4. İSTATİSTİK ANALİZ

Çalışmamızdaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilirken; kategorik değişkenler için Sayı ve Yüzde olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından grupları karşılaştırmada Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede Spearman korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede ise Ki-kare testi yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver.23) istatistik paket programı kullanılmıştır. GPIIb gen değişimi olanlar ile GPIIIa değişikliği olanlar 2 gruba ayrıldı. Bu iki grup arasında epistaksis, kutanöz kanama, minör yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama açısından karşılaştırıldı. Hastaların mutasyon tipleri ile kanama skorları (epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama), arasındaki ilişki araştırıldı.

## 5. BULGULAR

Çalışmaya alınan GT tanılı 13 hastanın yaşları 4,9 yaş ile 15,2 yaş arasında değişmektedir (ortanca 9,4 yıl). Bu olguların 6'sı kız, 7'si erkek olup, K/E oranı 0,85'tir. Tanı alma yaşları 1 ay ile 6,1 yaş arasında değişmektedir ve ortanca tanı yaşı 1,3'tür. Hastaların teşhis konduktan sonraki gözlem süresi 3,6 yıl ile 11,7 yıl arasında değişmekte idi (ortanca 5,7 yıl). Hastalarda klinik fenotip açısından kullanılan kanama skorlaması Tablo 1'de ve kanama fenotipleri Tablo 2'de görülmektedir. En sık başvuru semptomu epistaksis ve minör yaradan kanama idi. Hayatı tehdit eden kanama, hastaların 3'ünde görülmüş olup, bunların tamamı gastrointestinal sistem (GİS) kanaması idi. Vakaların hiçbiri kanama nedeniyle ölmedi.

Epistaksis GT'li olgularımızda en sık görülen semptom olup, hastaların tamamında görülmekte idi (Tablo 2). Üç hastada lokal tedbirler ve ilaç tedavileri ile kanama durmadığından ve uzun sürdüğünden trombosit süspansiyonu (TS) ihtiyacı olmuştu (skor 4). Bu hastaların birinde ise uzun süren kanamaya ikincil derin anemi ve kalp yetmezliği bulguları oluştuğu için eritrosit süspansiyonu (ES) ihtiyacı oldu. Diğer iki hasta ise, oral demir tedavisi başlanarak takibe alındı.

**Tablo 1.** Her bir kanama semptomu için skorlama (81)

Semptom/Skor	-1	0	1	2	3	4
Epistaksis	-	Yok veya önemsiz (5'den az)	>5 veya 10 dk'dan fazla süreli	Sadece medikal konsültasyon gereksinimi	Tampon, koterizasyon veya antifibrinolitik tedavi ihtiyacı	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin
Kutanöz kanama	-	Yok veya önemsiz (<1cm)	>1 cm ve travma yok	Sadece medikal konsültasyon		
Minor yaradan kanama	-	Yok veya önemsiz (5'den az)	>5 veya 5 dk dan fazla süreli	Sadece medikal konsültasyon	Cerrahi hemostaz	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin
Oral kavite	-	Yok	En az bir kere refere edilme	Sadece medikal konsültasyon	Cerrahi hemostaz veya antifibrinolitikler	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin
Gastrointestinal kanama	-	Yok	Ülser, portal hipertansiyon, anjiyodisplazi veya hemoroid ile ilişkili	Spontan gastrointestinal kanaması	Cerrahi hemostaz, kan transfüzyonu, replasman tedavisi, desmopressin, antifibrinolitik	
Diş çekimi	En az 2 diş çekiminde kanama olmaması	Çekim yapılmamış olması ya da bir çekim sonrası kanama olmaması	Tüm prosedürlerin <%25'inde refere edilme ihtiyacı olması	Tüm prosedürlerin <%25'inde refere edilmesi ama müdahale gerektirmeme	Resütürasyon veya tampon koyma	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin
Cerrahi	En az 2 cerrahi girişimde kanama olmaması	Cerrahi yapılmamış olması ya da bir cerrahi sonrası kanama olmaması	Tüm prosedürlerin <%25'inde refere edilme ihtiyacı olması	Tüm prosedürlerin <%25'inde refere edilmesi ama müdahale gerektirmeme	Cerrahi hemostaz ya da antifibrinolitik	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin
Menoraji	-	Yok	Sadece medikal konsültasyon	Antifibrinolitikler, OKS kullanımı	Dilatasyon ve küretaj, demir tedavisi	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin ya da histerektomi
Postpartum kanama	En az 2 doğum sonrası kanama olmaması	Doğum yapmamış olma veya bir doğum sonrası kanama olmaması	Sadece medikal konsültasyon	Dilatasyon ve küretaj, antifibrinolitikler, demir tedavisi	Kan transfüzyonu veya replasman tedavisi ya da desmopressin	Histerektomi
Kas hematomu	-	Hiç yok	Travma sonrası oluşan, tedavi gerektirmeyen	Spontan oluşan, tedavi gerektirmeyen	Travma sonrası veya spontan oluşan, desmopressin veya replasman tedavisi gereksinimi	Travma sonrası veya spontan oluşan, cerrahi müdahale veya kan transfüzyonu gereksinimi
Hemartozis	-	Hiç yok	Travma sonrası oluşan, tedavi gerektirmeyen	Spontan oluşan, tedavi gerektirmeyen	Travma sonrası veya spontan oluşan, desmopressin veya replasman tedavisi gereksinimi	Travma sonrası veya spontan oluşan, cerrahi müdahale veya kan transfüzyonu gereksinimi
SSS kanaması	-	Hiç yok	-	-	Subdural kanama, herhangi bir müdahale gereksinimi	İntraserebral kanama, herhangi bir müdahale gereksinimi

**Tablo 2.** Glanzman trombastenisi tanılı hastalardaki kanama fenotipleri

<b>Kanama Fenotipleri</b>	<b>Glanzman Trombastenisi(%)</b>
Epistaksis	100
Kutanöz kanama	62
Minör yaradan kanama	92
Oral kavite kanaması	39
Gastrointestinal kanama	23
Diş çekimi sonrası aşırı kanama	62(%100)*
Cerrahi sırasında aşırı kanama	31(%100)**
Menoraji	8(%100)***
Post partum kanama	0****
Kas hematomu	15
Hemartrozis	23
SSS kanaması	0

\*Hastaların %62'sine diş çekimi yapılmıştı ve diş çekimi yapılan hastaların tamamında aşırı kanama görülmüştü.  
\*\*Hastaların %31'inde cerrahi müdahale yapılmıştı ve bu hastaların tamamında aşırı kanama görülmüştü.  
\*\*\*Bir hasta adet görmekteydi ve menorajisi vardı.  
\*\*\*\*Hiçbir hasta doğum yapmamıştı.

Kutanöz kanama bulguları (peteşi, purpura, ekimoz), olguların % 62'sinde görüldü. Bu hastaların tamamının kanama skoru evre 1 idi (Tablo 3).

Minör yaradan (MY) kanama sıklığı % 92 idi ve epistaksisten sonra en sık görülen kanama şekliydi. Bu hastaların genelinde minör travma veya sıyrık sonrası uzun süren kanama söz konusuydu. MY'den kanamanın tamamı evre 1 (5 olgu) ve evre 2 (7 olgu) idi.

