

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK HEMATOLOJİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**KONJENİTAL TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUĞU TANISIYLA İZLENEN
OLGULARIMIZIN MUTASYON ANALİZİ VE KLİNİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. HÜSEYİN TOKGÖZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

KONYA 2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK HEMATOLOJİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**KONJENİTAL TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUĞU TANISIYLA İZLENEN
OLGULARIMIZIN MUTASYON ANALİZİ VE KLİNİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. HÜSEYİN TOKGÖZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: PROF. DR. ÜMRAN ÇALIŞKAN

KONYA 2013

ÖNSÖZ

Hayatımın en önemli adımlarından biri olan yan dal uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bilimsel ve çalışma ahlakı açısından beni yetiştiren Prof. Dr. Ümran Çalışkan'a, ayrıca başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Rahmi Örs'e olmak üzere yetişmem de emeği olan tüm değerli hocalarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

Dr. Hüseyin Tokgöz

ÖZET

Giriş ve Amaç: Glanzman trombastenisi ve Bernard Soulier Sendromu (BSS), nadir görülen konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu hastalıklarıdır. BSS, makrotrombositopeni ve uzamış kanama zamanı ile karakterizedir. BSS, trombosit yüzeyinde hasarlı damar duvarına yapışmadan sorumlu GpIb/V/IX kompleksinin yokluğu veya disfonksiyonundan kaynaklanır. GT ise trombositlerin yüzeyinde GpIIb/IIIa reseptörünün yokluğu veya disfonksiyonundan kaynaklanan ve trombosit agregasyonunu bozan otozomal resesif kalıtmı bir hastalıktır

Bu tez çalışmasının amacı, Meram Tıp Fakültesi Çocuk hematoloji bölümünde konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu (GT ve BSS) tanısıyla takip edilen olguların klinik ve laboratuvar bulgularının ayrıntılı değerlendirilmesi, genetik mutasyon tipinin araştırılması ve mutasyon tipi ile klinik bulgular arasındaki ilişkinin incelenmesidir.

Yöntem: Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Onkoloji bilim dalında takip edilen GT tanılı 20 olgu ve BSS tanılı 7 olgu çalışmaya dâhil edildi. Olguların dosya kayıtları geriye dönük olarak incelendi, klinik ve laboratuvar bulguları ayrıntılı olarak dökümanete edildi. Hastaların yaşı, cinsi, tanı alma yaşı, tanıdaki trombosit değerleri, akım sitometri bulguları (CD42ab, CD41, CD61), trombosit fonksiyon testi sonuçları, kanama fenotipleri ve mutasyon tipleri kaydedildi. Ayrıca GT ve BSS olgularını mutasyon analizi yapılarak, klinik gidişat ile olan ilişkisi araştırıldı. Olgularının kanama skorlaması, güncel bir kanama skorlama sistemine göre yapıldı.

Bulgular: BSS ve GT hastalarında en sık görülen kanama şekillerinin mukokutanöz kanamalar (burun kanaması, diş eti kanaması, cilde ait kanamalar, menoraji, vb) olduğu görüldü. Olgulardan hiçbirinde kanamaya bağlı ölüm tespit edilmedi. Genetik olarak BSS olgularda 3 farklı mutasyon tanımlanmış olup, olguların altısında GP1BB geninde, birinde GP1BA geninde homozigot mutasyon tespit edildi. Bu mutasyonlar yeni tanımlanan mutasyonlar idi. Glanzman trombastenili olgularında glikoprotein IIB gen değişimleri incelendi ve 6 olguda değişim tespit edildi. Bu mutasyonlardan 5'i yeni tanımlanan mutasyon idi. Klinik bulgular ile genotip arasında gerek GT gerekse BSS hastalarında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Sonuç: Mukokutanöz kanamalar, trombosit fonksiyon bozukluklarında başlıca hastaneye başvuru sebebidir. Glanzman trombastenili olgularda tespit edilen 6 mutasyondan 5 tanesi, ve BSS' li olgularda gösterilen 3 farklı mutasyon tipi, literatürde daha önce tanımlanmamış

mutasyonlardır. Bu mutasyonlarla klinik seyir arasındaki ilişkinin tanımlanabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Trombosit fonksiyon bozukluğu, mutasyon, kanama

Abstract

Introduction and Aim: Glanzman Thrombastenia (GT) and Bernard Soluier syndrome (BSS) are rare congenital platelet dysfunction disorders. BSS is characterized by macrothrombocytopenia and prolonged bleeding time. BSS is arised from dysfunction or absence of GpIb/V/IX which is responsible for platelet adhesion to damaged surface of blood vessels. GT is an autosomal recessive disease disrupting platelet aggregation, which is arised from absence or dysfunction of GpIIb/IIIa surface receptor on platelets.

The purpose of this study is detailed evaluation of clinic and laboratory findings of patients with congenital thrombocyte dysfunction, is investigation of genetic mutation type and investigation of relationship between mutation type and clinical findings, in our pediatric haematology department of Meram Medical Faculty.

Methods: Seven patients diagnosed with BSS and 20 patients with GT are included in the study, followed by pediatric haematology oncology department of NEÜ Meram Medical Faculty. The file records of the patients were retrospectively reviewed and clinical and larobatory findings were detailed documented. The patient's age, sex, diagnose age, platelet count at diagnosis, flow sytometry data (CD42ab, CD41, CD61), platelet function tests, bleeding phenotype and mutations were recorded. The relationship mutation with clinical outcome was examined, which is made the mutation analysis of GT and BSS patients. Bleeding scales of patients were obtained by using a currently scoring system.

Results: It was seen that mucocutaneous bleedings are the most common form of bleeding in patients with BSS and GT (epistaxis, gum bleeding, cutaneous bleeding, menorrhagia, etc.). None of the cases of death due to bleeding was detected. Three different mutations were determined in BSS cases, homozygous mutations were detected in GP1BB gene in six of all cases, GP1BA gene in one. These mutations were newly identified mutations. Glycoprotein IIB gene changes were examined and detected in 6 cases with GT. Five of all mutations were newly identified mutations. There is no significant correlation between clinical findings and genotype in both GT and BSS patients.

Discussion: Mucocutaneous bleedings are the major reason to refer to hospital in platelet dysfunctions. Five of the 6 mutations identified in GT cases, and three different mutations identified in BSS are not previously identified in literature. More extensive studies are needed to identify correlation between clinical outcome and these mutations.

Key words: Thrombocyte dysfunction, mutation, bleeding

İÇİNDEKİLER

1. Dış kapak.....	i
2. İç kapak.....	ii
3. ÖNSÖZ.....	iii
4. ÖZET.....	iv
5. Abstract	v
6. TABLOLAR DİZİNİ.....	v
7. KISALTMALAR.....	iv
8. TEZ METNİ	
5.1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
5.2. GENEL BİLGİLER.....	2
5.3. MATERYAL VE METOD.....	16
5.4. BULGULAR.....	19
5.5.TARTIŞMA.....	32
6. KAYNAKLAR.....	37

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Her bir kanama semptomu için skorlama	20
Tablo 2. Glanzman Trombastenisi ve Bernard Soulier Sendromlu Olgularda Görülen Kanama fenotipleri	21
Tablo 3. Glanzman Trombastenili Olgularda Kanama Skorlaması	23
Tablo 4. Glanzman Trombastenili Hastaların Laboratuvar Bulguları.....	24
Tablo 5. Glanzman Trombastenili olgularda tespit edilen mutasyonlar ve akım sitometri bulguları	26
Tablo 6. Bernard Soulier Sendromlu Hastalarda Klinik ve Laboratuvar Bulguları ve Mutasyon Analizi	28
Tablo 7. Bernard Soulier Sendromlu Hastalarda Kanama Skorlaması.....	29

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP: Adenozin trifosfat

ATP: Adenozin difosfat

Ca: Kalsiyum

BSS: Bernard Soulier sendromu

DDAVP: 1-deamino-8-D-arjinin vazopressin

DNA: Deoksiribonükleik asit

ES: Eritrosit süspansiyonu

EDTA: Etilen daimin tetra asetik asit

GİS: Gastrointestinal sistem

GT: Glanzman trombastenisi

GP Ib: Glikoprotein Ib

Gp IIb/IIIa: Glikoprotein IIb/IIIa

HLA: Human leukocyte antigen

İgG: İmmunglobulin G

İTP: İmmun trombositopenik purpura

MPV: Mean platelet volume

MgCl₂: Magnezyum klorür

PCR: Polimeraz chain reaction

PF-4: Platelet faktör-4

PLT: Platelet

RFVIIa: Aktive rekombinant faktör VII

SSS: Santral sinir sistemi kanaması

TRALI: Transfüzyon related acute lung injuri

TS: Trombosit süspansiyonu

Von Willebrand Faktör: VWF

GİRİŞ VE AMAÇ

Trombositler, küçük çaplı (1-4 mikrometre) hücreler olup, kemik iliğindeki megakaryositlerden salgılanan çok iyi organize olmuş hücrelerdir. Trombositler hemostazın ilk fazı olan ve endotelial bütünlüğün bozulması ile tetiklenen trombosit tıkaçının oluşmasında kritik rol oynarlar. Bu nedenle trombosit sayı veya fonksiyon bozukluklarında kanama diyatezi bulguları ortaya çıkar. 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. Merkezi sinir sistemi (MSS) kanamaları nadiren görülebilir. Derin kas içi hematom ve hemartroz ise tipik olarak koagülasyon faktörleri ile ilgili hastalıklarda görülmekte olup, trombosit hastalıklarında nadirdir (1).

Kalıtsal trombosit hastalıkları, genel olarak kalitatif bozukluklar ve kantitatif bozukluklar olarak sınıflandırılabilir (1). Bazı hastalıklar her 2 gruba girmekle birlikte ağır basan özelliğine göre sınıflanır. Örneğin Bernard Soulier sendromu (BSS), esasen trombositlerin adhezyon fonksiyonlarının bozulduğu kalitatif trombosit hastalıkları grubuna girmekle birlikte trombosit sayısının düşüklüğü de mevcut olduğu için trombositlerin kantitatif eksikliği de söz konusudur. Birçok kalıtsal trombosit hastalığı tanımlanmış olup bunlar genelde nadir görülen hastalıklardır. Daha çok akraba evliliklerinin daha sık olduğu toplumlarda görülür (1).

Bu çalışmanın amacı, Meram Tıp Fakültesi Çocuk hematoloji onkoloji bölümünde konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu tanısıyla takip edilen olguların klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi ve mutasyon analizlerinin yapılmasıdır. Dünyada nadir görülen bu hastalık gurubu ile ilgili bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz. (1)

GENEL BİLGİLER

KALİTATİF TROMBOSİT HASTALIKLARI

Trombosit membranı

Dolaşımdaki trombositlerin temel görevleri; kendi mikroçevrelerindeki anormallikleri algılamak, hasarlı damar duvarına yapışmak, diğer trombositler ile agregasyon göstermektir (1). Son 20 yılda bu görevlerle ilgili çok sayıda trombosit membran reseptörü klonlanmıştır. Daha önceleri bu protein reseptörlerin çoğu elektroforetik mobilite ve molekül ağırlığına göre sınıflanırken günümüzde bu proteinlerin çoğunun bazı büyük reseptör ailelerinin birer üyesi olduğu anlaşılmıştır. İntegrin α/β heterodupleksleri, lösinden zengin reseptörler, G protein bağımlı reseptörler (GPBR) ve immunglobulin süper ailesi bu reseptör ailelerine örnek olarak verilebilir. Bu türlü bir sınıflama, aynı ailenin üyeleri arasında yapı ve fonksiyon benzerliğinin bulunması nedeniyle avantaj sağlar. Genellikle bu reseptör ailesinin üyeleri ortak ligand ailesini kullanır ya da aynı yolakla hücreleri aktive eder (1).

Glanzman trombastenisi (Defektif Platelet İntegrin $\alpha_{IIb}\beta_3$)

Glanzman Trombastenisi (GT), ilk kez 1918'de İsviçre'li bir pediatrist olan Glanzman tarafından tanımlanan, kendisinin trombastenisi (trombosit zayıflığı) olarak adlandırdığı heterojen bir hastalık grubu olup, normal trombosit sayısına karşın anormal pıhtı retraksiyonu ile karakterizedir (1). Daha sonra 1956 yılında bu trombositlerin agregasyon fonksiyonunun bozuk olduğu gösterilmiştir (2). Glanzman trombastenisi, nadir görülen, otozomal resesif geçiş gösteren bir kalıtsal kanama bozukluğu hastalığı olup, hastalığın temel özelliği trombositlerin fibrinojene bağlanması ve birbirleriyle agregasyon yapmasında yetersizlik bulunmasıdır. Altta yatan temel bozukluk, integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GpIIb/IIIa) fibrinojen reseptörünü kodlayan gende bir anormallik bulunmasıdır. Kalıtsal trombosit hastalıkları içinde en sık görüleni GT'dir (3).

İntegrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ reseptörünün biyolojisi

Trombosit α_{IIb} ve β_3 subüniteleri, kromozom 17q21-23 bölgesinde, birbiri ile yakın ilişki içerisinde olan farklı iki gen tarafından kodlanır (4). α_{IIb} subünitesi, yaklaşık 145 kilodalton ağırlığında olup, birbirine disülfid bağları ile bağlı 18 sistein rezidüsü içerir (1). α_{IIb} prozinciri, endoplazmik retikulum içerisinde β_3 subüniti ile kompleks kurar. Olgunlaşması esnasında golgi cisimciği içerisine girer ve α_{IIb} prozinciri, α_{IIb} ağır parçacık ve α_{IIb} hafif parçacık olmak üzere birbirine disülfid bağı ile bağlı iki kısma ayrılır (5). Diğer birçok α subuniti gibi, α_{IIb} subuniti de N terminal ucunun yakınında dört kalsiyum bağlayan bölge içerir (6). Bu alan, tüm alfa subunitlerinde yedi homolog tekrar içerir (7) ve bir beta propeller yapı içerisinde katlanmış olarak bulunur (8). Bu β propeller yapının yüzey kanallarındaki kısımlar, β_3 bölgesinin βA bölgesi ile etkileşime girerek ligand bağlama için kritik bir rol oynarlar (8). Diğer integrin β zincirlerine benzer şekilde, β_3 yaklaşık 90 kd ağırlığında ve 762 aminoasit rezidüsü içeren bir zincirdir (9). β_3 zinciri beş adet sistinden zengin bölge içerir. Bu bölgelerden bir tanesi geniş bir disülfid bağlı halka içerir. βA bölgesi olarak adlandırılan bu bölge, fibrinojen bağlamada ve ligand bağlamada önemli rol alır (1).

Trombosit üzerinde en fazla sayıda bulunan reseptör $\alpha_{IIb}\beta_3$ olup, her trombosit üzerinde yaklaşık olarak 8×10^4 $\alpha_{IIb}\beta_3$ adet bulunmaktadır (9). Bu reseptörlerin çoğu trombosit yüzeyinde bulunmakla birlikte bir kısmı da alfa granüllerin iç yüzeyinde bulunur ve bu kısım fibrinojenin bu granüllere lokalizasyonunda rol alırlar (10). İstirahatteki trombositlerde $\alpha_{IIb}\beta_3$ granülleri bir kıvrım içerisinde inaktif olarak bulunur ve ligandlar ile etkileşime girmez (1). Trombosit aktive olunca, $\alpha_{IIb}\beta_3$ kompleksinde bir iç-dış sinyalizasyon mekanizması ile aktivasyon olur. Bu aktivasyon sonucu fibrinojen, her iki proteinin N-terminal ucuna bağlanır ve trombosit agregasyonu meydana gelir. Ligand bağlanmasından sonra, bir dış-iç sinyal mekanizması ile integrin-hücre iskeleti etkileşimleri ve trombositlerin yayılmasına aracılık eder (11).

Sadece megakaryositlerde eksprese olan α_{IIb} zincirinin aksine β_3 zinciri vitronektin ($\alpha V\beta_3$) reseptörünün bir komponenti olarak çok yaygın olarak eksprese edilir. Fare çalışmaları, $\alpha V\beta_3$ fonksiyonunun delesyonu durumunda plasental defektler ve osteosklerozis ile sonuçlandığını göstermiştir (12).