Diş eti kanaması ve oral mukoza kanamaları gibi oral kavite kanamaları, hastaların %39' unda görüldü. Oral kavite kanaması görülen 3 hastanın tamamında TS ve bir tanesinde ES replasmanı ihtiyacı oldu, bu yüzden bu 3 hastanın tamamının kanama skoru 4. evreydi.

GT'li bir kız hastada çürük diş ve dişetinden kaynaklanan kanama, tüm lokal önlemler, antifibrinolitik tedavi ve trombosit replasmanına rağmen devam etti. Bunun

üzerine hastaya rekombinant aktive Faktör VII kullanıldı, ancak kanama durmadı. Anemi (Hgb: 6,7 g/dL) nedeniyle hastaya ES transfüzyonu verildi. Bu hastada diş çekimi sonrası kanamanın devam etmesi üzerine, dişeti üzerine pamuk uygulamalı formuyla ankaferd blood stoper (ABS) uygulandı ve tampon etkisi oluşturuldu. Kanamayı durdurmak için dört adet pamuk uygulamalı form kullanıldı; herhangi bir yan etki gözlenmeksizin, ABS kullanımı sonrası kanama kısa sürede durdu. Takip eden süreçte elde edilen analiz sonuçlarına göre; hemogloblin seviyesinin normal düzeyde (11.7 g/dL) olduğu görüldü.

Gastrointestinal sistem kanaması olguların üçünde görüldü. Bu olguların tamamında lokal yöntemler veya antifibrinolitik tedavi ile düzelme sağlandığından kan transfüzyonu ihtiyacı olmadı. GİS kanamalı olgular, oral demir tedavisi ile takibe alındı.

GT tanılı olgularımızdan sekiz tanesine diş çekimi uygulandı. Bu olgulardan 4 tanesine proflaktik TS verildi. Geri kalan 4 tanesine ise antifibrinolitik tedavi uygulanarak, belirgin kanama problemi olmadan diş çekimi yapıldı. Proflaktik TS verilen 4 hastadan 1'inde diş çekimi sonrası kanama problemi devam etti. Bu hastaya pamuk uygulamalı formu ile ABS uygulanarak kanama kontrol altına alındı.

GT tanılı olgularımızdan 4 tanesi, diş çekimi dışında operasyon geçirmişti. Bunların tamamı erkek olgulardı. İki hasta sünnet olmuştu, bir hastaya işitme problemi nedeniyle implant takılmıştı ve bir hastaya ise apendektomi yapılmıştı. Sünnet olan olgulardan birine sünnet sonrası TS verildi. Apendektomi olan olguya, operasyon öncesi TS, operasyon sonrası TS ve ES verildi.

Kız olgulardan sadece 1 tanesi adet görmekteydi. Menoraji nedeniyle oral kontraseptif ve demir profilaksisi alıyordu, ancak ES veya TS ihtiyacı olmadı. Bu hasta, gebe kalmayıp-doğum yapmadığı için, postpartum kanama riski ile karşılaşmadı.

Olguların %15'inde (2 olgu), minör travmalara bağlı kas hematomu gelişmişti, ancak iki hastada da tedavi ihtiyacı olmadı.

Üç olguda hemartroz görüldü. Bu olgulardan 2'si hastanede kısa süreli gözlem altında tutuldu. Hiçbir hastada ilaç tedavisi veya kan transfüzyonuna ihtiyaç duyulmadı.

Santral sinir sistemi kanaması, GT tanılı hiçbir olguda görülmedi.

**Tablo 3.** Glanzman Trombastenili Olgularda Kanama Skorlaması

Olgu	Epistaksis	Kutanöz kanama	Minor yaradan kanama	Oral kavite kanaması	GİS kanaması	Diş çekimi	Cerrahi	Menoraji	Postpart. Kanama	Kas hematomu	Hemartrozis	SSS kanaması
1	2	0	2	4	0	1	0	0	0	0	0	0
2	4	0	1	0	2	2	0	0	0	0	1	0
3	3	0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	0
4	4	1	2	0	0	0	4	0	0	0	0	0
5	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
6	3	1	0	0	2	1	3	0	0	0	0	0
7	3	1	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0
8	3	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
9	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	3	1	1	1	0	3	1	0	0	0	0	0
11	3	0	1	0	0	0	4	0	0	0	0	0
12	4	1	2	4	3	3	0	0	0	1	2	0
13	3	0	2	0	0	3	0	1	0	1	2	0

GT tanılı 13 hastanın hepsinin tanı anında trombosit sayıları ve ortalama trombosit hacimleri normaldi (Tablo 4). Hastaların trombosit fonksiyon testlerinde kollajen, ADP ve epinefrine yanıt bozuktu. Ristosetine ise yanıt normal bulundu. Olguların tamamına akım sitometrik yöntemle trombosit yüzeyinde CD41 ve CD61 düzeylerine bakıldı. Olguların 11 tanesi, CD41 ve CD61 düzeyinin %5'in altında olması sebebiyle, tip 1 GT tanısı aldı. İki olguda CD41 ve CD61 düzeyleri % 20'nin üzerinde olup, normal sınırlardaydı. Bu iki olgu, tipik klinik ve periferik yayma bulguları, anormal trombosit fonksiyon testleri ve anne baba akrabalığı olması sebebiyle, tip 3 GT tanısı aldı (Tablo 4, 5).

**Tablo 4.** Glanzman Trombastenili Hastaların Laboratuar Bulguları

Olgu no	Yaş (yıl)	Cins	Tanı Yaşı (Yıl)	PLT ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )	MPV (fl)	ADP (%)	Epinefrin (%)	Kollajen (Sn)	Ristosetin (%)	CD 41a (%)	CD 61a (%)
1	9.4	E	5.8	149	8.2	5	2	>100	71	0.1	0.3
2	10.1	K	1.6	435	7.6	10	14	>100	79	2.3	3
3	9.8	K	6.1	261	10.3	2	4	>100	14	1	3,7
4	5	E	1.2	275	10.7	5	0	82	60	0,2	4
5	5.9	K	2/12	316	10.4	2	2	98	19	0.6	0.2
6	7.2	E	2.5	340	8.5	1	2	>100	33	61	79
7	12.7	K	1	141	8.9	2	1	>100	67	4,1	4,8
8	5.4	E	1/12	362	9.7	2	1	>100	82	4.8	1.7
9	11.2	K	6/12	326	8.9	3	4	>100	50	2.1	2.7
10	12.1	E	2	317	8.9	2	1	>100	40	4	0.6
11	4.9	E	1.3	284	8.9	7	1	73	56	96.9	96.5
12	7.9	E	6/12	434	7.2	2	2	>100	61	3.7	0.7
13	15.2	K	5	255	7.6	4	2	98	58	4	0.2

GT tanımlı olgularda (13 olgu), ITGA2B (GPIIb) ve ITGB3 (GPIIIa) gen bölgeleri incelenmişti. Olguların 9'unda ITGA2B gen bölgesinde değişiklik tespit edildi (Tablo 5). Bu dokuz olgudan 6'sının, analiz edilen ITGA2B geni 17. intronda bulunan, c.1752+2T>C varyasyonunu HOMOZİGOT olarak taşıdığı saptandı. Hastalarda saptanan bu varyasyon, Human Gene Mutation Database (HGMD)'de tanımlanmış (HGMD ID: CS108978) ve GT ile ilişkilendirilmiştir. Bu altı olgunun 3'ü kardeş olup, diğer üç olgunun birbirleriyle ve bu üç kardeşle akrabalıkları yoktu. ITGA2B mutasyonunun olduğu kalan 3 hastada ise, daha önce tanımlanmamış, 3 yeni mutasyon vardı.

**Tablo 5.** Glanzman Trombastenili olgularda tespit edilen mutasyonlar ve akım sitometri bulguları.

Olgu	Etkilenen gen	Etkilenen bölge	Değişim	Protein	Mutasyon tipi	CD41%	CD61%	Glanzman Tipi
1	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	0,1	0,3	Tip 1
2	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	2,3	3	Tip1
3	ITGB3	2. ekzon	c.121 C>T	<b>p.Gln41*</b>	Nonsense	1	3,7	Tip1
4	ITGB3	2. ekzon	c.121 C>T	<b>p.Gln41*</b>	Nonsense	0,2	4	Tip1
5	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	0,6	0,2	Tip1
6	ITGA2B	12. ekzon	c.1021 G>A	<b>p.Ala341Thr*</b>	Missense	61	79	Tip3
7	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	4,1	4,8	Tip1
8	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	4,8	1,7	Tip1
9	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	2,1	2,7	Tip1
10	ITGA2B	9. ekzon	c.889 G>C	<b>p.Ala297Pro*</b>	Missense	4	0,6	Tip1
11	ITGB3	14.ekzon	c.2248 C>T	p.Arg750	Nonsense	96,9	96,5	Tip3
12	ITGA2B	20. ekzon	c.1999dupG	<b>p.Asp667Glyfs*</b>	Missense	3,7	0,7	Tip1
13	ITGA2B	17. intron	c.1752+2T>C	Etkilenmiyor	Splice	4	0,2	Tip1

\* ile gösterilenler yeni mutasyon  
3. ve 4. olgu kardeş- 7,8 ve 9. olgu kardeş

Yapılan analizler sonrasında hastalardaki, yeni tanımlanan mutasyonlar sırayla şöyleydi:

- **İlk hasta**, ITGA2B geni 12. ekzonunda bulunan p.Ala341Thr\* (c.1021 G>A) varyasyonunu homozigot olarak taşımaktadır. Hastada saptanan varyasyon HGMD'de tanımlanmamıştır. Mutation taster ve polyphen biyoinformatik programları değişimin



hastalık nedeni ve olası patojenik olduğunu öngörmektedir. Ayrıca Varsome’de değişim ‘olası patojenik’ olarak tanımlanmıştır.

- **İkinci hastada**, ITGA2B geni 9. ekzonunda bulunan p.Ala297Pro\* (c.889 G>C) varyasyonu homozigot olarak mevcuttur. Hastada saptanan varyasyon HGMD’de tanımlanmamıştır. Mutation taster biyoinformatik programı değişimin hastalık nedeni olduğunu öngörmektedir.

- **Üçüncü hastanın** ise, ITGA2B geni 20. ekzonda bulunan p.Asp667Gly\* (c.1999dupG) varyasyonunu homozigot olarak taşıdığı saptanmıştır. Hastada saptanan mutasyon HGMD’de tanımlanmamıştır. Mutation taster biyoinformatik programı değişimin hastalık nedeni olduğunu öngörmektedir. Varsome’de değişim ‘olası patojenik’ olarak tanımlanmıştır. Ayrıca mutasyonun **okuma çerçevesini kaydırması ve erken stop kodon oluşmasına neden olması** ile kliniğin ağır olması bekleniyordu. Nitekim bu hasta GT tanılı hastalar içinde kliniği en ağır ve total kanama skoru en yüksek (total kanama skoru: 20) olan hastaydı.

Üç olgumuzda ITGB3 bölgesinde, 1 tanesi yeni olmak üzere, 2 mutasyon saptandı (üç olgudan ikisi kardeşti ve aynı mutasyon saptanmıştı). Bu üç olguyu değerlendirdiğimizde:

Olgulardan birinin, analiz edilen ITGB3 geni 14.ekzonda bulunan, p.Arg750\* (c.2248 C>T) varyasyonunu HOMOZİGOT olarak taşıdığı saptandı. Hastada saptanan bu varyasyon HGMD’de tanımlanmış (HGMD ID:CM973033) ve GT ile ilişkilendirilmiştir. Diğer iki olgu kardeşti ve aynı mutasyon saptandı (ITGB3 geni 2. ekzonunda bulunan p.Gln41\* (c.121 C>T) varyasyonu homozigot). Bu iki kardeşte saptanan varyasyon daha önce HGMD’de tanımlanmamıştır. Mutation taster biyoinformatik programı değişimin hastalık nedeni olduğunu öngörmektedir. Varsome’de değişim ‘olası patojenik’ olarak tanımlanmıştır. Ayrıca mutasyonun **erken stop kodon** oluşmasına neden olması ile klinik üzerinde etkili olması beklenmektedir.

Olgulardan birinde ITGA2B ve ITGB3 bölgesinde herhangi bir mutasyon saptanmadı (kit olmadığından ITGA2B’nin 13.ekzonu incelenmemiş).

GPIIb gen değişimi olanlar ile GPIIIa değişikliği olanlar 2 gruba ayrıldı. Non parametrik dağılım için gruplar arası karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi. Bu iki grup, epistaksis, kutanöz kanama, minör

yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama açısından karşılaştırıldı ve anlamlı fark saptanmadı ( $P<0.05$ ). Hastaların mutasyon tipleri ile kanama skorları (epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama), arasındaki ilişki araştırıldı. Mann Whitney U testi ile anlamlı fark saptanmadı ( $P<0.05$ ). Bununla birlikte yeni tanımlanan, çerçeve kayması ve erken stop kodon oluşmasına neden olan mutasyonda total kanama skoru diğer hastalara göre belirgin yüksekti (total kanama skoru: 20).



## 6. TARTIŞMA

Glanzman trombastenisi, otozomal resesif geçiş gösteren, kalitatif bir trombosit fonksiyon bozukluğudur. GT'de trombosit yüzeyinde bulunan GPIIb ve GPIIIa reseptöründe sayıca azlık veya fonksiyon bozukluğu mevcuttur. Otozomal resesif geçiş özelliği nedeniyle Irak, Hindistan ve İsrail gibi akraba evliliğinin sık olduğu bölgelerde daha çok görülür (bizim çalışmamızda da tüm GT'li olguların anne ve babası akrabaydı). Tanıda, kanama diyatezi, periferik yayma bulguları, akım sitometrik yöntemlerin yanı sıra aile öyküsünün sorgulanması gerekir. Hastalığın seyri ve şiddeti açısından kanama fenotipleri ve kanama skorlaması büyük önem taşır. İmmün trombositopenik purpura ve hemofili gibi kanama bozukluklarıyla giden hastalıklarda kanama skorlaması için geniş çaplı vaka çalışmaları yapıldığı halde, trombosit fonksiyon bozuklukları ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır (82). Bizim alışmamızda, benzer kanama bulguları olması sebebiyle, Tosetto ve arkadaşlarının 2006'da yayınladığı kanama skoru kullanıldı (81). Bu kanama skorlaması, Konya'dan Dr. Hüseyin Tokgöz'n 2013'te yayınladığı tez çalışmasında da kullanılmıştı (83).