Klinik Bulgular

Trombasteni, genellikle küçük yaşlarda ortaya çıkan tekrarlayan mukokutanöz kanamalar ile karakterizedir. Burun kanaması ve gastrointestinal sistem (GİS) kanaması, bu hastalar için sıklıkla gözlem altında tutulma gerekçesidir ve demir tedavisi gerektiren anemi meydana gelebilir. Menoraji, adolesan çağıdaki kız hastalar için önemli bir problemdir. Gebelik, cerrahi işlemler, diş çekimi, sünnet veya travma sonrasında aşırı kanamalar görülebilir. Spontan intrakraniyal ve GİS kanamaları, bu hastalar için mevcut olan %5-10'luk hayat boyu mortalite oranının önemli bir kısmının gerekçesidir (1). Buna ilaveten bu hastalar daha ziyade hemofiliklerde görülen eklem kanaması ve kas içi hematomlar ile de prezente olabilir (13). Sıklıkla kanama olduğu zaman lokal kompresyon ve topikal trombin veya DDAVP (1-deamino-8-D-arjinin vazopressin) uygulamaları, kanama kontrolünde fayda verir. Menoraji için oral kontraseptif (OKS) uygulaması genellikle gereklidir. Durmayan kanamalar için trombosit süspansiyonu verilebilir. Fakat bu hastalarda oluşabilecek trombosit refrakterliği, sadece dolaşımdaki trombosit klirensini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda trombosit fonksiyonlarını da direkt olarak etkiler (14). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, trombosit süspansiyonu verilmesine ilaveten rekombinant aktive faktör VII (rFVIIa) verilmesinin yararlı olduğu gösterilmiştir (15). Tekrarlayan ve hayatı tehdit eden burun ve uterus kanamalarında, arteryel embolizasyon yöntemi ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (1).

İnsidans

Glanzman trombastenisi, tüm dünyada sık olmamakla birlikte, akraba evliliğinin yaygın olduğu Arabistan, Irak, Fransa ve Güney Hindistan gibi yerlerde insidansı daha fazladır (1). Bu hastalık için zorunlu heterozigot olanlarda $\alpha IIb\beta 3$ sayısı normalin yaklaşık yarısı civarında olmakla birlikte, bu bireylerde genellikle trombosit fonksiyon bozukluğuna dair kanıt veya kanama bulgusu olmaz (13). Vakaların çoğu spesifik popülasyonlarda veya akraba evliliğinin sık olduğu popülasyonlarda görülmesine ve her iki ebeveynden kalıtılan bir mutasyon için homozigot olmasına rağmen, hastaların yaklaşık üçte birinde birleşik heterozigot mutasyon olduğu gösterilmiştir (1).

Sınıflama ve Laboratuvar Tanısı

Glanzman trombastenisi, 1972 yılında Caen tarafından, trombositteki hücre içi fibrinojen miktarına ve trombositlerin fibrin pıhtısı oluşturma kabiliyetlerine göre sınıflandırılmıştır (16). Buna göre; tip 1 hastalar, genel olarak hastalıklı kişilerin %80'ini oluşturmakta olup, trombositlerde fibrinojen eksik olup pıhtı oluşturma kabiliyeti olmayan hastalardır. Tip 2 trombastenik hastaların trombositlerinde ise ölçülebilir düzeyde fibrinojen bulunmakta olup, bir miktar fibrin pıhtısı oluşturma kabiliyeti mevcuttur. Daha sonra sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yaygınlaşınca, trombastenik membran glikoproteinlerinin 3 farklı tipte olduğu anlaşılmıştır (16). Tip I trombositlerde ölçülebilir seviyede $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ bulunmazken, tip II trombositlerde orta derecede (%15-25) glikoprotein içeriği mevcuttur. Buna ilaveten bazı varyant formlarda ise normal veya normale yakın membran glikoprotein içeriği olmasına rağmen $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ disfonksiyonu mevcuttur (tip III). Lökosit adhezyon defekti tip I'de, β1 , β2 ve β3 integrinlerinin rol aldığı GT-like sendrom meydana gelir ve GT ile ayrıcı tanıya girer (17). Her 3 grup trombastenide de; adenosin difosfat (ADP), epinefrin, kollajen ve trombin gibi fizyolojik agonistlere agregasyon cevabı bozuktur. Fibrinojen ve diğer adheziv ligandları bağlama kabiliyetinin yetersiz olması, trombosit agregasyonundaki yetersizliğin ana nedenidir. Bu önerilen GT subtipleri ile kanama semptomlarının şiddeti arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir (13). Bazı hastalarda hiç $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ gösterilemediği halde hafif klinik semptomlar mevcutken, bazı hastalarda ise $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ seviyesi normal olduğu halde disfonksiyon nedeniyle transfüzyon gerektirecek kadar sık kanama bulguları olabilmektedir.

Günümüzde trombastenik trombositlerin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ seviyesini ölçmede en sık kullanılan metodlar, akım sitometri (18) ve immunoblot analizdir (19).

Bugüne kadar birkaç yüz GT'li hasta tanımlanmış olup, bunlardan 100'den fazlasında vakaların moleküler seviyedeki bozuklukları tanımlanmıştır (1). Moleküler bozukluklar, major delesyon ve inversiyonlardan nokta mutasyonlara kadar değişmektedir (<http://sinaicentral.mssm.edu/intranet/research/glanzmann>).

İlk tanımlanan ve en büyük trombastenik mutasyon grubu, hücre yüzeyinde $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ekspresyonunun ileri derecede azaldığı mutasyonlardır. Bu hastaların pek çoğunda αIIb veya β3 genlerinde major delesyon veya inversiyon vardır. Buna ilaveten αIIb veya β3 genlerinde, hücre yüzeyinde $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ekspresyonunun yokluğuna yol açan birçok nokta mutasyonu ve small delesyonlar tanımlanmıştır (1). Burada her iki zincir hücre içinde oluşturulur ama hücre

içi işlenmede ve hücre yüzeyine ulaşmada defekt vardır. Bu defektler tip I trombastenik forma yol açarlar. Bu hastaların major bir alt grubunda, hücrenin alt yüzeyinde Ca bağlayıcı olduğu düşünülen bölgeye yakın olarak bulunan α Ib'nin N-terminal β propeller tekrarlarının olduğu bölgede missens mutasyon olur.

Bir başka grup mutasyon, α Ib'nin aynı β propeller bölgesinde fakat üst yüzeyde meydana gelir. Bu mutasyonlar, α Ib'nin RGD bağlayan ceplerinin içerisinde bulunur (8).

Bir başka grup trombastenik defekt, anlamlı derecede α Ib β 3 ekspresyonu olmasına rağmen doğal ligandlar ile etkileşim gösteremeyen, β 3 zincirinin olaya karıştığı mutasyonlardır. Bu mutasyonların çoğu missens mutasyon olup, Ca bağlayıcı bölge olan MIDAS bölgesinin içinde yer alır (8).

Normal α Ib β 3 düzeyi ile beraber olan ikinci bir grup mutasyon, β 3 bölgesinin sitoplazmik domaini içinde yer alan mutasyonlardır. Bu domain, integrin aktivasyonu ve ligand bağlanmanın düzenlenmesinde rol oynar (20). Bu mutasyonlar trombosit yüzeyindeki α Ib β 3 ekspresyonunu etkilemez. Ancak reseptörler doğal agonistlere cevapsızdır.

Tedavisi

Hereditör trombosit fonksiyon bozukluklarının tedavisine yönelik randomize ve kontrollü çalışmalar yeterli olmadığı için bu konudaki bilgiler, olgu sunumu ve az sayıda olgu içeren serilerden ve bazı uzman komite raporlarından elde edilebilir (21-23).

- 1- Hasta eğitimi:** Hayat tarzı, travmadan uzak durması ve trombosit fonksiyonunu etkileyen ilaçlardan (salisilat, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar gibi) uzak durması, gingival kanamayı azaltmak için ağız ve diş sağlığına önem vermesi ve travma olduğunda hastaneye gecikmeden başvurması ile ilgili tavsiyeleri içeren bir eğitim verilmelidir (24).
- 2- Konservatif tedavi ve lokal tedbirler:** Erken tedavi, GT'nin tüm formlarında önemlidir. Kanama alanına baskı yapma, burun kanaması için tampon koyma, topikal hemostatikler, fibrin glue, burun mukoza kanamaları için Yag lazer, GİS kanama lezyonları için endoskopik elektrokoagülasyon gibi lokal tedbirler, hafif kanamaları durdurmada tek başına yeterli olabilir. Burun ve diş eti kanamaları, lokal tampon ve traneksamik asit ya da topikal trombin içeren tamponlarla genellikle durdurulabilir. Tekrarlayan şiddetli burun kanamalarında, internal maksiler arterin embolik oklüzyonu gerekebilir (13). Odanın yeterince

nemlendirilmesi, burun içine serum fizyolojik veya lokal nemlendiricilerin uygulanması, burun kanaması sıklığını azaltmada faydalıdır. Diş çekimi, burun kanaması hatta invaziv mukozalar girişimlerde, fibrin glue ve ankaferd blood stopper gibi topikal hemostatik ajanlardan faydalanılabilir.

- 3- Antifibrinolitikler:** Fibrin pıhtısının lizisini engelleyerek etki ederler. Menoraji, üst GİS kanaması ve trombositopeni ile ilgili mukozal kanamalar gibi hafif-orta derecedeki kanamaların kontrol altına alınmasında etkilidir. Traneksamik asit veya epsilon aminokaproik asit gibi antifibrinolitikler, GT, BSS ve hemofili gibi konjenital kanama bozukluklarında lokal veya sistemik olarak, tek başına veya diğer tedavilerle (lokal hemostatik ajanlar, trombosit süspansiyonu, rekombinant FVIIa,..) birlikte kullanılabilir (21-23).
- 4- Trombosit süspansiyonu verilmesi:** Trombosit süspansiyonu (TS), GT'li hastalarda, diğer ajanlar ve lokal tedavilerin kanamayı kontrol altına almada yetersiz kalması durumunda ve cerrahi öncesi proflakside standart tedavi olarak kullanılır (21-22, 24). Bununla birlikte dozu, doz aralığı ve verilme sıklığı ile ilgili yeterli çalışma yoktur. Glanzmann trombastenili hastalarda daha önceki kanama hikayesi ile yapılacak cerrahide oluşacak kanama riski arasındaki korelasyon zayıf olduğu için, daha önce minimal hemorajik semptom geçirmiş olanlarda bile proflaktik TS önerilir (24). Doz açısından yeterli delil olmamakla birlikte, erişkinler için bir aferez ünitesi (6-8 ünite random) TS, çocuklar için ise 10-15 ml/kg TS önerilir (21, 25). Öte yandan bu dozun hemostatik etkisi, trombosit fonksiyon testlerinden ziyade genellikle klinik ve laboratuvar olarak (kan kaybını tahmin etme, hemoglobin seviyesini monitorize etme) izlenir. Trombosit agregometrisi her yerde bulunmayıp test prosedürü zaman aldığı için, bu konuda belki tromboelastografiden faydalanılabilir. Travmalı hastalarda ve kardiyak cerrahi esnasında, tromboelastografinin pıhtı oluşum zamanı (measure time) ve onun viskoelastik özellikleri, kan komponent tedavisini monitorize etmede çok faydalı olduğu gösterilmiştir (26).

Cerrahi veya kanamaya bağlı tüketim ve antiplatelet antikorların varlığı, transfüze edilen trombositlerin ömrünü ve etkinliğini etkileyen en önemli faktörlerdir (27). Bu nedenle hastada trombosit refrakterliğinin olup olmadığının tanımlanması önemlidir.

Trombosit transfüzyonu, alloimmunizasyon, viral veya bakteriyel bulaş, alerjik reaksiyon, hemoliz, transfüzyonla ilişkili akut akciğer hasarı (TRALI) ve Jacob

Cruezfeld hastalığı gibi riskleri taşıyabileceği için seçilmiş hastalarda verilmelidir (1).

Tekrarlayan TS alan hastalar, α IIB- β 3 integrin ve/veya HLA antijenlerine karşı antikor oluşumuna yol açarak, diğer transfüzyonlar için refrakterlik açısından risk oluşturmaktadır (28). Antiplatelet immunizasyonun gerçek insidansı, genetik/kazanılmış predispozan faktörleri ve bu antikorların etkisi çok az araştırma konusu olmuştur. Bu nedenle HLA uyumlu bir tek donörden hazırlanmış (depolanmadan önce lökosit deplesyonu yapılmış) olan aferez TS verilmesi, multipl HLA antikorları gelişimini önlemek için tercih edilebilir (21). α IIB- β 3 integrine spesifik izoantikolar, plasentadan geçip fetüs veya yenidoğanda trombositopenik kanamalara yol açabilmekte, hatta bu durum in utero ölüme yol açacak kadar ağır intrakraniyal kanamalara neden olabilmektedir (29).

- 5- Rekombinant FVIIa (rFVIIa):** Rekombinant FVIIa, direkt olarak faktör X'u aktive edip trombin patlamasına yol açtığı için, bozulmuş olan trombosit agregasyonunu muhtemelen diğer membran reseptör yolakları yoluyla kısmen düzeltir (30). İlk kez 1996'da ağır ve tekrarlayan epistaksisi olan bir çocuğun tedavisinde (31) kullanıldıktan sonra tedavi ve proflakside rFVIIa kullanılan pek çok vaka bildirilmiştir (31-33). 2004 yılında bir uluslar arası çalışmada, 59 GT hastası değerlendirilmiştir (34). Bu çalışmada GT tanılı, yaşları 1-72 yaş arasında değişen (median yaş 22 yıl), %42'sinde HLA veya α IIB- β 3 integrine karşı antikor mevcut olan hastaların, 108 kanama epizodu (76 ağır, 32 orta dereceli; 45 burun, 29 orofaringeal, 17 GİS kanaması) ve 34 invaziv prosedür (9 major, 12 minor, 13 diş çekimi) değerlendirilmiştir. Retrospektif bir çalışma olmakla birlikte, GT'li hastalarda rFVIIa kullanımı ile ilgili önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar;
- 1) Başarı oranı en fazla olan rFVIIa tedavi rejimi, ≥ 80 μ g/kg/doz, ≤ 2.5 saat aralıklarla ve en az 3 doz verildiğinde sağlanmıştır.
 - 2) Başarı oranı, GİS kanamalarında genelde daha az bulunmuş ve bu durum, genellikle eşlik eden başka bir patolojinin varlığına bağlanmıştır.
 - 3) Cerrahi prosedürler için devamlı infüzyonlar başarılıdır.
 - 4) Tedavi dozundan bağımsız olarak rFVIIa tedavisi mümkün olduğunca erken başlanmalıdır (ilk 6 saatte başlandığında başarı oranının %83).
 - 5) Glanzman trombastenili hastalarda rFVIIa kullanımı güvenlidir. Sadece iki olguda (%1.4) ciddi yan etki görülmüş, bunların 2'si de yüksek dozda (25-30

µg/kg/saat) devamlı infüzyon alan cerrahi uygulanan hastalar olup, her ikisinde de ilave protrombotik risk faktörü olduğu saptanmıştır. Bir hastada kanser, uzamış yatak istirahati ve yaş risk faktörlerinin varlığında bilateral derin ven trombozu ve pulmoner emboli gelişmiş, bir hastada da jinekolojik cerrahi sonrası renal pelvis ve üreterde pıhtı gelişmiştir.

Günümüzde rFVIIa, trombosit alloimmunizasyonu veya refrakterliği hikayesi olan veya yeni gelişen olgularda Avrupa'da kullanım endikasyonuna sahiptir. Sirkülasyonunda izoantikörleri olan ve ağır kanaması olan GT hastalarında, rFVIIa ile birlikte yüksek doz HLA uygun donörden hazırlanmış TS'nin kombine verilmesi ve/veya aferez/immunoabsorbsiyon yoluyla antikörlerin uzaklaştırılmasını vurgulayan yayınlar vardır (35-36).

6- Hormonal tedavi: Östrojen fazlalığı olan ve bu nedenle proliferatif endometrium ve uzamış adet kanaması olan GT'li kız olgularda yüksek doz progesteron kullanımı yaygındır. Kanama genelde 2 saat içinde kesilir. Sonrasında doz azaltılarak birkaç hafta daha devam edilir. Genellikle ilaç kesilince hafif şiddette kanama olur. Bu nedenle oral kontraseptifler (OKS) ile idame tedavisi verilmelidir (13, 37). Gastrointestinal sistem anjiyodisplazisi olan bazı olgularda östrojen ve progesteron içeren OKS'lerin kullanımının faydalı olduğuna dair yayınlar vardır (38).