Akım sitometrik incelemede, CD 41 ve CD61 monoklonal antikorları kullanılarak belirlenen, GPIIb/IIIa düzeylerine göre hastalık tip 1, 2 ve 3 olmak üzere üç alt tipe ayrılır (11). Irak Yahudi'leri, İsrail'de yaşayan Arap'lar ve Kuzey Hindistan'da tip 1 sık iken, Japonya'da tip 2 olguların sıklığından bahsedilmektedir (84). Tokgöz'n çalışmasında olguların % 90'ı tip 1, %10'u tip 3 GT tanısı almıştır (83). Bizim alışmamızda da 13 olgudan 11'i tip 1 GT, 2'si tip 3 GT tanısı aldı. Ülkemizde hangi GT'nin daha sık görüldüğü söylemek için, daha fazla olgunun akım sitometrik değerlerinin incelenmesi gerekir.

Geniş çaplı çalışmalarda kanama semptomları arasında farklılık olmakla birlikte genel olarak GT' de en sık görülen kanama semptomları; epistaksis, diş eti kanaması, uygun yaş grubunda menoraji ve peteşi-purpuralardır (18, 51, 85). Bizim alışmamızda da, literatüre uygun olarak, epistaksis, diş eti kanaması ve mukokutanöz kanamalar (peteşi, purpura, ekimoz) sık görüldü. Hematom ve hemartroz gibi kanamalar, trombosit fonksiyon bozukluklarından ziyade, daha çok hemofililerde görülür (85).

Epistaksis GT'li hastalarda en sık görülen kanama fenotiplerinden biri olup, zaman zaman kan transfüzyonu gerektirecek kadar ciddi kanamalar olabilmektedir. Çok

sayıda GT hastasının incelendiği çeşitli çalışmalarda epistaksis oranı % 49,7 (51) ile % 79,2 [Glanzmann's Thrombasthenia Registry (GTR) (86, 87)] arasında değişmektedir. Tokgöz'ün 20 GT hastasının incelendiği çalışmasında ise bu oran % 85 olarak bulunmuştur (83). Bizim çalışmamızda olguların tamamında epistaksis mevcut olup, literatüre göre yüksek bu bulunan bu oranın, olgu sayısının azlığına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Mukokutanöz kanamalar (peteşi, purpura, ekimoz), GT'de sık görülen kanama şekillerinden biridir. Bunlar travmalara bağlı olabileceği gibi spontan olarak ta görülebilir. Çoğu hastada tedavi gereksinimi olmaz. Literatürde GT' de mukokutanöz kanama %43,1 ile % 85,9 arasında değişmektedir (GTR, 51). Bizim çalışmamızda, olguların %62'sinde mukokutanöz kanama görüldü ve hiç birinde tedavi ihtiyacı olmadı.

Diş eti kanaması gibi oral kavite kanamaları GT'de orta sıklıkta görülen kanama şekillerinden biridir. Lokal tedavisinde, traneksamik asit, ankaferd blood stoper, DDAVP gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Zaman zaman ES ve TS ihtiyacı olabilmektedir. Bizim olgularımızın üç tanesinde oral kavite kanaması görüldü. Lokal önlemlerle kanamaları durmayan bu 3 hastanın tamamında TS ve bir tanesinde ES ihtiyacı oldu. Literatürde diş eti kanamaları % 22,8 ile % 61,9 arasında değişmektedir (GTR, 51). Tokgöz'ün tez çalışmasında ise bu oran %70 olarak görülmüş (83). Bizim çalışmamızda da %39 olarak görüldü. Dişeti kanaması olan bir hastamızda, lokal önlemlere rağmen kanama durmayınca, antifibrinolitik tedavi ve trombosit replasmanı yapıldı. Sonrasında kanama devam edince, aktive Faktör VII kullanıldı, ancak yine kanama durmadı. Bu hastada diş çekimi sonrası kanamanın devam etmesi üzerine, dişeti üzerine pamuk uygulamalı formuyla ankaferd blood stoper (ABS) uygulandı ve tampon etkisi oluşturularak kanama durduruldu. ABS, Türk geleneksel tıbbında hemostatik amaçlı kullanılagelmiş bir biriki özü olup; Thymus vulgaris (Bahçe kekiği), Glycyrrhiza glabra (Meyan), Vitis vinifera (Üzüm asması), Alpinia officinarum (Havlıcan), ve Urtica dioica (Isırgan otu) bitkilerinin standart bir karışımını içermektedir (88).

GİS kanamaları, GT'de hayatı tehdit edecek kadar ciddi olabilmekte ve çoğu zaman kanamaya bağlı ES ve TS ihtiyacı olmaktadır. Nitekim Tokgöz'ün yaptığı çalışmada, olguların %25'inde GİS kanamasının görüldüğü ve bu hastaların tamamında ES ve TS ihtiyacı olduğu bildirilmiştir (83). GT' nin klinik bulgularına yönelik yapılan

geniş çaplı çalışmalarda GİS kanaması oranı %4,9 ile %22,9 arasında değişmektedir (GTR, 51). Bizim çalışmamızda bu oran %23 olarak bulundu. Hastalarımızın hiç birinde ES ve TS ihtiyacı olmadı.

GT tanıılı 13 olgumuzdan, sekiz tanesine diş çekimi uygulandı. Bu olgulardan 4 tanesine, lokal önlemler uygulanarak, belirgin kanama problemi olmadan diş çekimi yapıldı. Geri kalan 4 olguya ise, uzun süren diş eti kanamaları olduğundan, proflaktik TS verildikten sonra diş çekimi yapıldı. Proflaktik TS verilen 4 hastadan 1'inde diş çekimi sonrası kanama problemi devam ettiğinden, dişeti üzerine pamuk uygulamalı formuyla ankaferd blood stoper (ABS) uygulandı ve tampon etkisi oluşturularak kanama durduruldu.

Çalışmamızda, diş çekimi dışında operasyon geçiren 4 hasta vardı. Hastaların dördü de erkekti. Bir hastaya işitme problemi nedeniyle implant takılmıştı ve 1 hastaya ise apendektomi yapılmıştı. Kalan iki hasta ise sünnet olmuşlardı. Sünnet olan olgulardan birine sünnet sonrası TS verildi. Apendektomi olan olguya, operasyon öncesi TS, operasyon sonrası TS ve ES verildi.

Menoraji GT'li kız hastalarda önemli bir morbidite nedenidir. Adet döneminde olan kız hastaların tamamına yakınında menoraji problemi vardır (18). Tokgöz'ün yapmış olduğu Konya deneyiminde adet döneminde olan tüm kız hastalarda menoraji olduğu, bu olguların büyük çoğunluğunda ise TS ihtiyacı ve derin anemi sonucu ES ihtiyacı olduğu bildirilmiştir (83). Bizim çalışmamızda adet gören sadece 1 hasta vardı. Bu hastamız, menoraji nedeniyle oral kontraseptif ve proflaktik demir tedavisi alıyordu, ancak ES ve TS ihtiyacı olmadı.