7- Desmopressin: 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP)'nin akkiz ve konjenital trombosit fonksiyon bozukluklarında etkili olduğu gösterilmiştir. (39). Pratikte DDAVP'nin GT'li hastalarda klinik etkinliği her zaman gözlenememiştir. Kanama zamanının düzeltilmesi ve klinik etkinliği arasında bariz bir korelasyon bulunmamasına rağmen, DDAVP verilmesi sonrasında kanama zamanında kısalma/düzelme olduğu nadiren bildirilmiştir (39). Bu nedenle GT hastalarında DDAVP verilmesi çelişkilidir (24).

Tüm bu tedavi şekillerine rağmen, GT hastalarında kanama ve proflaksi konusunda bazı belirsizlikler vardır. Genetik/moleküler defekt ile kanama fenotipi arasındaki korelasyon iyi bilinmediği için, klinik yönetimin moleküler defekte göre yapılabilip yapılamayacağı konusu belirsizdir.

Bernard Soulier Sendromu: Defektif Glikoprotein Ib/V/IX Kompleksi

Bernard Soulier sendromu, ilk kez 1948'de, uzamış kanama zamanı, periferik yaymada dev trombositler ve kanamadan dolayı ölen bir kardeş hikâyesi olan 5 aylık bir infant hastada tanımlanmıştır (bernard j, soulier jp. 1948). Daha sonraki yıllarda, mukokutanöz kanamalar, geniş trombositler, ADP-epinefrin ve kollajen ile normal agregasyon, trombine cevapta gecikme, von Willebrand Faktör (VWF) ve ristosetine veya yalnız başına sığır vWF'ne cevapsız trombosit agregasyonunun görüldüğü ikinci iyi bilinen kalıtsal trombosit hastalığı olarak tanımlanmıştır (1).

Glikoprotein Ib/IX Kompleksinin Biyolojisi

Glikoprotein Ib/V/IX kompleksi aracılığıyla olan adezyon, VWF'ün subendotelyuma bağlanmasıyla olur. Trombosit membranları VWF için iki adet bağlanma bölgesi içerir (1). Bu bölgelerden biri membran α Ib β 3 kompleksi içinde yer alır ve önceki bir trombosit aktivasyonunu gerektirir. VWF için ikinci bağlanma bölgesi, GpIb/V/IX kompleksi ile ilişkilidir. Bu kompleks, başlangıçta trombosit tutunması ve hasarlı damar duvarının ekstraselüler matriksine uygun adhezyon için kritik öneme sahiptir. GpIb/V/IX kompleksi, ayrıca p-selektin, trombospondin-1, yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve Mac-1 gibi diğer ligandları da bağlayabilir (1). Bundan başka GpIb/V/IX, trombinin de bağlayabilir ve trombinin aracılığıyla trombosit aktivasyonunda rol alır.

GpIb/V/IX kompleksi, trombosit membranında en fazla sayıda (ortalama her trombosit için 25.000 kopya) bulunan ikinci reseptördür (40). Bu kompleks, aslında her biri bir veya birden fazla lösinden zengin tekrarlar içeren dört farklı proteinden oluşur (41).

GpIb α , en büyük subunitidir (135 kilodalton, 610 aminoasit, kromozom 17p12) ve 7 lösün tekrarı içerir (42). Bu subünite, tripsin ve kalpain ile bölünmeye yatkındır ve bu bölünme sonucunda "glikokalisin" adı verilen bir glikozile form oluşur (43). GpIb α 'nın glikokalisin kısmı, VWF için bağlama bölgesi içermesinin yanı sıra trombinin de bağlar (44). İn vivo olarak plazma VWF, GpIb kompleksine bağlanmaz. Ancak akım stresi durumlarında VWF spontan olarak kollajen ve GpIb/V/IX kompleksine bağlanır (45). Klinik ölçümlerde, bir antibiyotik olan ristosetin veya akrep kökenli protein olan botrosetin, akım stresinin oluşturduğu bu etkiyi taklit edip, VWF'deki yapısal değişiklikleri indükleyerek, trombositin zengin plazma içindeki GpIb/V/IX kompleksine VWF'ün bağlanmasını artırmada kullanılır (46).

GpIb α bir disülfit bağla GpIb β 'ya bağlıdır. GpIb β 25 kilodalton ağırlığında olup, 181 aminoasit içerir ve kromozom 22q11.2'de lokalizedir (42). Bu peptid sadece bir lōsin tekrarı içerir. Disülfid bağla bağlı GpIb α - β nonkovalent bir bağla GpIX ve GpV ile bağlanır (47). GpIX, GpIb kompleksinin en küçük üyesidir (22 kd, 160 aminoasit, kromozom 3q29) ve sadece tek bir lōsin tekrarı içerir (48). GpV ise bir transmembran proteindir ve 15 lōsin tekrarı içerir (49). Bu protein, trombin için bir proteolitik substrattır ve 69 kd ağırlığında bir solubl parçacık salgılar (50). Her GpIb/V/IX kompleksi için 1 kopya GpV bulunur iken diğēer subüniteler her kompleks için iki adet bulunur. Bundan başka, GpIb α 'ya bağlı GpV'in ekstraselüler kısmının trombin ile yıkımı, trombositleri aktive eder (51). Bununla tutarlı olarak, GpV yok edilmiş farelerde hafif bir protrombotik durumun olduğu gösterilmiştir (52).

Aktive edilmiş VWF'ün GpIb/V/IX kompleksine bağlanması, fosfolipaz C'nin aktivasyonu, protein kinaz C'nin mobilizasyonu sonucunda Ca artımına yol açarak, trombosit sekresyonunu artırır ve trombosit agregasyonunu potansiyalize eder (53). GpIb/V/IX kompleksi, ayrıca bir hücre iskelet proteinine bağlanarak ve trombosit üzerindeki Fc γ reseptörü ile etkileşerek de trombositleri aktive eder (54).

Klinik Bulgular

Bernard Soulier Sendromlu hastalarda, diğēer trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalardaki gibi, mukokutanöz kanamalar, burun kanaması, purpura, GİS kanaması ve uzamış adet kanamaları şikâyeti sıklıkla görülür. Trombosit süspansiyonu verilmesinden sonra GpIb/V/IX komponentine karşı alloantikör gelişerek, trombosit refrakterliğine neden olabilir (55). Bu hastalarda kanama tedavisi, GT'ne benzerlik gösterir. DDAVP verilmesi, kanama zamanında ve klinik bulgularda düzelme sağlar. Ayrıca rFVIIa verilmesinin de BSS'lu hastalarda kanama kontrolüne katkı sağladığı gösterilmiştir (56).

Sınıflama ve Laboratuvar Tanısı

Bernard Soulier Sendromlu hastalarda değişik derecede trombositopeni mevcuttur. Çoğu hastada hafif derecede trombositopeni olmakla birlikte az sayıda hastada trombosit sayısı mm³'te 20.000'in altında olabilir (55). Trombositler normal çapının 3 ila 20 katı kadar büyürler (57). Diğēer hücre türlerinde bir anormallik bulunmaz. Bu hastalıkta megakaryositler ışık mikroskopisinde normal büyüklükte ve normal görünümündedir. Ne var ki elektron mikroskopisinde, megakaryositlerin değişken ve intermittan özellikte olan ve sıklıkla vakuoler görünümde olan demarkasyon sınırları dikkati çeker (1). GpIb α 'nın eksikliği,

BSS'lu fare modellerinde anormal demarkasyon membranı oluşumuna neden olur (58), hâlbuki bu proteinin restorasyonu, membran görünümünde yeniden düzelmeye yol açar. Yapılan çalışmalarda, GpIb/V/IX kompleksinin trombopoez esnasında hücre iskeleti ile kompleks kurarak trombosit oluşumuna katkıda bulunduğu ve hücre siklusunun regülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (59-60).

Kanama zamanı ve Platelet Function Analyzer 100 (PFA-100) ölçümleri bu hastalarda uzamış olarak bulunur (1), ancak BSS'nu ayırt ettiren anormallik, trombositlerin ristosetin varlığında agregasyonunun yetersiz olması ve bunun normal plazma eklenmesi ile düzelmemesidir (60-61). Kollajen, ADP, epinefrin gibi diğer agonistlere cevap normaldir. Ancak düşük doz trombine olan agregasyon cevabı uzamış olabilir (62). Trombosit glikoproteinlerinin flow sitometrik analizi tanı için destekleyicidir (63).

Moleküler Anormallikler

Bugüne kadar BSS ile ilişkili 30'dan fazla moleküler defekt tanımlanmıştır (64). Bu defektler trombosit membranına ulaşan herhangi bir komplekse veya etkilenen subüniteye bağlı olarak sınıflanabilir. İlk tanımlanan mutasyon, GpIb α 'nın içinde bir zincir sonlanım mutasyonudur. Bu mutasyon, ekstrasellüler domainin ve tüm transmembran ve sitoplazmik domainlerin bir parçasının eksikliğine yol açar (65).

Dört farklı genin ürünü, kemik iliğindeki matür megakaryositler içerisinde GpIb-V-IX kompleksini oluşturur. GpIb α ve GpIb β geni, sırasıyla kromozom 17p12 ve 22q11.2'de bulunurken, GpIX ve GpV'i kodlayan gen, kromozom 3 üzerinde bulunur (1). Bernard Soulier Sendromlu hastalarda en sık görülen genetik bozukluk, GpIb α mutasyonlarıdır (66). Bununla birlikte GpIb β ve GpIX mutasyonlarının da benzer kliniğe yol açtığı gösterilmiştir (67-68). Tanımlanan mutasyonların çoğu missens ve nonsense mutasyonlardır. Delesyonlar pek olası olmamakla birlikte görülebilir. Bir hastada GpIb β geninin olduğu 22q11.2 de mutasyon, velokardiyofasyal sendrom ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (69). Ayrıca birleşik heterozigotlar da tanımlanmıştır (70). Hastalık çoğunlukla otozomal resesif kalıtılmakla birlikte, otozomal dominant mutasyonlar da tanımlanmıştır (71).

Platelet Tip (Pseudo) von Willebrand Hastalığı

Platelet Tip vWH, otozomal dominant geçen bir kanama bozukluğu olup, sıklıkla uzamış kanama zamanı, hafif trombositopeni, dolaşımda azalmış yüksek molekül ağırlıklı VWF multimerleri ile karakterizedir (70). Hastalarda hafif-orta derecede kanama diyatezi

bulguları görülür. Platelet tip VWH, tip IIB VWH hastalığı ile benzerlik göstermekte olup, her iki hastalık da düşük konsantrasyonda ristosetin varlığında trombosit aglütinasyonunun olması ve dolaşımdaki yüksek molekül ağırlıklı VWF'ün azalması söz konusudur (1). Dolaşımdaki trombositlerin VWF'e bağlanması, bu hastalarda görülen VWF düzeyinin azalmasına yol açar. Ayrıca hafif derecede trombosit aktivasyonu, hafif trombositopeni ve artmış pıhtılaşma riski mevcuttur (1).

Tip IIB VWH'nın aksine, VWF'deki mutasyon normal GpIb/V/IX kompleksine afinite artışına yol açar (1). Pseudo VWH, GpIb/V/IX kompleksindeki bir değişiklikten kaynaklanarak normal trombosit VWF multimerleri için afinite artışına yol açar. Platelet tip VWH, hastanın plateletten zengin plazmasına normal VWF ekleyerek ayırt edilebilir. Bu ekleme neticesinde pseudo VWH'da spontan agregasyon gözlenirken tip IIB VWH'da agregasyon olmaz (70). Von Willebrand Hastalığının standart tedavisinde faktör infüzyonu olduğu için pseudo VWH'nın diğer VWH tiplerinden ayırt edilmesi önemlidir. Ayrıca kriyopresipitat veya DDAVP infüzyonu, platelet tip VWH'da trombositopeninin kötüleşmesine neden olabilir (72). Hafif trombositopenisi ve uzamış kanama zamanı olan hastalar, bu hastalık için değerlendirilmelidir.

Platelet tip VWH'nın moleküler temeli, birçok hastada gösterilmiştir (72). GpIbα bölgesindeki Gly-233Val ve Met239Val gibi mutasyonların VWF bağlanmasında önemli olduğu gösterilmiştir.

Bernard Soulier sendromlu hastaların kanama tedavisi, GT'li hastaların tedavisine benzerlik gösterdiği için burada tekrar ayrıntılı bahsedilmeyecektir.

Diğer Herediter Trombosit Reseptör Defektleri

Scott's Sendromu

Trombosit yüzeyi, plazma koagülasyon reaksiyonlarının gerçekleştiği esas alanlardan birisi olarak pıhtılaşmada önemli rol oynar. Aktive trombositlerdeki bu özellik, platelet faktör 3 aktivitesi olarak adlandırılır (1). İstirahattaki bir trombosit içinde çok az sayıda anyonik fosfolipid bulunur. Agonistlerle aktive olunca membran fosfolipidlerinin yapısı değişir ve anyonik fosfolipidler dış kısıma gelir. Aktivasyon, ayrıca membran vezikülasyonunu ve prokoagülan aktivite ile birlikte trombosit mikropartiküllerinin oluşumunu indükler (73).

Trombosit koagülasyon aktivitesindeki yetersizlik nadir görülen bir durum olup Scott Sendromu olarak adlandırılır (73). Bu hastalık, ilk kez bir aile bireylerinde tanımlanmış olup, hastada diş çekimi sonrası uzamış kanama, cerrahi işlemler sonrası kanama ve spontan retroperitoneal kanama vardı (74). Hastanın bir trombosit alfa granül içeriği olan faktör V'i normal miktarda saldıladığı, ancak aktive trombositlerde faktör Xa bağlanma alanlarının sayısının normalin %25'i olduğu gösterildi. Trombositler agonistlerle muamele edilince, agregasyon ve sekresyon fonksiyonu normal, ancak anyonik fosfolipid bağlanma alanlarının trombosit yüzeyine translokasyonu azdır (1). Buna ilaveten mikropartiküllerin oluşumunda defekt vardır. Diagnostik anormallik kısalmış PT'dir ve protrombin tüketiminin azalmasından kaynaklanır. Bu hastalarda trombosit süspansiyonu verilerek kanama kontrolü sağlanabilir.

Trombosit Havuz Granül Defektleri

İnsan trombositleri, dens granül, alfa granülleri, lizozomlar dâhil olmak üzere elektron mikroskopisi ile ayırt edilebilen pek çok granül içerir (1). Dens granüller, trombosit aktivasyonu sonrasında en çok salgılanan granüller olup, ADP, ATP, serotonin ve kalsiyum içerir (75). Trombosit adenin nükleotidlerinin üçte ikisi bu granüllerde saklanır. Trombosit alfa granülleri, trombosit tıkaçı oluşumunda rol alan pek çok proteine katkıda bulunur. Trombosit aktivasyonundan sonra alfa granülleri trombosit içerisinde santralize olur ve membran füzyonu ve kanaliküller vasıtasıyla içeriğini salgılar. İlginç olarak alfa granüllerinin içindeki proteinlerin kaynakları farklıdır. VWF, trombospondin ve platelet faktör 4 megakaryositlerde sentezlenip paketlenirken, albumin, IgG ve fibrinojen plazmadan endositozla alınır (1).

Dens Granül Defektleri

Trombosit granül eksikliği olan hastalarda bir tür depo havuz defekti mevcuttur (δ -SPD). Bu hastalarda platelet agregasyon anormallikleri neticesinde hafif-orta derecede kanama diyatezi bulguları olur (1). Epinefrin, kollajen ve ADP'ye cevapta agregasyonun ikinci dalgası yoktur. Hastalarda sıklıkla kanama zamanı uzar. 1969 yılında, bu hastalıkta trombosit alfa granülleri içindeki ADP havuzunda eksiklik olduğu gösterilmiştir (1). Çoğu hastada elektron mikroskopisi ile dens granüller karakteristik olarak eksik olduğu gösterilir.

Depo havuz defektleri bazen diğer hastalıklar ile birliktelik gösterir. Bunlardan en yaygın olanları Hermansky Pudlak sendromu ve Chediak Higashi sendromu'dur (76). Hermansky Pudlak sendromu otozomal resesif geçişli olup, ağır okulokutanöz albinizm,

fotofobi, rotatuar nistagmus, görme kaybı, retiküloendotelial sistemde aşırı seroid benzeri materyal birikimi ve hafif-orta derecede kanama diyatezi bulguları ile karakterizedir (1). Bu hastalarda genelde küçük çocukluk döneminde ekimoz ve burun kanamaları olur. Fatal kanamalar nadirdir ve trombosit süspansiyonu verilerek tedavi edilebilir. Chediak Higashi sendromu, otozomal resesif geçişli bir hastalık olup, immün disfonksiyon, trombosit depo havuz defekti ve parsiyel ablinizm ile karakterizedir. Tanıda periferik kan yaymasında lökositlerin ve trombositlerin içinde geniş intrasitoplazmik granüllerin bulunması karakteristiktir. Kemik iliğindeki lökositlerin mobilizasyonunda, kemotaksis ve bakterisidal aktivitede defekt olur (1).

Dens granül defektlerinin tanısı, elektron mikroskopisi için uygun preparat hazırlanması teknik olarak zor olduğu için sıkıntılıdır. Ayrıca bu hastaların bazısında uzamış kanama zamanı olmasına karşın trombosit agregasyon çalışmaları normal olarak bulunur (1).

Alfa Granül Defektleri

Alfa granül eksikliği bulunan hastalarda dens granül eksikliğine benzer şekilde hafif-orta derecede kanama diyatezi, hafif trombositopeni ve uzamış kanama zamanı görülür. Romanovski boyasıyla ışık mikroskopisinde trombositler gri renkte görüldüğü için “gri platelet sendromu” olarak da adlandırılır (77). Elektron mikroskopisinde bu trombositlerde alfa granüllerinin yokluğu veya belirgin olarak azlığı tespit edilebilir. Bu trombositlerde ayrıca alfa granülüne spesifik olan PF-4, VWF, faktör V ve fibronektin gibi proteinler eksiktir (78). Bu trombositlerde kalsiyum mobilizasyon cevabı azalmış veya körelmiştir. Az sayıda hastada kombine alfa ve dens granül eksikliği olduğu gösterilmiştir (79).

MATERYAL VE METOD

Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'nda 1993-2013 yılları arasında tanı alarak takibe alınmış 20 GT olgusu ve 7 BSS olgusunun dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Glanzman trombastenili hastalarda, kanama diyatezi öyküsü ve fizik muayene bulguları, kan sayımında trombosit sayısı normal, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı normal, periferik yaymada trombositler bol, ancak küme yapmamış olması, trombosit agregasyon testlerinde ADP, epinefrin, kollajene cevap bozuk, ristosetine cevap normal olması ve flow sitometrik olarak CD41 ve CD61 ekspresyonunun düşüklüğü ile tanı konmuştu. Bernard Soulier sendromlu hastalarda ise; kanama diyatezi öyküsü ve fizik muayene bulguları, kan sayımında trombosit sayısı düşük, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı normal, periferik yaymada dev trombositlerin varlığı, trombosit agregasyon testlerinde ADP, epinefrin, kollajene cevap normal, ristosetine cevap bozuk olması ve/veya flow sitometrik olarak CD42a,b ekspresyonunun düşüklüğü ile tanı konmuştu. Bu hastalar yaş, cinsiyet, tanı yaşı, başvuru semptomları, klinik bulgular, trombosit sayısı ve hacmi, trombosit agregasyon testleri, akım sitometri bulguları, tedavide kullanılan ajanlar ve genetik bulgular açısından incelendi. Hastaların kanama bulguları, kanama diyatezlerinde kullanılan güncel bir kanama skorlaması (80) kullanılarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan 20 GT'li hastadan ve 90 sağlıklı kontrolden alınan etilendiamin tetraasetik asitli (EDTA'lı) kan numuneleri, genetik analiz yapılmak üzere, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı; Pediatrik Moleküler Genetik Bilim Dalı Laboratuvarına gönderildi. Çalışmaya katılan tüm ailelere çalışmanın olası sonuçları hakkında bilgi verildi ve gönüllü olarak katıldıklarına dair onam formu alındı. Çalışmada genetik çalışma için teknik olarak DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve DNA pürifikasyonu ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanıldı.

DNA İzolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan hastalardan 1 ml 0.5M (EDTA) (Sigma, ABD) polietilen tüp içerisine 9 ml kan örneği alındı. Alınan kan örneği klasik fenol kloroform yöntemi dâhilinde çeşitli solüsyonlarla muamele edilerek DNA elde edildi. İzole edilen DNA +4°C' de saklandı.

Glikoprotein IIB (ITGA2B) Gen Değişimlerinin Belirlenmesi

GpIIB gen değişimlerinin belirlenmesinde PCR yöntemi kullanıldı. PCR; DNA molekülleri topluluğunda, özgül hedef DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılmasına dayanır. PCR ile belirli bir bölgeyi çoğaltabilmek için, hedef DNA'nı nükleotid dizisi hakkında bazı bilgiler gerekir. Bu bilgi, tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanacak olan iki oligonükleotid primerin sentezi için kullanılır. Primerler, çoğaltılacak tek zincirli DNA molekülündeki tamamlayıcı diziler ile hibridize olur. Isıya dayanıklı bir polimeraz, deoksiniükleotid trifosfatları kullanarak çalışılan DNA'daki hedef bölgenin sentezini sağlar. Polimerazın çalışması için tampon görevi yapacak maddeler ve tuzlar (genellikle Tris ve potasyum klorür), ayrıca önemli olan bir kofaktör olan magnezyum +2 iyonları gereklidir.

GpIIB gen değişimlerinin belirlenmesinde kullanılan PCR için yapılan PCR karışımının içeriğinde 500 mM potasyum klorür, 100 mM Tris-hidroklorik asit (pH 8.3); 15 mM magnezyum klorür bulunmakta idi. Primerler liyofilize olarak alındı, 100 µM olacak şekilde stok hazırlandı.

GpIIB geninde yer alan 35 ekzona ait primerlerle ilgili bölgeler belirlenen annealing (erime) sıcaklıklarında PCR reaksiyonuna tabi tutuldu. Amplifikasyonu yapılan ürünler %2' lik agaroz jele yüklendi ve ilgili bölgelerin çoğaltılıp çoğaltılmadığı kontrol edildi.

PCR Ürünlerinin Temizlenmesi

Amplifiye olmuş PCR ürünlerinin DNA dizi Analizine tabi tutulmadan önce pürifiye edildi. Bunun için çalışmamızda PCR ürünlerinin pürifikasyonu için High Pure PCR Purification Kit (Roche) kullanıldı.

DNA Dizi Analizi

Pürifiye olmuş PCR ürünleri ile DNA dizi analizi yapıldı. Bu yöntemde, her bir ekzon için birbirinden farkları tespit edilen DNA örneklerinin nükleotid dizilerinin belirlenmesi için kapiller sistem otomatik sekans cihazı (CEQ 8800XL, Beckman Coulter, USA) kullanıldı. Bunun için 0.2 ml'lik, 96 tane kuyucuk içeren plaklar kullanılıp her bir kuyucuğa 12 µl premiks (2 µl 10X reaksiyon tamponu, 1µl dNTP karışımı, 2µl ddUTP, 2µl ddGTP, 2µl ddCTP, 2µl ddATP, 1µl polimeraz enzimi), 5µl temizlenmiş PCR ürünü, 20 pmol primer konularak "cycle sequencing" işlemi gerçekleştirildi. Bunun için plaklar, PCR cihazına (Biometra, Almanya) yerleştirilip 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon, 30 siklus 96 °C'de 20 saniye

denatürasyon, 50°C’de 20 saniye yapışma ve 60°C’de 4 dakikalık uzama evresi gerçekleştirildi. “Cycle sequencing” sonlandıktan hemen sonra reaksiyonun durdurulması için her bir kuyucuğun dibine 5 µl durdurma solüsyonu (1,5 M C₂H₃O₂Na, 50 mM EDTA, 20 mg/ml’lik glikojen) pipetlendi. Örneklerin üzerine 60 µl %95’lik soğuk etanol eklenerek +4°C’de 4000 rpm’de 4 dk santrifüjlenerek (Hettich, Almanya) yıkama işlemi gerçekleştirildi. Üstteki kısım dökülerek %70’lik alkolden 200 µl eklenip, +4 °C’de 4000 devirde 2 dk santrifüjlenerek üstteki kısım döküldü. Bu işlem bir kez daha tekrarlandıktan sonra plak 300 devire çıkana kadar ters olarak santrifüjlenip fazla etanol uzaklaştırıldı. Plak, liyofilizatör cihazına (Christ, Almanya) yerleştirilip ve yüksek vakum altında örnekler kurutuldu. Kuruyan örneklerin üzerine 25 µl formamid içeren solüsyondan konularak DNA zincirlerinin birbirlerinden ayrı tutulması sağlandı. Her bir kuyucuk mineral yağ ile kapatıldıktan sonra plak, DNA dizi analizi cihazına yerleştirildi ve elde edilen sonuçlar CEQ Sequencing Software programı kullanılarak dalgalar halinde görünür hale getirildi.

Bernard Soulier Sendromlu hastaların genetik çalışması, İtalya’da bir merkezde (I.R.C.C.S. BURLO GAROFALO, S.C. DI GENETICA MEDICA, DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO) yapıldı. Hastalardan elde edilen DNA numuneleri, GP1BA (NM_000173.4), GP1BB (NM_000407.4) ve GP9 (NM_000174.3) geni mutasyonları açısından incelendi.

İstatistik

GT’li olgularda, nonparametrik dağılım için gruplar arası karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi. GPIIB gen değişimi olanlar ile olmayanlar olarak 2 gruba ayrıldı. Bu iki grup arasında epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoreji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama açısından karşılaştırıldı. BSS’li hasta grubunda oranların karşılaştırılmasında, örneklem sayısı az olduğu için Fischer’in exact testi kullanıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi. BSS mutasyon tipleri ile kanama skorları (epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoreji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama), tanıda PLT sayısı ve MPV arasındaki ilişki araştırıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan GT tanılı 20 olgunun yaşları 3 yaş ile 23.5 yaş arasında değişiyordu (ortanca 15.25 yıl). Bu olguların 7'si kız, 13'ü erkek olup, K/E oranı 0,53 idi. Tanı alma yaşları 1 ay ile 12,5 yaş arasında değişmekte olup, ortanca 1.75 yıl idi. Hastaların teşhis konduktan sonraki gözlem süresi 3 yıl ile 20 yıl arasında değişmekte idi (ortanca 8 yıl). Hastaların kanama skorlaması tablo 1'de, kanama fenotipleri tablo 2' de görülmektedir. En sık başvuru semptomu epistaksis ve diş eti kanaması idi. Hastaların beşinde hayatı tehdit eden kanama görülmüş olup, bunlardan dört tanesi GİS kanaması, bir tanesi ise mediastinal hematoma idi. Vakaların hiçbirisi kanama nedeniyle ölmedi.

Epistaksis, GT'li olgularda en sık görülen semptomlardan biri olup, hastaların %85'inde görülmekte idi (tablo 2). Dört hastanın lokal tedbirler ve ilaç tedavileri ile kanaması durmadığı ve uzun sürdüğü için TS ihtiyacı olmuştu (skor 4). İki hastada ise kanamaya ikincil derin anemi ve kalp yetmezliği bulguları olduğu için ES ihtiyacı oldu. Kalp yetmezliği bulguları gelişmeyenler ise oral demir tedavisi ile takibe alındı.

Kutanöz kanama bulguları (ekimoz, purpura gibi) olguların %52'sinde görüldü ve çoğunlukla kanama skoru evre 1 idi (tablo 3).

Dişeti kanaması gibi oral kavite kanamaları hastaların %70' inde görüldü. Bu nedenle bir olguda TS veya ES ihtiyacı oldu.

Gastrointestinal sistem kanaması olguların beşinde görüldü. Bu olguların hepsinde TS ve ES ihtiyacı olmuş ve akut dönem sonrasında hastaların hepsine oral demir tedavisi verilmiştir. Gastrointestinal sistem kanaması olan olgularda altta yatan anomali (anjiodisplazi, peptik ülser gibi) olarak sadece bir olguda peptik ülser tespit edilmiş ve ona yönelik tedavi verilmiştir. Bir olguda spontan duodenal intramural kanama meydana gelmişti. Ultrasonografi ve batin tomografisi ile tespit edilen bu kanama nedeniyle hastada duodenal tıkanıklık ve invajinasyon gelişmiş ve bu nedenle cerrahi girişim ihtiyacı oldu. Cerrahi sırasında ve sonrasında hastanın ES-TS ihtiyacı oldu, ancak herhangi bir morbidite ve mortalite yaşanmaksızın hastanın kanaması kontrol altına alındı.

Tablo 1. Her bir kanama semptomu için skorlama

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, anjiodisplazi 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 ve Bernard Soulier Sendromlu Olgularda Görülen Kanama fenotipleri

Kanama şekli	Glanzman trombastenisi (%)	Bernard Soulier Sendromu (%)
Epistaksis	85	71
Kutanöz kanama	52	43
Diş eti kanaması	70	71
Menoraji	25 (100*)	71 (100*)
Gastrointestinal kanama	25	28
Cerrahi sırasında aşırı kanama	10	5
Hematüri	5	0
Viseral hematoma	5	14

*Uygun yaş grubundaki kızlarda

Glanzman trombastenisi tanıli olgulardan dokuz tanesine diş çekimi uygulanmış olup bunlardan 7 tanesinde proflaktik TS verildi, iki tanesinde ise TS verilmeksizin ankaferd blood stoper ve DDAVP uygulaması ile belirgin bir kanama problemi yaşanmaksızın diş çekimi yapıldı.

Glanzman trombastenisi tanıli olgulardan sekiz tanesine sünnet yapılmış olup bunlardan yedi tanesinde proflaktik TS verildi, bir tanesinde ise TS verilmeksizin ankaferd blood stopper ve DDAVP uygulaması ile belirgin bir kanama problemi yaşanmaksızın sünnet yapıldı.

Hastaların bir tanesi sünnet ve diş çekimi dışında invaziv prosedür geçirmiş olup bu invajinasyon nedeniyle yapılan bir operasyondur. Bu hastanın operasyon öncesinde ve sonrasında ES ve TS ihtiyacı oldu.

Glanzman trombastenisi tanıli 5 kız hastada (%25) menoraji problemi vardı. Bununla birlikte, GT'li yedi kız hastadan esasen adet görme döneminde olan 5 hastanın hepsinde menoraji problemi yaşanmıştı. Bu olguların dördü bu nedenle TS almak zorunda kalmış, üçü derin anemi ve kalp yetmezliği gelişmesi nedeniyle ES ihtiyacı olmuştur. Dört tanesi oral kontraseptif kullanmış, dört tanesi oral demir tedavisi kullanmıştı. Hiçbir hastada dilatasyon ve küretaj işlemine gerek kalmamıştı.

Glanzman trombastenisi tanıli kız olguların hiçbiri gebe kalmayıp, doğum yapmadığı için postpartum kanama riski ile karşılaşmamıştır. Kas içi hematoma veya hemartroz, GT olgularında gözlenmemiştir. Santral sinir sistemi kanaması, GT tanıli olgulardan hiçbirinde

görülmemiştir. GT'li bir olguda makroskopik hematüri tespit edilmiş olup, bu nedenle mutlak yatak istirahati ve TS verildi.

Hayatı tehdit eden kanama 5 GT'li hastada görülmüş olup, bunlardan 4'ünde gastrointestinal sistem kanaması, 1'inde mediastinal hematoma şeklinde idi. Bir olgu göğüs ağrısı nedeniyle tetkik edilirken mediastinal kitle tespit edilmiş ve bu kitlenin hematoma olduğu görüntüleme yöntemleri ile teyit edilmiştir. GT tanısı olduğu halde, bu kanamayı nasıl sınırlayabildiği merak konusu olan olgunun, olası trombofilik faktörler açısından yapılan taramasında heterozigot Faktör V Leiden mutasyonu olduğu tespit edildi. Hastada konjenital bir kanama diyatezi mevcut olduğu halde hayatı tehdit edebilecek bir mediastinal kanamayı bu şekilde sınırlayabilmesi, genetik olarak tromboza yatkınlığının da var olması ile izah edildi. Hastanın kliniği uygun TS desteği ile düzeldi, operasyona gerek kalmadı.