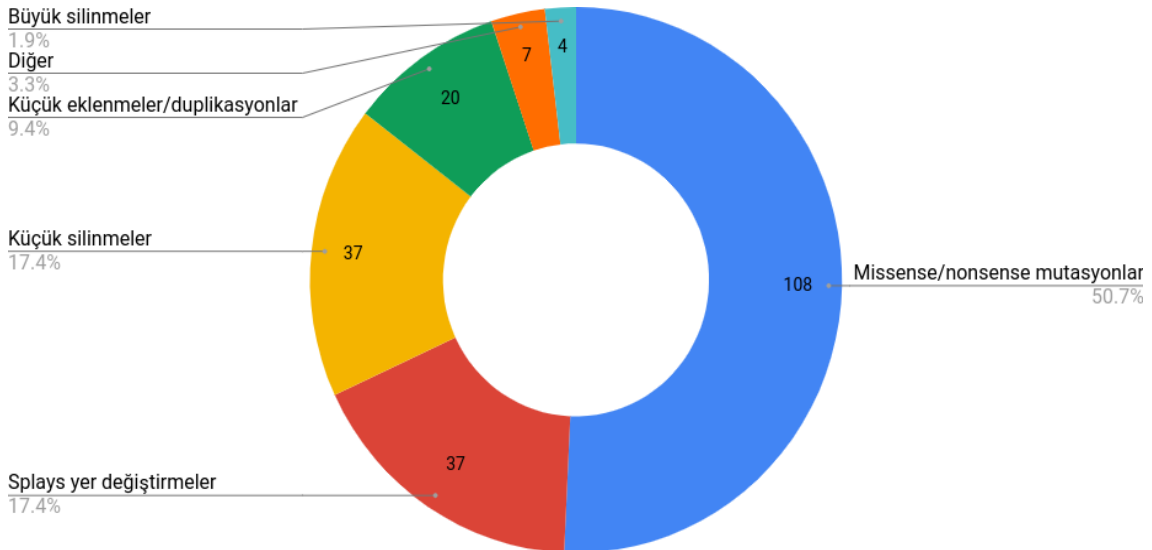
Hematom ve hemartroz gibi kanama fenotipleri, daha çok koagülasyon faktör eksikliklerinde görülmektedir ve GT gibi kalıtsal fonksiyon bozukluklarında az sıklıkta görülür (GTR, 18). Hematom ve hemartroz sıklığı, bizim çalışmamızda sırasıyla %15 (2 olgu) ve %23 (3 olgu) olarak görüldü. Olgularımızdaki hematomların tamamı, minör travmalara bağlı gelişmiş kas hematomuydu ve hastaların hiçbirinde tedavi ihtiyacı olmadı. Hemartroz görülen üç olgudan ikisi hastanemizde kısa süreli gözlem altında tutuldu. Hiçbir hastada ilaç tedavisi veya kan transfüzyonu ihtiyacı olmadı.

GT'li hastaların ortalama %1-3'lük bir kısmında intrakraniyal kanama görülür (18, 51). Tokgöz'ün tez çalışmasında hastaların hiçbirinde intrakraniyal kanama

görülmediği bildirilmiştir (83). Bizim çalışmamızda da GT'li olgularımızın hiç birinde intrakraniyal kanama görülmedi.

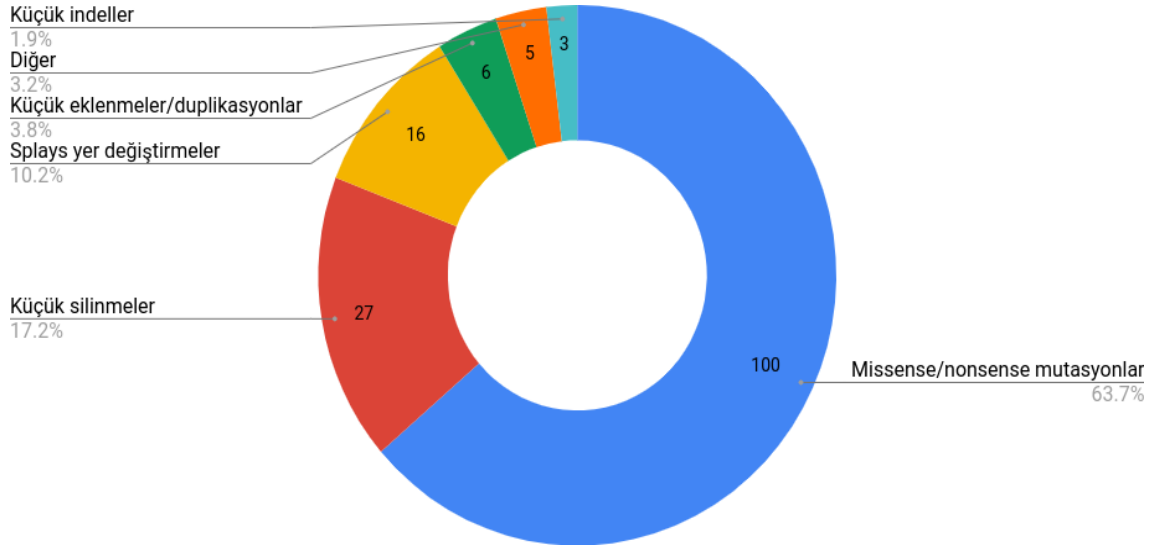
ITGA2B ve ITGB3 mutasyonlarını heterozigot olarak taşıyan bireylerde gen ekspresyonu % 50' nin üzerinde olduğundan GT belirtileri genelde görülmez. GT tanısı için, hastaların mutasyonu homozigot ya da birleşik heterozigot olarak taşıması gerekmektedir. Bununla birlikte bazı olguların ITGA2B ve ITGB3 gen bölgelerinde GT ile ilişkilendirilmiş homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon olmasına rağmen, erişkin yaşa kadar ciddi kanama bulguları gözlenmeyebilir ve tanı erişkin yaşa kadar gecikebilir (18). Bizim çalışmamızda da aynı mutasyonu taşıyan hastalarda dahi kanama fenotiplerinde farklılık olduğu gözlemlendi. **Human Gene Mutation Database** (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>) 2018 yılı Eylül veritabanına göre, ITGA2B ve ITGB3 genlerinde tespit edilmiş, toplam 370 mutasyon mevcuttur. Söz konusu mutasyonlardan 213'ü ITGA2B geni üzerinde, 157'si ise ITGB3 geni üzerinde tespit edilmiştir.

ITGA2B genindeki 213 mutasyonun 108'i missense/nonsense mutasyonlar, 37'si sprints yer değiştirmeler, 37'si küçük silinmeler, 20'si küçük eklenmeler /duplikasyonlar ve 4'ü ise büyük silinmeler sınıfındadır (Şekil 4).



**Şekil 5.** ITGA2B Mutasyonlarının Türleri

ITGB3 genindeki 157 mutasyonun 100'ü missense/nonsense mutasyonlar, 27'si küçük silinmeler, 16'sı sprints yer değiştirmeler, 6'sı küçük eklenmeler/duplikasyonlar ve 3'ü ise küçük indeller sınıfındadır (şekil 5).