Tablo 3. Glanzman Trombastenili Olgularda Kanama Skorlaması

Olgu	Epistaksis	Kutanöz kanama	Minor yaradan kanama	Oral kavite kanaması	GİS kanaması	Diş çekimi	Cerrahi	Menoraji	Postpartum hemoraji	Kas hematomu	SSS kanaması
1	3	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0
2	3	1	1	1	0	0	0	4	0	0	0
3	0	1	1	1	0	3	0	3	0	0	0
4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	4	2	1	1	3	4	4	0	0	0	0
7	3	1	1	3	0	0	0	4	0	0	0
8	2	1	1	1	0	0	0	4	0	0	0
9	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0
10	1	2	1	3	0	0	0	0	0	1	0
11	0	1	1	2	4	0	0	0	0	0	0
12	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
13	3	2	1	1	3	0	0	0	0	0	0
14	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
16	4	1	1	4	0	0	0	0	0	0	0
17	3	2	1	1	3	4	0	0	0	0	0
18	0	1	1	4	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
20	4	1	1	1	3	0	4	0	0	0	0

Tablo 4. Glanzman Trombastenili Hastaların Laboratuvar Bulguları

Olgu no	Yaş (yıl)	Cins	Tanı Yaşı (Yıl)	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	MPV (fl)	ADP (%)	Epinefrin (%)	Kollajen (%)	Ristosetin (%)	CD 41a (%)	CD 61a (%)
1	23.5	E	1/12	243	8.4	1	3	0	71	0	0
2	20	K	3/12	255	10.7	0	0	8	69	0	0
3	24	K	12.5	290	8.4	0	0	4	48	0	0
4	19.5	K	9.5	228	9.1	0	0	1	89	0	0
5	16	E	8	252	8.8	0	0	8	73	0	0
6	19	E	1/12	326	9.2	0	0	1	67	0.03	0.46
7	21.5	K	3	280	9.5	0	2	1	77	1	2
8	21.5	K	3	242	9.8	1	0	0	83	0	0
9	15.5	E	*	305	8.4	0	0	0	75	0	0
10	6	E	6/12	299	8.5	3	2	0	82	0	0
11	4	E	7/12	245	9.1	2	3	2	79	1.2	1.5
12	3	E	2/12	322	9.1	2	1	1	84	0	0
13	12	E	2	426	8.8	1	2	6	15	0.04	0
14	15	E	8	284	8.5	8	10	12	75	64	72
15	17.5	E	5	272	8.7	0	0	0	97	0.8	1.2
16	4.5	K	3/12	208	8.9	0	0	1	66	0.02	0.02
17	8.5	E	5/12	214	8.3	0	0	0	60	0.04	0.36
18	7	E	4	244	9.6	36.6	7.3	35.5	78.9	92	94
19	9.5	K	1.2	281	11.4	28.4	11.6	17.8	72.1	1.4	1.8
20	7	E	2/12	203	8.3	1	1	1	70	0	0

Glanzman trombastenisi tanılı 20 olgunun hepsinin başvuru anında trombosit sayısı normaldi (tablo 4). Ortalama trombosit hacmi (MPV) değerleri de normaldi. GT'li hastalara yapılan trombosit fonksiyon testlerinde kollajen, ADP ve epinefrine cevap bozuk, ristosetine cevap ise normal bulundu. Olguların hepsinde akım sitometrik olarak trombositlerin yüzeyinde CD41 ve CD61 (GpIIb/IIIa) ekspresyonuna bakıldı. Olguların 18'inde CD41 ve CD61 düzeyi %5'in altında (tip 1 GT) bulunurken, iki olguda CD41 ve CD61 düzeyi normal sınırlar içinde bulundu (tip 3 GT). Bu iki tip 3 GT hastası, anne baba akrabalığı, tipik klinik ve periferik yayma bulguları ve trombosit fonksiyon testleri ile tanı aldı.

Glanzman trombastenisi tanılı 20 olgunun ITGA2B (GpIIb) ve ITGB3 gen bölgesi incelendi. Uygun prob temin edilemediği için GpIIIa (ITGB3) gen bölgesi için sınırlı değerlendirme yapılabildi. Olguların 6 tanesinde ITGA2B gen bölgesinde değişiklik tespit edildi (tablo 5). Bu mutasyonlardan ikisi (ekzon 4'te c.468 T>G ve ekzon 13'te c.1378 T>A), Human Gene Mutation Database (HGMD)'de daha önce tanımlanmış mutasyonlar olup, 4'ü yeni tanımlanmış mutasyonlar idi. Yeni tanımlanan mutasyonlar; ekzon 4'te c.570 T>G değişimi, ekzon 13'te c.1277 T>A ve c.1291 T>G değişimi ve ekzon 19'da c.1921 A>G değişimi idi. Bir olguda ITGB3 geninde ekzon 5'te nükleotid 680'de yeni bir mutasyon tanımlandı (tablo 5). Bu mutasyonun protein seviyesinde ITGB3 geninin 223. kodonunda lösin yerine izolösin değişikliğine neden olan bir missense mutasyon olduğu tespit edildi. Bu mutasyonu taşıyan hastanın tip 3 GT sınıfında olduğu görüldü.

Gen değişimi olanlar ile olmayanlar olarak 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 arasında epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraği, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama açısından Mann Whitney U testi ile anlamlı bir fark saptanmadı ($p<0.05$).

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

Gen	Ekzon	Değişim	Mutasyon tipi	Protein	CD41 (%)	CD61 (%)	Glanzman tipi
ITGA2B	Ekzon 4	c. 468 T>G	Missense	V147G	0	0	Tip 1
ITGA2B	Ekzon 4	c. 507 T>G*	Missense	G159V*	0	0	Tip 1
ITGA2B	Ekzon 13	c.1277 T>A*	Missense	S416R*	0.2	0.2	Tip 1
ITGA2B	Ekzon 13	c.1291 T>G*	Missense	V420L*	0	0	Tip 1
ITGA2B	Ekzon 13	c. 1378 T>A	Missense	P448T	64	72	Tip 3
ITGA2B	Ekzon 19	c.1921 A>G*	Missense	T646A*	0	0	Tip 1
ITGB3	Ekzon 5	c. 680 A>C*	Missense	L221I*	0.04	0	Tip 1

*Yeni tanımlanan mutasyonlar

BSS'li 7 olgunun yaşları 8,5 yaş ile 29 yaş arasında değişiyordu (ortanca 24 yaş). Bu olguların hepsinin cinsiyeti kız idi (tablo 6). Birinci ve ikinci olgu, üçüncü ve dördüncü olgu, altıncı ve yedinci olgu birbiriyle kardeş olup, diğer olgularla akrabalık bulunmamakta idi. Tanı alma yaşları 7 ay ile 96 ay arasında değişmekte idi (ortanca 30 ay). Tanı sonrası takip süresi ise 3.5 yıl ile 24 yıl arasında değişmekteydi (ortanca 22 yıl). Hastalarda görülen kanama tipleri; epistaksis (%71), diş eti kanaması (%71), kutanöz kanama (%43), menoraji (%71), gastroentestinal (GİS) kanaması (%28), viseral kanama %14, cerrahi sonrası kanama (%5)'di. Santral sinir sistemi kanaması, kas içi hematoma, hematüri gibi kanama bulguları, hastalarımızda gözlenmedi. Hayatı tehdit eden kanama iki olguda gözlemlendi (Bir olguda GİS kanaması ve travmatik dalak rüptürüne bağlı batın içi kanama, diğer olguda GİS kanaması). BSS'li hastaların kanama semptomlarının şiddeti, klinik ve laboratuvar bulgularının özeti tablo 6 ve 7'de belirtilmiştir.

Diş çekimi işlemi 6 hastaya uygulanmış olup bunlardan 5'ine profilaktik TS verildi. Bir hastaya ise DDAVP ve traneksamik asit desteği ile diş çekimi yapıldı. Olguların hiçbirinde belirgin bir kanama problemi olmadı. İki olguya uterin polip nedeniyle cerrahi olarak polipektomi yapıldı. Öncesinde profilaktik TS verilen bu hastalarda belirgin kanama problemi yaşanmadı ve eritrosit süspansiyonu ihtiyacı gözlenmedi.

Epistaksis, BSS'li olgularda sık görülen semptomlardan biri olup hastaların %71'inde görülmekte idi. Beş hasta bu nedenle TS ihtiyacı olmuştu. 2 hastada ise kanamaya sekonder derin anemi ve kalp yetmezliği bulguları oluştuğu için ES ihtiyacı oldu.

Kutanöz kanama bulguları (ekimoz, purpura gibi) BSS'li olguların %43'ünde görülmüş olup çoğunlukla kanama skoru evre1 idi.

Dişeti kanaması gibi oral kavite kanamaları BSS'li hastaların %71'inde görülmüştür. Bu nedenle TS ihtiyacı 2 hastada olmuştur.

Gastrointestinal sistem kanaması BSS'li olguların 2'sinde (%28) görülmüştür. Bu olguların ikisine de TS ve ES verilmişti. Akut dönem sonrasında hastaların hepsine oral demir tedavisi verilmişti. Altta yatan herhangi bir hastalık bulunamamıştır.

Tablo 6. Bernard Soulier Sendromlu Hastalarda Klinik ve Laboratuvar Bulguları ve Mutasyon Analizi

Olgu no	1	2	3	4	5	6	7
Yaşı (yıl)	29	28	18	8.5	11.5	24	29
Cinsiyeti	Kız	Kız	Kız	Kız	Kız	Kız	Kız
Tanı yaşı (yıl)	2.5	2	2.8	0.6	8	2	7
PLT sayısı (x10 ³ /mm ³)	44	42	11	40	35	45	8
MPV (fl)	16	15.2	10.2	11.8	11.2	12.1	12.8
ADP (%)	66	56	62	72	60	71	66
Epinefrin (%)	72	68	60	64	56	62	54
Kollajen (%)	68	66	58	60	62	54	64
Ristosetin (%)	0	0	1	2	6	3	3
CD42a (%)	0	0	0,02	0,03	89	0,02	0,04
Mutasyon tipi	Homozigot c.[470T>A(+) 472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151)	Homozigot c.[470T>A(+) 472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151)	Homozigot c.233T>G (p.Leu78 Arg)	Homozigot c.233T>G (p.Leu78 Arg)	Homozigot c.1A>C	Homozigot c.233T>G (p.Leu78 Arg)	Homozigot c.233T>G (p.Leu78 Arg)
Sorumlu gen	Gp1BB geni	Gp1BB geni	Gp1BB geni	Gp1BB geni	Gp1BA geni	Gp1BB geni	Gp1BB geni
Ailede taşıyıcı bireyler	anne. baba ve bir kardeş taşıyıcı. bir kardeş hasta	anne. baba ve bir kardeş taşıyıcı. bir kardeş hasta	Anne baba	Anne baba	Anne. baba. bir kardeş	anne. baba. bir kardeş taşıyıcı	Anne. baba
Kanama fenotipi	Menoraji. epistaksis. diş eti knm. GİS kanaması. dalak kanaması	Menoraji. epistaksis. diş eti knm.	Menoraji. epistaksis. ekimoz	Diş eti kanaması. epistaksis. ekimoz. GİS knm	Epistaksis. GİS kanaması. ekimoz	Menoraji. diş eti kanaması	Menoraji.
Hayati kanama	Dalak kanaması. GİS kanaması	Yok	Yok	GİS Kanaması	Yok	Yok	yok
Başvuru semptomu	Diş eti knm. göbek kordonu knm	Diş eti kanaması	Epistaksis	Diş eti knm. ekimoz	Epistaksis	Diş eti kanaması	Epistaksis
Geçirilmiş cerrahi	Uterin polipektomi. diş çekimi	Uterin polipektomi	Diş çekimi	Yok	Yok	Yok	Diş çekimi

Tablo 7. Bernard Soulier Sendromlu Hastalarda Kanama Skorlaması

SEMPTOM	OLGU1 (Skor)	OLGU2 (Skor)	OLGU 3 (Skor)	OLGU 4 (Skor)	OLGU 5 (Skor)	OLGU 6 (Skor)	OLGU 7 (Skor)
Epistaksis	4	4	4	4	2	0	0
Kutanöz kanama	1	1	3	2	1	2	1
Minor yaradan kanama	1	1	1	0	0	1	1
Oral kavite kanaması	4	4	3	3	0	2	1
GİS kanaması	3	0	0	3	0	0	0
Diş çekimi	0	0	0	0	0	0	0
Cerrahi	1	0	0	0	0	0	0
Menoraji	4	4	4	0	0	4	3
Postpartum hemoraji	0	0	0	0	0	0	0
Kas hematomu	0	0	0	0	0	0	0
SSS kanaması	0	0	0	0	0	0	0

BSS tanılı 7 kız hastadan adet görme döneminde olan 5 hastada (%71) menoraji problemi yaşamıştı. Bu olguların 4 tanesi (%80 bu nedenle TS almak zorunda kalmış. 4 tanesinde (%) derin anemi ve kalp yetmezliği gelişmesi nedeniyle ES ihtiyacı olmuştur. Ayrıca hepsi oral kontraseptif ve oral demir tedavisi kullanmıştır. Hiçbir hastada dilatasyon ve küretaj işlemine gerek kalmamıştır.

Bernard Soulier Sendromu tanılı kız olguların hiçbiri doğum yapmadığı için gebelik ve postpartum kanama riskine maruz kalmamıştır.

Bernard Soulier Sendromu tanılı 7 olgunun hepsinde tüm olgularda trombositopeni mevcuttu ve trombosit sayısı mm^3 'te 8000 ile 45000 arasında değişmekte idi (ortanca 40000). MPV değerleri ise 10.2 fL ila 16.2 fL arasında değişmekte olup, ortanca değer 12.1 fL'di (normal sınır 8-12 fL). Hastaların hepsine tanı amacıyla trombosit fonksiyon testleri ve akım sitometri yapıldı. Bunların hepsinde kollajen, ADP ve epinefrine cevap normal, ristosetine cevap ise anormal bulundu. Akım sitometrik olarak trombositlerin yüzeyindeki CD42a,b ekspresyonları incelendiğinde, olguların 6'sında CD42a,b normalden düşük bulunurken, bir olguda CD42a ve CD42b düzeyi normal sınırlar içinde bulundu (reseptör fonksiyon bozukluğuna bağlı BSS). Bu olgu, anne baba akrabalığı, tipik klinik ve periferik yayma bulguları ve trombosit fonksiyon testleri ile tanı aldı.

Bernard Soulier Sendromu tanılı 7 olgunun Gp Ib-V-IX kompleksine yönelik yapılan genetik incelemede hastaların hepsinde, 3 farklı gen bölgesinde homozigot mutasyon tespit edildi (tablo 6). Olguların altısında GP1BB geninde, birinde GP1BA geninde mutasyon saptandı. GP1BB geninde tespit edilen değişimler; c.[470T>A(+)+472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151) ve c.233T>G (p.Leu78Arg), GP1BA geninde tespit edilen değişim ise c.1A>Cidi (Tablo 1). Bunlar daha önce BSS mutasyon veritabanında bildirilmemiş olan mutasyonlardır.

Mutasyon tespit edilen hastaların klinik gidişatı değerlendirmek için; 3 farklı mutasyonu olan hasta grubunda oranların karşılaştırılmasında, örneklem sayısı az olduğu için Fischer'in exact testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. BSS'li 3 mutasyon gurubu arasında kanama skorları açısından (epistaksis, kutanöz kanama, minor yaradan kanama, oral kavite kanaması, GİS kanaması, diş çekimi, cerrahi sonrası kanama, menoraji, kas hematomu, hemartroz, hayatı tehdit eden kanama), tanıda PLT sayısı ve MPV açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Bununla birlikte GP1BB geninde c.[470T>A(+)+472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151) mutasyonu olan 2 kardeş vakanın,

nisbeten daha sık ve transfüzyon gerektiren kanama atakları geçirdiği görüldü. Mutasyon tipi ile klinik arasında, vaka sayısının az olması nedeniyle optimal bir korelasyon kurulamadı.

TARTIŞMA

Glanzman trombastenisi, nadir görülen otozomal resesif geçişli bir hastalık olup. trombosit yüzeyinde integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ 'nin azalması veya disfonksiyonu neticesinde meydana gelen kanama diyatezidir. Ağırlıklı olarak mukokutanöz kanamalar olmakla birlikte, hemen her türlü kanama şekli görülebilmektedir. Otozomal resesif geçiş göstermesi nedeniyle ülkemiz gibi akraba evliliğinin sık yapıldığı ülkelerde nispeten daha sık görülmektedir. Bu hastalara teşhis konmasında kanama diyatezi bulgularının ve soy geçmişinde benzer vaka varlığının iyi sorgulanması faydalı olur. Von Willebrand hastalığı, hemofili ve İTP gibi bazı kanama bozukluklarında, kanama diyatezi bulgularının semptomlarının sorgulanması için kanama skorlaması açısından geniş çaplı vaka çalışmaları yapılmıştır (80-82). Fakat trombosit fonksiyon bozuklukları ile ilgili çalışma az sayıda yapılmıştır (83). Bu nedenle bizim çalışmamızda GT ve BSS hastalarının kanama bulguları ile ilgili değerlendirme için, benzer kanama fenotipi olması nedeniyle Tosetto ve arkadaşlarının 2006'da yayınladığı kanama skoru kullanılmıştır (80).