**Şekil 6.** ITGB3 Mutasyonlarının Türleri

Bizim çalışmamızda 13 GT tanılı hastamızın, 12'sinde (9'unda ITGA2B ve 3'ünde ITGB3 gen bölgesinde) mutasyon tespit edildi. Hastalarımızın 6'sında splice site, 3'ünde missense ve geri kalan 3 hastada nonsense mutasyon tespit edildi. GT tanılı hastalarımızın birinde ITGA2B ve ITGB3 bölgesinde herhangi bir mutasyon saptanmadı (kit olmadığından ITGA2B'nin 13.ekzonu incelenmemiş). Hindistan'da yapılan geniş katılımlı bazı kohort çalışmalarına göre; GT'li hastaların yaklaşık beşte birinde, gelişmiş görüntüleme yapılmasına rağmen, hastalığa yol açacak bir mutasyona rastlanmaması mümkündür (89, 90). Bu tür mutasyon taşımayan hastalarda, regülatör elementlerin hasarlı olması ve söz konusu genlerin transkripsiyonunu kötü etkilemesi muhtemeldir (91). Alternatif olarak, integrin altünitelerinin post-translasyonel modifikasyonlarından sorumlu olan mekanizmalardaki anormalliklerin, bazı mutasyonsuz GT vakalarının potansiyel sebebi olabilmektedir. 2009 yılında yapılan bir araştırmada, GT teşhisi konmuş 45 hastadan 9'unda  $\alpha$ IIB veya  $\beta$ 3 genlerinin herhangi birinde mutasyon tespit edilmemiş, bunların sadece 5'inde polimorfizme rastlanmıştır (89). Sekiz tanesi kan transfüzyona ihtiyaç duyan bu 9 hastanın hematolojik parametreleri, trombosit agregasyonu, akış sitometrisi ve western blot analizleri kesin GT tanısı için yeterli olmuştur.

ITGA2B gen bölgesinde mutasyon saptanan dokuz olgudan 6'sında, 17. intronda bulunan, c.1752+2T>C varyasyonunu homozigot olarak mevcuttu. Bu mutasyonun varlığı ilk olarak Pillitteri ve ark. tarafından 2010 yılında yayımlanan, Almanya'da yaşayan 25 GT'li hasta üzerine yapılan araştırmada, bir kadın hastada rapor edilmiştir

(92). Bizim çalışmamızda aynı mutasyon saptanan bu 6 hastanın, 3'ü kardeş olup, diğer üç olgunun birbirleriyle ve bu üç kardeşle akrabalıkları yoktu. Türkiye genelinde veya Türkiye'nin doğusunda hangi mutasyonun daha sık görüldüğünü söylemek için, daha fazla sayıda GT' li hastada genetik inceleme yapılması gerektiği aşıkardır. ITGA2B bölgesinde saptanan diğer 3 mutasyon ise daha önce tanımlanmamıştır.

Kalan üç olguda ise ITGB3 bölgesinde, 1 tanesi daha önce tanımlanmamış olmak üzere, 2 mutasyon saptandı (üç olgudan ikisi kardeşti).

Sonuç olarak, mutasyon saptanan 12 hastamızın 6'sında aynı mutasyon saptandı. İlginç olarak bu 6 hastanın 3'ü kardeş iken, diğer 3 hastanın birbirleriyle ya da bu 3 kardeşle herhangi bir akrabalıkları yoktu. Çalışmamızda 4 yeni mutasyon saptandı. Yeni tanımlanan mutasyonlardan biri çerçeve kayması mutasyonu olup, erken stop kodon oluşumuna sebep olmuştu ve olgularımız arasında en ağır fenotipe sahip hasta bu hastaydı (kanama skoru 20). Bir olguda ITGA2B ve ITGB3 gen bölgelerinde herhangi bir mutasyon saptanmadı (ITGA2B'nin 13.ekzon incelenememiş). GPIIb gen değişimi olanlar ile GPIIIa değişikliği olanlar arasında kanama fenotipleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Hastaların mutasyon tipleri ile kanama skorları ve kanama fenotipleri arasında ilişki saptanmadı. Mutasyon sayısının giderek arttığı ve tedavisi konusundaki ilerlemeler göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın literatüre önemli katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.



## KAYNAKLAR

1. Lambert MP, Poncz M. Inherited Platelet Disorders. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7th edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2009:1463-1487
2. Israels, S.J., et al., Platelet disorders in children: A diagnostic approach. *Pediatr Blood Cancer*, 2011. 56(6): p. 975-83.
3. Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, et al: UKHCDO. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol* 2006; 135(5):603-33.
4. Neunert CE, Journeycake JM: Congenital platelet disorders. *Hematol Oncol Clin North Am* 2007; 21(4):663-84.
5. Hayward CP, Rao AK, Cattaneo M: Congenital platelet disorders: overview of their mechanisms, diagnostic evaluation and treatment. *Haemophilia* 2006; 12(Suppl 3):128-36.
6. Ramasamy I: Inherited bleeding disorders: disorders of platelet adhesion and aggregation. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(1):1-35.
7. Watkins, N.A., et al., A HaemAtlas: characterizing gene expression in differentiated human blood cells. *Blood*, 2009. 113(19): p. e1-9.
8. Nurden AT, Nurden P. Inherited disorders of platelets: an update. *Curr Opin Hematol*. 2006 May;13(3):157-62.
9. Braunsteiner H, Pakesch F: Thrombocytoasthenia and thrombocytopathia. Old names and new diseases. *Blood* 1956, 11:965-976.
10. Caen JP, Castaldi PA, Lecrec JC, Inceman S, Larrieu MJ, Probst M, Bernard J: Glanzmann's thrombasthenia. I. ongenital bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. *Am J Med* 1966, 44:4.
11. Nurden AT, Didry D, Kieffer N, McEver RP. Residual amounts of glycoproteins IIb and IIIa may be present in the platelets of most patients with Glanzmann's thrombasthenia. *Blood*. 1985;65:1021-1024.

12. Seligsohn U, Collier BS, Zivelin A, Plow EF, Ginsberg MH. Immunoblot analysis of platelet glycoprotein IIb in patients with Glanzmann thrombasthenia in Israel. *Br J Haematol.* 1989;72:415-423.
13. Boudreaux MK, Lipscomb DL. Clinical, biochemical, and molecular aspects of Glanzmann's thrombasthenia in humans and dogs. *Vet Pathol.* 2001;38:249-260.
14. Collier BS. Platelet GPIIb/IIIa antagonists: the first antiintegrin receptor therapeutics. *J Clin Invest.* 1997;99: 1467-1471.
15. French DL, Collier BS. Hematologically important mutations: Glanzmann thrombasthenia. *Blood Cells Mol Dis.* 1997;23:39-51.
16. Basani RB, French DL, Vilaire G, et al. A naturally occurring mutation near the amino terminus of alphaIIb defines a new region involved in ligand binding to alphaIIbbeta3. *Blood.* 2000;95:180-188.
17. Basani RB, Vilaire G, Shattil SJ, Kolodziej MA, Bennett JS, Poncz M. Glanzmann thrombasthenia due to a 2 amino acid deletion in the fourth calcium-binding domain of alpha IIb: demonstration of the importance of calcium-binding domains in the conformation of alpha IIb beta 3. *Blood.* 1996;88:167-173.
18. George JN, Caen J-P, Nurden AT: Glanzmann's thrombasthenia: The spectrum of clinical disease. *Blood* 1990, 75:1383-1395.
19. Ginsberg MH, Frelinger AL, Lam SC, et al. Analysis of platelet aggregation disorders based on flow cytometric analysis of membrane glycoprotein IIb-IIIa with conformation-specific monoclonal antibodies. *Blood.* 1990;76:2017-2023.
20. Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA. The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. *Blood.* 1988;71:831-843.
21. Israels SJ, Kahr WH, Blanchette VS, Luban NL, Rivard GE, Rand ML: Platelet disorders in children: A diagnostic approach. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56(6):975-83.
22. French DL, Seligsohn U. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors and Glanzmann's thrombasthenia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:607-610.
23. Zucker MB, Pert JH, Hilgartner MW. Platelet function in a patient with thrombasthenia. *Blood.* 1966;28:524-534.

24. Harrison P, Wilbourn B, Debili N, et al. Uptake of plasma fibrinogen into the alpha granules of human megakaryocytes and platelets. *J Clin Invest.* 1989;84: 1320-1324.
25. Handagama P, Rappolee DA, Werb Z, Levin J, Bainton DF. Platelet alpha-granule fibrinogen, albumin, and immunoglobulin G are not synthesized by rat and mouse megakaryocytes. *J Clin Invest.* 1990;86: 1364-1368.
26. Peerschke EI. Maintenance of GPIIb-IIIa avidity supporting “irreversible” fibrinogen binding is energydependent. *J Lab Clin Med.* 1999;134:398-404.
27. Legrand C, Dubernard V, Nurden AT. Studies on the mechanism of expression of secreted fibrinogen on the surface of activated human platelets. *Blood.* 1989;73: 1226-1234.
28. Bevers EM, Comfurius P, NieuwenhuisHK, et al. Platelet prothrombin converting activity in hereditary disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 1986;63:335-345.
29. Weiss HJ, Turitto VT, Baumgartner HR. Role of shear rate and platelets in promoting fibrin formation on rabbit subendothelium. Studies utilizing patients with quantitative and qualitative platelet defects. *J Clin Invest.* 1986;78:1072-1082.
30. Kannan M, Saxena R. Glanzmann's thrombasthenia: an overview. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis.* 2009;15(2):152-65.
31. Chen Y, Wu QY, Wang Z, et al.: Abnormalities of platelet membrane glycoproteins in acute nonlymphoblastic leukemia [abstract]. *Thromb Haemost* 1989, 62:176.
32. Tholouli E, Hay CRM, O'Gorman P, Makris M: Acquired Glanzmann's thrombasthenia without thrombocytopenia: a severe acquired autoimmune bleeding disorder. *Br J Haematol* 2004, 127:209-213.
33. Macchi L, Nurden P, Marit G, Bihour C, Clofent-Sanchez G, Combrie R, Nurden AT: Autoimmune thrombocytopenic purpura (AITP) and acquired thrombasthenia due to autoantibodies to GP IIb-IIIa in a patient with an unusual platelet membrane glycoprotein composition. *Am J Hematol* 1998, 157:164-175.
34. Hagen I, Nurden A, Bjerrum OJ, Solum NO, Caen J. Immunochemical evidence for protein abnormalities in platelets from patients with Glanzmann's

- thrombasthenia and Bernard-Soulier syndrome. *J Clin Invest.* 1980 Mar;65(3):722-31.
35. Dikmen ZG, Akbıyık F. Trombosit fonksiyon bozuklukları. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem].* 2014;39(4):567-70.
  36. Patel D, Väänänen H, Jirouskova M, Hoffmann T, Bodian C, Coller BS: Dynamics of GPIIb/IIIa-mediated platelet-platelet interactions in platelet adhesion/thrombus formation on collagen in vitro as revealed by videomicroscopy. *Blood* 2003, 101:929-936
  37. Nurden AT, Caen JP: Specific roles for surface membrane glycoproteins in platelet function. *Nature* 1975, 255:720-722.
  38. Kunicki TJ, Pidard D, Rosa JP, Nurden AT: The formation of Ca<sup>2+</sup>- dependent complexes of platelet membrane glycoproteins IIb and IIIa in solution as determined by crossed immunoelectrophoresis. *Blood* 1981, 58:268-278.
  39. Hynes RO: Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992, 69:11-25.
  40. Nurden AT, George JN: Inherited abnormalities of the platelet membrane: Glanzmann thrombasthenia, Bernard-Soulier syndrome, and other disorders. In "Hemostasis and Thrombosis, Basic Principles and Clinical Practice" VI edition. Edited by: RW Colman, VJ Marder, AW Clowes, JN George, SZ Goldhaber. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia; 2005:987-1010.
  41. Bellucci S, Caen J: Molecular basis of Glanzmann's thrombasthenia and current strategies in treatment. *Blood Rev* 2002, 16:193-202.
  42. Nurden AT, Breillat C, Jacquelin B, Combrie R, Freedman J, Blanchette VS, Schmutz M, Rand ML: Triple heterozygosity in the integrin  $\alpha$ IIb subunit in a patient with Glanzmann thrombasthenia. *J Thromb Haemost* 2004, 2:813-819.
  43. Cattaneo, M., et al., Results of a worldwide survey on the assessment of platelet function by light transmission aggregometry: a report from the platelet physiology subcommittee of the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*, 2009. 7(6): p. 1029.
  44. Franchini M, Favalaro EJ, Lippi G. Glanzmann thrombasthenia: an update. *Clin Chim Acta* 2010; 411(1-2):1-6.

45. Buyukasik Y, Karakus S, Goker H, Haznedaroglu IC, Ozatli D, Sayinalp N, Ozcebe OI, Dundar SV, Kirazli S: Rational use of the PFA-100 device for screening of platelet function disorders and von Willebrand disease. *Blood Coag Fibrinolysis* 2002, 13:349-353.
46. Jennings LK, Ashmun RA, Wang WC, Dockter ME. Analysis of human platelet glycoproteins IIb-IIIa and Glanzmann's thrombasthenia in whole blood by flow cytometry. *Blood*. 1986 Jul;68(1):173-9.
47. Mitchell WB, Li JH, Singh F, Michelson AD, Bussel J, Coller BS, French DL: Two novel mutations in the  $\alpha$ IIb calcium-binding domains identify hydrophobic regions essential for  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 biogenesis. *Blood* 2003, 101:2268-2276.
48. Milet-Marsal S, Breillat C, Peyruchaud O, Nurden P, Combrie R, Nurden AT, Bourre F: Analysis of the amino acid requirement for a normal  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 maturation at  $\alpha$ IIbGlu324 commonly mutated in Glanzmann thrombasthenia. *Thromb Haemost* 2002, 88:655-662.
49. Franchini M, Lippi G, Veneri D, Targher G, Zaffanello M, Guidi GC: Inherited platelet disorders. *Clin Chim Acta* 2008; 387(1-2):1-8.
50. Nurden AT. Glanzmann thrombasthenia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2006;1(1):1.
51. Toogeh G, Sharifian R, Lak M, Safaee R, Artoni A, Peyvandi F: Presentation and pattern of symptoms in 382 patients with Glanzmann thrombasthenia in Iran. *Am J Hematol* 2004, 77:198-199.
52. Nurden AT, Fiore M, Nurden P, Pillois X. Glanzmann thrombasthenia: a review of ITGA2B and ITGB3 defects with emphasis on variants, phenotypic variability, and mouse models. *Blood*. 2011;118(23): 5996–6005
53. Fiore M, Nurden AT, Nurden P, Seligsohn U. Clinical utility gene card for: Glanzmann thrombasthenia. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(10).
54. Solh T, Botsford A, Solh M. Glanzmann's thrombasthenia: pathogenesis, diagnosis, and current and emerging treatment options. *Journal of blood medicine*. 2015;6:219.
55. Coppola A, Di Minno G. Desmopressin in inherited disorders of platelet function. *Haemophilia*. 2008 Jan;14 Suppl 1:31-9.