Glanzman trombastenisi için heterozigot olan taşıyıcılarda integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ekspresyonu %50'nin üzerinde olduğu için genellikle asemptomatiktir (13). Bizim olgularımızda da anne ve babalarında herhangi bir kanama semptomu tariflenmemekte idi. Homozigot veya birleşik heterozigot GT hastalarında mukokutanöz kanama şekli ağırlıklı olarak görülür. Epistaksis, diş eti kanaması, menoraji, ciltte kolay morarma ve ekimozlar oldukça sık görülürken, GİS kanaması ve hematüri daha az sıklıkta görülür. Daha ziyade hemofililerde görülen hemartroz ve derin hematomlar. bu olgularda nadiren görülür (84). Çoğu GT hastasında doğumda semptom bulunmamakla birlikte, nadiren diffüz peteşial lezyonlar (13) veya umbilikal kord kanaması (85) olabileceğine dair yayınlar mevcuttur. Bizim olgularımızda da literatüre benzer şekilde burun ve dişeti kanaması başta olmak üzere mukokutanöz kanamalar görülmüştür.

Kanama semptomları arasında en sık görülen ve en sık kan transfüzyonu gereksinimine yol açanın epistaksis olduğu çeşitli yayınlarda gösterilmiştir (13, 85). Bu çalışmalarda epistaksis oranı %50-55 civarında bildirilmekte olup bizim çalışmamızda %85 idi ve bu sonuç literatüre göre biraz yüksek olmakla birlikte, vaka sayımız az olmasına bağlandı. Epistaksis özellikle çocuklarda sık görülmekte olup, genellikle yaşlandıkça ve erişkinlerde daha az sıklıkta görülür.

Gingival kanama sıklıkla kötü ağız bakımından kaynaklanır. Genellikle ağır kanama sorunu oluşturmaz ama sıklıkla demir eksikliği anemisine yol açtığı için oral demir tedavisi gerektirir. Literatürde diş eti kanaması sıklığı %23-55 arasında bildirilmektedir (13, 85). Bizim çalışmamızda bu oran biraz daha yüksek (%70) bulunmuş olup bu sonuç farkı vaka sayısının azlığı ile izah edilebilir.

Menoraji, kadın GT hastaları için önemli bir problemdir. Uzamış adet kanaması, bazı hastalarda teşhise yardımcı olan ilk semptom olabilir. Bazı hastalarda ise demir eksikliği anemisine, hatta transfüzyon gerektirecek kadar ağır kanamalara yol açabilir (13). Bizim GT'li hastalarımızın 5'inde (%25) menoraji problemi vardı. Ne varki adet görme çağındaki olan 5 kız olgumuzun aslında hepsinde (%100) menoraji mevcuttu. Bu olgular genellikle transfüzyon gereksinimi duyacak derecede kanamaya sahip idi. Bu durum, özellikle adolesan çağa gelmiş kız GT hastaları için menorajinin ne kadar önemli bir problem olduğunu göstermektedir. Bizim olgularımızda da traneksamik asit, OKS gibi ilaçlarla kanama kontrolü sağlanamadığı durumlarda, TS ve hatta ES verilmiştir.

Diş çekimi yapılan olgulardan hiçbirinde belirgin bir kanama problemi yaşanmadı. İşlem öncesinde profilaktik olarak TS veya DDAVP + traneksamik asit uygulaması gibi tedbirlerle hastayı cerrahi vermemiz nedeniyle kanama gözlenmemiş olabilir.

Olgularımızdan bir tanesinde cerrahi girişim gereksinimi oldu. İnvajinasyon operasyonu geçiren hasta, cerrahi öncesi ve sonrası uygun destek tedavisi ile mortal olmadan düzelmiştir.

İntrakraniyal kanama, GT'li hastaların çok azında görülen bir kanama şekli olup genellikle travmayı takiben meydana gelir. Bizim GT tanılı olgularımızdan hiçbirinde intrakraniyal kanama meydana gelmemiştir.

Genel olarak spontan, provake edilmemiş hemartroz ve derin hematomlar gibi koagülasyon faktör eksiklikleri için daha mutad olan kanamalar. GT hastalarında nadirdir. Bizim olgularımızda da hemartroz görülmemiş, sadece bir olgumuzda göğüs içi nontravmatik hematom meydana gelmiştir. Bu olgu, GT tanılı olmasına rağmen mediastende organize olmuş, sınırlandırılmış bir hematom bulunması nedeniyle ilginç bulunmuş ve bu durum faktör V Leiden heterozigot mutasyonu pozitif olmasıyla açıklanmıştır. Bu vaka GT ve Faktör V Leiden mutasyonu pozitifliği olması ve mediastinal kitleyi taklit eden hematom varlığı nedeniyle literatüre katkı sağlayabilecek bir vakadır. Gebelik, tek başına kanama için bir risk

oluşturmamakla birlikte doğum yapılacağı zaman uygun tedbirlerin alınması gerekmektedir. Bizim olgularımızın hiçbirinde henüz gebelik veya doğum söz konusu olmamıştır. Bu olgularda doğum sırasında ve doğumdan sonraki bir hafta boyunca kanama riski yüksek olduğu için uygun tedbirler alınmaz ise hayati tehlike ortaya çıkabilir. Tam yara iyileşmesi olana kadar TS verilerek herhangi bir problem yaşanmayan sezeryan yapılmış GT vakaları bildirilmiştir (13, 85).

Kanama yerleri GT için iyi tanımlanmış olmasına rağmen kanama şiddetini GT'li hastalarda tahmin etmek güçtür. Bazı olgularda hiç ciddi kanama gözlenmez ve erişkin yaşa kadar tanı almayabilir (13). Bu yüzden klinik bulgular ile integrin α IIb β 3 ekspresyon düzeyi ve genetik defekt arasında önemli bir korelasyon zayıftır. Bu nedenle α IIb β 3 moleküler anormalliğine göre tip 1 (<%5), tip 2 (%5-15) ve tip 3 (düşük-normal. disfonksiyonel) şeklinde yapılan sınıflama (13, 16), kanama fenotipini tahmin etmede yararlı değildir. Bizim çalışmamızda da aynı mutasyonu taşıyan hastalarda bile çok farklı kanama şekilleri ve şiddeti ortaya çıkmış, klinik bulgular ile mutasyon tipi arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Öte yandan GT'deki genetik mutasyon tipi çok heterojendir. Glanzman trombastenisi veritabanında (<http://sinaicentral.mssm.edu/intranet/research/glanzmann/menu>, 2009.) ITGA2B veya ITGB3 geninde tanımlanmış 100'den fazla mutasyon tipi vardır. Ayrıca yeni tanımlanan mutasyonların sayısı da giderek artmaktadır (86). Çalışmamızda ITGA2B daha önce tanımlanmamış olan 4 yeni mutasyon ve ITGB3 geninde bir yeni mutasyon tanımlanmıştır. Bu yönüyle literatüre önemli katkı sağlayacaktır. Bir hipotez olarak, GT hastalarında trombofilik genetik defektlerin (Faktör V Leiden, protrombin G 20210A mutasyonu gibi) bulunması, hastalarda kanama sıklığını ve şiddetini azaltabilir ama bu konuda yeterli delil yoktur. Biz bir hastamızda mediastinal hematoma sonrasında GT ve Faktör V Leiden birlikteliği tespit edilmiştir. Öte yandan GT ile diğer herediter kanama bozukluklarının birlikteliği de kanama şiddetini etkileyebilir. Gen-gen ve gen-çevresel faktör etkileşimi sonucunda kanama fenotipinin etkilenebilir. Bu açıdan; human platelet antijen 1 (HPA 1) dağılımı (87) ve α 2 integrin gen polimorfizmi, trombositlerdeki α 2 β 1 yoğunluğunu etkileyerek (88) GT'deki kanama yatkınlığı ile korelasyon göstermiştir. Prospektif çalışmalar yetersiz olmakla birlikte, GT'li hastalarda yaş arttıkça kanama fenotipinde azalma olduğu gözlenmiştir (13). Bununla birlikte kronik karaciğer hastalığı, anjiodisplazi gibi kanamaya yatkınlık oluşturan durumların varlığı, yaşlı hastalarda kanama sıklığını ve şiddetini etkileyebilir (34, 38). Bizim olgularımızda da en sık görülen kanama fenotipleri olan burun ve

diş eti kanamalarının, yaş arttıkça giderek hafiflediği ve daha az hastaneye başvuru gerektiği gözlenmiştir.

Bernard Soulier sendromu, nadir görülen otozomal resesif geçişli bir trombosit fonksiyon bozukluğu olup, trombosit yüzeyinde GpIb/V/IX kompleksinin azlığı, yokluğu veya disfonksiyonu ile karakterizedir. Ağırlıklı olarak mukokutanöz kanamalar olmakla birlikte, hemen her türlü kanama şekli görülebilmektedir (1). BSS'li olguların %50'sinden fazlasında ağır kanama diyatezi olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da 7 olgudan 5'inde evre 4 kanama diyatezi bulguları mevcuttu. BSS'da diğer trombosit fonksiyon bozukluklarında olduğu gibi ağırlıklı olarak mukokutanöz kanamalar (purpura, epistaksis, oral mukoza kanaması, GİS kanaması, menoraji, vb) görülmektedir. Olgularımızın hastaneye başvuru nedenleri mukokutanöz kanamalardır. Bunlardan epistaksis, ağız içi kanamalar ve menoraji, en sık görülen kanama şekli olmuştur. Epistaksis ve dişeti kanamalarında lokal tampon, antifibrinolitik ve DDAVP uygulamalarına rağmen, bazı olgularımızda TS, hatta ES gerektirecek kanamalar yaşanmıştır. Epistaksis ve dişeti kanaması nispeten hafif kanamalar olmakla birlikte, trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalarda transfüzyon gerektirebileceği akılda tutulmalıdır.

Menoraji, kadın BSS hastaları için önemli bir problemdir. Uzamış adet kanaması, bazı hastalarda teşhise yardımcı ilk semptom olabilir. Bazı hastalarda transfüzyon gerektirecek kadar ağır kanamalara yol açabilir. Bizim 7 kız olgumuzdan adet görme çağında olan 5 kız olgumuzun hepsinde (%100) menoraji mevcuttu. Bu olgular genellikle transfüzyon gereksinimi duyacak derecede (evre 4) kanamaya sahip idi. Kanama kontrolü için antifibrinolitikler, oral kontraseptifler ve gerektiğinde DDAVP kullanılmıştır. Bununla kontrol altına alınamayan kanamalarda literatüre uygun olarak trombosit süspansiyonu ve lüzum halinde eritrosit süspansiyonu verilmiştir.

Bernard Soulier Sendromuna yol açan genetik defektler, GP Ib α , GP Ib β veya GP IX geninin ekspresyonunu etkileyen homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar sonucunda meydana gelir. Bu mutasyonların çoğu GP Ib α geninde meydana gelir ve bu mutasyonların çoğu trombosit yüzeyinde GP Ib α ekspresyonunda azalmaya bir kısmı ise fonksiyon kaybına yol açar (89). GpIb ve GpIX'daki mutasyonlar, genel olarak GpIb-V-IX kompleksinin total olarak trombosit yüzeyinde ekspresyonunun azalmasına yol açar (<http://www.bernard-soulier.org/mutations>). Bizim BSS olgularımızdan 6 tanesinde GP1BB geninde mutasyon (homozigot c.233T>G. p.Leu78Arg ve c.[470T>A(+)-472_473del(CT)])

(p.Leu157GlnfsX151)) mutasyonu. bir tanesinde ise GP1BA geninde mutasyon (homozigot c.1A>C mutasyonu) gösterilmiştir. Bu mutasyonlar literatürde ilk kez tanımlanan mutasyonlar olması sebebiyle önem arzetmektedir. Kanama yerleri BSS için iyi tanımlanmış olmasına rağmen kanama şiddetini BSS'li hastalarda tahmin etmek güçtür. Bazı olgularda hiç ciddi kanama gözlenmez ve erişkin yaşa kadar tanı konamayabilir. Ayrıca klinik bulgular ile GpIb/V/IX ekspresyon düzeyi ve genetik defekt arasındaki korelasyon zayıftır. Olgularımızın sayısının az olması nedeniyle kanama şiddeti ve mutasyon tipi arasındaki ilişki tam olarak değerlendirilemedi. Bununla birlikte c.[470T>A(+)+472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151) mutasyonu olan hastalarımızda daha ağır ve transfüzyon gerektiren kanamalar mevcuttu. Ayrıca GP1BA geninde mutasyon olan vakamızın trombositlerinin yüzeyindeki reseptör düzeyinin normal olması dikkat çekicidir.

Bu kapsamlı çalışmada GT ve BSS gibi otozomal resesif geçişli trombosit fonksiyon bozukluğu tanısı olan hastaların kanama paterni, klinik ve laboratuvar bulguları ve mutasyon analizini değerlendirilmiştir. Gerek GT gerekse BSS hastalarında yeni tanımlanmış olan mutasyonlar, literatüre katkı sağlayacak niteliktedir. Bu mutasyonlarla klinik seyir arasındaki ilişkinin tanımlanabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

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. Braunsteiner H, Pakesch F. Thrombocytoasthenia and thrombocytopathia-old names and new diseases. *Blood*, 1956 Nov;11(11):965-76.
3. Nurden AT, Nurden P. Inherited disorders of platelets: an update. *Curr Opin Hematol*. 2006 May;13(3):157-62.
4. Bray PF, Rosa JP, Lingappa VR, Kan YW, McEver RP, Shuman MA. Biogenesis of the platelet receptor for fibrinogen: evidence for separate precursors for glycoproteins IIb and IIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986 Mar;83(5):1480-4.
5. O'Toole TE, Loftus JC, Plow EF, Glass AA, Harper JR, Ginsberg MH. Efficient surface expression of platelet GPIIb-IIIa requires both subunits. *Blood*. 1989 Jul;74(1):14-8.
6. Gulino D, Boudignon C, Zhang LY, Concord E, Rabiet MJ, Marguerie G. Ca(2+)-binding properties of the platelet glycoprotein IIb ligand-interacting domain. *J Biol Chem*. 1992 Jan 15;267(2):1001-7.
7. Tuckwell DS, Humphries MJ, Brass A. A secondary structure model of the integrin alpha subunit N-terminal domain based on analysis of multiple alignments. *Cell Adhes Commun*. 1994 Oct;2(5):385-402.
8. Xiao T, Takagi J, Collier BS, Wang JH, Springer TA. Structural basis for allostery in integrins and binding to fibrinogen-mimetic therapeutics. *Nature*. 2004 Nov 4;432(7013):59-67.
9. Wagner CL, Mascelli MA, Neblock DS, Weisman HF, Collier BS, Jordan RE. Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood*. 1996 Aug 1;88(3):907-14.
10. Woods VL, Jr., Wolff LE, Keller DM. Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb-IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem*. 1986 Nov 15;261(32):15242-51.
11. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest*. 2005 Dec;115(12):3363-9.
12. McCarty JH, Lacy-Hulbert A, Charest A, Bronson RT, Crowley D, Housman D, et al. Selective ablation of alphaV integrins in the central nervous system leads to cerebral hemorrhage, seizures, axonal degeneration and premature death. *Development*. 2005 Jan;132(1):165-76.
13. George JN, Caen JP, Nurden AT. Glanzmann's thrombasthenia: the spectrum of clinical disease. *Blood*. 1990 Apr 1;75(7):1383-95.
14. Jacobin MJ, Laroche-Traineau J, Little M, Keller A, Peter K, Welschhof M, et al. Human IgG monoclonal anti-alpha(IIb)beta(3)-binding fragments derived from immunized donors using phage display. *J Immunol*. 2002 Feb 15;168(4):2035-45.
15. Poon MC, Zotz R, Di Minno G, Abrams ZS, Knudsen JB, Laurian Y. Glanzmann's thrombasthenia treatment: a prospective observational registry on the use of recombinant human activated factor VII and other hemostatic agents. *Semin Hematol*. 2006 Jan;43(1 Suppl 1):S33-6.
16. Caen JP. Glanzmann's thrombasthenia. *Baillieres Clin Haematol*. 1989 Jul;2(3):609-25.
17. 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.
18. 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.
19. 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 Apr;65(4):1021-4.