56. Nurden AT, Pillois X, Wilcox DA. Glanzmann thrombasthenia: state of the art and future directions. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(6):642–655.
57. Kantarci A, Cebeci I, Firatli E, Atamer T, Tuncer O. Periodontal management of Glanzmann's thrombasthenia: report of 3 cases. *J Periodontol.* 1996 Aug;67(8):816-20.
58. Stevens RF, Meyer S. Fanconi and Glanzmann: the men and their works. *Br J Haematol.* 2002;119(4):901–904.
59. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest.* 2005;115(12):3363–3369.
60. Diz-Kucukkaya R. Inherited platelet disorders including Glanzmann thrombasthenia and Bernard-Soulier syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:268–275.
61. Lisman T, Adelmeijer J, Heijnen HF, de Groot PG. Recombinant factor VIIa restores aggregation of alphaIIb beta3-deficient platelets via tissue factor-independent fibrin generation. *Blood.* 2004 Mar 1;103(5):1720-7.
62. Nurden AT, Ruan J, Pasquet KM, et al. A novel 196Leu to Pro substitution in the beta3 subunit of the alphaIIb beta3 integrin in a patient with a variant form of Glanzmann thrombasthenia. *Platelets.* 2002;13(2):101–111.
63. Blickstein D, Dardik R, Rosenthal E, et al. Acquired thrombasthenia due to inhibitory effect of glycoprotein IIb/IIIa autoantibodies. *Isr Med Assoc J.* 2014;16(5):307–310.
64. Collier BS, French DL. Hereditary Qualitative Platelet disorders. In: Beutler E, Lichtman M, Collier BS, Kipps TJ, Seligsohn U, editors. *Williams Hematology* (6th ed) New York: Mc. Graw-Hill Companies;2001:1551-1583.
65. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost* 2008;99:253-263.
66. Feng S, Christodoulides N, Kroll MH. The glycoprotein Ib/IX complex regulates cell proliferation. *Blood.* 1999 Jun 15;93(12):4256-63.
67. Harrison P, Robinson M, Liesner R, Khair K, Cohen H, Mackie I, et al. The PFA-100: a potential rapid screening tool for the assessment of platelet dysfunction. *Clin Lab Haematol.* 2002 Aug;24(4):225-32.

68. de la Salle C, Lanza F, Cazenave JP. Biochemical and molecular basis of Bernard-Soulier syndrome: a review. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1995;37(4):215-22.
69. Cohn RJ, Sherman GG, Glencross DK. Flow cytometric analysis of platelet surface glycoproteins in the diagnosis of Bernard-Soulier syndrome. *Pediatr Hematol Oncol*. 1997 Jan-Feb;14(1):43-50.
70. Lanza F. Bernard-Soulier syndrome (hemorrhagic thrombocytopenic dystrophy). *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:46.
71. Sadler JE. Von Willebrand factor, ADAMTS-13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2008; 112: 11-8.
72. Kouides PA. Females with von Willebrand disease: 72 years as the silent majority. *Haemophilia* 1998;4:665-676.
73. Sadler JE, Gralnick HR. Commentary: a new classification for von Willebrand disease. *Blood* 1994; 84(3):676-9.
74. Raccuglia, G., Gray platelet syndrome. A variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med*, 1971. 51(6): p. 818-28.
75. Bennet JS. Hereditary disorders of platelet function. In: Hoffman R, Benz JR, EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. *Hematology Basic Principles and Practice* 3rd ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000:2154-2172.
76. Nurden A.T, Nurden P, *Inherited Disorders of Platelet Function, "Platelet"* (Ed. Michelson A.D.) de, Boston, Academic Press, s. 681-700, 2002.
77. Drachman JG: Inherited thrombocytopenia: when a low platelet count does not mean ITP. *Blood* 2004; 103(2):390-8.
78. Fışgın T, Koca D. Kalıtsal Trombosit Hastalıkları. *Selim Hematoloji Güncelleme Toplantısı*. 2011.
79. Orkin, S.H. and D.G. Nathan, *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. 7th ed. 2009, Philadelphia: Saunders/Elsevier. xxvi, 1841 p.
80. Masliah-Planchon J, Darnige L, Bellucci S. Molecular determinants of platelet delta storage pool deficiencies: an update. *Br J Haematol* 2013; 160(1):5-11.
81. Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, Goodeve A, Federici AB, Batlle J, et al. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease:

- results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). *J Thromb Haemost.* 2006 Apr;4(4):766-73.
82. McKay H, Derome F, Haq MA, Whittaker S, Arnold E, Adam F, et al. Bleeding risks associated with inheritance of the Quebec platelet disorder. *Blood.* 2004 Jul 1;104(1):159-65.
83. Tokgöz H. Konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu tanısıyla izlenen olgularımızın mutasyon analizi ve klinik olarak değerlendirilmesi. (Yandal uzmanlık tezi). Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi 2013.
84. Kannan M, Ahmed RP, Jain P, Kumar R, Choudhry VP, Saxena R. Type I Glanzmann thrombasthenia: Most Common Subtypes in North Indians. *Am J Hematol* 2003; 74(2):139-41.
85. Borhany M, Fatima H, Naz A, Patel H, Shamsi T. Pattern of bleeding and response to therapy in Glanzmann thrombasthenia. *Haemophilia* 2012;18:e423–5.
86. di Minno G, Zotz RB, d'Oiron R, Bindsløv N, DiMinnoMN, PoonMC. The international prospective Glanzmann Thrombasthenia Registry: treatment modalities and outcomes in non-surgical bleeding episodes in Glanzmann thrombasthenia patients. *Haematologica* 2015;100:1031–7.
87. PoonMC, D' Oiron R, Zotz RB, Bindsløv N, DiMinnoMN, DiMinno G. The international prospectiveGlanzmann ThrombastheniaRegistry: treatment and outcomes in surgical intervention. *Haematologica* 2015;100:1038–44.
88. Haznedaroglu BZ, Beyazit Y, Walker SL, et al. Pleiotropic cellular, hemostatic, and biological actions of Ankaferd hemostat. *Crit Rev Oncol Hematol.*2012;83:21–34.
89. Kannan M, Ahmad F, Yadav B, Kumar R, Choudhry V, Saxena R. Molecular defects in ITGA2B and ITGB3 genes in patients with Glanzmann thrombasthenia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2009;7(11):1878-85.
90. Nelson E, Nair S, Peretz H, Coller B, Seligsohn U, Chandy M, et al. Diversity of Glanzmann thrombasthenia in southern India: 10 novel mutations identified among 15 unrelated patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2006;4(8):1730-7.



91. Bray PF, Rosa J-P, Lingappa VR, Kan YW, McEver RP, Shuman MA. Biogenesis of the platelet receptor for fibrinogen: evidence for separate precursors for glycoproteins IIb and IIIa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986;83(5):1480-4.
92. Pillitteri D, Pilgrimm A-K, Kirchmaier CM. Novel mutations in the GPIIb and GPIIIa genes in glanzmann thrombasthenia. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2010;37(5):268-77.