20. Wang R, Shattil SJ, Ambruso DR, Newman PJ. Truncation of the cytoplasmic domain of beta3 in a variant form of Glanzmann thrombasthenia abrogates signaling through the integrin alpha(IIb)beta3 complex. *J Clin Invest.* 1997 Nov 1;100(9):2393-403.
21. Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ, et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol.* 2006 Dec;135(5):603-33.
22. Hayward CP, Rao AK, Cattaneo M. Congenital platelet disorders: overview of their mechanisms, diagnostic evaluation and treatment. *Haemophilia.* 2006 Jul;12 Suppl 3:128-36.
23. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost.* 2008 Feb;99(2):253-63.
24. Di Minno G, Coppola A, Di Minno MN, Poon MC. Glanzmann's thrombasthenia (defective platelet integrin alphaIIb-beta3): proposals for management between evidence and open issues. *Thromb Haemost.* 2009 Dec;102(6):1157-64.
25. 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.
26. Kettner SC, Panzer OP, Kozek SA, Seibt FA, Stoiser B, Kofler J, et al. Use of abciximab-modified thrombelastography in patients undergoing cardiac surgery. *Anesth Analg.* 1999 Sep;89(3):580-4.
27. Male C, Koren D, Eichelberger B, Kaufmann K, Panzer S. Monitoring survival and function of transfused platelets in Glanzmann thrombasthenia by flow cytometry and thrombelastography. *Vox Sang.* 2006 Aug;91(2):174-7.
28. Makris M, Conlon CP, Watson HG. Immunization of patients with bleeding disorders. *Haemophilia.* 2003 Sep;9(5):541-6.
29. Leticee N, Kaplan C, Lemery D. Pregnancy in mother with Glanzmann's thrombasthenia and isoantibody against GPIIb-IIIa: Is there a foetal risk? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Aug 1;121(2):139-42.
30. 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.
31. Tengborn L, Petruson B. A patient with Glanzmann thrombasthenia and epistaxis successfully treated with recombinant factor VIIa. *Thromb Haemost.* 1996 Jun;75(6):981-2.
32. Poon MC, Demers C, Jobin F, Wu JW. Recombinant factor VIIa is effective for bleeding and surgery in patients with Glanzmann thrombasthenia. *Blood.* 1999 Dec 1;94(11):3951-3.
33. Almeida AM, Khair K, Hann I, Liesner R. The use of recombinant factor VIIa in children with inherited platelet function disorders. *Br J Haematol.* 2003 May;121(3):477-81.
34. Poon MC, D'Oiron R, Von Depka M, Khair K, Negrier C, Karafoulidou A, et al. Prophylactic and therapeutic recombinant factor VIIa administration to patients with Glanzmann's thrombasthenia: results of an international survey. *J Thromb Haemost.* 2004 Jul;2(7):1096-103.
35. Ito K, Yoshida H, Hatoyama H, Matsumoto H, Ban C, Mori T, et al. Antibody removal therapy used successfully at delivery of a pregnant patient with Glanzmann's thrombasthenia and multiple anti-platelet antibodies. *Vox Sang.* 1991;61(1):40-6.
36. Martin I, Kriaa F, Proulle V, Guillet B, Kaplan C, D'Oiron R, et al. Protein A Sepharose immunoabsorption can restore the efficacy of platelet concentrates in patients with Glanzmann's thrombasthenia and anti-glycoprotein IIb-IIIa antibodies. *Br J Haematol.* 2002 Dec;119(4):991-7.
37. Vijapurkar M, Mota L, Shetty S, Ghosh K. Menorrhagia and reproductive health in rare bleeding disorders: a study from the Indian subcontinent. *Haemophilia.* 2009 Jan;15(1):199-202.
38. Coppola A, De Stefano V, Tufano A, Nardone G, Amoriello A, Cerbone AM, et al. Long-lasting intestinal bleeding in an old patient with multiple mucosal vascular abnormalities and Glanzmann's thrombasthenia: 3-year pharmacological management. *J Intern Med.* 2002 Sep;252(3):271-5.
39. Coppola A, Di Minno G. Desmopressin in inherited disorders of platelet function. *Haemophilia.* 2008 Jan;14 Suppl 1:31-9.

40. Collier BS, Peerschke EI, Scudder LE, Sullivan CA. Studies with a murine monoclonal antibody that abolishes ristocetin-induced binding of von Willebrand factor to platelets: additional evidence in support of GPIb as a platelet receptor for von Willebrand factor. *Blood*. 1983 Jan;61(1):99-110.
41. Whisstock JC, Shen Y, Lopez JA, Andrews RK, Berndt MC. Molecular modeling of the seven tandem leucine-rich repeats within the ligand-binding region of platelet glycoprotein Ib alpha. *Thromb Haemost*. 2002 Feb;87(2):329-33.
42. Lopez JA, Chung DW, Fujikawa K, Hagen FS, Davie EW, Roth GJ. The alpha and beta chains of human platelet glycoprotein Ib are both transmembrane proteins containing a leucine-rich amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Apr;85(7):2135-9.
43. Okumura I, Lombart C, Jamieson GA. Platelet glycoprotein Ib. II. Purification and characterization. *J Biol Chem*. 1976 Oct 10;251(19):5950-5.
44. Handa M, Titani K, Holland LZ, Roberts JR, Ruggeri ZM. The von Willebrand factor-binding domain of platelet membrane glycoprotein Ib. Characterization by monoclonal antibodies and partial amino acid sequence analysis of proteolytic fragments. *J Biol Chem*. 1986 Sep 25;261(27):12579-85.
45. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):611-6.
46. Howard MA, Firkin BG. Ristocetin--a new tool in the investigation of platelet aggregation. *Thromb Diath Haemorrh*. 1971 Oct 31;26(2):362-9.
47. Modderman PW, Admiraal LG, Sonnenberg A, von dem Borne AE. Glycoproteins V and Ib-IX form a noncovalent complex in the platelet membrane. *J Biol Chem*. 1992 Jan 5;267(1):364-9.
48. Hickey MJ, Williams SA, Roth GJ. Human platelet glycoprotein IX: an adhesive prototype of leucine-rich glycoproteins with flank-center-flank structures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Sep;86(17):6773-7.
49. Lanza F, Morales M, de La Salle C, Cazenave JP, Clemetson KJ, Shimomura T, et al. Cloning and characterization of the gene encoding the human platelet glycoprotein V. A member of the leucine-rich glycoprotein family cleaved during thrombin-induced platelet activation. *J Biol Chem*. 1993 Oct 5;268(28):20801-7.
50. Zafar RS, Walz DA. Platelet membrane glycoprotein V: characterization of the thrombin-sensitive glycoprotein from human platelets. *Thromb Res*. 1989 Jan 1;53(1):31-44.
51. Ramakrishnan V, DeGuzman F, Bao M, Hall SW, Leung LL, Phillips DR. A thrombin receptor function for platelet glycoprotein Ib-IX unmasked by cleavage of glycoprotein V. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Feb 13;98(4):1823-8.
52. Ni H, Ramakrishnan V, Ruggeri ZM, Papalia JM, Phillips DR, Wagner DD. Increased thrombogenesis and embolus formation in mice lacking glycoprotein V. *Blood*. 2001 Jul 15;98(2):368-73.
53. Yuan Y, Kulkarni S, Ulsemer P, Cranmer SL, Yap CL, Nesbitt WS, et al. The von Willebrand factor-glycoprotein Ib/V/IX interaction induces actin polymerization and cytoskeletal reorganization in rolling platelets and glycoprotein Ib/V/IX-transfected cells. *J Biol Chem*. 1999 Dec 17;274(51):36241-51.
54. Ozaki Y, Asazuma N, Suzuki-Inoue K, Berndt MC. Platelet GPIb-IX-V-dependent signaling. *J Thromb Haemost*. 2005 Aug;3(8):1745-51.
55. Lanza F. Bernard-Soulier syndrome (hemorrhagic platelet dysfunction). *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:46.
56. Ozelo MC, Svirin P, Larina L. Use of recombinant factor VIIIa in the management of severe bleeding episodes in patients with Bernard-Soulier syndrome. *Ann Hematol*. 2005 Nov;84(12):816-22.
57. George JN, Reimann TA, Moake JL, Morgan RK, Cimo PL, Sears DA. Bernard-Soulier disease: a study of four patients and their parents. *Br J Haematol*. 1981 Jul;48(3):459-67.
58. Poujol C, Ware J, Nieswandt B, Nurden AT, Nurden P. Absence of GP1BA is responsible for aberrant membrane development during megakaryocyte maturation: ultrastructural study using a transgenic model. *Exp Hematol*. 2002 Apr;30(4):352-60.

59. Meyer SC, Zuerbig S, Cunningham CC, Hartwig JH, Bissell T, Gardner K, et al. Identification of the region in actin-binding protein that binds to the cytoplasmic domain of glycoprotein IB α . *J Biol Chem*. 1997 Jan 31;272(5):2914-9.
60. Feng S, Christodoulides N, Kroll MH. The glycoprotein Ib/IX complex regulates cell proliferation. *Blood*. 1999 Jun 15;93(12):4256-63.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. Balduini CL, Savoia A. Inherited thrombocytopenias: molecular mechanisms. *Semin Thromb Hemost*. 2004 Oct;30(5):513-23.
65. Ware J, Russell SR, Vicente V, Scharf RE, Tomer A, McMillan R, et al. Nonsense mutation in the glycoprotein Ib alpha coding sequence associated with Bernard-Soulier syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Mar;87(5):2026-30.
66. Kunishima S, Kamiya T, Saito H. Genetic abnormalities of Bernard-Soulier syndrome. *Int J Hematol*. 2002 Nov;76(4):319-27.
67. Hillmann A, Nurden A, Nurden P, Combrie R, Claeysens S, Moran N, et al. A novel hemizygous Bernard-Soulier Syndrome (BSS) mutation in the amino terminal domain of glycoprotein (GP)Ib β --platelet characterization and transfection studies. *Thromb Haemost*. 2002 Dec;88(6):1026-32.
68. Sachs UJ, Kroll H, Matzdorff AC, Berghofer H, Lopez JA, Santoso S. Bernard-Soulier syndrome due to the homozygous Asn-45Ser mutation in GPIX: an unexpected, frequent finding in Germany. *Br J Haematol*. 2003 Oct;123(1):127-31.
69. Budarf ML, Konkle BA, Ludlow LB, Michaud D, Li M, Yamashiro DJ, et al. Identification of a patient with Bernard-Soulier syndrome and a deletion in the DiGeorge/velo-cardio-facial chromosomal region in 22q11.2. *Hum Mol Genet*. 1995 Apr;4(4):763-6.
70. Gonzalez-Manchon C, Larrucea S, Pastor AL, Butta N, Arias-Salgado EG, Ayuso MS, et al. Compound heterozygosity of the GP1B α gene associated with Bernard-Soulier syndrome. *Thromb Haemost*. 2001 Dec;86(6):1385-91.
71. Miller JL, Lyle VA, Cunningham D. Mutation of leucine-57 to phenylalanine in a platelet glycoprotein Ib alpha leucine tandem repeat occurring in patients with an autosomal dominant variant of Bernard-Soulier disease. *Blood*. 1992 Jan 15;79(2):439-46.
72. Miller JF, Chapman RS. The relation between age and mean length of utterance in morphemes. *J Speech Hear Res*. 1981 Jun;24(2):154-61.
73. Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, Weiss HJ, Shattil SJ. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem*. 1989 Oct 15;264(29):17049-57.
74. Weiss HJ, Vivic WJ, Lages BA, Rogers J. Isolated deficiency of platelet procoagulant activity. *Am J Med*. 1979 Aug;67(2):206-13.
75. Meyers KM, Holmsen H, Seachord CL. Comparative study of platelet dense granule constituents. *Am J Physiol*. 1982 Sep;243(3):R454-61.
76. Huizing M, Anikster Y, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome and Chediak-Higashi syndrome: disorders of vesicle formation and trafficking. *Thromb Haemost*. 2001 Jul;86(1):233-45.
77. Raccuglia G. Gray platelet syndrome. A variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med*. 1971 Dec;51(6):818-28.
78. Nurden AT, Kunicki TJ, Dupuis D, Soria C, Caen JP. Specific protein and glycoprotein deficiencies in platelets isolated from two patients with the gray platelet syndrome. *Blood*. 1982 Apr;59(4):709-18.

79. Rao AK, Gabbeta J. Congenital disorders of platelet signal transduction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Feb;20(2):285-9.
80. 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.
81. Page LK, Psaila B, Provan D, Michael Hamilton J, Jenkins JM, Elish AS, et al. The immune thrombocytopenic purpura (ITP) bleeding score: assessment of bleeding in patients with ITP. *Br J Haematol.* 2007 Jul;138(2):245-8.
82. O'Brien SH. Bleeding scores: are they really useful? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012;2012:152-6.
83. 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.
84. Borhany M, Fatima H, Naz A, Patel H, Shamsi T. Pattern of bleeding and response to therapy in Glanzmann thrombasthenia. *Haemophilia.* 2012 Nov;18(6):e423-5.
85. 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 Oct;77(2):198-9.
86. D'Andrea G, Colaizzo D, Vecchione G, Grandone E, Di Minno G, Margaglione M. Glanzmann's thrombasthenia: identification of 19 new mutations in 30 patients. *Thromb Haemost.* 2002 Jun;87(6):1034-42.
87. Ghosh K, Kulkarni B, Nair S, Shetty S, Mohanty D. Human platelet alloantigen polymorphism in Glanzmann's thrombasthenia and its impact on the severity of the disease. *Br J Haematol.* 2002 Nov;119(2):348-53.
88. D'Andrea G, Margaglione M. Glanzmann's thrombasthenia: modulation of clinical phenotype by alpha2C807T gene polymorphism. *Haematologica.* 2003 Dec;88(12):1378-82.
89. Ramasamy I. Inherited bleeding disorders: disorders of platelet adhesion and aggregation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004 Jan;49(1):1-35.

SONUÇLAR

1. Glanzman trombastenisi (GT) ve Bernard Soulier sendromu (BSS), nadir görülen konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu hastalıklarındandır.
2. En sık mukokutanöz kanamalar (epistaksis, diş eti kanaması, cilt kanamaları, menoraji, gastrointestinal sistem kanaması, vs) görülür.
3. GT hastalarında, tam kan sayımında trombosit sayısı normal, periferik yayma bol ancak küme yapmayan trombositlerin varlığı söz konusudur.
4. GT hastalarının hepsinde trombosit fonksiyon testlerinde ADP, epinefrin, kollajene cevap bozuk, ristosetine cevap normal bulunmuştur.
5. GT hastalarında akım sitometrik olarak trombositlerin yüzeyinde CD41 ve CD61 ekspresyonu 18 olguda düşük (tip 1), 2 olguda normal bulunmuştur (GT tip 3).
6. GT hastalarından 6 tanesinde ITGA2B gen bölgesinde değişiklik tespit edildi. Bu mutasyonlardan ikisi (ekzon 4'te c.468 T>G ve ekzon 13'te c.1378 T>A), Human Gene Mutation Database (HGMD)'de daha önce tanımlanmış mutasyonlar olup, 4'ü yeni tanımlanmış mutasyonlar idi.
7. GT hastalarında ITGA2B de yeni tanımlanan mutasyonlar; ekzon 4'te c.570 T>G değişimi, ekzon 13'te c.1277 T>A ve c.1291 T>G değişimi ve ekzon 19'da c.1921 A>G değişimi idi.
8. GT tanılı bir olguda ITGB3 geninde ekzon 5'te nükleotid 680'de yeni bir mutasyon tanımlandı.
9. BSS tanılı 7 olgunun Gp Ib-V-IX kompleksine yönelik yapılan genetik incelemede hastaların hepsinde, 3 farklı gen bölgesinde homozigot mutasyon tespit edildi.
10. BSS'li olguların altısında GP1BB geninde, birinde GP1BA geninde mutasyon saptandı. GP1BB geninde tespit edilen değişimler; c.[470T>A(+)-472_473del(CT)] (p.Leu157GlnfsX151) ve c.233T>G (p.Leu78Arg), GP1BA geninde tespit edilen değişim ise c.1A>C idi.
11. GT ve BSS hastalarında genotipik bulgular ile kanama bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

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. Braunsteiner H, Pakesch F. Thrombocytoasthenia and thrombocytopathia-old names and new diseases. *Blood*, 1956 Nov;11(11):965-76.
3. Nurden AT, Nurden P. Inherited disorders of platelets: an update. *Curr Opin Hematol*. 2006 May;13(3):157-62.
4. Bray PF, Rosa JP, Lingappa VR, Kan YW, McEver RP, Shuman MA. Biogenesis of the platelet receptor for fibrinogen: evidence for separate precursors for glycoproteins IIb and IIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986 Mar;83(5):1480-4.
5. O'Toole TE, Loftus JC, Plow EF, Glass AA, Harper JR, Ginsberg MH. Efficient surface expression of platelet GPIIb-IIIa requires both subunits. *Blood*. 1989 Jul;74(1):14-8.
6. Gulino D, Boudignon C, Zhang LY, Concord E, Rabiet MJ, Marguerie G. Ca(2+)-binding properties of the platelet glycoprotein IIb ligand-interacting domain. *J Biol Chem*. 1992 Jan 15;267(2):1001-7.
7. Tuckwell DS, Humphries MJ, Brass A. A secondary structure model of the integrin alpha subunit N-terminal domain based on analysis of multiple alignments. *Cell Adhes Commun*. 1994 Oct;2(5):385-402.
8. Xiao T, Takagi J, Collier BS, Wang JH, Springer TA. Structural basis for allostery in integrins and binding to fibrinogen-mimetic therapeutics. *Nature*. 2004 Nov 4;432(7013):59-67.
9. Wagner CL, Mascelli MA, Neblock DS, Weisman HF, Collier BS, Jordan RE. Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood*. 1996 Aug 1;88(3):907-14.
10. Woods VL, Jr., Wolff LE, Keller DM. Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb-IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem*. 1986 Nov 15;261(32):15242-51.
11. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest*. 2005 Dec;115(12):3363-9.
12. McCarty JH, Lacy-Hulbert A, Charest A, Bronson RT, Crowley D, Housman D, et al. Selective ablation of alphaV integrins in the central nervous system leads to cerebral hemorrhage, seizures, axonal degeneration and premature death. *Development*. 2005 Jan;132(1):165-76.
13. George JN, Caen JP, Nurden AT. Glanzmann's thrombasthenia: the spectrum of clinical disease. *Blood*. 1990 Apr 1;75(7):1383-95.
14. Jacobin MJ, Laroche-Traineau J, Little M, Keller A, Peter K, Welschhof M, et al. Human IgG monoclonal anti-alpha(IIb)beta(3)-binding fragments derived from immunized donors using phage display. *J Immunol*. 2002 Feb 15;168(4):2035-45.
15. Poon MC, Zotz R, Di Minno G, Abrams ZS, Knudsen JB, Laurian Y. Glanzmann's thrombasthenia treatment: a prospective observational registry on the use of recombinant human activated factor VII and other hemostatic agents. *Semin Hematol*. 2006 Jan;43(1 Suppl 1):S33-6.
16. Caen JP. Glanzmann's thrombasthenia. *Baillieres Clin Haematol*. 1989 Jul;2(3):609-25.
17. 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.
18. 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.
19. 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 Apr;65(4):1021-4.

20. Wang R, Shattil SJ, Ambruso DR, Newman PJ. Truncation of the cytoplasmic domain of beta3 in a variant form of Glanzmann thrombasthenia abrogates signaling through the integrin alpha(IIb)beta3 complex. *J Clin Invest.* 1997 Nov 1;100(9):2393-403.
21. Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ, et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol.* 2006 Dec;135(5):603-33.
22. Hayward CP, Rao AK, Cattaneo M. Congenital platelet disorders: overview of their mechanisms, diagnostic evaluation and treatment. *Haemophilia.* 2006 Jul;12 Suppl 3:128-36.
23. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost.* 2008 Feb;99(2):253-63.
24. Di Minno G, Coppola A, Di Minno MN, Poon MC. Glanzmann's thrombasthenia (defective platelet integrin alphaIIb-beta3): proposals for management between evidence and open issues. *Thromb Haemost.* 2009 Dec;102(6):1157-64.
25. 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.
26. Kettner SC, Panzer OP, Kozek SA, Seibt FA, Stoiser B, Kofler J, et al. Use of abciximab-modified thrombelastography in patients undergoing cardiac surgery. *Anesth Analg.* 1999 Sep;89(3):580-4.
27. Male C, Koren D, Eichelberger B, Kaufmann K, Panzer S. Monitoring survival and function of transfused platelets in Glanzmann thrombasthenia by flow cytometry and thrombelastography. *Vox Sang.* 2006 Aug;91(2):174-7.
28. Makris M, Conlon CP, Watson HG. Immunization of patients with bleeding disorders. *Haemophilia.* 2003 Sep;9(5):541-6.
29. Leticee N, Kaplan C, Lemery D. Pregnancy in mother with Glanzmann's thrombasthenia and isoantibody against GPIIb-IIIa: Is there a foetal risk? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Aug 1;121(2):139-42.
30. 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.
31. Tengborn L, Petruson B. A patient with Glanzmann thrombasthenia and epistaxis successfully treated with recombinant factor VIIa. *Thromb Haemost.* 1996 Jun;75(6):981-2.
32. Poon MC, Demers C, Jobin F, Wu JW. Recombinant factor VIIa is effective for bleeding and surgery in patients with Glanzmann thrombasthenia. *Blood.* 1999 Dec 1;94(11):3951-3.
33. Almeida AM, Khair K, Hann I, Liesner R. The use of recombinant factor VIIa in children with inherited platelet function disorders. *Br J Haematol.* 2003 May;121(3):477-81.
34. Poon MC, D'Oiron R, Von Depka M, Khair K, Negrier C, Karafoulidou A, et al. Prophylactic and therapeutic recombinant factor VIIa administration to patients with Glanzmann's thrombasthenia: results of an international survey. *J Thromb Haemost.* 2004 Jul;2(7):1096-103.
35. Ito K, Yoshida H, Hatoyama H, Matsumoto H, Ban C, Mori T, et al. Antibody removal therapy used successfully at delivery of a pregnant patient with Glanzmann's thrombasthenia and multiple anti-platelet antibodies. *Vox Sang.* 1991;61(1):40-6.
36. Martin I, Kriaa F, Proulle V, Guillet B, Kaplan C, D'Oiron R, et al. Protein A Sepharose immunoabsorption can restore the efficacy of platelet concentrates in patients with Glanzmann's thrombasthenia and anti-glycoprotein IIb-IIIa antibodies. *Br J Haematol.* 2002 Dec;119(4):991-7.
37. Vijapurkar M, Mota L, Shetty S, Ghosh K. Menorrhagia and reproductive health in rare bleeding disorders: a study from the Indian subcontinent. *Haemophilia.* 2009 Jan;15(1):199-202.
38. Coppola A, De Stefano V, Tufano A, Nardone G, Amoriello A, Cerbone AM, et al. Long-lasting intestinal bleeding in an old patient with multiple mucosal vascular abnormalities and Glanzmann's thrombasthenia: 3-year pharmacological management. *J Intern Med.* 2002 Sep;252(3):271-5.
39. Coppola A, Di Minno G. Desmopressin in inherited disorders of platelet function. *Haemophilia.* 2008 Jan;14 Suppl 1:31-9.

40. Collier BS, Peerschke EI, Scudder LE, Sullivan CA. Studies with a murine monoclonal antibody that abolishes ristocetin-induced binding of von Willebrand factor to platelets: additional evidence in support of GPIb as a platelet receptor for von Willebrand factor. *Blood*. 1983 Jan;61(1):99-110.
41. Whisstock JC, Shen Y, Lopez JA, Andrews RK, Berndt MC. Molecular modeling of the seven tandem leucine-rich repeats within the ligand-binding region of platelet glycoprotein Ib alpha. *Thromb Haemost*. 2002 Feb;87(2):329-33.
42. Lopez JA, Chung DW, Fujikawa K, Hagen FS, Davie EW, Roth GJ. The alpha and beta chains of human platelet glycoprotein Ib are both transmembrane proteins containing a leucine-rich amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Apr;85(7):2135-9.
43. Okumura I, Lombart C, Jamieson GA. Platelet glycoprotein Ib. II. Purification and characterization. *J Biol Chem*. 1976 Oct 10;251(19):5950-5.
44. Handa M, Titani K, Holland LZ, Roberts JR, Ruggeri ZM. The von Willebrand factor-binding domain of platelet membrane glycoprotein Ib. Characterization by monoclonal antibodies and partial amino acid sequence analysis of proteolytic fragments. *J Biol Chem*. 1986 Sep 25;261(27):12579-85.
45. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):611-6.
46. Howard MA, Firkin BG. Ristocetin--a new tool in the investigation of platelet aggregation. *Thromb Diath Haemorrh*. 1971 Oct 31;26(2):362-9.
47. Modderman PW, Admiraal LG, Sonnenberg A, von dem Borne AE. Glycoproteins V and Ib-IX form a noncovalent complex in the platelet membrane. *J Biol Chem*. 1992 Jan 5;267(1):364-9.
48. Hickey MJ, Williams SA, Roth GJ. Human platelet glycoprotein IX: an adhesive prototype of leucine-rich glycoproteins with flank-center-flank structures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Sep;86(17):6773-7.
49. Lanza F, Morales M, de La Salle C, Cazenave JP, Clemetson KJ, Shimomura T, et al. Cloning and characterization of the gene encoding the human platelet glycoprotein V. A member of the leucine-rich glycoprotein family cleaved during thrombin-induced platelet activation. *J Biol Chem*. 1993 Oct 5;268(28):20801-7.
50. Zafar RS, Walz DA. Platelet membrane glycoprotein V: characterization of the thrombin-sensitive glycoprotein from human platelets. *Thromb Res*. 1989 Jan 1;53(1):31-44.
51. Ramakrishnan V, DeGuzman F, Bao M, Hall SW, Leung LL, Phillips DR. A thrombin receptor function for platelet glycoprotein Ib-IX unmasked by cleavage of glycoprotein V. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Feb 13;98(4):1823-8.
52. Ni H, Ramakrishnan V, Ruggeri ZM, Papalia JM, Phillips DR, Wagner DD. Increased thrombogenesis and embolus formation in mice lacking glycoprotein V. *Blood*. 2001 Jul 15;98(2):368-73.
53. Yuan Y, Kulkarni S, Ulsemer P, Cranmer SL, Yap CL, Nesbitt WS, et al. The von Willebrand factor-glycoprotein Ib/V/IX interaction induces actin polymerization and cytoskeletal reorganization in rolling platelets and glycoprotein Ib/V/IX-transfected cells. *J Biol Chem*. 1999 Dec 17;274(51):36241-51.
54. Ozaki Y, Asazuma N, Suzuki-Inoue K, Berndt MC. Platelet GPIb-IX-V-dependent signaling. *J Thromb Haemost*. 2005 Aug;3(8):1745-51.
55. Lanza F. Bernard-Soulier syndrome (hemorrhagic platelet dysfunction). *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:46.
56. Ozelo MC, Svirin P, Larina L. Use of recombinant factor VIIIa in the management of severe bleeding episodes in patients with Bernard-Soulier syndrome. *Ann Hematol*. 2005 Nov;84(12):816-22.
57. George JN, Reimann TA, Moake JL, Morgan RK, Cimo PL, Sears DA. Bernard-Soulier disease: a study of four patients and their parents. *Br J Haematol*. 1981 Jul;48(3):459-67.
58. Poujol C, Ware J, Nieswandt B, Nurden AT, Nurden P. Absence of GP1BA is responsible for aberrant membrane development during megakaryocyte maturation: ultrastructural study using a transgenic model. *Exp Hematol*. 2002 Apr;30(4):352-60.

59. Meyer SC, Zuerbig S, Cunningham CC, Hartwig JH, Bissell T, Gardner K, et al. Identification of the region in actin-binding protein that binds to the cytoplasmic domain of glycoprotein IB α . *J Biol Chem*. 1997 Jan 31;272(5):2914-9.
60. Feng S, Christodoulides N, Kroll MH. The glycoprotein Ib/IX complex regulates cell proliferation. *Blood*. 1999 Jun 15;93(12):4256-63.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. Balduini CL, Savoia A. Inherited thrombocytopenias: molecular mechanisms. *Semin Thromb Hemost*. 2004 Oct;30(5):513-23.
65. Ware J, Russell SR, Vicente V, Scharf RE, Tomer A, McMillan R, et al. Nonsense mutation in the glycoprotein Ib alpha coding sequence associated with Bernard-Soulier syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Mar;87(5):2026-30.
66. Kunishima S, Kamiya T, Saito H. Genetic abnormalities of Bernard-Soulier syndrome. *Int J Hematol*. 2002 Nov;76(4):319-27.
67. Hillmann A, Nurden A, Nurden P, Combrie R, Claeysens S, Moran N, et al. A novel hemizygous Bernard-Soulier Syndrome (BSS) mutation in the amino terminal domain of glycoprotein (GP)Ibbeta--platelet characterization and transfection studies. *Thromb Haemost*. 2002 Dec;88(6):1026-32.
68. Sachs UJ, Kroll H, Matzdorff AC, Berghofer H, Lopez JA, Santoso S. Bernard-Soulier syndrome due to the homozygous Asn-45Ser mutation in GPIX: an unexpected, frequent finding in Germany. *Br J Haematol*. 2003 Oct;123(1):127-31.
69. Budarf ML, Konkle BA, Ludlow LB, Michaud D, Li M, Yamashiro DJ, et al. Identification of a patient with Bernard-Soulier syndrome and a deletion in the DiGeorge/velo-cardio-facial chromosomal region in 22q11.2. *Hum Mol Genet*. 1995 Apr;4(4):763-6.
70. Gonzalez-Manchon C, Larrucea S, Pastor AL, Butta N, Arias-Salgado EG, Ayuso MS, et al. Compound heterozygosity of the GP1B α gene associated with Bernard-Soulier syndrome. *Thromb Haemost*. 2001 Dec;86(6):1385-91.
71. Miller JL, Lyle VA, Cunningham D. Mutation of leucine-57 to phenylalanine in a platelet glycoprotein Ib alpha leucine tandem repeat occurring in patients with an autosomal dominant variant of Bernard-Soulier disease. *Blood*. 1992 Jan 15;79(2):439-46.
72. Miller JF, Chapman RS. The relation between age and mean length of utterance in morphemes. *J Speech Hear Res*. 1981 Jun;24(2):154-61.
73. Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, Weiss HJ, Shattil SJ. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem*. 1989 Oct 15;264(29):17049-57.
74. Weiss HJ, Vivic WJ, Lages BA, Rogers J. Isolated deficiency of platelet procoagulant activity. *Am J Med*. 1979 Aug;67(2):206-13.
75. Meyers KM, Holmsen H, Seachord CL. Comparative study of platelet dense granule constituents. *Am J Physiol*. 1982 Sep;243(3):R454-61.
76. Huizing M, Anikster Y, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome and Chediak-Higashi syndrome: disorders of vesicle formation and trafficking. *Thromb Haemost*. 2001 Jul;86(1):233-45.
77. Raccuglia G. Gray platelet syndrome. A variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med*. 1971 Dec;51(6):818-28.
78. Nurden AT, Kunicki TJ, Dupuis D, Soria C, Caen JP. Specific protein and glycoprotein deficiencies in platelets isolated from two patients with the gray platelet syndrome. *Blood*. 1982 Apr;59(4):709-18.

79. Rao AK, Gabbeta J. Congenital disorders of platelet signal transduction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Feb;20(2):285-9.
80. 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.
81. Page LK, Psaila B, Provan D, Michael Hamilton J, Jenkins JM, Elish AS, et al. The immune thrombocytopenic purpura (ITP) bleeding score: assessment of bleeding in patients with ITP. *Br J Haematol.* 2007 Jul;138(2):245-8.
82. O'Brien SH. Bleeding scores: are they really useful? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012;2012:152-6.
83. 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.
84. Borhany M, Fatima H, Naz A, Patel H, Shamsi T. Pattern of bleeding and response to therapy in Glanzmann thrombasthenia. *Haemophilia.* 2012 Nov;18(6):e423-5.
85. 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 Oct;77(2):198-9.
86. D'Andrea G, Colaizzo D, Vecchione G, Grandone E, Di Minno G, Margaglione M. Glanzmann's thrombasthenia: identification of 19 new mutations in 30 patients. *Thromb Haemost.* 2002 Jun;87(6):1034-42.
87. Ghosh K, Kulkarni B, Nair S, Shetty S, Mohanty D. Human platelet alloantigen polymorphism in Glanzmann's thrombasthenia and its impact on the severity of the disease. *Br J Haematol.* 2002 Nov;119(2):348-53.
88. D'Andrea G, Margaglione M. Glanzmann's thrombasthenia: modulation of clinical phenotype by alpha2C807T gene polymorphism. *Haematologica.* 2003 Dec;88(12):1378-82.
89. Ramasamy I. Inherited bleeding disorders: disorders of platelet adhesion and aggregation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004 Jan;49(1):1-35.